



DOI:10.22144/ctujos.2025.011

## XÁC ĐỊNH LOÀI NẤM *Colletotrichum* GÂY BỆNH THÁN THƯ TRÊN ỚT VÀ KHẢ NĂNG ỨC CHẾ NẤM GÂY BỆNH CỦA DỊCH CHIẾT GỪNG VÀ THUỐC DÒI

Nguyễn Bảo Quốc<sup>1\*</sup>, Trương Ngọc Hải Yến<sup>1</sup> và Nguyễn Ngọc Bảo Châu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Khoa Khoa học Sinh học, Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

<sup>2</sup>Khoa Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Mở Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

\*Tác giả liên hệ (Corresponding author): baoquoc@hcmuaf.edu.vn

### Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 09/07/2024

Sửa bài (Revised): 19/08/2024

Duyệt đăng (Accepted): 27/12/2024

**Title:** Determining the *Colletotrichum* species causing anthracnose disease on chilli peppers and the potential for disease control using extracts of *Zingiber officinale* and *Pouzolzia zeylanica*

**Author(s):** Nguyen Bao Quoc<sup>1\*</sup>, Truong Ngoc Hai Yen<sup>1</sup> and Nguyen Ngoc Bao Chau<sup>2</sup>

**Affiliation(s):** <sup>1</sup>Faculty of Biological Science, Nong Lam University, Ho Chi Minh city, Viet Nam; <sup>2</sup>Faculty of Biotechnology, Ho Chi Minh city Open university, Viet Nam

### TÓM TẮT

Cây ớt (*Capsicum anuum* L.) là cây gia vị quan trọng có hiệu quả kinh tế cao. Tuy nhiên, bệnh thán thư do nấm *Colletotrichum* spp. gây ra có thể làm giảm năng suất hoặc mất trắng vụ ớt, gây thiệt hại nghiêm trọng cho người trồng. Nghiên cứu này trình bày kết quả xác định các mẫu nấm *Colletotrichum* gây bệnh thán thư phân lập được từ nguồn mẫu ớt thu tại tỉnh Tiền Giang. Trong nghiên cứu này, dựa trên các đánh giá đặc điểm hình thái và phân tích phân tử vùng gen ITS (Internal Transcribed Spacer), đã xác định được hai loài *Colletotrichum* là tác nhân gây bệnh gồm *C. scovillei* và *C. gloeosporioides*. Ngoài ra, nghiên cứu này còn tiến hành đánh giá hiệu quả ức chế nấm và bào tử nấm *C. scovillei* bằng dịch chiết gừng và thuốc dòi. Kết quả cho thấy nồng độ ức chế của dịch chiết gừng, thuốc dòi và hỗn hợp 2 dịch chiết được đề nghị lần lượt là 10%, 11% và 10% là cho hiệu quả ức chế nấm hoàn toàn. Ngoài ra, dịch chiết gừng 8%, thuốc dòi 9% và hỗn hợp ở nồng độ 8% có thể ức chế bào tử nấm với hiệu lực lần lượt là 94,1%, 82,5% và 84,5% sau 24 giờ cấy và quan sát.

**Từ khóa:** Bệnh thán thư, ớt, nấm *Colletotrichum*, gừng, thuốc dòi

### ABSTRACT

Chilli (*Capsicum anuum* L.) is an economically valuable spice plant. However, diseases such as anthracnose, caused by *Colletotrichum* spp., pose a risk of reduced yield or total crop loss, causing significant damage to growers. This study presents results aimed at identifying the *Colletotrichum* spp. causing Anthracnose on chilli, isolated from samples collected in Tien Giang province. Based on morphological characteristics and molecular analysis of - ITS (Internal Transcribed Spacer) region, two species of *Colletotrichum* were identified as causing agents i.e *C. scovillei* and *C. gloeosporioides*. In addition, this study evaluated the effectiveness of inhibiting the *C. scovillei* causing Anthracnose using ginger and graceful pouzolzbush extract. The results showed that the inhibitory concentration of ginger extract, graceful pouzolzbush extract, and a mixture of the two extracts (1:1 v/v), suggested at 10%, 11%, and 10%, respectively, completely inhibited the fungus. In addition, using 8% ginger extract, 9% graceful pouzolzbush, and a mixture at 8% concentration can inhibit spore germination at 94.1%, 82.5% and 84.5%, respectively, after 24 hours of observation.

