

HIỆU QUẢ KHÁNG NẤM *Botrytis cinerea* CỦA CHIẾT XUẤT NHA ĐAM LÊN MEN VỚI *Lactiplantibacillus plantarum* YU2404 VÀ *Limosilactobacillus fermentum* YU2405

Lê Thị Loan¹, Nguyễn Văn Tự¹, Nguyễn Thị Tâm¹,

Nguyễn Thị Ngọc Nhi², Võ Hoài Hiếu^{1,*}

¹Trường Đại học Yersin Đà Lạt

²Trường Đại học Thủ Dầu Một

*Email: hieuvh@yersin.edu.vn

TÓM TẮT

Chiết xuất nha đam lên men bởi vi khuẩn lactic cho thấy, hiệu quả kháng nấm *Botrytis cinerea*, tác nhân gây bệnh thối quả dâu tây sau thu hoạch. Kết quả nghiên cứu cho thấy, chiết xuất nha đam lên men bởi hai chủng vi khuẩn *Limosilactobacillus fermentum* YU2404 và *Lactiplantibacillus plantarum* YU2405, đặc biệt khi kết hợp đồng thời có khả năng ức chế nấm vượt trội. Cụ thể, chiết xuất lên men đồng thời hai chủng *Lb. plantarum* YU2404 và 5% (v/v) *Lb. fermentum* YU2405 (TN3) đạt tỷ lệ ức chế bào tử nấm là $81,00 \pm 1,23\%$, ức chế hệ sợi nấm là $59,26 \pm 5,61\%$ và hiệu quả kiểm soát bệnh thối quả do *B. cinerea* đạt $82,10 \pm 1,71\%$. Ngoài ra, khi bổ sung nguồn dinh dưỡng bao gồm: OP2 (glucose và skimmed milk) và OP3 (đường ăn tinh luyện và sữa bột tách béo thương mại) vào chiết xuất lên men đồng thời hai chủng, hiệu quả ức chế hệ sợi nấm đạt lần lượt $70,83 \pm 3,67\%$ và $69,44 \pm 5,56\%$, trong khi ức chế bào tử nấm đạt $81,67 \pm 2,52\%$ và $81,17 \pm 2,25\%$. Tuy nhiên, để đảm bảo hiệu quả kinh tế trong ứng dụng thực tiễn, chiết xuất nha đam lên men đồng thời với hai chủng *L. fermentum* YU2404 và *L. plantarum* YU2405, được bổ sung 5% (w/v) đường ăn tinh luyện và 5% (w/v) sữa bột tách béo thương mại. Các nghiên cứu chuyên sâu hơn cần được thực hiện để mở ra cơ hội ứng dụng chiết xuất nha đam lên men OP3.

Từ khóa: *Limosilactobacillus fermentum*, *Lactiplantibacillus plantarum*, kháng nấm, nha đam.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Dâu tây là loại quả giàu dinh dưỡng, chứa nhiều vitamin, khoáng chất và chất chống oxy hóa, được yêu thích nhờ hương vị thơm ngon và lợi ích sức khỏe [1]. Tuy nhiên, do đặc điểm quả mềm, mỏng nước và không có lớp vỏ bảo vệ, dâu tây dễ bị mất nước, nhanh héo và dễ tổn thương bởi các tác nhân vật lý hoặc thối hỏng do vi nấm như: *Mucor piriformis*, *Rhizopus stolonifer*, *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum gloeosporioides* và *Fusarium solani* [2]. Trong đó, *B. cinerea* là tác nhân gây ra bệnh mốc xám, được đánh giá là nghiêm trọng nhất và được xếp thứ hai trên toàn cầu về tác hại kinh tế trong nông nghiệp [3]. *B. cinerea* lây lan qua bào tử, xâm nhập vào các mô bị

tổn thương, phá hủy tế bào thực vật để lấy chất dinh dưỡng, gây thối hỏng quả.

Những năm gần đây, các phương pháp kiểm soát dịch hại tổng hợp theo hướng sinh học đang trở thành xu hướng, thay thế dần các biện pháp hóa học để giảm tình trạng kháng thuốc ở vi sinh vật gây bệnh và hạn chế tồn dư hóa chất trong môi trường. Trong những thập kỷ gần đây, việc ứng dụng lợi khuẩn probiotic trong kiểm soát sinh học nhận được nhiều sự quan tâm. Trong đó, vi khuẩn lactic (LAB) được nghiên cứu rộng rãi nhờ khả năng kiểm soát vi sinh vật gây bệnh thông qua các sản phẩm chuyển hóa thứ cấp. Bacteriocin, các peptide có khối lượng thấp, là yếu tố chính ức chế nấm mốc và vi khuẩn [4].

