

ẢNH HƯỞNG CỦA DỊCH CHIẾT XƠ DỪA ĐẾN KHẢ NĂNG ỨC CHẾ NẤM *Colletotrichum* sp. GÂY BỆNH THÁN THƯ TRÊN TRÁI ĐU ĐỦ (*Carica papaya* L.) SAU THU HOẠCH

Nguyễn Trung Trục^{1*}, Quách Văn Cao Thi¹, Nguyễn Thị Như Huỳnh¹

¹ Khoa Khoa học Sinh học ứng dụng, Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Vĩnh Long

*Email: trucnt@vlute.edu.vn

TÓM TẮT

Bệnh thán thư do nấm *Colletotrichum* sp. gây ảnh hưởng lớn đến năng suất và chất lượng của trái đu đủ sau thu hoạch. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của dịch chiết xơ dừa lên khả năng ức chế nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư trên trái đu đủ sau thu hoạch. Kết quả cho thấy, chủng nấm *Colletotrichum* sp. (DD1) đã được phân lập từ trái đu đủ nhiễm bệnh tự nhiên tại tỉnh Vĩnh Long. Trái đu đủ sau khi lây nhiễm nhân tạo có các dấu hiệu bệnh tương tự đu đủ nhiễm bệnh thán thư ngoài tự nhiên. Kết quả giải trình tự gen cho thấy, chủng DD1 tương đồng 100% so với chủng *Colletotrichum siamense* trên ngân hàng gene. Kết quả nghiên cứu cho thấy, dịch chiết xơ dừa ức chế hiệu quả sự phát triển của sợi nấm *Colletotrichum* sp. Ở nồng độ 100 µg/mL và 200 µg/mL, dịch chiết xơ dừa có hoạt tính ức chế cao nhất lần lượt là 62% và 78,5%. Đặc biệt, hoạt tính kháng nấm duy trì 100% từ ngày thứ 2 đến ngày thứ 10 khi dịch chiết xơ dừa ở nồng độ 400 - 1.000 µg/mL. Bên cạnh đó, dịch chiết cũng làm giảm khả năng nảy mầm của bào tử nấm với nồng độ 5 mg/mL thể hiện sự ức chế hoàn toàn. Kết quả quan sát dưới kính hiển vi cho thấy, các sợi nấm bị biến dạng, dày lên và không tạo bào tử trong môi trường có dịch chiết. Nghiên cứu cho thấy, tiềm năng ứng dụng của dịch chiết xơ dừa vào các phương pháp quản lý dịch hại bền vững nhằm hạn chế sự phụ thuộc vào hóa chất bảo vệ thực vật.

Từ khóa: Bệnh thán thư, *Colletotrichum* sp., dịch chiết xơ dừa, đu đủ, sau thu hoạch.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đu đủ (*Carica papaya* L.) không chỉ là một loại trái cây quen thuộc mà còn là trụ cột kinh tế của nhiều cộng đồng nông nghiệp tại các quốc gia nhiệt đới và cận nhiệt đới trên khắp thế giới. Đu đủ có vị thơm ngon đặc trưng và có giá trị dinh dưỡng cao như: Vitamin A, E, C và các hợp chất chống oxy hóa đóng vai trò quan trọng trong việc bảo vệ cơ thể khỏi các gốc tự do, tăng cường hệ miễn dịch và duy trì sức khỏe [1]. Tuy nhiên, tiềm năng to lớn của cây đu đủ thường xuyên bị đe dọa bởi các bệnh nấm, trong đó bệnh thán thư do các loài *Colletotrichum* sp. gây ra được xem là một trong những thách thức lớn nhất, đặc biệt là trong giai đoạn sau thu hoạch [2]. Sự bùng phát của bệnh thán thư có thể gây ra những tổn thất nặng nề về

năng suất và chất lượng, ảnh hưởng trực tiếp đến thu nhập của người nông dân và khả năng cung cấp trái cây tươi ngon cho thị trường. Quả đu đủ bị nhiễm bệnh thường biểu hiện qua các đốm nâu xấu xí trên bề mặt vỏ, sau đó nhanh chóng lan rộng và ăn sâu vào phần thịt, gây ra hiện tượng thối nhũn. Quá trình này không chỉ làm giảm giá trị cảm quan của quả mà còn khiến chúng trở nên dễ hư hỏng, khó bảo quản, gây thiệt hại lớn cho người nông dân và các nhà phân phối [3]. Theo Hodges và cs (2011) [4], các tác nhân vi sinh vật, trong đó có nấm bệnh là nguyên nhân dẫn đến khoảng 30% tổn thất sau thu hoạch của trái cây và rau quả tại các nước đang phát triển. Đáng chú ý, phần lớn tổn thất này có thể do sự xâm lấn của nấm trong suốt quá trình lưu trữ và vận chuyển

[5]. Để kiểm soát bệnh thán thư gây ra bởi *Colletotrichum* sp., đa phần người nông dân thường sử dụng thuốc diệt nấm có nguồn gốc hóa học bao gồm cả giai đoạn trước và sau khi thu hoạch [6]. Tuy nhiên, việc lạm dụng các loại thuốc bảo vệ thực vật đã gây ra nhiều hệ lụy nghiêm trọng như ô nhiễm môi trường đất, nước và không khí. Ngoài ra, dư lượng thuốc bảo vệ thực vật có thể tồn tại trên quả, gây nguy hiểm cho sức khỏe người tiêu dùng và có thể gia tăng nguy cơ tạo ra các chủng nấm kháng thuốc. Trong khi đó, bệnh thán thư gây ra bởi nấm *Colletotrichum* sp. làm giảm giá trị của các sản phẩm nông nghiệp xuất khẩu và ảnh hưởng đến khả năng cạnh tranh trên thị trường quốc tế [7]. Do đó, nhu cầu về các loại thực phẩm tự nhiên, không chứa dư lượng hóa chất đang ngày càng gia tăng [8]. Nhiều nghiên cứu đã và đang được tiến hành nhằm tìm kiếm các giải pháp bảo quản thay thế, vừa giảm thiểu các tác động tiêu cực trong quá trình bảo quản, vừa đảm bảo chất lượng và an toàn thực phẩm [8 - 10].