**Keywords:** Anthracnose, *Colletotrichum* spp., ginger, graceful pouzolzbush

## 1. GIỚI THIỆU

Cây ớt (*Capsicum annuum* L.) là một loại cây gia vị thân thảo quan trọng, có hiệu quả kinh tế cao, được trồng và sử dụng phổ biến trên toàn thế giới. Tuy nhiên, một số bệnh trên ớt do các loại nấm, vi khuẩn hoặc côn trùng gây hại gây ra đã dẫn đến các nguy cơ giảm năng suất hoặc mất trắng vụ ớt, gây thiệt hại nặng nề cho người trồng. Trong đó, bệnh thán thư do nấm *Colletotrichum* được ghi nhận là gây hại nặng nề nhất, có thể gây tổn thất lên đến 10-80% sản lượng ớt (Mahasuk et al., 2019). Ngoài ra, bệnh thán thư có thể lây nhiễm gây hại từ giai đoạn cây con đến giai đoạn trái gây mất giá trị thương phẩm sau thu hoạch, làm giảm chất lượng ớt, hàm lượng capsaicin và oleoresin trong quả ớt (Mistry et al., 2010). Năm 2008, *Colletotrichum* gây bệnh thán thư trên ớt được xác định đa dạng với ít nhất bảy loài *C. gloeosporioides*, *C. capsici*, *C. acutatum*, *C. coccodes*, *C. dematium*, *C. nigrum*, *C. atramentarium* (Than et al., 2008). Tại Việt Nam, ít nhất bốn loài đã được phát hiện gây bệnh này, bao gồm: *C. gloeosporioides*, *C. capsici*, *C. nigrum* và *C. acutatum* (Ngo et al., 1991, 1992b). Việc định danh bằng hình thái không đủ để phân loại đến mức loài nên các nghiên cứu gần đây đa số tập trung dựa trên việc định danh phân tử, trong đó có nghiên cứu cho thấy xác định được ít nhất 5 loài là *C. truncatum*, *C. fructicola*, *C. gloeosporioides* (*sensu stricto*), *C. aeschynomenes* và *C. siamense* hại ớt tại đồng bằng sông Hồng (Nguyen et al., 2017). Ngoài ra, về phương pháp kiểm soát bệnh thán thư hiện nay, phương pháp đang được quan tâm là chiết xuất từ thảo dược, bởi tính an toàn và thân thiện với môi trường của nó. Trong đó, gừng chứa hơn 400 hợp chất khác nhau, bao gồm hỗn hợp của cả hai thành phần hóa học dễ bay hơi và không bay hơi như zingerone, shogaols và gingerols, sesquiterpenoids. Gingerols và shogaols được biết đến là những hợp chất có khả năng ức chế đến sự hình thành màng sinh học và sự hình thành sợi nấm làm giảm sự hoạt động của nấm mốc (Chrubasik et al., 2005). Cây thuốc dòi (*Pouzolzia zeylanica*) có sự hiện diện của isoavone, alkaloid, polyphenol, tannin, avonoid, glycoside đã thu hút nhiều nghiên cứu (Nguyen et al., 2017). Dịch chiết gừng (*Zingiber officinale*) ở nồng độ 20% đã ức chế 89,21% sự phát triển đường kính tán nấm *C. musae* và ức chế 65,58% sự phát triển đường kính tán nấm *C. gloeosporioides* sau 192 giờ nuôi cấy (Nguyen et al., 2019). Dịch chiết thuốc dòi cũng cho thấy khả năng ức chế nấm trong đó có nấm *Aspergillus niger* (Saha et al., 2012). Những phát hiện này chỉ ra rằng chiết xuất gừng và thuốc

dòi có thể hữu ích như một chất thay thế cho thuốc diệt nấm và diệt khuẩn.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Các mẫu ớt có triệu chứng bệnh theo mô tả của Than et al. (2008) được thu thập tại 4 vườn trồng ớt khác nhau tại Tân Thành (TT), Tân Hoà (TH) - Gò Công Đông, Tân Thuận Bình (TTB) - Chợ Gạo và Mỹ Phước Tây (MPT) - thị xã Cai Lậy, thuộc địa bàn tỉnh Tiền Giang. Các triệu chứng thu thập bao gồm xuất hiện các vết bệnh có màu nâu xám đến nâu đen, đa số lõm xuống và có dịch nhầy, khi bị nặng hình thành đĩa cảnh li ti màu đen xếp thành vòng tròn đồng tâm hay lộn xộn; các vết bệnh phát triển và liên kết với nhau, vết bệnh lan rộng ra, làm cho quả khô lại không sử dụng được. Các mẫu bệnh được thu thập từ hai giống ớt chính là giống ớt chỉ thiên (*Capsicum frutescens*) và ớt sừng vàng Châu Phi (*Capsicum annuum*). Các mẫu nấm *Colletotrichum* được phân lập trên môi trường WA (Water Agar) và được làm thuần trên môi trường PDA (Potato Dextrose Agar).

### 2.2. Phương pháp xác định tác nhân gây bệnh

#### 2.2.1. Khảo sát đặc điểm hình thái

Nghiên cứu được thực hiện theo phương pháp mô tả của Sutton (1995), cấy một khoanh hệ sợi nấm *Colletotrichum* được lấy từ mép tán nấm có đường kính khoảng 5 mm vào cạnh của miếng môi trường PDA vô trùng, đặt một lamén vô trùng trên mảnh môi trường này. Đĩa cấy được ủ từ 5 đến 7 ngày ở điều kiện 25 - 28°C, chiếu sáng liên tục đến khi quan sát thấy sự hình thành của giác bám ở mặt dưới của miếng lamén kính vô trùng. Các đặc điểm hình thái được ghi nhận bao gồm hình dạng và kích thước bào tử. Dựa vào các đặc điểm phân loại, ta xác định các mẫu nấm thuộc *Colletotrichum* spp. theo khoá phân loại được mô tả bởi Sutton (1995). Sau khi phân loại dựa trên đặc điểm hình thái, 1 mẫu đặc trưng được chọn để tiến hành định danh phân tử.

