

HOẠT TÍNH KHÁNG NẤM *Colletotrichum capsici* GÂY BỆNH THÁN THƯ TRÊN ỚT SAU THU HOẠCH CỦA TINH DẦU TRÀM TRÀ (*Meleleuca alternifolia*)

Lê Thanh Khang^{1*}, Nguyễn Thị Thu Hương² và Lê Thị Thủy Tiên³

¹Bộ môn Công nghệ sinh học, Viện Nghiên cứu Dầu và Cây có dầu

²Bộ môn Dược lý – Sinh hóa, Trung tâm Sâm và Dược liệu TP. Hồ Chí Minh, Viện Dược liệu

³Bộ môn Công nghệ sinh học, Khoa Kỹ thuật hóa học, Trường Đại học Bách Khoa TP. Hồ Chí Minh

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Lê Thanh Khang (email: lthanhhkhang@gmail.com)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 04/03/2020

Ngày nhận bài sửa: 12/05/2020

Ngày duyệt đăng: 29/06/2020

Title:

Antifungal activity of tea tree (*Meleleuca alternifolia*) essential oil against *Colletotrichum capsici* causing anthracnose on postharvest capsicum fruits

Từ khóa:

Bệnh thán thư, *Colletotrichum capsici*, ớt, tinh dầu tràm trà

Keywords:

Anthracnose, capsicum fruits, *Colletotrichum capsici*, tea tree essential oil

ABSTRACT

Colletotrichum sp. causes very popular and serious harm on many crops, from vegetables such as peppers, tomatoes, cucumber, melon, etc. to fruit trees such as mangoes, durians, papayas, bananas, dragon fruits. The study is aimed to determine the inhibition of tea tree (*Meleleuca alternifolia*) essential oil against *Colletotrichum capsici*. The in vitro result showed that inhibitory concentrations of tea tree essential oil against *C. capsici* was 6 μ L/mL. Testing *C. capsici* morphological variations by SEM showed remarkable changes in the morphology and structure of mycelium. The in vivo result showed that tea tree essential oil concentration of 10% inhibited the development of lesion diameter and controlled the growth of *C. capsici* on postharvest capsicum fruits.

TÓM TẮT

Nấm *Colletotrichum* sp. gây hại rất phổ biến và nghiêm trọng trên nhiều loại cây trồng, từ cây rau màu như ớt, cà chua, bầu bí, dưa, ... đến các loại cây ăn trái như xoài, sầu riêng, đu đủ, chuối, thanh long. Một loài nấm *Colletotrichum* có thể gây hại trên nhiều loại cây trồng và ngược lại, một loại cây trồng có thể bị tấn công bởi nhiều loài nấm *Colletotrichum*. Nghiên cứu này nhằm xác định khả năng ức chế nấm *Colletotrichum capsici* gây bệnh thán thư trên ớt của tinh dầu tràm trà (*Meleleuca alternifolia*). Nghiên cứu cho thấy nồng độ ức chế của tinh dầu tràm trà đối với nấm *C. capsici* được xác định là 6 μ L/mL. SEM được sử dụng để kiểm tra các thay đổi hình thái của hệ sợi dòng nấm *C. capsici*. Kết quả cho thấy những thay đổi đáng chú ý về hình thái của sợi nấm. Nghiên cứu cũng được thực hiện trong điều kiện in vivo đã chứng minh hiệu quả nồng độ tốt nhất của tinh dầu tràm trà trong việc phòng trừ bệnh thán thư do nhiễm nấm *C. capsici* trên trái ớt sau khi được tách khỏi cây là 10%.

Trích dẫn: Lê Thanh Khang, Nguyễn Thị Thu Hương và Lê Thị Thủy Tiên, 2020. Hoạt tính kháng nấm *Colletotrichum capsici* gây bệnh thán thư trên ớt sau thu hoạch của tinh dầu tràm trà (*Meleleuca alternifolia*). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 56(Số chuyên đề: Khoa học tự nhiên)(2): 57-66.

1 GIỚI THIỆU

Trong các bệnh gây hại trên ớt, bệnh thán thư do nấm *Colletotrichum* là một trong các bệnh nguy hiểm và để lại nhiều thiệt hại nặng nề. Năm 2008, thành phần loài của nấm *Colletotrichum* gây bệnh thán thư trên ớt được công bố khá đa dạng, gồm ít nhất bảy loài: *C. gloeosporioides*, *C. capsici*, *C. acutatum*, *C. coccodes*, *C. dematium*, *C. nigrum* và *C. atramentarium* (Than *et al.*, 2008). Ở Việt Nam, ít nhất bốn loài *C. gloeosporioides*, *C. capsici*, *C. nigrum* và *C. acutatum* được công bố gây bệnh thán thư trên ớt (Ngô Bích Hào, 1991; Ngô Bích Hào, 1992; Don *et al.*, 2007). Nguyễn Duy Hưng và *ctv.* (2017) đã xác định một số nấm *Colletotrichum* gây bệnh thán thư ở ở Đồng bằng sông Hồng, đến năm 2018 một số nấm *Colletotrichum* được xác định chuẩn xác hơn bằng phương pháp khuếch đại gene (PCR). Một số kết quả nghiên cứu về hoạt tính kháng nấm từ chế phẩm sinh học tác động đến chi nấm *Colletotrichum* đã được công bố. Tiêu biểu như khả năng kháng nấm *C. gloeosporioides* gây bệnh thán thư trên cây ớt (*Capsicum frutescens* L.) của chế phẩm oligochitosan - nano silica (SiO₂), hiệu lực kháng nấm *C. capsici* gây bệnh thán thư trên cây ớt của phân đoạn oligochitosan được chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ kết hợp xử lý hóa học (Phạm Đình Dũng và *ctv.*, 2017). Tại Hội nghị Công nghệ Sinh học toàn quốc 2019, đã có nhiều công trình nghiên cứu về hoạt tính kháng nấm một số loài thuộc chi nấm *Colletotrichum*. Nghiên cứu tổng hợp hạt nano bạc sử dụng dịch chiết lá điều (*Anacardium occidentale*) để đánh giá khả năng ức chế nấm *C. capsici* gây bệnh thán thư trên ớt (Trương Quang Toàn và Huỳnh Văn Biết, 2019). Hiệu quả kháng nấm *in vitro* của nano bạc và đồng với nấm *C. gloeosporioides* gây bệnh thán thư trên cam Tuyên Quang (Nguyễn Vũ Mai Linh và *ctv.*, 2019). Khả năng kích thích tăng trưởng và kiểm soát sinh học *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư trên cây ớt của vi khuẩn nội sinh (Nguyễn Văn Minh và *ctv.*, 2019). Việc sử dụng thuốc diệt nấm cho cây trồng có thể dẫn đến các vấn đề ô nhiễm môi trường, tạo các dòng nấm kháng thuốc, độc hại đối với con người. Do đó, các biện pháp thay thế được phát triển để bảo vệ cây trồng, bao gồm các tác nhân sinh học, muối khoáng và chiết xuất thực vật (Terzi *et al.*, 2007). Trong đó, các chiết xuất thực vật khá đa dạng, dễ tìm, giá thành phù hợp và gần gũi với người dân. Tiêu biểu như ba hoạt chất Curcuminoids bao gồm curcumin, demethoxycurcumin và bisdemethoxycurcumin được chiết xuất từ củ nghệ vàng (*Curcuma longa* L.) với nồng độ 0,4 – 100 g/mL cho hiệu quả ức chế sự tăng trưởng sợi nấm