Từ thực tế trên, việc tìm các biện pháp kiểm soát nấm *Colletotrichum* sp. mới theo hướng tiếp cận an toàn sinh học, như việc sử dụng các chất có khả năng ức chế nấm từ thực vật đang trở thành một hướng nghiên cứu đầy hứa hẹn. Các hợp chất hoạt tính sinh học có nguồn gốc thực vật đã được chứng minh là những tác nhân kháng nấm hiệu quả, đồng thời mang lại nhiều lợi ích đáng kể, bao gồm khả năng phân hủy sinh học một cách tự nhiên, giảm thiểu tác động tiêu cực đến hệ sinh thái và thậm chí còn có thể hỗ trợ sự phát triển của cây trồng [11]. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng, các chất chiết xuất từ một số loài thực vật thông dụng như: Củ nghệ (*Curcuma longa* L.), gừng (*Zingiber officinale* Roscoe), tỏi (*Allium sativum*), củ riềng (*Alpinia galanga* L. Willd), rau má (*Centella asiatica* L.), dương xỉ (*Dicranopteris linearis*), khổ qua (*Momordica charantia* L.), thể hiện khả năng đối kháng nấm *Colletotrichum* spp. [12]. Trong bối cảnh tìm kiếm các nguồn tài nguyên mới, việc nghiên cứu tiềm năng kháng nấm của dịch chiết xơ dừa, một phế phẩm nông nghiệp thường bị bỏ đi là một hướng tiếp cận đầy hứa hẹn. Các nghiên cứu trước đây chứng minh

rằng, xơ dừa chứa các hợp chất phenolic như Gallic axit, 4-hydroxybenzoic axit, kaempferol, vanillin, catechin, tannin có tính kháng vi khuẩn, nấm mốc và nấm men [13 - 15]. Như vậy có thể thấy, dịch chiết xơ dừa có tiềm năng ức chế nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư trên trái đu đủ sau thu hoạch. Vì vậy, mục tiêu của nghiên cứu này là phân lập, định danh và khảo sát nồng độ ức chế của dịch chiết xơ dừa đối với nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư trên trái đu đủ sau thu hoạch.

2. PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Phương pháp thu mẫu và phân lập nấm *Colletotrichum* sp.

Mẫu đu đủ bị nhiễm bệnh thán thư sau thu hoạch được thu thập từ vườn trồng đu đủ tại huyện Long Hồ, tỉnh Vĩnh Long. Những trái đu đủ bị bệnh biểu hiện các đặc điểm nhiễm bệnh thán thư đặc trưng như: Những đốm nhỏ hình tròn, có màu nâu hoặc đen và hơi lõm xuống. Ở một số trường hợp nặng hơn, vết bệnh có thể lan rộng và phát triển thành hình bầu dục, với màu sắc thay đổi từ vàng đến trắng xám, đôi khi có màu đen. Các trái đu đủ có dấu hiệu bệnh được thu hái cẩn thận và vận chuyển về phòng thí nghiệm để tiến hành phân lập nấm. Trước tiên, mẫu bệnh được rửa bằng nước cất đã được khử trùng nhằm loại bỏ bụi bẩn và các tạp chất bám trên bề mặt. Tiếp theo, bề mặt trái được lau nhẹ nhàng bằng cồn 70° để khử trùng. Mẫu bệnh sau đó được cắt thành những miếng nhỏ hình vuông với kích thước khoảng 1 - 3 mm mỗi cạnh, sao cho mỗi miếng đều chứa cả phần mô bị bệnh và phần mô khỏe. Mẫu bệnh sau đó được khử trùng bằng cách ngâm trong dung dịch javen 1% trong 1 phút, sau đó rửa lại bằng nước cất khử trùng để loại bỏ hoàn toàn javen. Cuối cùng, các mẫu bệnh đã xử lý được đặt lên bề mặt môi trường PDA (Potato Dextrose Agar, Himedia, Ấn Độ) và ủ trong tủ ẩm ở nhiệt độ ổn định $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ [12]. Chủng nấm thu được sau quá trình phân lập và làm thuần sẽ được định danh sơ bộ dựa trên các đặc điểm hình thái quan sát được của hệ sợi nấm và bào tử, thông qua quan sát bằng mắt thường và kính hiển vi [16].

2.2. Phương pháp xác định khả năng gây bệnh của các chủng nấm phân lập trên trái đu đủ

Để xác định khả năng gây bệnh của các chủng nấm phân lập được, nghiên cứu đã tiến hành thí nghiệm lây nhiễm trên trái đu đủ khỏe mạnh theo quy trình có điều chỉnh của Marin và cs (1996) [17]. Cụ thể, những trái đu đủ xanh, không bị trầy xước được rửa kỹ nhiều lần dưới vòi nước chảy. Tiếp theo, bề mặt trái được khử trùng bằng cách lau cẩn thận với cồn 70° và sau đó rửa lại 3 lần bằng nước cất vô trùng. Trái đu đủ được tạo vết thương nhỏ trên vỏ (lỗ 5 mm) bằng dụng cụ vô trùng, sau đó đặt khoanh thạch PDA chứa khuẩn ty nấm *Colletotrichum* đã được phân lập và làm thuần vào. Các trái đu đủ sau khi lây nhiễm được đặt trong hộp nhựa kín, lót giấy thấm ẩm để duy trì độ ẩm cao và ủ ở nhiệt độ phòng trong bóng tối trong một tuần để quan sát và ghi nhận các triệu chứng bệnh. Để chứng minh định đề Koch, mẫu nhiễm bệnh được phân lập lại nấm từ các vết bệnh phát triển trên trái đu đủ đã lây nhiễm và so sánh đặc điểm hình thái của chủng nấm này với chủng nấm ban đầu.