#### 2.2.2. Ly trích DNA nấm

DNA của mẫu nấm được chiết bằng đệm Lysis Buffer. Sinh khối 0,1 - 0,5 g tán nấm thuần nuôi cấy trên môi trường PDA được thu, nghiền bằng chày nhựa vô trùng với 400 µL Lysis buffer trong ống Eppendorf 1,5 mL, ủ nhiệt ở 65°C trong 1 giờ. Sau đó, 300 µL dung dịch PCI (Phenol - Chloroform - Isopropanol) được thêm vào, trộn đều hỗn hợp trong ống, ly tâm ở tốc độ 13000rpm - 8 phút, hút 300 µL dịch nổi cho vào Eppendorf 1,5 mL mới, thêm 100 µL Chloroform. Sau khi ly tâm 14000rpm - 5 phút,

200  $\mu$ L dịch nổi được hút cho vào Eppendorf 1,5 mL mới, thêm vào 100  $\mu$ L Isopropanol, ủ lạnh trong 1 giờ và cho ly tâm 14000rpm trong 10 phút. Loại bỏ dịch nổi và thu hai lần bằng Ethanol 70% lạnh, hoà tan DNA trong 50 $\mu$ L TE buffer. Mẫu DNA được bảo quản ở -20°C.

### 2.2.3. Phản ứng PCR

Các phản ứng PCR được thực hiện bằng DreamTaq Green PCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific) với cặp môi ITS1 (5' TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3') và ITS4 (5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3') (White et al., 1990). Các chu kỳ nhiệt bao gồm 35 chu kỳ, Tiền biến tính: 95°C - 3 phút, Biến tính: 95°C - 30 giây, Bắt cặp 56°C - 30 giây, Kéo dài: 72°C - 45 giây, Hậu kéo dài: 72°C - 7 phút. Sản phẩm PCR với kích thước mục tiêu khoảng 590bp được điện di trên gel agarose 1% bằng đệm TBE (Tris - Borate - EDTA) trên thiết bị điện di Mupid-2plus (hãng Advance) ở điện thế 100 V trong 25 phút. Kết quả được ghi nhận và chụp lại dưới tia UV.

### 2.2.4. Giải trình tự và phân tích trình tự

Sản phẩm PCR dựa trên vùng gen ITS được giải trình tự. Sau đó, cây phát sinh loài của nấm được xây dựng dựa vào đoạn trình tự ITS1 - ITS4. Các mẫu được định danh khi so sánh với các đoạn trình tự đã công bố từ trước nhờ công cụ BLAST tại cơ sở thông tin NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>). Phần mềm MEGA 11 được sử dụng để sắp xếp trình tự, vẽ cây phát sinh loài bằng phương pháp Neighbor - joining, bootstrap 1000, cho trình tự đoạn ITS. Các trình tự của các chủng nấm trong cùng một chi *Colletotrichum* và một loài khác chi *Colletotrichum* trên NCBI được chọn. Cây phát sinh loài được vẽ từ trình tự các chủng nấm đã chọn với các chủng *Colletotrichum* spp. đã phân lập bằng phần mềm MEGA 11.

## 2.3. Phương pháp khảo sát hoạt tính kháng nấm

### 2.3.1. Chuẩn bị dịch chiết gừng và dịch chiết thuốc dòi

Gừng tươi và lá cây thuốc dòi được thu tại các khu vực ở thành phố Hồ Chí Minh, tất cả các nguyên liệu được bảo quản nguyên vẹn, không dập hay thối hỏng trước khi tiến hành chuẩn bị dịch chiết. Nguyên liệu gừng và lá thuốc dòi sau đó được cắt nhỏ, phơi khô và nghiền thành bột riêng rẽ; cân theo tỷ lệ 1kg bột ngâm với 5 lít Ethanol 90° tại nhiệt độ phòng trong 24 giờ. Sau đó, hỗn hợp bột được lọc lấy dịch chiết và tiến hành loại bỏ dung môi bằng máy cô quay để thu cao chiết. Quá trình được lặp lại

7 lần. Cao chiết sẽ được hoàn tan với cồn theo tỉ lệ 1 g cao trong 10 ml Ethanol 90°; sau đó pha loãng dịch chiết gốc này bằng nước ở các nồng độ khác nhau khi bố trí thí nghiệm.

### 2.3.2. Khảo sát hoạt tính kháng nấm bằng phương pháp khuếch tán trên thạch

Hoạt tính kháng nấm cho dòng nấm sợi *Colletotrichum* spp. được khảo sát bằng các dịch chiết gừng, thuốc dòi và hỗn hợp dịch chiết dựa trên phương pháp khuếch tán trên thạch PDA (Yao & Tian, 2005). Thí nghiệm được bố trí bao gồm 5 nghiệm thức lần lượt là các nồng độ dịch chiết khác nhau từ 2% đến 10% cho dịch chiết gừng và hỗn hợp gừng - thuốc dòi, khảo sát nồng độ 3% đến 11% cho loại dịch chiết thuốc dòi và 1 nghiệm thức nước cất giữ vai trò là đối chứng âm.