của ba loài *Colletotrichum* là *C. coccodes*, *C. gloeosporioides* và *C. acutatum* tương tự thuốc diệt nấm dithianon. Ở Ấn Độ, chiết xuất từ lá và thân của một số loài thực vật có khả năng ức chế nấm *C. gloeosporioides* trên đu đủ và xoài sau lưu trữ (Bautista-Baños *et al.*, 2002). Chiết xuất từ loài *Origanum manjorona* L. ức chế 96% bào tử nấm *C. gloeosporioides* gây bệnh thán thư trên cà phê (Silva *et al.*, 2008).

Cây trà trà (*Melaleuca alternifolia*) thuộc họ Sim (*Myrtaceae*), có nguồn gốc từ Australia (Cheel, 1924; Maiden and Betche, 1924). Tinh dầu trà trà chứa các thành phần chính gồm terpinen-4-ol ($\geq 30\%$), γ -terpinene (10 – 28%), α -terpinene (5 – 13%) và 1,8-cineole ($\leq 15\%$) từ lâu đã được nghiên cứu và sử dụng ở nhiều nơi trên thế giới cho mục đích trị liệu và làm đẹp (Brophy, 1989). Tinh dầu trà trà được chứng minh là ức chế sự phát triển của nấm và ảnh hưởng đến bào tử (Inouye *et al.*, 2000; Inouye *et al.*, 2001). Tốc độ hô hấp của *Fusarium solani* bị ức chế 50% bởi tinh dầu trà trà ở nồng độ 0,023% (Inouye *et al.*, 1998) và ức chế sự axit hóa ở mức trung bình do glucose gây ra bởi *C. albicans*, *C. Glabrata* và *Saccharomyces cerevisiae* (Hammer *et al.*, 2004). Thành phần hóa học và hoạt tính kháng nấm gây bệnh trên thực vật của tinh dầu trà trà có khả năng ức chế sự phát triển của nấm dòng nấm bao gồm *Aspergillus niger*, *Corynespora cassicola*, *Colletotrichum* sp., *Fusarium oxysporum* và *Pyricularia oryzae* với nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) từ 6 – 8 $\mu\text{L/mL}$ (Khang *et al.*, 2019). Các thành phần chính của tinh dầu trà trà như terpinen-4-ol, γ terpinen và 1,8-cineole (eucalyptol) đã được đánh giá *in vitro* trên *Fusarium graminearum*, *Fusarium Culmorum* và *Pyrenophora* (Terzi *et al.*, 2007).

Do đó, với mục đích nhằm tìm ra những hợp chất tự nhiên mới thân thiện với môi trường và có hiệu quả phòng trừ nấm *C. capsici* gây bệnh thán thư trên ớt, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá khả năng ức chế nấm *C. capsici* của tinh dầu trà trà trong điều kiện *in vitro* và *in vivo*.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Nguyên liệu

Nguyên liệu được dùng trong nghiên cứu là lá và thân non trà trà được thu mua trực tiếp tại vườn trà trà huyện Mộc Hóa, tỉnh Long An vào tháng 03/2019. Tình trạng nguyên liệu: còn tươi, không dập nát hay thối hỏng.

Dòng nấm sợi sử dụng trong thử nghiệm: *C. capsici* (phân lập từ trái ớt được thu hái tại một số

tỉnh Cần Thơ, Hậu Giang, Vĩnh Long, Trà Vinh và Sóc Trăng, có các biểu hiện đặc trưng của bệnh thán thư). Môi trường PDA (Potato Dextrose Agar: 200 g khoai tây, 20 g D-glucose, 20 g agar, 1 L nước cất) được dùng để phân lập nấm từ trái ớt. Dựa vào hình thái, màu sắc khuẩn lạc, đặc điểm bào tử, sơ bộ tuyển chọn ra mẫu nấm nghi ngờ là *C. capsici*. Mẫu nấm này được định danh bằng phương pháp khuếch đại gene (PCR), giải trình tự các nucleotide vùng ITS (internal transcribed spacer - điểm sao chép bên trong) và tra cứu bằng công cụ BLAST (NCBI).

Hạt giống ớt hiểm F1 số 01 mua từ công ty TNHH Hạt giống Thành Nông. Thu hoạch ớt khi trái già chuyển màu có vết đỏ (bắt đầu chín) sau khi trở hoa 35 ngày.

2.2 Ly trích tinh dầu trầm trà bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước

Trong nghiên cứu này, phương pháp chiết lỏng - lỏng được áp dụng để chiết tinh dầu ra khỏi hỗn hợp gồm tinh dầu và nước sau khi chưng cất lôi cuốn hơi nước. Dung môi được chọn để chiết tinh dầu là diethyl ether do có ưu điểm là hòa tan tốt các cấu tử trong tinh dầu, rất ít tan trong nước nên dễ dàng tách lớp, nhiệt độ sôi thấp (xấp xỉ 36°C) nên dễ dàng thu hồi dung môi.

Cân 50 g nguyên liệu tươi đã xay nhuyễn với kích thước bột nguyên liệu qua rây có đường kính lỗ 0,6 mm, cho vào bình cầu chưng cất dung tích 1000 mL, thêm vào bình cầu 500 mL dung dịch NaCl, ngâm nguyên liệu khoảng 30 phút. Lắp bình cầu vào hệ thống chưng cất lôi cuốn hơi nước, chưng cất để thu tinh dầu từ hỗn hợp trên, bình cầu được đun nóng bằng bếp điện với nhiệt độ cố định là 100°C. Khi hỗn hợp sôi, hơi nước tạo thành sẽ lôi cuốn hơi tinh dầu bay lên và đi vào hệ thống ngưng tụ. Sau khi ngưng tụ sẽ thu được một hỗn hợp lỏng gồm nước và tinh dầu. Thu lấy hỗn hợp và cho vào bình chiết, chiết năm lần, mỗi lần chiết với 10 mL diethyl ether. Sau đó, gom toàn bộ dịch chiết và làm khan dịch chiết bằng muối Na₂SO₄ khan. Dịch chiết sau khi làm khan được cô quay và thu hồi dung môi ở 55°C dưới áp suất kém, thu được sản phẩm tinh dầu. Sản phẩm tinh dầu với hiệu suất thu hồi đạt được cao nhất là 6,42% bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước ở quy mô phòng thí nghiệm với điều kiện trích ly về thời gian (120 phút), nồng độ dung dịch NaCl (15%) và thể tích nước cất thêm vào bình cầu (500 mL) được bảo quản ở nhiệt độ dưới 4°C trong tủ lạnh cho đến khi tiến hành khảo sát hoạt tính kháng nấm *C. capsici* bằng phương pháp khuếch tán trên thạch và ở ớt sau thu hoạch (Nguyễn Kim Phi Phụng, 2007).