2.3. Phương pháp định danh nấm *Colletotrichum* spp. bằng kỹ thuật PCR

Sau khi lây nhiễm, chủng nấm DD1 được định danh bằng phương pháp giải trình tự vùng ITS (Internal Transcribed Spacer). ADN của nấm gây bệnh được tách chiết theo quy trình của Trần Nhân Dũng (2011) [18]. Tiếp theo, vùng ITS của nấm được khuếch đại thông qua phản ứng PCR sử dụng cặp mồi ITS1: 5'-TCCGTTAGGTGAACC TGCGG-3' và ITS4: 5'-TCCGTTAGGTGAAC CTGCGG-3' [19]. Phản ứng PCR được thực hiện trong tổng thể tích 25 µL, bao gồm các thành phần sau: 8,5 µL nước cất hai lần (BiH₂O), 12,5 µL hỗn hợp gồm dung dịch đệm PCR (PCR Buffer 10X), dNTPs (với nồng độ 200 µM), MgCl₂ (nồng độ 1,5 mM), enzyme *Taq* ADN polymerase (2,5 UD), 2,0 µL ADN khuôn (40 ng), 1,0 µL mồi xuôi ITS1 (20 pmol) và 1,0 µL mồi ngược ITS4 (20 pmol). Sản phẩm PCR thu được (600 bp) được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1,5%, sau đó được gửi đến Công ty TNHH DNA SEQUENCING (thành phố Cần Thơ) để tiến hành giải trình tự.

2.4. Phương pháp thu mẫu và tách chiết dịch chiết xơ dừa

Dịch chiết xơ dừa (*Cocos nucifera* Linn.) được chuẩn bị và trích ly theo phương pháp của Buamard và Benjakul (2015) [20] với một số điều chỉnh. Xơ dừa đã loại bỏ vỏ được thu nhận tại vườn ở huyện Long Hồ, tỉnh Vĩnh Long và được vận chuyển đến Phòng thí nghiệm của Khoa Khoa học Sinh học ứng dụng, Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Vĩnh Long. Nguyên liệu được sấy bằng không khí nóng ở nhiệt độ 60°C trong 24 giờ. Sau đó, xay nhỏ và sàng qua rây có đường kính 0,2 cm, lấy phần qua rây thực hiện quá trình trích ly. Bột xơ dừa (20 g) được trộn với 500 mL cồn nồng độ 60% (v/v), sau đó được khuấy đều ở tốc độ thấp bằng máy khuấy từ ở nhiệt độ môi trường trong thời gian 4 giờ. Tiếp đến, dung dịch được ly tâm 5.000 × g, trong thời gian 10 phút để thu được dịch chiết. Sau cùng, dịch chiết được loại bỏ dung môi bằng thiết bị cô quay chân không ở nhiệt độ 45°C và tốc độ quay 100 vòng/phút. Cao dịch chiết thu được (4,2 g) bảo quản ở nhiệt độ 4°C đến khi sử dụng cho nghiên cứu.

2.5. Khảo sát hiệu quả ức chế nấm bệnh của dịch chiết xơ dừa

Khả năng ức chế nấm bệnh của dịch chiết được đánh giá bằng phương pháp ức chế sợi nấm và bào tử được thực hiện theo Tyagi và Malik (2010) [21]. Phương pháp đối kháng sợi nấm được chuẩn bị bằng cách sử dụng các khối nấm (đường kính 7 mm) được cắt từ đĩa nấm thuần (5 ngày tuổi) và đặt vào trung tâm đĩa PDA sau khi đã bổ sung dịch trích xơ dừa ở các nồng độ khác nhau từ 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1.000 µg cao dịch chiết/mL (cao dịch chiết được pha trong cồn 60%) và các đĩa đối chứng được sử dụng cồn 60% thay thế cho dịch chiết. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Các đĩa petri thí nghiệm được ủ ở 28 ± 2°C trong 10 ngày để quan sát sự phát triển của sợi nấm. Đường kính tán nấm được đo sau 2, 4, 6, 8, 10 ngày ủ. Hoạt tính kháng nấm (%) đối với sợi nấm được tính theo công thức: HTKN (%) = [(R-r)/R] × 100, với R là đường kính nấm ở đối chứng và r là đường kính nấm ở mẫu có dịch chiết. Đối với phương pháp ức chế bào tử, được thực hiện tương tự như ức chế sợi nấm, huyền phù bào

tử với nồng độ 10^5 bào tử/mL được trải lên môi trường PDA đã được bổ sung dịch chiết ở các nồng độ 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 mg/mL. Các đĩa đối chứng được sử dụng cồn 60% thay thế cho dịch chiết. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần. Các đĩa petri thí nghiệm được ủ ở $28 \pm 2^\circ\text{C}$ trong 3 ngày để quan sát sự nảy mầm của bào tử.

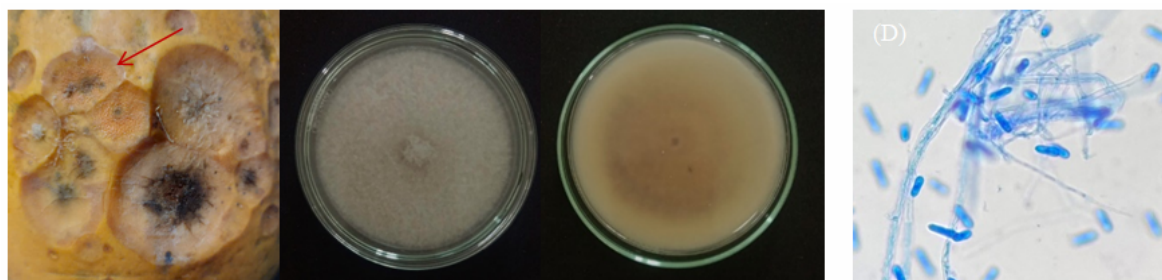
2.6. Phương pháp xử lý số liệu

Dữ liệu thống kê mô tả được xử lý bằng phần mềm Excel 2016. Công cụ BLASTn được sử dụng

để so sánh sự tương đồng trình tự vùng gen ITS của chủng nấm *Colletotrichum* phân lập được với cơ sở dữ liệu gen (GeneBank). Phân tích phương sai (ANOVA) một nhân tố (kiểm định Tukey, độ tin cậy 95%) được thực hiện bằng phần mềm Statgraphics 19 để xác định sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ($p < 0,05$).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân lập nấm *Colletotrichum* sp.