Nấm thuần *Colletotrichum* spp. được cắt với kích thước 2 x 2 mm từ rìa của tán nấm đặt vào tâm các môi trường PDA được pha với dịch chiết gừng, thuốc dòi với các nồng độ khác nhau, tiến hành nuôi cấy ở nhiệt độ phòng; đo đường kính và tính đường kính trung bình của tán nấm *Colletotrichum* spp. Sau đó, ta theo dõi định kì, lấy chỉ tiêu ở 3, 6, 9, 12, 15 ngày sau cấy (NSC) cho đến khi tán nấm (tán sợi) phát triển chạm vào thành đĩa ở nghiệm thức đối chứng thì ngưng quá trình đo. Đo đặc bằng thước kẻ có đơn vị mm, đường kính tán nấm được tính bằng cách đo hai đường chéo vuông góc và lấy giá trị trung bình.

Đường kính trung bình của tán nấm (tán sợi) được tính bằng công thức:

$$d = (d1 + d2) / 2$$

Trong đó:

d: đường kính trung bình tán nấm (tán sợi);

d1, d2: đường kính vuông góc của tán nấm (tán sợi).

Tính kháng nấm được thể hiện bằng sự ức chế hoặc tiêu diệt khả năng sinh trưởng và phát triển của nấm (Panacek et al., 2009). Công thức tính khả năng ức chế (hiệu lực ức chế) của dịch chiết với sự phát triển của vi nấm (%) (Nguyen et al., 2024):

$$I (\%) = ((C-T)/C) \times 100$$

Trong đó:

I: phần trăm ức chế (%);

C: đường kính tán nấm mẫu đối chứng (mm);

T: đường kính tán nấm của nghiệm thức (mm).

### 2.3.3. Xác định ảnh hưởng của dịch chiết đến sự nảy mầm của bào tử nấm

Ảnh hưởng của dịch chiết gừng và thuốc dòi đến sự nảy mầm của bào tử được tiến hành trên lam kính lõm (Nguyen et al., 2019). Ở mỗi nồng độ khảo sát của dịch chiết gừng, 40  $\mu$ L được cho vào phần lõm của lam. Sau đó, 10  $\mu$ L dịch bào tử (nồng độ  $10^4$  bào tử/mL) được cho lên lam, đặt lam kính và nuôi ở 28°C trong bóng tối. Sau 8 giờ, số lượng bào tử nảy mầm trong tổng số 100 bào tử dưới kính hiển vi được đếm với độ phóng đại 40X. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Tỷ lệ ức chế nảy mầm của dịch chiết lên bào tử nấm được tính theo công thức Cronin et al. (1996):

$$\text{Tỷ lệ ức chế (\%)} = ((\text{ĐC} - \text{TN}) / \text{ĐC}) \times 100$$

Trong đó:

ĐC: tổng số bào tử nảy mầm ở công thức đối chứng;

TN: tổng số bào tử nảy mầm ở công thức thí nghiệm.

### 2.4. Đánh giá khả năng lây bệnh của các dòng nấm *Colletotrichum* spp.

Quả ớt để tiến hành thí nghiệm là ớt chỉ thiên hai mũi tên đỏ được thu mua ở địa bàn thành phố Thủ Đức, thành phố Hồ Chí Minh. Tiêu chí chọn lựa là các quả không có triệu chứng bị bệnh, không bị côn trùng chích hút và vết thương cơ giới, đồng đều với nhau về kích thước, hình dạng, màu sắc; được xử lý bằng cồn 70 và rửa bằng nước sạch, để khô tự nhiên. Thí nghiệm được bố trí với 5 nghiệm thức bao gồm 1 nghiệm thức đối chứng âm tính và 4 nghiệm thức tương ứng cho 4 mẫu nấm đại diện đã được tiến hành định danh phân tử. Mỗi nghiệm thức thực hiện trên 6 quả ớt, 3 quả ớt được tạo vết thương và 3 quả ớt không tạo vết thương, tất cả thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Nuôi cấy các mẫu nấm *Colletotrichum* spp. ở nhiệt độ phòng. Sau 10 ngày nuôi cấy trên môi trường PDA, 10 mL nước cất thanh trùng được cho vào từng đĩa petri, dùng lam kính sạch cạo nhẹ phần sợi nấm, lọc qua vải lọc đã thanh trùng, thu được huyền phù bào tử nấm. Một số bào tử nấm được đếm trên buồng đếm bào tử và điều chỉnh đến mật số  $10^8$  bào tử/mL (Montri et al., 2009); tiến hành nhỏ trực tiếp dịch 20  $\mu$ L huyền phù bào tử nấm lên bông gòn và đặt trên bề mặt quả ớt ở điều kiện tạo vết thương hở (1 vết thương trên 1 quả) và điều kiện không gây vết thương. Quả ớt đối chứng được xử lý bằng nước cất vô trùng; tiến hành ủ ở nhiệt độ phòng, trong điều kiện tạo ẩm và tối, qua 24 giờ thì tiến hành bóc bỏ lớp bông gòn, ghi nhận thời gian xuất hiện triệu

chứng và tiếp tục quan sát biểu hiện bệnh. Tỷ lệ bệnh được tính sau 6 ngày lây bệnh. Quả ớt được theo dõi lấy số liệu và tính toán theo công thức mô tả bởi QCVN 01-160:2014/BNNPTNT vào thời điểm 6 ngày sau khi cho dịch bào tử lên quả.