2.3 Khảo sát hoạt tính kháng nấm *C. capsici* bằng phương pháp khuếch tán trên thạch

Dòng nấm sợi *C. capsici* thử nghiệm hoạt tính được nuôi cấy trên môi trường PDA.

Tinh dầu trầm trà được pha loãng với Tween 80 để được các nồng độ 0 µL/mL, 2 µL/mL, 4 µL/mL, 6 µL/mL, 8 µL/mL và 10 µL/mL. Do tính chất kỵ nước của tinh dầu, các dung môi hữu cơ khác nhau như Tween 80, ethanol, methanol, dimethyl sulfoxide (DMSO) được sử dụng để hòa tan (Nielsen, 2000). Trong nghiên cứu này cho thấy, tản nấm phát triển bình thường khi được nuôi cấy trong môi trường có Tween 80. Như vậy, sử dụng dung môi Tween 80 không ảnh hưởng đến kết quả thí nghiệm và việc sử dụng Tween 80 làm dung môi để pha loãng tinh dầu là thích hợp. Carbendazim được sử dụng như đối chứng dương và được pha thành các nồng độ tương tự như tinh dầu.

Khảo sát hoạt tính kháng nấm: cắt một mảnh nấm thuần *C. capsici* có kích thước 2 × 2 mm từ rìa của tản nấm sau ba ngày nuôi cấy ở 28°C đặt vào tâm các đĩa petri (Φ 9 cm) chứa 15 mL dung dịch hỗn hợp gồm môi trường PDA và tinh dầu trầm trà với các nồng độ khác nhau (0 µL/mL – đối chứng âm, 2, 4, 6, 8 và 10 µL/mL), rồi tiến hành nuôi cấy ở cùng nhiệt độ. Sau đó, đo bán kính tản nấm sau thời gian ủ là sáu ngày, tính bán kính tản nấm phát triển theo thời gian nuôi cấy. Tính kháng nấm của tinh dầu được thể hiện bằng sự ức chế hoặc tiêu diệt khả năng sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật (Ales *et al.*, 2009). Công thức tính khả năng ức chế (hiệu suất) của tinh dầu với sự phát triển của vi nấm (%) (Amit, 2010):

$$H(\%) = \frac{R - r}{R} \times 100$$

Trong đó: R: bán kính nấm phát triển ở mẫu đối chứng âm (cm).

r: bán kính nấm ở mẫu tinh dầu (cm).

Mỗi nồng độ được lặp lại ba lần.

2.4 Khảo sát hiệu quả phòng trừ của tinh dầu trầm trà trên dòng nấm *C. capsici* gây bệnh thán thư ở ớt sau thu hoạch

Bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, gồm 12 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức mười trái, lặp lại ba lần:

Nghiệm thức 1 - 5: xử lý với tinh dầu trà trà lần lượt là 2, 4, 6, 8 và 10% trước và sau 24 giờ lây nhiễm.

Nghiệm thức 6 - 10: lây nhiễm trước và sau 24 giờ xử lý với tinh dầu Trà trà lần lượt là 2, 4, 6, 8 và 10%.

Nghiệm thức 11 (đối chứng âm): xử lý với nước.

Nghiệm thức 12 (đối chứng dương): xử lý với thuốc hóa học diệt nấm carbendazim (97%) (Sigma-Aldrich, Hoa Kỳ).

Phương pháp xử lý với tinh dầu: tạo vết thương trên trái ớt bằng cách dùng bó kim (mười cây) để tạo vết thương ở vị trí trung tâm (giữa) trái. Sau đó phun tinh dầu. Phun 0,1 mL tinh dầu tại vị trí vết thương, phun năm lần/trái (với mục đích phủ đều trên trái). Nghiệm thức đối chứng âm phun 0,5 mL nước và 0,5 mL thuốc hóa học diệt nấm carbendazim (97%) cho nghiệm thức đối chứng dương. Sau đó đặt trái ớt vào trong bọc nylon có chứa miếng bông gòn tẩm nước để tạo độ ẩm và đặt trong điều kiện 25°C (Nguyễn Thị Yến và *ctv.*, 2016).

Lây nhiễm nhân tạo: 24 giờ sau khi xử lý với tinh dầu đối với nghiệm thức xử lý trước khi lây nhiễm, tất cả trái ớt đều được lây nhiễm bằng cách phun 0,1 mL huyền phù nấm *C. capsici* với mật số 2×10^6 bào tử/mL vào từng trái ớt tại vị trí tạo vết thương, phun năm lần/trái, rồi đặt trong bọc nylon có miếng bông gòn tẩm nước để tạo độ ẩm và đặt trong điều kiện 25°C. Tái phân lập, so sánh và định danh nấm gây bệnh trên ớt để xác định chính xác nấm gây bệnh thán thư trên ớt đúng là nấm *C. capsici* (Nguyễn Thị Yến và *ctv.*, 2016).

Chỉ tiêu ghi nhận: đo bán kính phát triển của vết bệnh trên trái ớt vào thời điểm 4, 5, 6 và 7 ngày sau khi lây nhiễm.

2.5 Đánh giá hình thái tế bào nấm sợi

Hình dạng tế bào nấm sợi sau khi xử lý với tinh dầu trà trà được quan sát dưới kính hiển vi điện tử quét SEM EVO 18 (Zeiss – Đức) tại Phòng Công nghệ sinh học vật liệu và nano, Trung tâm Công nghệ sinh học TP. Hồ Chí Minh để kiểm tra các thay đổi hình thái hệ sợi của nấm *C. capsici*.