Exopolysaccharides (EPS) cải thiện tính ổn định, cảm quan thực phẩm và ngăn vi sinh vật gây hại bằng cách phá vỡ màng tế bào và ADN. Các axit hữu cơ như lactic, acetic, propionic làm giảm pH môi trường, cản trở sự phát triển của vi sinh vật [5]. Ngoài ra, hợp chất hữu cơ dễ bay hơi (VOCs) từ LAB cải thiện mùi thơm và ức chế nấm mốc [6]. Với các cơ chế này, LAB là giải pháp tiềm năng để kiểm soát bệnh mốc xám trên dâu tây và bảo quản thực phẩm [5, 7]. Nghiên cứu của Chen và cs (2018) [8] chỉ ra rằng, các chủng nấm men có khả năng ức chế bệnh mốc xám trên dâu tây bằng cách sản sinh các hợp chất hữu cơ dễ bay hơi, ngăn chặn sự phát triển của sợi nấm. Tương tự, sự kết hợp giữa LAB và *Bacillus* spp. đã được chứng minh hiệu quả trong việc kiểm soát nấm *Colletotrichum* spp. gây bệnh trên đu đủ sau thu hoạch [9].

Dịch chiết nha đam là nguyên liệu tự nhiên giàu dinh dưỡng và chứa nhiều hợp chất bioactive như: Glycoprotein, lectin, anthraquinone và đặc biệt là acemannan – một polysaccharide gồm mannose, glucose và galactose, có đặc tính kháng khuẩn và chống oxy hóa [10]. Những hợp chất này tạo độ nhớt cho nha đam, hình thành lớp màng bảo vệ khi phủ lên bề mặt dâu tây, giúp giảm thoát hơi nước và ngăn chặn sự tấn công của các tác nhân gây bệnh từ bên ngoài. Ngoài ra, LAB nổi tiếng với khả năng kháng khuẩn và kháng nấm nhờ sản sinh các hợp chất thứ cấp trong quá trình lên men. Dịch nha đam lên men với *Enterococcus faecium* và *Lactobacillus lactis* đã được chứng minh có hoạt tính kháng khuẩn và được ứng dụng như một loại nước giải khát [8]. Sự kết hợp giữa dịch nha đam và LAB cho thấy tiềm năng lớn trong việc kiểm soát vi khuẩn và nấm gây bệnh, mở ra triển vọng ứng dụng trong bảo quản nông sản sau thu hoạch.

Nghiên cứu này bước đầu tập trung đánh giá hiệu quả kiểm soát nấm *Botrytis cinerea* gây thối quả dâu tây bằng chiết xuất nha đam lên men *Lactiplantibacillus plantarum* YU2404, *Limosilactobacillus fermentum* YU2405 nhằm tạo tiền đề cho những nghiên cứu về sau.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Vi khuẩn *Lactiplantibacillus plantarum* YU2404, *Limosilactobacillus fermentum* YU2405 và chủng nấm *Botrytis cinerea* YU2403 được lưu trữ tại Phòng Ứng dụng Vi sinh vật, Trung tâm Thí nghiệm - Thực hành, Trường Đại học Yersin Đà Lạt.

Quả dâu tây được mua tại vườn dâu tây ở thành phố Đà Lạt có độ chín đồng đều, khối lượng gần tương đương và không xuất hiện các vết bệnh cũng như các tổn thương vật lý trên bề mặt quả.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chuẩn bị dịch nha đam

Dịch nha đam được chuẩn bị bằng cách hòa tan 1 g bột nha đam (Taphaco, Việt Nam) và 45 mg cellulase (Bosf, Trung Quốc) trong 30 mL nước cất, sau đó ủ ở 45°C trong 1 giờ trong bể ổn nhiệt (hãng Memmert, model: WNB14). Sau khi ủ, lọc bỏ phần cặn để thu được phần dịch chiết hoàn chỉnh. Phần dịch nha đam được thanh trùng ở 75°C trong 30 phút và làm lạnh ngay lập tức trước khi được sử dụng để lên men.