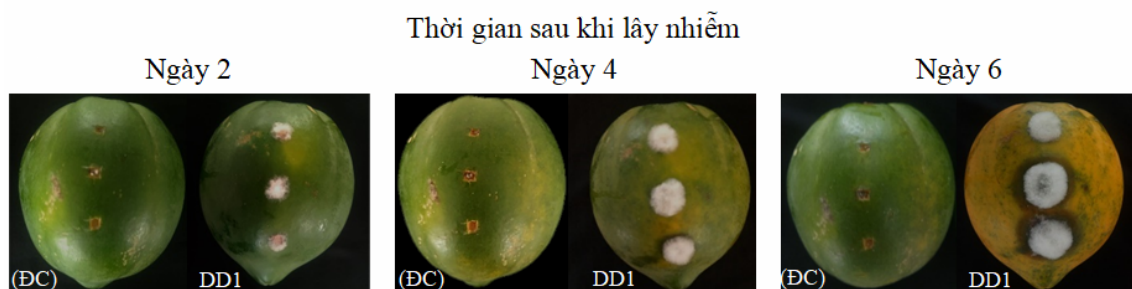


Hình 1. Trái đu đủ nhiễm bệnh thán thư tại tỉnh Vĩnh Long (A), đặc điểm hình thái của chủng nấm DD1 phân lập được ở ngày 5 ở mặt trước (B), mặt sau (C) và bào tử dưới kính hiển vi 100X (D)

Trong nghiên cứu này, từ các quả đu đủ bị bệnh thán thư phân lập được chủng nấm *Colletotrichum* (DD1) trên môi trường PDA (Hình 1A-C). Sau 3 ngày, khuẩn lạc có màu vàng nhạt ở trung tâm, tản nấm lan rộng tạo vòng tròn đồng tâm, rìa khuẩn lạc còn mỏng và trong suốt. Đến ngày 5, khuẩn lạc chuyển sang màu vàng đậm hơn, phần trung tâm có màu sậm hơn phía rìa, bề mặt trở nên mịn hơn, xuất hiện vùng màu nâu nhạt ở trung tâm, sợi nấm trên không có màu trắng nằm nhô lên trên, mọc dày đặc như bông. Quan

sát dưới kính hiển vi ở độ phóng đại 100X cho thấy, sợi nấm có màu trong suốt đến hơi xanh khi nhuộm bằng thuốc nhuộm lactophenol cotton blue. Sợi nấm phân nhánh, không có vách ngăn. Bào tử có dạng hình trụ, có vách ngăn rõ ràng, một đầu bào tử tròn, đầu còn lại nhọn và hơi thuôn dài, bào tử trong suốt, không màu (Hình 1D). Các đặc điểm hình thái này phù hợp với mô tả về các loài *Colletotrichum* phân lập từ thanh long [22] và đu đủ [23].

3.2. Khả năng gây bệnh của chủng nấm DD1



Hình 2. Khả năng gây bệnh của chủng DD1 qua 6 ngày lây nhiễm

Khả năng gây bệnh của chủng nấm *Colletotrichum* sp. DD1 phân lập trên trái đu đủ sau thu hoạch được xác định bằng phương pháp lây nhiễm nhân tạo. Ban đầu (ngày 2), tại các vị trí

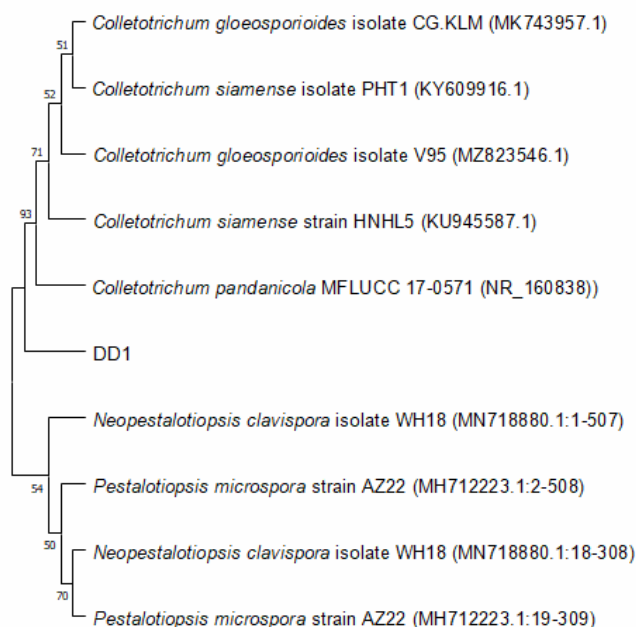
vết thương nhân tạo xuất hiện những vết bệnh, màu trắng ngà hoặc xám nhạt, kích thước nhỏ và chưa có dấu hiệu lan rộng. Sau đó (ngày 4), các vết bệnh này trở nên lớn hơn, ranh giới rõ ràng hơn và

bắt đầu lan rộng ra vùng xung quanh vết thương; đồng thời, tơ nấm màu trắng mịn bắt đầu hình thành trên bề mặt các đốm này. Đến giai đoạn cuối của thí nghiệm (ngày 6), bệnh thán thư đã phát triển mạnh mẽ: Các đốm trắng hoặc xám đã lan rộng đáng kể, bao phủ một diện tích lớn quanh vết thương, tơ nấm phát triển dày đặc, tạo thành những cụm bông trắng nổi rõ trên bề mặt. Đáng chú ý, vùng vỏ trái cây xung quanh vết thương có dấu hiệu đổi màu, chuyển sang màu vàng hoặc nâu, biểu hiện của sự hoại tử và tổn thương mô do nấm gây ra (Hình 2).