Tỷ lệ bệnh (%) = (Số quả bị bệnh / Tổng số quả) \* 100

$$\text{Chỉ số bệnh (\%)} = \frac{9n_9 + 7n_7 + 5n_5 + 3n_3 + n_1}{9N} \times 100$$

Trong đó:

n1: số quả bị bệnh ở cấp 1 ( $\leq 5$  % diện tích quả bị bệnh);

n3: số quả bị bệnh ở cấp 3 ( $> 5 - 15$  % diện tích quả bị bệnh);

n5: số quả bị bệnh ở cấp 5 ( $> 15 - 25$  % diện tích quả bị bệnh);

n7: số quả bị bệnh ở cấp 7 ( $> 25 - 50$  % diện tích quả bị bệnh);

n9: số quả bị bệnh ở cấp 9 ( $> 50$  % diện tích quả bị bệnh);

N: tổng số quả điều tra (thí nghiệm).

### 2.5. Thống kê phân tích số liệu

Các số liệu thu thập được tính toán bằng phần mềm Microsoft Excel 2010. Phân tích ANOVA và trắc nghiệm phân hạng bằng phần mềm SAS 9.1.

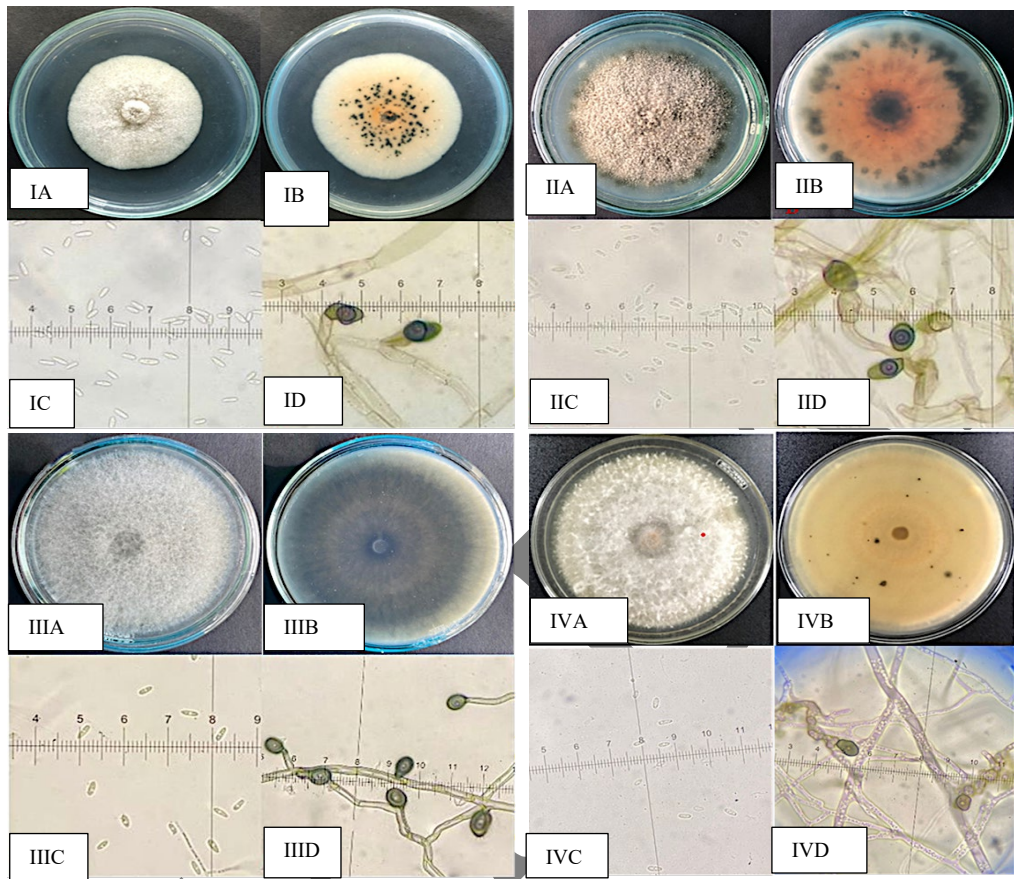
## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Phân lập và định danh hình thái nấm gây bệnh thán thư trên ớt