2.2.2. Lên men và thu hồi chiết xuất nha đam lên men

Hai chủng vi khuẩn *Lb. plantarum* YU2404 và *Lb. fermentum* YU2405 được hoạt hoá và tăng sinh trên môi trường canh thang MRS (g/L: Pepton 10 g, cao thịt 10 g, cao nấm men 5 g, D-glucose 20 g, sodium acetate 5 g, triamoniumcitrate 2 g, K₂HPO₄ 2 g, MgSO₄ 2 g, MnSO₄ 0,05 g, thạch 16 g) trong 16 - 18 giờ ở 37°C với tốc độ lắc 150 vòng/phút bằng máy lắc ầm (hãng Jinghong, model: THZ-312). Một thể tích chứa chủng LAB được thêm vào dịch nha đam gồm: TN1: 5% (v/v) chủng *Lb. plantarum* YU2404, TN2: 5% (v/v) *Lb. fermentum* YU2405 và TN3: kết hợp 5% (v/v) chủng *Lb. plantarum* YU2404 và 5% (v/v) *Lb. fermentum* YU2405. Các nghiệm thức được lên men ở 37°C với tốc độ lắc 150 vòng/phút. Sau 48 giờ lên men, dịch lên men vô bào sẽ được thu hồi bằng cách ly tâm ở tốc độ 5.000 vòng/phút trong 20 phút. Sau khi ly tâm, phần dịch nổi được lọc qua bộ lọc chân không vô trùng với kích cỡ màng lọc 0,22 µm và bảo quản ở 4°C cho đến khi sử dụng.

2.2.3. Đánh giá khả năng ức chế hệ sợi nấm *B. cinerea* của chiết xuất nha đam lên men

Khả năng ức chế sự phát triển sợi nấm *B. cinerea* được đánh giá theo phương pháp của Chen và cs (2020) [5]. Chiết xuất nha đam lên men từ TN1, TN2, TN3 (10% v/v, mục 2.2.2) được bổ sung vào thạch Potato Dextrose Agar (PDA, Oxoid, Anh) ở 50°C trước khi được phân phối vào đĩa petri (90 mm). Đối chứng sử dụng PDA bổ sung chiết xuất nha đam không lên men (10% v/v). Khóm nấm *B. cinerea* (đường kính 6 mm) được đặt tâm chính giữa đĩa thạch. Thí nghiệm bố trí ngẫu nhiên hoàn toàn với 4 nghiệm thức: Đối chứng (chiết xuất không lên men) và 3 chiết xuất lên men (TN1, TN2, TN3), mỗi nghiệm thức lặp 3 lần, tổng cộng 12 đĩa. Các đĩa được ủ ở 25 ± 2°C trong bóng tối đến khi sợi nấm trong đối chứng phủ kín đĩa (5 - 7 ngày). Đường kính khuẩn lạc nấm được đo bằng thước kẹp điện tử và tỷ lệ ức chế tăng trưởng hệ sợi nấm (GI) được tính theo công thức:

$$\% GI = \left[\frac{(D_c + D_t)}{D_c} \right] \times 100$$

Trong đó: D_c và D_t lần lượt là kích thước đường kính hệ sợi nấm trên đĩa đối chứng và ở đĩa thử nghiệm.

2.2.4. Đánh giá khả năng ức chế khả năng nảy mầm của bào tử nấm *B. cinerea* của chiết xuất nha đam lên men

Khả năng ức chế nảy mầm bào tử nấm *B. cinerea* được đánh giá theo phương pháp của Zou và cs (2023) [11] với một số điều chỉnh. Cụ thể, 10% (v/v) chiết xuất nha đam lên men (TN1, TN2, TN3) và chiết xuất nha đam chưa lên men (đối chứng) được bổ sung vào môi trường Sabouraud agar (Oxoid, Anh). Sau đó, 20 µl dung dịch bào tử nấm (10^5 bt/mL) được rải đều trên đĩa thạch và ủ ở 25 ± 2°C. Thí nghiệm bố trí ngẫu nhiên hoàn toàn với 4 nghiệm thức: Đối chứng (chiết xuất không

lên men) và 3 chiết xuất lên men (TN1, TN2, TN3), mỗi nghiệm thức lặp 3 lần, tổng cộng 12 đĩa. Quá trình ủ kéo dài 12 giờ cho đến khi tỷ lệ nảy mầm ở nhóm đối chứng đạt trên 90%, với ống mầm dài hơn một nửa đường kính bào tử. Tỷ lệ nảy mầm được quan sát dưới kính hiển vi ở độ phóng đại 40x, đếm 200 bào tử tại 3 vi trường cho mỗi mẫu, lặp lại 3 lần. Khả năng ức chế nảy mầm bào tử (SGI) được tính theo công thức sau:

$$\%SGI = \left(\frac{n-t}{n} \right) \times 100$$

Trong đó: n và t lần lượt là tổng số bào tử đã nảy mầm ở nghiệm thức đối chứng và các nghiệm thức với chiết xuất nha đam lên men.