2.6 Thống kê phân tích số liệu

Kết quả được phân tích thống kê bằng phần mềm Minitab 16.0. Kết quả thí nghiệm được biểu thị bằng

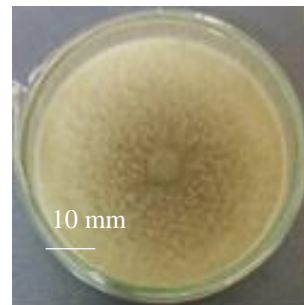
giá trị trung bình cộng/trừ độ lệch chuẩn. So sánh giá trị trung bình giữa các mẫu thử sử dụng phép thử t-Student. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Phân lập và định danh nấm gây bệnh thán thư trên ớt

Sau quá trình nuôi cấy, ba mẫu nấm (ký hiệu là ST-VC1, ST-VC9 và ST-VC13) từ các trái ớt bị nhiễm bệnh được phân lập. Tuy nhiên, cả ba mẫu nấm đều có màu sắc, hình thái gần như giống nhau. Nấm có màu nâu đến nâu đậm, phát tán đều theo hướng thành đĩa petri chứa môi trường PDA. Các tản nấm sau bốn ngày có kích thước 6,1 – 8,2 cm (Hình 1). Khi định danh bằng phương pháp giải trình tự ITS, cả ba mẫu nấm đều có kết quả như nhau:

```
GGTCGCGGAGGCATTACTGAGTTACCGCTC
ATCAACCCTTTGTGAACATACCTCAACTGT
TGCTTCGGCGGGTAGGCGTCCCCTAAAAG
GACGTCTCCCGCCCTCTCCCGTCCGCGGG
TGGGGCGCCC GCCGAGGAGATAACCAAAC
CTGATTTAACGACGTTTCTTCTGAGTGACA
CAAGCAAATAATCAAAACTTTTAACAACGG
ATCTCTTGTTCTGGCATCGATGAAGAACG
CAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGC
AGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAAC
GCACATTGCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGG
CATGCCTGTTGAGCGTCATTTCAACCCTC
AAGCTCTGCTTGGTGTGGGGCTCTACGGT
TGACGTAGGCCCTTAAAGGTAGTGCGGAC
CCTCTCGGAGCCTCCTTTGCGTAGTAACAT
TTCGTCTCGCATTGGGATTCGGAGGGACTC
TAGCCGTA AAAACCCCAATTTTACTAAGGT
TGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTG
AACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAA.
```



Hình 1: Hình thái khuẩn lạc của nấm gây bệnh thán thư ở ớt trên môi trường PDA



Hình 2: Kết quả tra cứu bằng công cụ BLAST (NCBI)

Việc so sánh trình tự ITS của ba mẫu nấm bằng công cụ BLAST trên NCBI cho thấy trình tự ITS tương đồng 100% với dòng *C. truncatum* hay còn gọi là *C. capsici* (Hình 2). Kết quả này cho phép kết luận rằng ba mẫu nấm là loài *C. capsici*.

3.2 Hiệu quả ức chế của tinh dầu trầm trà trên nấm *C. capsici* bằng phương pháp khuếch tán trên thạch

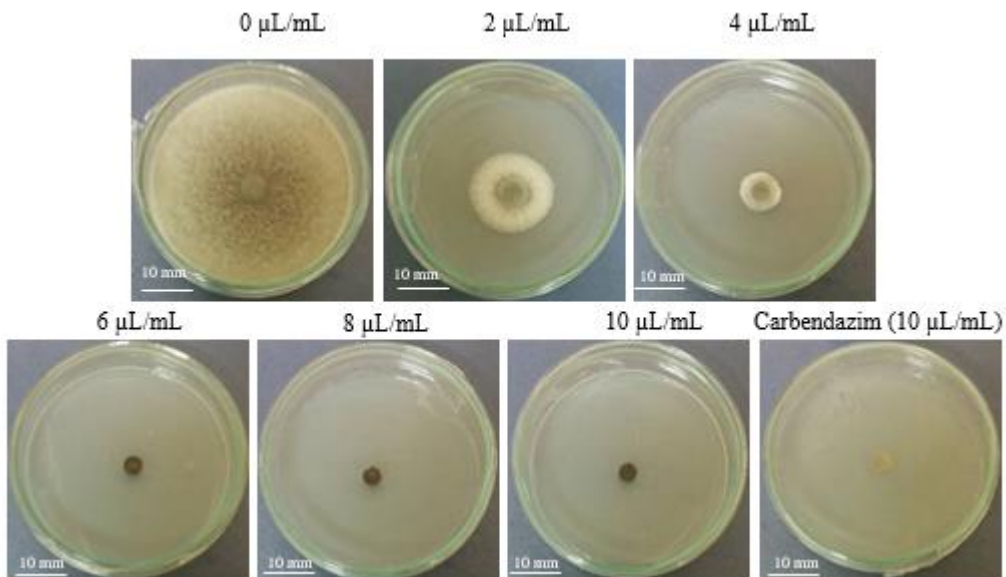
Với nồng độ ban đầu là 10 µL/mL, tinh dầu được

pha loãng với Tween 80 ở các thang nồng độ thấp dần, từ đó xác định nồng độ ức chế. Kết quả cho thấy, xung quanh tản nấm được nuôi cấy trong môi trường có tinh dầu trầm trà xuất hiện vòng tròn tản nấm với kích thước thay đổi tùy nồng độ tinh dầu (Hình 3), trong khi đó, tản nấm phát triển bình thường khi được nuôi cấy trong môi trường có Tween 80. Kết quả thử nghiệm được trình bày trong Bảng 1 và Hình 3.

Bảng 1: Hiệu suất kháng nấm *C. capsici* của tinh dầu trầm trà

Mẫu thử nghiệm hoạt tính	Nồng độ tinh dầu (µL/mL)		Hiệu suất kháng nấm (%)				
	0	2	4	6	8	10	
Tinh dầu	-	55,3 ± 1,02 ^c	76,7 ± 0,78 ^b	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	
Carbendazim	-	61,1 ± 4,6 ^c	83,5 ± 0,11 ^b	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	

Trong cùng một hàng, các giá trị có mẫu tự theo sau giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy > 95%. (-) là không kháng nấm.



Hình 3: Đường kính tản nấm *C. capsici* ở các nồng độ tinh dầu trầm trà khác nhau

Hoạt tính kháng nấm của tinh dầu trầm trà phụ thuộc vào nồng độ. Tinh dầu trầm trà ức chế sự phát

triển hệ sợi của *C. capsici*. Tinh dầu trầm trà có tác dụng ức chế đáng kể ($p \leq 0,05$) đối với *C. capsici* ở

nồng độ 6 $\mu\text{L/mL}$ sau sáu ngày xử lý. Ở nồng độ 6 $\mu\text{L/mL}$, tinh dầu trầm trà đã ức chế hoàn toàn sự phát triển sợi nấm của *C. capsici*. Hiệu suất ức chế tăng trưởng sợi nấm của tinh dầu trầm trà ở nồng độ 2 $\mu\text{L/mL}$ đối với *C. capsici* là 55,31%. Nhìn chung, khi nồng độ của tinh dầu trầm trà tăng lên, hoạt tính kháng nấm tăng lên được thể hiện bằng sự giảm đường kính của các vòng sinh trưởng nấm. Khi tinh dầu trầm trà có nồng độ thấp hơn tạo ra vùng ức chế nhỏ hơn so với nồng độ cao hơn.