Kết quả phân lập được 30 mẫu *Colletotrichum* spp., trong đó có 22 mẫu nấm *Colletotrichum* spp. từ quả ớt chỉ thiên, 8 mẫu nấm *Colletotrichum* spp. từ quả ớt sừng vàng bị nhiễm bệnh. Sau 7 ngày nuôi cấy trên môi trường PDA (Hình 1), ta quan sát màu sắc đặc điểm của hệ sợi nấm kết hợp quan sát hình dạng và kích thước của bào tử, giác bám dưới kính hiển vi. Kết quả quan sát hình thái cho thấy các mẫu phân lập là nấm *Colletotrichum* spp. với các đặc điểm hệ sợi nấm khi sinh mọc bung hay mọc sát mặt thạch. Tán nấm với nhiều màu sắc từ trắng đến hơi cam, một số dòng có màu xám đến xám đen. Tán nấm có những đường tròn đồng tâm, mép tròn đều hay gợn sóng. Trên bề mặt hệ sợi nấm có xuất hiện những hạch nấm màu đen hay những ổ bào tử dạng giọt dầu màu cam đến màu đen. Bào tử trong suốt có dạng từ hình trụ, hai đầu tròn hay một đầu tròn một đầu nhọn. Bào tử nảy mầm sau 12 giờ và hình thành giác bám dạng hình tròn, hình trứng ngược

hay những hình dạng bất định. Lúc mới hình thành, giác bám không màu về sau có màu nâu hay nâu đen, có hay không có phân thùy. Các mẫu nấm

*Colletotrichum* spp. có sự tương đồng về mặt hình thái của các loài *Colletotrichum* được Sutton (1995) mô tả lại.



**Hình 1. Đặc điểm hình thái của các mẫu nấm tương ứng thuộc nhóm I, II, III và IV, quan sát dưới kính hiển vi Olympus (CX23) vi độ phóng đại 40X. (A): mặt trước đĩa nấm trên môi trường PGA 7 ngày sau cấy, (B): mặt sau đĩa nấm trên môi trường PGA 7 ngày sau cấy, (C): hình dạng bào tử, (D): hình dạng giác bám**

Qua những đặc điểm đã quan sát và dựa vào khóa phân loại cho nấm *Colletotrichum* spp. của Sutton (1995), 30 mẫu nấm *Colletotrichum* sp. được chia thành bốn nhóm. Nhóm I bao gồm các mẫu: MPT 3.3; TT2.1; TT2.2; TT2.3; TT3.1; TT3.2; TT3.3; TTB1.1; TTB1.2; TTB1.3; TTB3.1; TTB3.3. Theo quan sát, sợi nấm thuộc nhóm này có màu trắng, mọc sát mặt thạch. Tán nấm có dạng hơi tròn đến tròn, màu trắng đến màu cam hồng. Trên bề mặt xuất hiện những chấm nhỏ màu đen và có ô bào tử màu cam hồng dạng giọt dầu, không xuất hiện những đường tròn đồng tâm (Hình 1 IA). Mặt dưới tán nấm có màu hồng cam đến cam đậm, các chấm nhỏ màu đen và đậm dần gần tâm (Hình 1 IB). Bào tử đơn bào, trong suốt, hình trụ hai đầu tròn hoặc một đầu tròn một đầu nhọn đến hình thoi nhọn 2 đầu. Kích thước trung bình  $9,13 - 14,33 \times 2,17 - 5 \mu\text{m}$

(Hình 1 IC). Giác bám đơn, có màu nâu đến nâu đen, có dạng hình elip đến hình trứng ngược, có hay không có phân thùy. Kích thước trung bình  $7,33 - 13,33 \times 2,77 - 5,33 \mu\text{m}$  (Hình 1 ID). Nhóm II gồm 10 mẫu nấm MPT1.1, MPT1.2, MPT1.3, MPT2.1, MPT2.2, MPT2.3, MPT3.1, TH2.1, TH2.2, TH2.3, sợi nấm màu trắng sau chuyển sang màu nâu đến màu cam hồng, mọc sát mặt thạch (Hình 1 IIA). Mặt dưới tán nấm có màu xanh đen đến hồng cam đậm, các chấm nhỏ màu đen và đậm dần gần tâm (Hình 1 IIB). Bào tử đơn bào, trong suốt, hình trụ hai đầu tròn hoặc một đầu tròn một đầu nhọn đến hình thoi nhọn 2 đầu. Kích thước trung bình  $7,75 - 14,08 \mu\text{m} \times 3,42 - 6,75 \mu\text{m}$  (Hình 1 IIC). Giác bám đơn, có màu nâu đến nâu đen, có dạng hình elip đến hình trứng ngược, có hay không có phân thùy. Kích thước trung bình  $7,00 - 12,67 \mu\text{m} \times 4,08 - 7,75 \mu\text{m}$  (Hình