2.2.5. Hiệu quả bảo vệ quả dâu tây của chiết xuất nha đam lên men

Dâu tây được rửa qua với nước máy, sau đó khử trùng bề mặt quả với 0,1% NaClO trong 1 phút. Tiếp tục tiến hành rửa quả trong điều kiện vô trùng bằng 70% ethanol trong 30 giây và rửa qua 3 lần nước cất vô trùng để loại bỏ ethanol, làm khô tự nhiên trong không khí ở nhiệt độ phòng. Sau đó, dâu tây được nhúng ngập trong dung dịch chứa bào tử nấm *B. cinerea* (10^5 bt/mL) trong 30 giây, để khô ở nhiệt độ phòng rồi nhúng vào các dung dịch xử lý trong 1 phút và để khô. Thí nghiệm bố trí ngẫu nhiên hoàn toàn với 4 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức gồm 20 quả dâu tây, lặp lại 3 lần, tổng cộng 240 quả. Mỗi quả sau khi xử lý được bảo quản riêng trong một túi polyetylen tại 25 ± 2°C, độ ẩm 90 - 95%, trong 5 ngày. Mức độ nghiêm trọng của bệnh (DS) được đánh giá dựa trên tỷ lệ tổn thương bề mặt quả theo thang điểm 0 - 4: 0 (không có triệu chứng), 1 (1 - 25%), 2 (26 - 50%), 3 (51 - 75%), 4 (76 - 100%) và được tính theo công thức được mô tả bởi Menéndez-Cañamares và cs (2024) [12].

$$DS = \frac{\sum(\text{Số quả bị tổn thương ở từng mức độ tổn thương} \times \text{Giá trị đại diện mức độ tổn thương})}{\sum(\text{Tổng số quả} \times \text{Giá trị đại diện cao nhất})} \times 100\%$$

Bên cạnh đó, hiệu quả kiểm soát bệnh được xác định dựa theo công thức được mô tả bởi Shi và Sun (2017) [13]:

$$CE = \frac{DI \text{ Đối chứng} - DI \text{ Thí nghiệm}}{DI \text{ Đối chứng}} \times 100\%$$

2.2.6. Đánh giá hiệu quả đối kháng *B. cinerea* trong các công thức chiết xuất nha đam lên men

Để tối ưu hóa công thức lên men nha đam, dịch nha đam được chuẩn bị theo phương pháp ở mục 2.1, sau đó bổ sung đường và sữa gầy (skim

milk) theo tỷ lệ công thức trong bảng 1. Hỗn hợp được thanh trùng ở 75°C trong 30 phút, làm lạnh ngay xuống 4°C để đảm bảo an toàn vi sinh và duy trì chất lượng. Dịch nha đam đã xử lý được lên men bằng cách bổ sung 5% (v/v) *Lb. plantarum* YU2404 và 5% (v/v) *Lb. fermentum* YU2405 (tổng 10% v/v), theo quy trình ở mục 2.2.2, tại 37°C trong 48 giờ. Thí nghiệm bố trí ngẫu nhiên hoàn toàn với

4 nghiệm thức (3 công thức từ bảng 1 và 1 đối chứng là dịch nha đam chưa lên men), mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần, tổng cộng 12 mẫu (4 × 3). Sau khi lên men, khả năng ức chế sự phát triển của hệ sợi nấm và ức chế bào tử nấm *B. cinerea* của dịch nha đam được đánh giá theo các phương pháp mô tả ở mục 2.2.3 và 2.2.4.