Sự phát triển hệ sợi nấm có thể bị tác động đáng kể bởi tinh dầu. Theo Nikos (2007), tinh dầu sả chanh ở nồng độ 25 ppm đã ức chế đến 70% nấm sinh bào tử, khi tăng nồng độ 500 ppm thì ức chế hoàn toàn. Tinh dầu sả cho thấy tác động làm giảm sự nảy mầm của bào tử và chiều dài ống mầm của *Colletotrichum coccodes*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium herbarum*, *Rhizopus stolonifer* và *Aspergillus niger* với hiệu quả phụ thuộc vào nồng độ tinh dầu (Weinhold and Hancock, 2012). Chitin là một thành phần chính của thành tế bào nấm, rất cần thiết cho mầm bệnh nấm thực vật để duy trì tính toàn vẹn cấu trúc tế bào và khả năng gây bệnh. Các enzyme liên quan đến sự tổng hợp thành tế bào của nấm là mục tiêu nghiên cứu chính cho các hoạt chất kháng nấm (Georgopapadakou, 2001). Enzyme polyoxin có thể can thiệp vào quá trình tổng hợp chitin, gây ức chế tổng hợp thành tế bào và dẫn đến

chết tế bào. Sau khi tiếp xúc với polyoxin, các ống mầm và sợi nấm bị sưng và vỡ, nội dung tế bào bị phá hủy và nấm sẽ chết. Enzyme polyoxin cũng ức chế sự mở rộng của điểm bệnh và mang bào tử (Guo *et al.*, 2005; Lenardon *et al.*, 2010). Do đó, hoạt tính kháng nấm bằng phương pháp khuếch tán trên thạch ảnh hưởng đến sự điều hòa phân hủy chitin, khiến chitin bị tiêu hủy, cấu trúc thành tế bào bị phá hủy và hình thành sợi nấm có hình dạng bất thường, do đó làm giảm khả năng phát triển của nấm. Trong nghiên cứu này, kết quả ở Bảng 1 và Hình 3 cho thấy tinh dầu trầm trà có khả năng kháng dòng nấm sợi *C. capsici* gây bệnh thán thư trên ớt như các nghiên cứu trước đây. Như vậy, có thể nhận thấy tinh dầu trầm trà rất tiềm năng với hoạt tính kháng nấm *C. capsici* gây bệnh thán thư trên ớt.

3.3 Đánh giá hình thái tế bào nấm sợi

SEM được sử dụng để kiểm tra các thay đổi hình thái của hệ sợi dòng nấm *C. capsici* (Hình 4). Kết quả cho thấy những thay đổi đáng chú ý về hình thái của sợi nấm. Sợi nấm của *C. capsici* phát triển kém, tạo thành một cụm các bào tử đĩa phẳng, liềm, cong và bào tử cong (với sự khác biệt đáng chú ý) và các bào tử bị phá vỡ theo chiều ngang khi được xử lý với tinh dầu trầm trà và carbendazim. Như vậy, tác động của tinh dầu trầm trà trên hệ sợi nấm *C. capsici* tương tự như carbendazim.



Hình 4: Hình dạng của sợi nấm *C. capsici* sau khi xử lý với tinh dầu trầm trà được quan sát dưới kính hiển vi điện tử quét SEM

Các nghiên cứu trước đây cho thấy, thành phần chính trong tinh dầu bao gồm phenol, terpene, aldehyde và ceton (Koul *et al.*, 2008) và nhìn chung tinh dầu chủ yếu tác động lên màng tế bào chất của vi sinh vật. Do sự khác biệt về số lượng và thành phần tinh dầu nên đặc tính kháng nấm của tinh dầu không phải do một cơ chế cụ thể mà tác động bởi nhiều cơ chế khác nhau ở mức độ tế bào (Burt, 2004). Do tính chất kỵ nước của tinh dầu nên tinh dầu có thể tấn công và phá vỡ màng tế bào, tinh dầu cũng có thể ảnh hưởng đến hệ thống enzyme dẫn đến ức chế hô hấp và gây chết tế bào. Mặt khác, Xing *et*

al. (2014), cho rằng hoạt tính kháng nấm chính của tinh dầu được cho là do cinnamaldehyde, cinnamaldehyde có tác dụng ức chế enzyme tổng hợp vách tế bào (β -(1,3)-glucan synthase và synthase chitin) do đó làm vỡ màng tế bào, mất tế bào chất, phá hủy ty thể và mất sự ổn định của thành tế bào nên ảnh hưởng đến hình thái và sự phát triển của nấm. Các cấu tử có hàm lượng cao nhất trong tinh dầu trầm trà đều là những hợp chất eucalyptol và terpineol, do đó tinh dầu trầm trà có nhiệt độ sôi, tỷ trọng và chiết suất khá cao. Chính các hợp chất eucalyptol và terpineol đã mang lại những hoạt tính

sinh học quý cho tinh dầu trầm trà như hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm, kháng oxy hóa và độc tính tế bào (Khang *et al.*, 2019). Kết quả SEM cho thấy tinh dầu trầm trà đóng vai trò quan trọng trong việc phá hủy hình thái sợi nấm.

3.4 Hiệu quả phòng trừ của tinh dầu trầm trà trên nấm *C. capsici* gây bệnh thán thư trên ớt sau thu hoạch

Xử lý trái ớt sau thu hoạch với tinh dầu trầm trà

Bảng 2: Chiều dài vết bệnh trên ớt sau thu hoạch của hai biện pháp xử lý trước và sau khi lây nhiễm qua các thời điểm khảo sát ở những nồng độ tinh dầu trầm trà khác nhau (mm)

Nồng độ tinh dầu trầm trà (%)	4 ngày		5 ngày		6 ngày	
	Trước khi lây bệnh	Sau khi lây bệnh	Trước khi lây bệnh	Sau khi lây bệnh	Trước khi lây bệnh	Sau khi lây bệnh
2	6,8 ± 1,32 ^{b*}	5,6 ± 1,51 ^b	14 ± 1,94 ^{a*}	10,8 ± 3,58 ^b	Toàn trái*	18,2 ± 5,55 ^b
4	6,5 ± 1,18 ^{b*}	5,4 ± 2,40 ^b	7,7 ± 1,06 ^c	8 ± 1,24 ^c	14,8 ± 2,15 ^{a*}	12,3 ± 3,59 ^c
6	5,1 ± 0,99 ^{c*}	4,5 ± 1,08 ^c	7,5 ± 1,35 ^c	7,8 ± 1,55 ^c	8,8 ± 1,03 ^{c*}	11,5 ± 2,51 ^d
8	5 ± 0,94 ^{c*}	4,3 ± 0,68 ^c	6,5 ± 1,27 ^{d*}	7,3 ± 1,70 ^d	8,1 ± 1,20 ^{d*}	9,4 ± 2,07 ^e
10	3,7 ± 1,06^c	3,6 ± 1,26^c	5,8 ± 0,42^e	5,6 ± 0,97^e	7,9 ± 1,45^d	7,7 ± 1,42^f
Carbendazim	4,9 ± 1,29 ^{c*}	5,4 ± 2,40 ^b	6,5 ± 1,27 ^{d*}	7,1 ± 2,37 ^d	9,6 ± 1,84 ^b	9,2 ± 2,95 ^e
Đối chứng âm	9,5 ± 1,12 ^{a*}	10,3 ± 2,19 ^a	9,8 ± 1,62 ^{b*}	11,4 ± 1,0 ^a	15,1 ± 3,96 ^{a*}	24 ± 6,66 ^a

Trong cùng một cột, các giá trị có mẫu tự theo sau giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy > 95%. (*) là sự khác biệt giữa hai biện pháp xử lý có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy > 95% ở từng nồng độ tinh dầu và thời điểm được khảo sát.