Kết quả PCR của chủng nấm DD1 phân lập trong nghiên cứu được giải trình và cho kết quả tương đồng 100% với các loài *Colletotrichum siamense* (Hình 3) trên ngân hàng gene. Kết quả xây dựng cây phả hệ (Hình 4) cho thấy, chủng DD1 phân lập thuộc cùng nhóm với các loài *Colletotrichum* trên ngân hàng gene như: *Colletotrichum siamense* isolate PHT1 (KY609916.1), *Colletotrichum gloeosporioides* isolate CG.KLM (MK743957.1) và *Colletotrichum pandanicola* MFLUCC 17-0571 (NR_160838).

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
☐	Colletotrichum siamense isolate PHT1 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed s...	Colletotrichum si...	715	715	100%	0.0	100.00%	575	KY609916.1
☐	Colletotrichum gloeosporioides isolate CG.KLM internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RN...	Colletotrichum gl...	715	715	100%	0.0	100.00%	515	MK743957.1
☐	Colletotrichum siamense strain HNL5 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene...	Colletotrichum si...	715	715	100%	0.0	100.00%	473	KU945587.1
☐	Colletotrichum gloeosporioides isolate V95 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcrib...	Colletotrichum gl...	715	715	100%	0.0	100.00%	581	MZ823546.1
☐	Colletotrichum siamense strain JD-HX-Y-H-20 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transc...	Colletotrichum si...	715	715	100%	0.0	100.00%	588	MW647803
☐	Colletotrichum pandanicola MFLUCC 17-0571 ITS region; from TYPE material	Colletotrichum p...	715	715	100%	0.0	100.00%	530	NR_160838
☐	Colletotrichum sp. isolate FYJ-013 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and i...	Colletotrichum sp.	715	715	100%	0.0	100.00%	501	OQ923723.1

Hình 3. Kết quả so sánh mức độ tương đồng của chủng nấm gây bệnh thán thư bằng công cụ BLASTn



Hình 4. Kết quả xây dựng cây phả hệ thể hiện mối quan hệ di truyền của chủng nấm DD1 với các loài *Colletotrichum* trên ngân hàng gene

3.3. Hiệu quả ức chế của dịch chiết xơ dừa đối với nấm phân lập

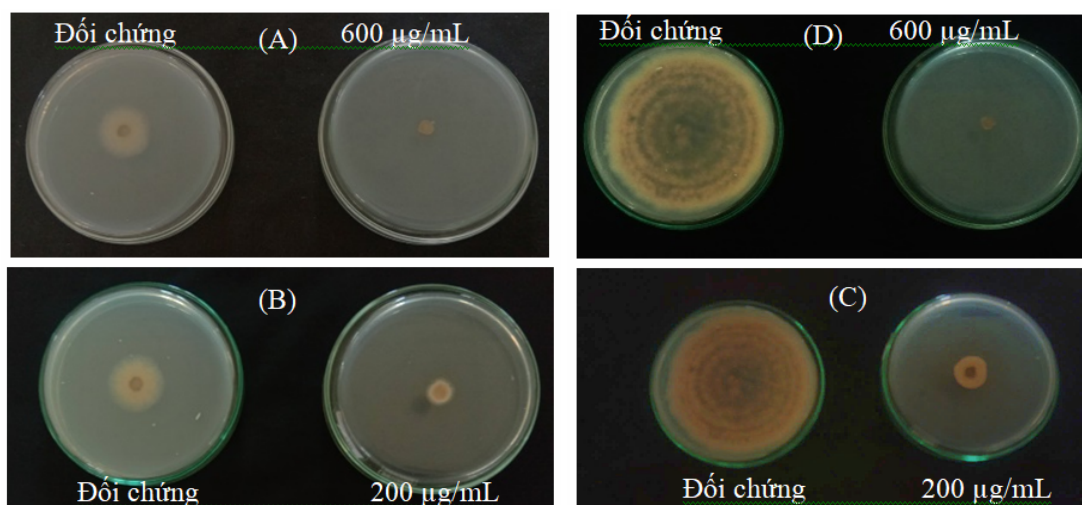
Kết quả nghiên cứu cho thấy, tiềm năng của dịch chiết xơ dừa trong việc ức chế sự phát triển của sợi nấm. Nhìn chung, tốc độ tăng trưởng của sợi nấm *Colletotrichum* spp. trong môi trường dịch chiết xơ dừa giảm đáng kể so với mẫu đối chứng (Hình 5). Ở nồng độ dịch chiết thấp (100 µg/mL), hoạt tính kháng nấm (HTKN) dao động theo thời gian, đạt đỉnh vào ngày thứ 6 (62%) trước khi giảm dần xuống 48% vào ngày thứ 10. Tương tự, ở nồng độ 200 µg/mL, HTKN đạt mức cao nhất vào ngày thứ 4 (78,5%), sau đó giảm dần xuống 72,7% vào ngày thứ 10, cho thấy sự suy giảm hiệu quả ức chế theo thời gian ở nồng độ này. Tuy nhiên, khi nồng độ dịch chiết tăng lên từ

400 - 1.000 µg/mL, HTKN thường xuyên đạt 100% từ ngày thứ 2 đến ngày thứ 10, chứng minh khả năng ức chế hoàn toàn sự phát triển của sợi nấm ở các nồng độ này (Bảng 1). Tương tự, dịch chiết xơ dừa cũng cho thấy hiệu quả ức chế khả năng nảy mầm của bào tử nấm *Colletotrichum* sp. Kết quả khảo sát cho thấy, sau 3 ngày nuôi cấy bào tử nấm *Colletotrichum* sp. trong môi trường thạch PDA, có thể thấy sự phát triển mạnh của sợi nấm khác với bào tử được nuôi cấy trong môi trường có bổ sung dịch chiết xơ dừa. Ở nồng độ 2 mg/mL, bào tử nấm vẫn nảy mầm phát triển thành sợi nấm, tuy nhiên sự phát triển của sợi nấm bị giảm đáng kể và giảm dần khi nồng độ tăng lên. Ở nồng độ 5 mg/mL thể hiện sự ức chế hoàn toàn đối với bào tử nấm (Hình 6).