Bảng 1. Thành phần carbohydrate và protein được bổ sung vào dịch nha đam

Nghiệm thức	Công thức
OP1	Đối chứng, không bổ sung carbohydrate và protein
OP2	Bổ sung 5% (w/v) glucose và 5% (w/v) skimmed milk (Himedia, Ấn Độ)
OP3	Bổ sung 5% (w/v) đường ăn tinh luyện và 5% (w/v) sữa bột tách béo thương mại (Nutrifoood, Việt Nam)

2.2.7. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel và R-studio. Các nghiệm thức được lặp lại 3 lần để tính giá trị trung bình, độ lệch chuẩn, sự khác biệt có ý nghĩa giữa các mẫu thí nghiệm được xác định bằng phương pháp thống kê ANOVA. Giá trị $p < 0,05$ được xem là sai khác có ý nghĩa.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hiệu quả ức chế hệ sợi nấm *B. cinerea* phát triển của chiết xuất nha đam lên men

Các chiết xuất nha đam lên men được khảo sát cho thấy khả năng ức chế hệ sợi nấm *B. cinerea* trên môi trường thạch PDA. Cụ thể, chiết xuất nha

đam được lên men đồng thời với hai chủng vi khuẩn *Lb. plantarum* YU2404 và *Lb. fermentum* U2405 ở nghiệm thức TN3 cho kết quả tốt hơn so với hai nghiệm thức còn lại, với tỷ lệ ức chế đạt $59,26 \pm 5,61\%$ (Hình 1). Kết quả này vượt trội hơn so với kết quả nghiên cứu của Chen và cs (2020) [5], theo đó dịch lên men từ *Lb. plantarum* sau khi lọc không có khả năng ức chế sự phát triển của nấm *B. cinerea*. Tuy nhiên, các nghiên cứu khác đã chỉ ra rằng, LAB có thể ngăn chặn sự phát triển của *B. cinerea* bằng cách tăng cường sản xuất axit lactic, axit acetic, axit propionic..., ngoài ra tác dụng đồng hiệp của các axit này cũng làm gia tăng khả năng kháng nấm [14, 15].

Bảng 2. Tỷ lệ (%) ức chế bào tử nảy mầm và phát triển hệ sợi nấm *B. cinerea* của chiết xuất nha đam lên men (TN1: 5% (v/v) chủng *Lb. plantarum* YU2404, TN2: 5% (v/v) *Lb. fermentum* YU2405 và TN3: Kết hợp 5% (v/v) chủng *Lb. plantarum* YU2404 và 5% (v/v) *Lb. fermentum* YU2405)

Nghiệm thức	Tỷ lệ (%) ức chế bào tử nấm nảy mầm	Tỷ lệ (%) ức chế hệ sợi nấm phát triển
TN1	$67,00^a \pm 3,12$	$50,00^c \pm 3,67$
TN2	$77,17^a \pm 1,53$	$50,93^c \pm 4,88$
TN3	$81,00^a \pm 1,32$	$59,26^c \pm 5,61$

3.2. Hiệu quả ức chế bào tử nấm *B. cinerea* nảy mầm của chiết xuất nha đam lên men

Cả 3 nghiệm thức đều có khả năng ức chế bào tử nấm *B. cinerea* nảy mầm trong điều kiện *in vitro*. Cụ thể, chiết xuất nha đam được lên men

đồng thời với 2 chủng vi khuẩn *Lb. plantarum* YU2404 và *Lb. fermentum* YU2405 có tỷ lệ ức chế bào tử nấm cao nhất, lên đến $81,00 \pm 1,32\%$, tiếp theo là chủng *Lb. fermentum* YU2405 có tỷ lệ ức chế bào tử nấm đạt $77,17 \pm 1,53\%$ và cuối cùng

khuẩn *Lb. plantarum* YU2404 có tỷ lệ ức chế bào tử nấm đạt $67,00 \pm 3,12\%$ (Hình 1). Nghiên cứu của Liu và cs (2023) [15] chỉ ra rằng, việc xử lý bào tử nấm bằng dịch chiết lên men dẫn đến sự thay đổi rõ rệt về cấu trúc bề mặt của bào tử. Kết quả cho thấy, bề mặt tế bào và thành tế bào bị biến dạng, các tế bào chất bên trong bị thoát ra khỏi tế bào. Ngoài ra, đối với những bào tử vẫn có khả năng nảy mầm, sợi nấm cũng bị teo tóp và biến dạng nghiêm trọng [16]. Từ kết quả trên có thể thấy rằng, chiết xuất nha đam lên men bằng LAB có khả năng kiểm soát nấm *B. cinerea*, bên cạnh đó việc kết hợp lên men đồng thời 2 chủng LAB mang lại kết quả tốt hơn so với việc sử dụng đơn chủng.