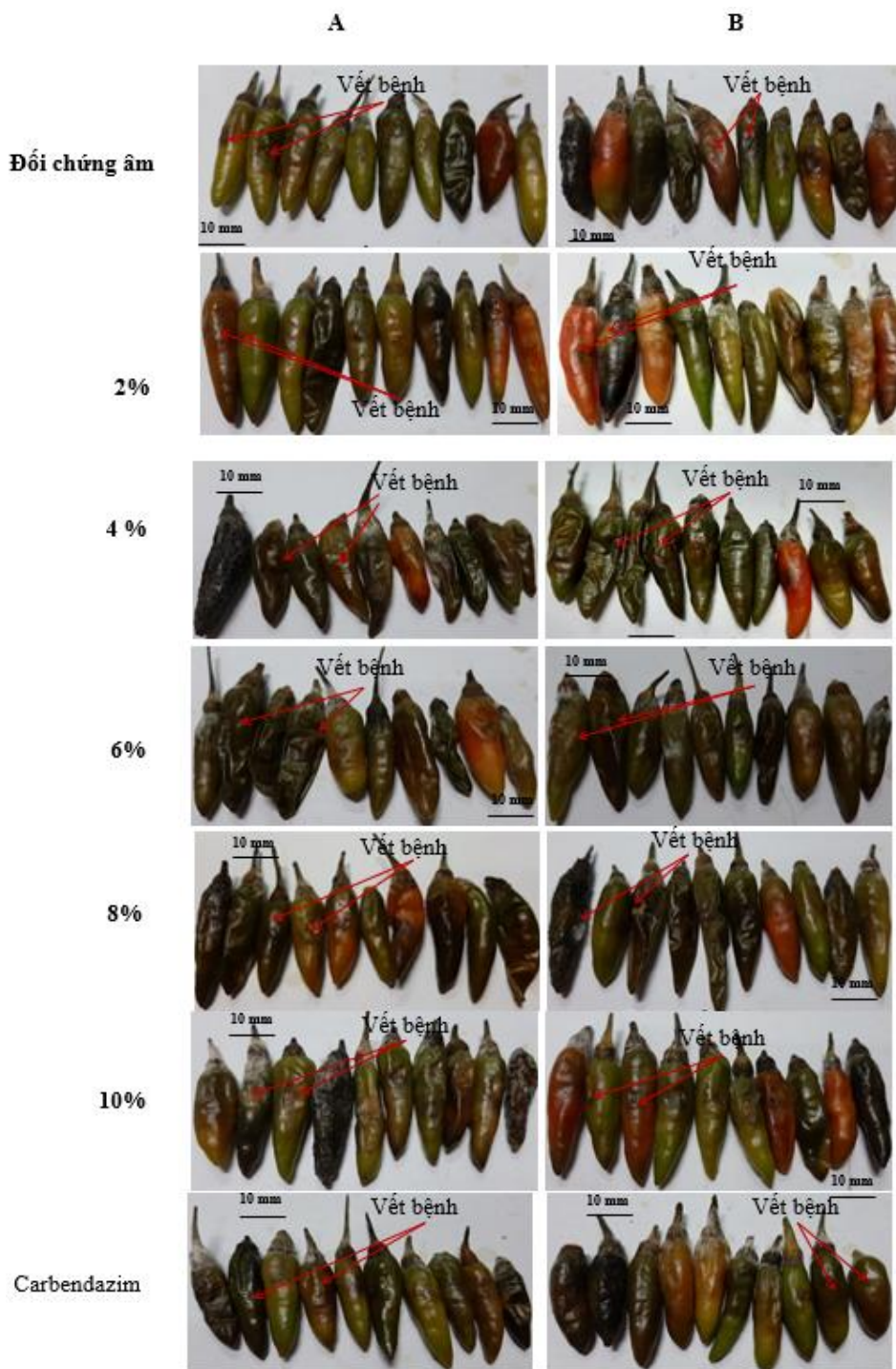
Ở thời điểm bốn ngày sau khi lây nhiễm: ở biện pháp xử lý trái ớt sau thu hoạch với tinh dầu trầm trà trước khi lây bệnh, nghiệm thức nồng độ tinh dầu trầm trà là 10% (chiều dài vết bệnh là 3,7 mm) thể hiện hiệu quả cao với chiều dài vết bệnh nhỏ hơn và khác biệt ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại, kể đến là nghiệm thức thức nồng độ tinh dầu trầm trà là 8% và 6% (chiều dài vết bệnh là 5 mm và 5,1 mm), sau cùng là nghiệm thức nồng độ tinh dầu trầm trà là 2% (chiều dài vết bệnh là 6,8 mm) và nồng độ tinh dầu trầm trà là 4% (chiều dài vết bệnh là 6,5 mm), trong khi đối chứng âm (chiều dài vết bệnh là 9,5 mm) và carbendazim (chiều dài vết bệnh là 4,9 mm). Ở cách xử lý trái ớt với tinh dầu trầm trà sau khi lây bệnh, nghiệm thức nồng độ tinh dầu trầm trà là 10% (chiều dài vết bệnh là 3,6 mm) cho hiệu quả cao nhất và có khác biệt ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại. Nhìn chung, biện pháp xử lý trái ớt với tinh dầu trầm trà sau khi lây bệnh cho hiệu quả cao hơn so với biện pháp xử lý trái ớt sau thu hoạch với tinh dầu trầm trà trước khi lây bệnh.

Ở thời điểm năm ngày sau khi lây nhiễm: ở biện pháp xử lý trái ớt sau thu hoạch với tinh dầu trầm trà trước khi lây bệnh, nghiệm thức nồng độ tinh dầu trầm trà 10% thể hiện hiệu quả cao nhất với chiều dài vết bệnh là 5,8 mm, thấp hơn và khác biệt ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại, trong khi đó

ở các nồng độ 2, 4, 6, 8 và 10% rồi sau 24 giờ phun lây nhiễm (trước khi lây bệnh) và ngược lại, tức phun lây nhiễm rồi sau 24 giờ xử lý với tinh dầu trầm trà (sau khi lây bệnh). Kết quả đánh giá hiệu quả phòng trừ của tinh dầu trầm trà ở hai biện pháp xử lý khác nhau là trước và sau khi lây bệnh đối với dòng nấm *C. capsici* trên trái ớt sau khi hái được ghi nhận ở Bảng 2.