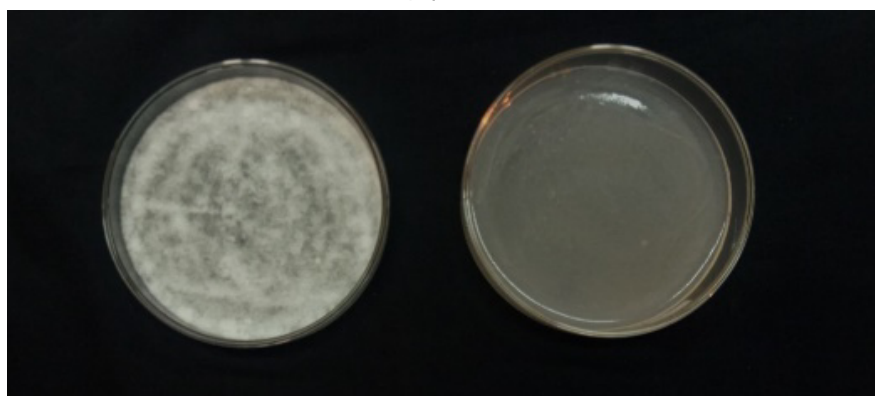
Bảng 1. Hoạt tính kháng nấm của dịch chiết xơ dừa trên sợi nấm DD1

Nồng độ cao chiết (µg/mL)	Hoạt tính kháng nấm của dịch chiết xơ dừa trên sợi nấm DD1 (%)				
	Thời gian theo dõi (ngày)				
	2	4	6	8	10
100	51 ^a ± 8,03	59 ^a ± 2,40	62 ^a ± 0,92	55 ^a 4,35	48 ^a ± 4,01
200	73,7 ^b ± 5,26	78,5 ^b ± 8,67	76,3 ^b ± 13,13	74,9 ^b ± 14,6	72,7 ^b ± 16,00
300	84 ^c ± 0,00	87 ^c ± 1,20	84 ^c ± 1,85	82 ^b ± 1,67	80 ^b ± 5,25
400	100 ^d ± 0,00	100 ^d ± 0,00	96 ^d ± 1,86	93 ^c ± 3,01	90 ^c ± 5,78
500	100 ^d ± 0,00	100 ^d ± 0,00	100 ^d ± 0,00	100 ^c ± 0,00	100 ^d ± 0,00
600	100 ^d ± 0,00	100 ^d ± 0,00	100 ^d ± 0,00	100 ^c ± 0,00	100 ^d ± 0,00
700	100 ^d ± 0,00	100 ^d ± 0,00	100 ^d ± 0,00	100 ^c ± 0,00	100 ^d ± 0,00
800	100 ^d ± 0,00	100 ^d ± 0,00	100 ^d ± 0,00	100 ^c ± 0,00	100 ^d ± 0,00
900	100 ^d ± 0,00	100 ^d ± 0,00	100 ^d ± 0,00	100 ^c ± 0,00	100 ^d ± 0,00
1.000	100 ^d ± 0,00	100 ^d ± 0,00	100 ^d ± 0,00	100 ^c ± 0,00	100 ^d ± 0,00

Ghi chú: Các ký tự khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt ý nghĩa ở độ tin cậy 95%, kiểm định Tukey ($p < 0,05$).



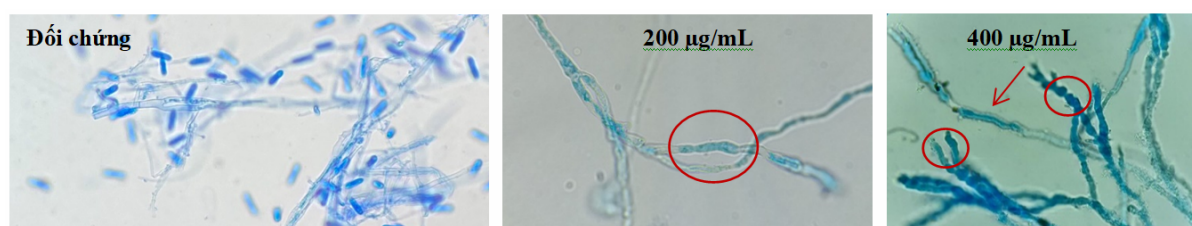
Hình 5. Ảnh hưởng của dịch chiết xơ dừa đến sự phát triển của sợi nấm DD1 ở ngày 2 (A-B) và ngày 6 (C-D)



Hình 6. Hoạt tính kháng bào tử nấm DD1 của dịch chiết xơ dừa ở ngày 3

Ảnh hưởng của nồng độ dịch chiết xơ dừa đối với sự phát triển sợi nấm sau 10 ngày thí nghiệm được kiểm tra. Quan sát bằng kính hiển vi cho thấy, các sợi nấm bị biến dạng. Tùy thuộc vào nồng độ, dịch chiết xơ dừa gây ra một số mức độ tổn thương hình thái khác nhau cho sợi nấm. Ở nồng độ 200 µg/mL, sự phát triển của sợi nấm trong môi trường PDA bị trì hoãn, sợi nấm bị cong vẹo, thành tế bào nấm dày với kết cấu đặc hơn

(Hình 7). Nồng độ 400 µg/mL, các sợi nấm bị tổn thương và bị biến dạng nặng nề, thành tế bào sợi nấm dày lên đáng kể, sợi nấm tạo vách ngăn và phân nhánh quá mức. Tuy nhiên, các sợi nấm ở mẫu đối chứng không bị biến dạng và phát triển bình thường. Khác với mẫu nấm trong môi trường có dịch chiết, mẫu nấm đối chứng có tạo bào tử trong khi các mẫu có xử lý với dịch chiết thì không tạo bào tử ở tất cả các nồng độ đã khảo sát.