3.3. Khả năng bảo quản quả dâu tây bằng chiết xuất nha đam lên men

Các quả dâu tây bị hư hỏng gần như toàn bộ khi được bảo quản ở nhiệt độ phòng trong 5 ngày

Bảng 3. Mức độ nghiêm trọng của bệnh (DS) và hiệu quả kiểm soát bệnh (CE) trên quả dâu tây (TN1: 5% (v/v) chủng *Lb. plantarum* YU2404, TN2: 5% (v/v) *Lb. fermentum* YU2405 và TN3: Kết hợp 5% (v/v) chủng *Lb. plantarum* YU2404 và 5% (v/v) *Lb. fermentum* YU2405)

Nghiem thức	Mức độ nghiêm trọng của bệnh (DS)	Hiệu quả kiểm soát bệnh (CE)
Đối chứng	$97,71^c \pm 2,19\%$	$0,00^d \pm 0,00\%$
TN1	$32,29^a \pm 4,69\%$	$67,00^e \pm 4,26\%$
TN2	$32,92^b \pm 0,72\%$	$66,30^f \pm 1,09\%$
TN3	$17,5^b \pm 1,88\%$	$82,10^f \pm 1,71\%$



Đối chứng

TN1

TN2

TN3

Hình 1. Dâu tây sau 5 ngày bảo quản dưới tác nhân gây bệnh thối quả *B. cinerea* bằng chiết xuất nha đam lên men (TN1: 5% (v/v) chủng *Lb. plantarum* YU2404, TN2: 5% (v/v) *Lb. fermentum* YU2405 và TN3: Kết hợp 5% (v/v) chủng *Lb. plantarum* YU2404 và 5% (v/v) *Lb. fermentum* YU2405)

LAB có thể gây ra các tổn thương màng tế bào và ức chế sự phát triển của bào tử nấm bằng cách sản xuất các hợp chất kháng nấm, axit hữu cơ, axit béo... Peptide kháng nấm thu được từ LAB có thể làm giảm mức độ biểu hiện gen liên quan đến mô phân sinh nấm. Axit béo có thể chèn vào lớp kép lipid của màng nấm và làm tăng tính thấm của màng, dẫn đến giải phóng không kiểm soát các

chất điện giải và protein nội bào. Axit hữu cơ có thể đi qua màng tế bào và phân ly trong tế bào chất, dẫn đến căng thẳng axit [16 - 17].

3.4. Hiệu quả ức chế bào tử nấm nảy mầm và kiểm soát hệ sợi nấm phát triển của các công thức chiết xuất nha đam lên men

Bảng 4. Khả năng ức chế nấm *B. cinerea* của chiết xuất nha đam lên men trong điều kiện *in vitro* (A. Tỷ lệ ức chế bào tử nấm *B. cinerea* nảy mầm và B. Tỷ lệ ức chế hệ sợi nấm phát triển)

Nghiệm thức	Tỷ lệ ức chế bào tử nấm nảy mầm (%)	Tỷ lệ ức chế hệ sợi nấm phát triển (%)
OP1	79,83 ^a ± 0,76	55,09 ^a ± 4,24
OP2	81,67 ^a ± 2,52	70,83 ^b ± 3,67
OP3	83,17 ^a ± 2,25	69,44 ^b ± 5,56

Kết quả bảng 4 cho thấy, việc bổ sung nguồn carbohydrate và protein vào dịch nha đam trước khi lên men giúp nâng cao hiệu quả kiểm soát nấm *B. cinerea* so với trường hợp không bổ sung dinh dưỡng. Cụ thể, nghiệm thức OP3 đạt tỷ lệ ức chế bào tử nảy mầm cao nhất (83,17 ± 2,25%), trong khi nghiệm thức OP2 ghi nhận tỷ lệ ức chế hệ sợi phát triển cao nhất (70,83 ± 3,67%) (Hình 4). Phân tích thống kê cho thấy, không có sự khác biệt ý nghĩa về tỷ lệ ức chế bào tử nảy mầm giữa các nghiệm thức, nhưng tỷ lệ ức chế hệ sợi phát triển ở nghiệm thức OP2 và OP3 có khác biệt nhưng không có ý nghĩa thống kê.