đối chứng âm (chiều dài vết bệnh là 9,8 mm) và carbendazim (chiều dài vết bệnh là 6,5 mm). Ở biện pháp xử lý trái ớt với tinh dầu trầm trà sau khi lây bệnh, nghiệm thức nồng độ tinh dầu trầm trà là 10% cho hiệu quả cao nhất và khác biệt ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại (Hình 5). Trong hai biện pháp xử lý trái ớt sau thu hoạch với tinh dầu trầm trà, biện pháp xử lý trái ớt với tinh dầu trầm trà sau khi lây bệnh vẫn cho hiệu quả cao hơn so với biện pháp trước khi lây bệnh (Bảng 2).

Ở thời điểm sáu ngày sau khi lây nhiễm: trong hai biện pháp xử lý trái ớt sau thu hoạch với tinh dầu trầm trà, biện pháp xử lý trái ớt với tinh dầu trầm trà sau khi lây bệnh có hiệu quả cao hơn so với biện pháp xử lý trái ớt sau thu hoạch với tinh dầu trầm trà trước khi lây bệnh. Qua kết quả hai biện pháp xử lý trái ớt sau thu hoạch với tinh dầu trầm trà, các nghiệm thức xử lý trái ớt sau thu hoạch với tinh dầu trầm trà đều thể hiện hiệu quả giảm bệnh, nghiệm thức nồng độ tinh dầu Trầm trà là 10% (chiều dài vết bệnh là 7,7 mm) tiếp tục cho hiệu quả cao nhất và khác biệt so với các nghiệm thức còn lại. Kể đến là nghiệm thức nồng độ tinh dầu trầm trà 8% (chiều dài vết bệnh là 9,4 mm) hiệu quả hơn và khác biệt so nồng độ tinh dầu trầm trà 6% (chiều dài vết bệnh là 11,5 mm) và nồng độ tinh dầu trầm trà 4% (chiều dài vết bệnh là 12,3 mm) (Bảng 2).



Hình 5: Hiệu quả phòng trừ của tinh dầu trà đối với bệnh thán thư trên ớt ở thời điểm năm ngày sau khi lây nhiễm

A. Xử lý với tinh dầu trước khi lây nhiễm, B. Xử lý với tinh dầu sau khi lây nhiễm

Ở thời điểm bảy ngày sau khi lây nhiễm: hầu như trái ớt ở các nghiệm thức đều bị nhiễm bệnh toàn trái.

Tóm lại, qua bốn thời điểm khảo sát, nhận thấy tinh dầu trầm trà ở nồng độ 10% có hiệu quả tốt, kể đến là nồng độ 8% cũng có hiệu quả khá tốt và nồng độ 4% và 6% có hiệu quả trung bình trong việc phòng trị bệnh thán thư trên ớt chỉ thiên ở cả hai biện pháp xử lý trái ớt sau thu hoạch với tinh dầu trầm trà. Trong hai biện pháp xử lý trái ớt sau thu hoạch với tinh dầu trầm trà, biện pháp xử lý trái ớt với tinh dầu trầm trà sau khi lây bệnh có hiệu quả hơn so với biện pháp xử lý trái ớt sau thu hoạch với tinh dầu trầm trà trước khi lây bệnh. Một trong những cản trở chính của việc ứng dụng tinh dầu trong bảo quản thực phẩm là do sự bốc hơi quá nhanh của tinh dầu làm cho tinh dầu chưa đủ thời gian để kháng nấm. Các thành phần aldehyde của citral là hỗn hợp của hai đồng phân là geranial và neral có trong tinh dầu đã được chứng minh hoạt tính kháng nấm đáng kể kháng lại các loại nấm gây tổn thất sau thu hoạch (Nikos, 2007). Tương tự, Amit (2010) cho rằng hoạt tính kháng sợi của tinh dầu do sự hiện diện của monoterpene (78,2%) được hình thành bởi α -citral và β -citral (Amit, 2010). Kết quả trên đã góp phần khẳng định tiềm năng sử dụng tinh dầu như một tác nhân sinh học phòng trị bệnh thán thư do nấm *C. capsici* gây ra ở giai đoạn sau thu hoạch.

4 KẾT LUẬN

Thử nghiệm hoạt tính kháng nấm *C. capsici* bằng phương pháp khuếch tán trên thạch của tinh dầu từ lá trầm trà, kết quả cho thấy tinh dầu lá trầm trà biểu hiện hoạt tính kháng nấm *C. capsici* gây bệnh thán thư trên ớt tốt với nồng độ 6 μ L/mL. Thử nghiệm hoạt tính kháng nấm *C. capsici* gây bệnh thán thư trên ớt sau thu hoạch, nhận thấy tinh dầu trầm trà ở nồng độ 10% có hiệu quả tốt ở biện pháp xử lý với tinh dầu trầm trà sau khi lây bệnh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Baños, S. B., Necha, L. L. B., Luna, L. B. and Torres, K. B., 2002. Antifungal activity of leaf and stem extracts from various plant species on the incidence of *Colletotrichum gloeosporioides* of papaya and mango fruit after storage. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 20(1): 8-12.

Brophy, J. J., Davies, N. W., Southwell, I. A., Stiff, I. A., Williams, L. R., 1989. Gas chromatographic quality control for oil of *Melaleuca terpinen-4-ol* type (Australian tea tree). *J. Agric. Food Chem*, 37(5): 1330-1335.

Burt, S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—

review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3): 223-253.

Cheel, E., 1924. Notes on *Melaleuca*, with descriptions of two new species and new variety. *Journal and proceedings of the Royal Society of New South Wales*, 58: 195.

Don, L. D., Van, T. T., Vy, T. T. P. and Kieu, P. T. M., 2007. *Colletotrichum* spp. Attacking on Chilli Pepper Growing in Viet Nam. Country report in: Oh, DG, Kim, KT (Eds.). Abstracts of the First International Symposium on Chilli Anthracnose National Horticultural Research Institute, Rural Development of Administration, Republic of Korea, 24.

Georgopapadakou, N. H., 2001. Update on antifungals targeted to the cell wall: Focus on beta-1,3-glucan synthase inhibitors. *Expert Opin. Investig. Drugs*, 10(2): 269-280.

Guo, W., Li, G. X., Pang, Y., Wang, P., 2005. Anovelchitin-binding protein identified from the peritrophic membrane of the cabbage looper, *Trichoplusia ni*, *Insect Biochem. Mol. Biol*, 35(11): 1224-1234.

Inouye, S., Tsuruoka, T., Watanabe, M. et al., 2000. Inhibitory effect of essential oils on apical growth of *Aspergillus fumigatus* by vapour contact. *Mycoses*, 43(1-2): 17-23.