Hình 7. Hình dạng sợi nấm được quan sát dưới kính hiển vi sau khi đối kháng ở ngày 10

Trong nghiên cứu này, hiệu quả kháng nấm của dịch chiết xơ dừa đã được đánh giá đối với *Colletotrichum* spp. trong điều kiện *in vitro*. Kết quả thí nghiệm cho thấy, dịch chiết xơ dừa ở các nồng độ khác nhau đã có tác dụng ức chế rõ rệt sự phát triển của nấm. Điều này tương đồng với nhiều nghiên cứu trước đây về hoạt tính kháng nấm của các hợp chất tự nhiên. Khả năng kháng nấm của dịch chiết từ xơ dừa có thể được giải thích, là do trong xơ dừa chứa các hợp chất phenolic như: Flavonoid, tannin, gallic axit, vanillic axit, catechin và epicatechin, đây là các tác nhân kháng nấm [24, 25]. Các hợp chất này có khả năng ức chế sự phát triển của nấm bằng cách tác động lên màng tế bào, ảnh hưởng đến chức năng của màng lipoprotein, gây suy giảm cân bằng ion, axit hóa độ pH của không bào và tế bào chất [26, 27], đồng thời làm suy yếu cấu trúc tế bào khiến sợi nấm bị biến dạng, từ đó dẫn đến sự phát triển của nấm bị ảnh hưởng nghiêm trọng. Các hợp chất phenolic trong dịch chiết xơ dừa tạo ra môi trường không thuận lợi cho sự sinh trưởng và phát triển của nấm. Ngoài ra, các hợp chất này còn tạo ra stress oxy hóa, gây thiệt hại cho ADN và protein của nấm [28, 29], từ đó làm giảm khả năng sống sót của chúng. Tannin trong dịch chiết đặc biệt có tác dụng thu nhỏ mô, hạn chế sự hấp thụ nước và dinh dưỡng của nấm. Đồng thời, phenolic axit có khả năng phá hủy cấu trúc màng tế bào của nấm, làm giảm khả năng nảy mầm và phát triển của bào tử [14].

4. KẾT LUẬN

Đã phân lập được chủng *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư trên trái đu đủ sau thu hoạch ở tỉnh Vĩnh Long. Trong đó, chủng nấm DD1 có kết quả giải trình tự gene cho thấy có sự tương đồng 100% với loài *Colletotrichum siamense* trên ngân hàng gene. Nồng độ ức chế của dịch chiết xơ dừa đối với sợi nấm và bào tử lần lượt là 400 µg/mL và 5 mg/mL. Kết quả này cho thấy, dịch chiết từ xơ dừa có tiềm năng ứng dụng cao trong việc kiểm soát bệnh thán thư gây ra bởi nấm *Colletotrichum* sp. trên trái đu đủ sau thu hoạch.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Alara, O. R., Abdurahman, N. H. & Alara, J. A. (2020). *Carica papaya*: Comprehensive overview

of the nutritional values, phytochemicals and pharmacological activities. *Advances in Traditional medicine*, 22(1), 1 - 31.

2. Gabrekiristos, E. & Dagne, A. (2020). A newly emerging disease of papaya in Ethiopia: Black spot (*Asperisporium caricae*). Disease and management options. *Plant Pathology & Microbiology*, 11, 1 - 5.

3. Saini, T. J., Gupta, S. G. & Anandalakshmi, R. (2017). First report of papaya anthracnose caused by *Colletotrichum salsolae* in India. *New Disease Reports*, 35, 27.

4. Hodges, R. J., Buzby, J. C. & Bennett, B. (2011). Postharvest losses and waste in developed and less developed countries: Opportunities to improve resource use. *The Journal of Agricultural Science*, 149(S1), 37 - 45.

5. Liu, J., Sui, Y., Wisniewski, M., Droby, S. & Liu, Y. (2013). Utilization of antagonistic yeasts to manage postharvest fungal diseases of fruit. *International Journal of Food microbiology*, 167(2), 153 - 160.

6. Qadri, R., Azam, M., Khan, I., Yang, Y., Ejaz, S., Tahir, M., Akram, M. & Khan, M. A. (2020). Conventional and modern technologies for the management of post-harvest diseases. In I. U. Haq & S. Ijaz (Eds.). *Plant disease management strategies for sustainable agriculture through traditional and modern approaches*. Springer.

7. Igbedioh, S. O. (1991). Effects of agricultural pesticides on humans, animals and higher plants in developing countries. *Archives of Environmental Health: An International Journal*, 46(4), 218 - 224.

8. Valencia-Chamorro, S. A., Palou, L., Del Río, M. A. & Pérez-Gago, M. B. (2011). Antimicrobial edible films and coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables. *Critical reviews in Food Science and Nutrition*, 51(9), 872 - 900.

9. Saucedo-Pompa S, Jasso-Cantu D, Ventura-Sobrevilla J, Saenz-Galindo A, Rodriguez-Herrera R and Aguilar CN (2007). Effect of candelilla wax with natural antioxidants on the shelf life quality of

fresh-cut fruits. *Journal of Food Quality*, 30(5), 823 - 836.

10. Saucedo-Pompa, S., Rojas-Molina, R., Aguilera-Carbó, A. F., Saenz-Galindo, A., de La Garza, H., Jasso-Cantú, D. & Aguilar, C. N. (2009). Edible film based on candelilla wax to improve the shelf life and quality of avocado. *Food Research International*, 42(4), 511 - 515.

11. Yasmin, Z. & Shamsi, S. (2019). *In vitro* screening of fungicides and plant extracts against *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. the causal agent of anthracnose disease of *Rauwolfia serpentina* (L.) Benth Ex Kurz. *Journal of the Asiatic Society of Bangladesh, Science*, 45(1), 35 - 43.

12. Bordoh, P. K., Ali, A., Dickinson, M. & Siddiqui, Y. (2020). Antimicrobial effect of rhizome and medicinal herb extract in controlling postharvest anthracnose of dragon fruit and their possible phytotoxicity. *Scientia Horticulturae*, 265, 109249.

13. Thebo, K. N., Simair, A., Mangrio, S. G., Ansari, K. A., Bhutto, A., Lu, C. & Sheikh, A. W. (2016). Antifungal potential and antioxidant efficacy in the shell extract of *Cocos nucifera* (L.) (Arecaceae) against pathogenic dermal mycosis. *Medicines*, 3(2), 1 - 12.

14. Kaewdang, O. & Benjakul, S. (2015). Effect of ethanolic extract of coconut husk on gel properties of gelatin from swim bladder of yellowfin tuna. *LWT - Food Science and Technology*, 62, 955 - 961.