Nguồn carbohydrate và protein bổ sung không chỉ cung cấp dinh dưỡng cho LAB phát triển mà còn cải thiện khả năng kiểm soát nấm *B. cinerea*. Nghiên cứu của Jiang và cs (2016) [18] cũng chỉ ra rằng, chiết xuất nha đam lên men với LAB, khi bổ sung 5% glucose, giúp tăng cường hiệu quả kháng khuẩn. Ngoài ra, để áp dụng trong công nghệ sản xuất chế phẩm bảo quản dầu tây sau thu hoạch, việc sử dụng nghiệm thức OP3 được đánh giá là mang lại hiệu quả kinh tế cao hơn, đồng thời vẫn đảm bảo khả năng kháng *B. cinerea*. Tuy nhiên, chiết xuất nha đam lên men OP3 cần được nghiên cứu chuyên sâu hơn nhằm đánh giá thành phần các hợp chất thứ cấp sinh ra

trong quá trình lên men, cũng như khả năng kiểm soát các chủng nấm gây thối hỏng khác.

4. KẾT LUẬN

Chiết xuất nha đam được lên men đồng thời bằng 5% (v/v) chủng *Lb. plantarum* YU2404 và 5% (v/v) *Lb. fermentum* YU2405 có khả năng ức chế sinh trưởng và phát triển của nấm *B. cinerea* thông qua khả năng ức chế hệ khả năng nảy mầm của bào tử nấm và phát triển của hệ sợi nấm với tỷ lệ ức chế đạt lần lượt 59,26 ± 5,61% và 81,00 ± 1,32%. Thể hiện hiệu quả bảo vệ quả dâu tây trước tác nhân *B. cinerea* gây hiện tượng thối quả với hiệu quả kiểm soát bệnh (%CE) đạt 82,10 ± 1,71%. Ngoài ra, khi được bổ sung đồng thời nguồn carbohydrate và protein, chiết xuất nha đam lên men mang lại hiệu quả kiểm soát nấm *B. cinerea* tốt hơn khi không bổ sung hoặc chỉ bổ sung một nguồn dinh dưỡng. Đường ăn tinh luyện và sữa bột tách béo thương phẩm được lựa chọn làm nguồn dinh dưỡng bổ sung cho quá trình lên men dịch nha đam để sử dụng cho các thí nghiệm trong tương lai nhờ đáp ứng nhu cầu về giá thành và hiệu quả kiểm soát nấm *B. cinerea*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Giampieri, F., Tulipani, S., Alvarez-Suarez, J. M., Quiles, J. L., Mezzetti, B. & Battino, M. (2012). The strawberry: Composition, nutritional

- quality and impact on human health. *Nutrition*, 28(1), 9 - 19.
2. Feliziani, E. & Romanazzi, G. (2016). Postharvest decay of strawberry fruit: Etiology, epidemiology and disease management. *Journal of Berry Research*, 6(1), 47 - 63.
3. Dean, R., Van Kan, J. A., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., ... & Foster, G. D. (2012). The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular plant pathology*, 13(4), 414 - 430.
4. Liu, A., Xu, R., Zhang, S., Wang, Y., Hu, B., Ao, X., ... & Liu, S. (2022). Antifungal mechanisms and application of lactic acid bacteria in bakery products: a review. *Frontiers in Microbiology*, 13, 924398 - 924409.
5. Chen, C., Cao, Z., Li, J., Tao, C., Feng, Y. & Han, Y. (2020). A novel endophytic strain of *Lactobacillus plantarum* CM-3 with antagonistic activity against *Botrytis cinerea* on strawberry fruit. *Biological Control*, 148, 104306.
6. De Simone, N., López, L., Ciudad, C. S., Scauro, A., Russo, P., Rodríguez, J., ... & Martínez, B. (2024). Antifungal activity of *Lactiplantibacillus plantarum* isolated from fruit and vegetables and detection of novel antifungal VOCs from fungal-LAB co-cultures. *Food Bioscience*, 58, 103824.
7. Khodaei D., Hamidi-Esfahani Z. (2019). Influence of bioactive edible coatings loaded with *Lactobacillus plantarum* on physicochemical properties of fresh strawberries. *Postharvest Biology and Technology*, 156, 110944.
8. Chen, P. H., Chen, R. Y. & Chou, J. Y. (2018). Screening and evaluation of yeast antagonists for biological control of *Botrytis cinerea* on strawberry fruits. *Mycobiology*, 46(1), 33 - 46.
9. Thi, Q. V. C., Dung, T. Q., Hunh, N. T. N., Truc, N. T. & Thuy, N. P. (2023). Effect of lactic acid bacteria and *Bacillus* on anthracnose disease in postharvest papaya fruit. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 24(11). 5883 - 5894.
10. Minjares-Fuentes, R., Femenia, A., Comas-Serra, F. & Rodríguez-González, V. M. (2018). Compositional and structural features of the main bioactive polysaccharides present in the *Aloe vera* plant. *Journal of AOAC International*, 101(6), 1711 - 1719.
11. Zou, X., Wei, Y., Zhu, J., Sun, J. & Shao, X. (2023). Volatile organic compounds of *Scheffersomyces spartinae* W9 have antifungal effect against *Botrytis cinerea* on strawberry fruit. *Foods*, 12(19), 3619 - 3640.
12. Menéndez-Cañamares, S., Blázquez, A., Albertos, I., Poveda, J. & Díez-Méndez, A. (2024). Probiotic *Bacillus subtilis* SB8 and edible coatings for sustainable fungal disease management in strawberry. *Biological Control*, 196, 105572.
13. Shi, J. F. & Sun, C. Q. (2017). Isolation, identification and biocontrol of antagonistic bacterium against *Botrytis cinerea* after tomato harvest. *Brazilian Journal of Microbiology*, 48(4), 706 - 714.
14. Gerez, C. L., Torres, M. J., De Valdez, G. F. & Rollán, G. (2013). Control of spoilage fungi by lactic acid bacteria. *Biological Control*, 64(3), 231 - 237.
15. Liu, H., Zhang, R., Zhang, Q., Tian, M., Ren, X., Wang, L. & Wang, X. (2023). Antifungal activity of cell-free supernatants from *Lactobacillus pentosus* 86 against *Alternaria gaisen*. *Horticulturae*, 9(8), 911 - 925.
16. Guimarães A., Venâncio A. (2022). The potential of fatty acids and their derivatives as antifungal agents: A review. *Toxins*, 14(3), 188 - 208.
17. Leon, R., Ruiz, M., Valero, Y., Cardenas, C., Guzman, F., Vila, M. & Cuesta, A. (2020). Exploring small cationic peptides of different origin as potential antimicrobial agents in aquaculture. *Fish & Shellfish Immunology*, 98, 720 - 727.
18. Jiang, M., Deng, K., Jiang, C., Fu, M., Guo, C., Wang, X., ... & Xin, H. (2016). Evaluation of the antioxidative, antibacterial and anti-inflammatory effects of the aloe fermentation supernatant containing *Lactobacillus plantarum* HM218749.1. *Mediators of Inflammation*, 2016(1), 2945650.