Inouye, S., Uchida, K., Yamaguchi, H., 2001. *In-vitro* and *in-vivo* anti-*Trichophyton* activity of essential oils by vapour contact. *Mycoses*, 44(3-4): 99-107.

Inouye, S., Watanabe, M., Nishiyama, Y., Takeo, K., Akao, M., Yamaguchi, H., 1998. Antisporulating and respiration-inhibitory effects of essential oils on filamentous fungi. *Mycoses*, 41(9-10): 403-410.

Hammer, K. A., Carson, C. F., Riley, T. V., 2004. Antifungal effects of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and its components on *Candida albicans*, *Candida glabrata* and *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Antimicrob. Chemother*, 53(6): 1081-1085.

Khang, L. T., Huong, N. T. T., Tien, L. T. T., 2019. Antifungal activity of tea tree essential oils (*Melaleuca alternifolia*) against phytopathogenic fungi. *International Journal of Advanced Research*, 7(9): 1239 – 1248.

Koul, O., Walia, S., Dhaliwal, G. S., 2008. Essential oils as green pesticides: potential and constraints. *Biopestic. Int*, 4: 63-84.

Lenardon, M. D., Munro, C. A., Gow, N. A., 2010. Chitin synthesis and fungal pathogenesis. *Curr. Opin. Microbiol*, 13(4): 416-423.

Maiden and Betche, C., 1924. *Melaleuca alternifolia*. *J. Proc. Roy. Soc. New S. Wales*, 58:195.

- Ngô Bích Hào, 1991. Kết quả bước đầu nghiên cứu về thành phần bệnh hại ớt và một số đặc điểm sinh học của nấm thán thư hại ớt *Colletotrichum* spp. Kết quả nghiên cứu khoa học - trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội, 86-91. NXB Nông nghiệp. Hà Nội: 106-109.
- Ngô Bích Hào, 1992. Bệnh thán thư hại ớt. Tạp chí Bảo vệ thực vật, 124(4): 15-17.
- Nguyễn Duy Hưng, Hà Viết Cường, Hoàng Chúng Lâm và Nguyễn Đức Huy, 2017. Xác định nấm *Colletotrichum* gây bệnh thán thư Ổt ở Đồng bằng sông Hồng. Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam, 12: 85.
- Nguyễn Duy Hưng, Hà Viết Cường và Hoàng Chúng Lâm, 2018. Phát hiện các loài *Colletotrichum* gây bệnh thán thư ớt bằng phản ứng chuỗi Polymerase. Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam, 16(12): 1025-1038.
- Nguyễn Kim Phi Phụng, 2007. Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ. NXB Đại học Quốc Gia TP Hồ Chí Minh, trang 31-32.
- Nguyễn Thị Yến, Trương Văn Tươi, Trần Hoàn Nhân, Lưu Thái Danh và Nguyễn Thị Thu Nga, 2016. Nghiên cứu xạ khuẩn và thuốc hóa học trong phòng trừ bệnh thán thư trên ớt. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. Số chuyên đề: Nông nghiệp, 3: 153-159.
- Nguyễn Văn Minh, Nguyễn Thị Thùy Linh, Nguyễn Thị Thảo Nguyên, Trần Thị Á Ni và Dương Nhật Linh, 2019. Khả năng kích thích tăng trưởng và kiểm soát sinh học *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư trên cây ớt của vi khuẩn nội sinh. Kỳ yếu Hội nghị Công Nghệ sinh học toàn quốc. Trung tâm Công nghệ sinh học TP. Hồ Chí Minh. Tr. 157.
- Nguyễn Vũ Mai Linh, Nguyễn Văn Hiếu, Nguyễn Thị Hồng Liên, Trần Thị Hương, Đặng Thị Nhung, Nguyễn Tương Vân, Nguyễn Hoài Châu, Nguyễn Kiều Băng Tâm và Phan Thị Hồng Thảo, 2019. Hiệu quả kháng nấm *in vitro* của nano bạc và đồng với nấm *Colletotrichum gloeosporioides* gây bệnh thán thư trên cam Tuyên Quang. Kỳ yếu Hội nghị Công Nghệ sinh học toàn quốc. Trung tâm Công nghệ sinh học TP. Hồ Chí Minh. Tr. 122.
- Nielsen, R. R. P. V., 2000. Inhibition of fungal growth on bread, by volatile components from spices and herbs, and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. International Journal of Food Microbiology, 60: 219-229.
- Nikos, T. C. D. E. G., 2007. Antifungal activity of lemongrass (*Cymbopogon citratus* L.) essential oil against key postharvest pathogens. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 8(2): 253-258.
- Panáček, A., Kolář, M., Večeřová, R. et al., 2009. Antifungal activity of silver nanoparticles against *Candida* spp.. Biomaterials, 30(31): 6333-6340.
- Phạm Đình Dũng, Nguyễn Tiến Thắng, Dương Hoa Xô và Lê Quang Luân, 2017. Nghiên cứu hiệu lực kháng nấm *Colletotrichum capsici* gây bệnh thán thư trên cây ớt của phân đoạn Oligochitosan chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ kết hợp xử lý hóa học. Tạp chí Công nghệ Sinh học, 15(1): 105-112.
- Silva, P. A., Oliveira, D. F., Prado, N. R. T. D., Carvalho, D. A. D., Carvalho, G. A. D., 2008. Evaluation of the antifungal activity by plant extracts against *Colletotrichum gloeosporioides* penz. Ciênc. agrotec., Lavras, 32(2): 420-428.
- Terzi, V., Morcia, C., Faccioli, P., Valè, G., Tacconi, G., Malnati, M., 2007. *In vitro* antifungal activity of the tea tree (*Melaleuca alternifolia*) essential oil and its major components against plant pathogens. ORIGINAL ARTICLE. Letters in Applied Microbiology ISSN 0266-8254.
- Than, P. P., Prihastuti, H., Phoulivong, S., Taylor, P. W. and Hyde, K. D., 2008. Chilli anthracnose disease caused by *Colletotrichum* species. Journal of Zhejiang University Science B, 9(10): 764-778.
- Trương Quang Toàn và Huỳnh Văn Biêt, 2019. Nghiên cứu tổng hợp hạt nano bạc sử dụng dịch chiết lá điều (*Anacardium occidentale*) và đánh giá khả năng ức chế nấm *Colletotrichum capsici* gây bệnh thán thư trên ớt. Kỳ yếu Hội nghị Công Nghệ sinh học toàn quốc. Trung tâm Công nghệ sinh học TP. Hồ Chí Minh. Tr. 61.
- Tyagi, A. K. and 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): 65.
- Weinhold, A. R and Hancock, J. G., 2012. Defense at the perimeter: extruded chemicals. Plant Diseases, 5: 121-133.
- Xing, F., Hua, H., Selvaraj, J. N. et al., 2014. Growth inhibition and morphological alterations of *Fusarium verticillioides* by cinnamon oil and cinnamaldehyde. Food Control, 46: 343-350.