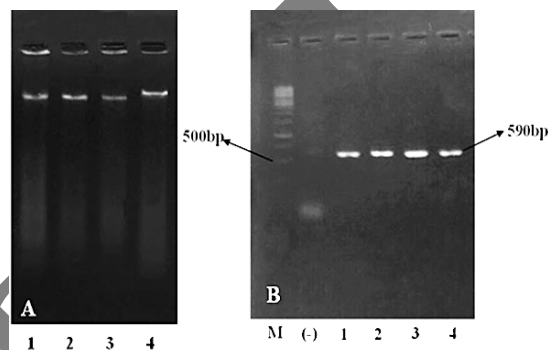


1 IID). Nhóm III gồm 6 mẫu nấm TH3.1, TH3.2, TH3.3, TT1.1, TT1.2, TT1.3. Sợi nấm mảnh màu trắng xám đến đen, mọc bung cao và đều. Tán nấm màu trắng xám đến xám đen, mép tròn đều. Mặt trên đĩa nấm màu trắng, có những vòng tròn đồng tâm (Hình 1 IIIA). Mặt sau màu nâu đen đến đen, có những vòng tròn đồng tâm màu đen đều nhau (Hình 1 IIIB). Bào tử trong suốt, đơn bào, hình trụ ngắn hai đầu hơi tròn hoặc một đầu tròn và một đầu hơi nhọn. Kích thước trung bình  $5,5 - 14,38 \times 3,63 - 6,63 \mu\text{m}$  (Hình 1 IIIC). Giác bám có dạng hình trứng ngược, hình chùy hay hình dạng không xác định, màu nâu nhạt đến nâu thẫm, vách mỏng, bên trong có nhiều chất nhân màu vàng phân bố bất định. Kích thước trung bình  $6,25 - 12,38 \times 6 - 7,88 \mu\text{m}$  (Hình 1 IIID). Nhóm IV gồm 2 mẫu nấm TTB2.1, TH1.2, sợi nấm màu trắng, mọc sát hay hơi bung trên mặt thạch. Tán nấm có màu trắng, mép tròn đều, có đường tròn đồng tâm. Mặt trên xuất hiện hạch nấm màu đen và ổ bào tử có màu cam dạng giọt dầu, tập trung ở gần trung tâm hay phân tán đều khắp tán nấm (Hình 1 IVA). Mặt dưới tán nấm có đường tròn đồng tâm màu hồng cam đến cam đậm dần về phía gần tâm, những hạch nấm màu đen với kích thước không đều, phân tán khắp tán nấm (Hình 1 IVB). Bào tử trong suốt, đơn bào, hình trụ hay hình hạt gạo. Kích thước trung bình  $16,0 \pm 1,6 \mu\text{m} \times 4,8 \pm 0,4 \mu\text{m}$  (Hình 1 IVC) Giác bám ban đầu không màu sau có màu nâu nhạt đến nâu, hình trứng hoặc hình gần tròn đến tròn, hình trụ, hình chùy, hình trứng ngược hay bất định, không phân thùy. Kích thước trung bình  $10,3 \pm 1,4 \mu\text{m} \times 6,7 \pm 1,3 \mu\text{m}$  (Hình 1 IVD).

### 3.2. Định danh nấm bằng kỹ thuật sinh học phân tử

Bốn mẫu được lấy bao gồm các mẫu phân lập trên nguồn ớt chỉ thiên là TT3.3, TH3.1, TTB2.1 và mẫu MPT2.2 phân lập trên nguồn mẫu ớt sừng vàng, làm đại diện cho 4 nhóm hình thái đã được phân loại để tiến hành định danh bằng kỹ thuật PCR với trình tự cặp mồi ITS1 – ITS4. Kết quả ly trích các mẫu đại diện được thể hiện qua hình ảnh điện di tổng số (Hình 2A), và kết quả khuếch đại PCR thông qua cặp mồi ITS được thể hiện qua hình ảnh điện di (Hình 2B) cho thấy các đoạn gen khuếch đại có kích thước khoảng 590 base pairs. Kết quả phân tích cây phân nhóm loài cho thấy mẫu phân lập TT3.3 nằm cùng nhánh *Colletotrichum scovillei* TG633 với giá trị Bootstrap 75%, mức độ tương đồng của mẫu phân lập TT3.3 với *Colletotrichum scovillei* là 99,15%. Mẫu phân lập MPT2.2 nằm cùng nhánh *Colletotrichum scovillei* isolate PHPG12 với giá trị Bootstrap 68%, mức độ tương đồng của mẫu phân

lập MPT2.2 với *Colletotrichum scovillei* là 98,89%. Mẫu phân lập TH3.1 nằm cùng nhánh với *Colletotrichum gloeosporioides* isolate F26 với giá trị Bootstrap 100%. Kết quả căn trình tự nucleotide sử dụng công cụ BLAST cho thấy mẫu TH3.1 và *Colletotrichum gloeosporioides* có độ tương đồng là 92,13%. Mẫu phân lập TTB2.1 nằm cùng nhánh *Colletotrichum gloeosporioides* strain LCM 878.01 với giá trị Bootstrap 90%, mức độ tương đồng của mẫu TTB2.1 với *Colletotrichum gloeosporioides* là 99,83% (Hình 3).