ANTIFUNGAL EFFICACY OF FERMENTED ALOE EXTRACT WITH *Lactiplantibacillus plantarum* YU2404 AND *Limosilactobacillus fermentum* YU2405 AGAINST *Botrytis cinerea*

Le Thi Loan¹, Nguyen Van Tu¹,
Nguyen Thi Tam¹, Nguyen Thi Ngoc Nhi², Vo Hoai Hieu¹

¹Yersin University of Da Lat

²Thu Dau Mot University

Abstract

Aloe vera extract fermented by lactic acid bacteria demonstrated antifungal activity against *Botrytis cinerea*, the causative agent of postharvest strawberry fruit rot. The study revealed that *Aloe vera* extract fermented with *Limosilactobacillus fermentum* YU2404 and *Lactiplantibacillus plantarum* YU2405, particularly when simultaneously combined, exhibited enhanced antifungal activity. Specifically, the extract in TN3 achieved a fungal spore inhibition rate of $81.00 \pm 1.23\%$, a mycelial inhibition rate of $59.26 \pm 5.61\%$ and a fruit rot control rate of $82.10 \pm 1.71\%$ against *B. cinerea*. Additionally, supplementing the extract with nutrient sources - OP2 (glucose and skimmed milk) and OP3 (refined table sugar and commercial skimmed milk powder); further improved antifungal activity, with mycelial inhibition rates reaching $70.83 \pm 3.67\%$ (OP2) and $69.44 \pm 5.56\%$ (OP3), and spore germination inhibition rates of $81.67 \pm 2.52\%$ (OP2) and $81.17 \pm 2.25\%$ (OP3). For practical applications, the extract fermented with both strains and supplemented with 5% (w/v) refined table sugar and 5% (w/v) skimmed milk powder offers economic efficiency. However, further in-depth studies are needed to explore potential applications of the OP3-fermented aloe vera extract.

Keywords: *Limosilactobacillus fermentum*, *Lactiplantibacillus plantarum*, antifungal, *Aloe vera*.

Ngày nhận bài: 22/4/2025

Ngày chuyển phản biện: 28/4/2025

Ngày thông qua phản biện: 19/5/2025

Ngày duyệt đăng: 29/5/2025