15. Valadez-Carmona, L., Cortez-García, R. M., Plazola-Jacinto, C. P., Necoechea-Mondragón, H. & Ortiz-Moreno, A. (2016). Effect of microwave drying and oven drying on the water activity, color, phenolic compounds content and antioxidant activity of coconut husk (*Cocos nucifera* L.). *Journal of Food Science and Technology*, 53(9), 3495 - 3501.

16. Klich, M. A. (2002). *Identification of common Aspergillus species*. Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS), Utrecht, The Netherlands.

17. Marin, D. H., Sutton, T. B., Blankenship, S. M. & Swallow, W. H. (1996). Pathogenicity of fungi associated with crown rot of bananas in Latin America on Grande Naine and disease-resistant hybrid bananas. *Plant disease*, 80(5), 525 - 528.

18. Trần Nhân Dũng (2011). *Sổ tay thực hành sinh học phân tử*. Nxb Đại học Cần Thơ.

19. White, T. J., Bruns, T., Lee, S. J. W. T. & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: A guide to methods and applications*, 18(1), 315 - 322.

20. Buamard, A. & Benjakul, S. (2015). Improvement of gel properties of sardine (*Sardinella albella*) surimi using coconut husk extracts. *Food Hydrocolloids*, 51, 146 - 155.

21. Tyagi, A. K. & Malik, A. (2010). Liquid and vapour-phase antifungal activities of selected essential oils against *Candida albicans*. Microscopic observations and chemical characterization of *Cymbopogon citratus*. *BMC complementary and alternative medicine*, 10, 1 - 11.

22. Pei, S., Liu, R., Gao, H., Chen, H., Wu, W., Fang, X. & Han, Y. (2020). Inhibitory effect and possible mechanism of carvacrol against *Colletotrichum fructicola*. *Postharvest Biology and Technology*, 163, 111126.

23. Marquez-Zequera, I., Cruz-Lachica, I., Ley-Lopez, N., Carrillo-Facio, J. A., Osuna-Garcia, L. A., & Garcia-Estrada, R. S. (2018). First report of *Carica papaya* fruit anthracnose caused by *Colletotrichum fructicola* in Mexico. *Plant disease*, 102(12), 1 - 2.

24. Arivalagan, M., Roy, T. K., Yasmeen, A. M., Pavithra, K. C., Jwala, P. N., Shivasankara, K. S. & Kanade, S. R. (2018). Extraction of phenolic compounds with antioxidant potential from coconut (*Cocos nucifera* L.) testa and identification of phenolic acids and flavonoids using UPLC coupled with TQD-MS/MS. *LWT*, 92, 116 - 126.

25. Zabka, M. & Pavela, R. (2013). Antifungal efficacy of some natural phenolic compounds

against significant pathogenic and toxinogenic filamentous fungi. *Chemosphere*, 93(6), 1051 - 1056.

26. Xu, J., Zhou, F., Ji, B. P., Pei, R. S. & Xu, N. (2008). The antibacterial mechanism of carvacrol and thymol against *Escherichia coli*. *Letters in applied microbiology*, 47(3), 174 - 179.

27. Rao, A., Zhang, Y., Muend, S. & Rao, R. (2010). Mechanism of antifungal activity of terpenoid phenols resembles calcium stress and inhibition of the TOR pathway. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54(12), 5062 - 5069.

28. Aziz, N. H., Farag, S. E., Mousa, L. A. & Abo-Zaid, M. A. (1998). Comparative antibacterial and antifungal effects of some phenolic compounds. *Microbios*, 93(374), 43 - 54.

29. Wang, M., Jiang, N., Wang, Y., Jiang, D. & Feng, X. (2017). Characterization of phenolic compounds from early and late ripening sweet cherries and their antioxidant and antifungal activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(26), 5413 - 5420.

EFFECT OF COCONUT HUSK EXTRACT ON ANTHRACNOSE CAUSED BY *Colletotrichum* sp. OF POSTHARVEST PAPAYA (*Carica papaya* L.) FRUIT

Nguyen Trung Truc¹, Quach Van Cao Thi¹, Nguyen Thi Nhu Huynh¹

¹*Faculty of Applied Biological Sciences, Vinh Long University of Technology Education*

Abstract

Anthrachnose, caused by *Colletotrichum* sp., is a major post-harvest disease that significantly reduces the yield and quality of papaya. To develop an effective control strategy, this study evaluated the inhibitory effects of coconut husk extract on *Colletotrichum* sp.. The fungal isolates were successfully obtained from naturally infected papaya fruits collected in Vinh Long province. Artificial inoculation of papaya fruits with these isolates reproduced disease symptoms consistent with those observed in naturally infected fruits, with strain DD1 exhibiting the disease symptoms. Genetic sequencing analysis revealed that strain DD1 shared 100% similarity with *Colletotrichum siamense* in the GenBank database. The study demonstrated that coconut husk extract effectively inhibited the mycelial growth of *Colletotrichum* sp. at concentrations of 100 µg/mL and 200 µg/mL, the maximum inhibition rates were 62% and 78.5%, respectively, though the effect gradually declined over time. Notably, at a 400 µg/mL, fungal growth was completely inhibited (100%) from day 2 to day 10. The extract also significantly suppressed spore germination, with a concentration of 5 mg/mL exhibiting strong antifungal activity. Microscopic observations revealed morphological alterations in fungal hyphae, including thickening, deformation, and the absence of spore formation in treated samples, in stark contrast to the healthy control group. These findings suggest that coconut husk extract holds promise as a natural antifungal agent for managing post-harvest anthracnose in papaya, providing a sustainable alternative to synthetic fungicides and contributing to environmentally friendly disease management strategies.

Keywords: *Colletotrichum* sp., anthracnose, coconut husk extract, papaya.

Ngày nhận bài: 15/4/2025

Ngày chuyển phản biện: 22/4/2025

Ngày thông qua phản biện: 9/5/2025

Ngày duyệt đăng: 6/6/2025