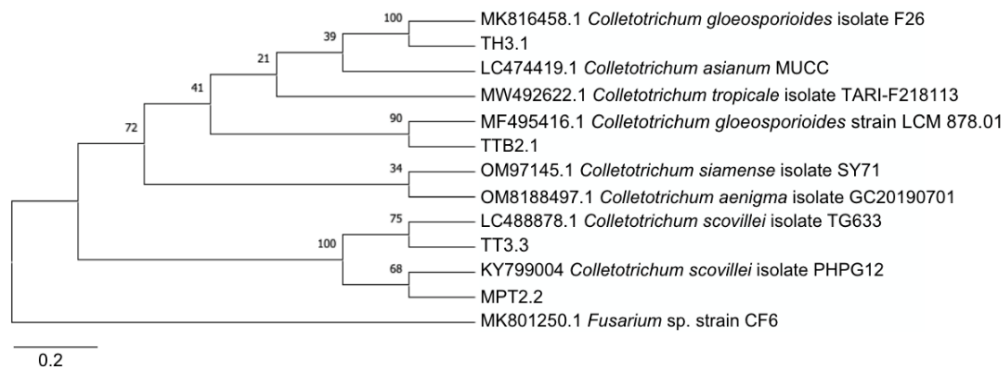


Hình 2. Kết quả điện di

A) Kết quả điện di tổng số, (B) Kết quả điện di DNA bằng cặp mồi ITS đối với bốn mẫu nấm *Colletotrichum* spp. M: Ladder 1 Kb, (-): Đối chứng âm, 1: mẫu TT3.3; 2: mẫu MPT2.2, 3: mẫu TH3.1, 4: mẫu TTB2.1

Dựa vào đánh giá hình thái các mẫu phân lập được, ta xác định được tác nhân là mẫu nấm *Colletotrichum* spp. và phân loại được 4 nhóm hình thái nấm chính, tuy nhiên vẫn chưa đủ cơ sở để xác định đến loài chính xác. Do đó, giải trình tự và phân tích cây di truyền là cần thiết. Kết quả phân tích sinh học phân tử đã xác định được hai loài nấm là *Colletotrichum scovillei* (Mẫu TT3.3 – đại diện nhóm I, MPT2.2 – đại diện nhóm II) và *Colletotrichum gloeosporioides* (Mẫu TH3.1 – nhóm III, TTB2.1 – nhóm IV). Như vậy, dựa vào đánh giá hình thái và đặc biệt là phân tích phân tử trên vùng gen ITS, 2 loài nấm được xác định là *Colletotrichum scovillei* và *Colletotrichum gloeosporioides* từ triệu chứng gây hại quả trên 2 giống ớt chỉ thiên, ớt sừng vàng tại các vùng Tân Thành (TT), Tân Hoà (TH) - Gò Công Đông, Tân Thuận Bình (TTB) - Chợ Gạo và Mỹ Phước Tây (MPT) - thị xã Cai Lậy, thuộc địa bàn tỉnh Tiền Giang.

Từ cơ sở kết quả định danh tác nhân gây bệnh thán thư trên cây ớt là *C. scovillei* và *C. gloeosporioides*, nguồn mẫu phân lập này được sử dụng để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo.



**Hình 3. Cây di truyền của bốn mẫu nấm TH3.1, TTB2.1, TT3.3 và MPT2.2 phân lập với một số mẫu trên ngân hàng gen.**

### 3.3. Hiệu lực ức chế của các loại dịch chiết đối với *Colletotrichum scovillei*

#### 3.3.1. Hiệu lực ức chế của dịch chiết gừng

Hiệu lực ức chế nấm *C. scovillei* của dịch chiết gừng được thể hiện qua Bảng 1 và Hình 4A. Kết quả cho thấy ở các nồng độ dịch chiết khác nhau đều có ảnh hưởng đến sự phát triển của tán nấm, các nghiệm thức khác biệt rất có ý nghĩa thống kê ở mức 1%. Nghiệm thức sử dụng dịch chiết gừng ở nồng độ 10% cho đường kính tán nấm không phát triển, đạt hiệu lực ức chế cao nhất 100%. Trong nghiên cứu này, dịch chiết gừng ở nồng độ 10% có hiệu lực ức chế phức hợp nấm *C. scovillei* là 100% có hiệu quả cao hơn so với kết quả nghiên cứu trước đây của Nguyen et al. (2019), khi nghiên cứu này sử dụng dịch chiết gừng ở mức nồng độ 20% cho hiệu lực ức chế nấm *Collectotrium musae* và nấm *Collectotrium gloeosporioides* đạt lần lượt là 89,21% và 65,58%. Sự khác biệt này có thể được giải thích là do sự khác biệt về chủng nấm và phương pháp thu nhận cao chiết, dẫn đến nồng độ ức chế khác nhau, cần thực hiện thêm nhiều khảo sát cho các chủng nấm khác nhau và các phương pháp thu nhận khác nhau để có đánh giá so sánh tốt nhất. Khả năng ức chế nấm mạnh của gừng được cho là do trong gừng chứa hơn 400 hợp chất khác nhau, bao gồm hỗn hợp của cả hai thành phần hóa học dễ bay hơi và không bay hơi như zingerone, shogaols và gingerols, sesquiterpenoids (-sesquiphellandrene, bisabolene và farnesene) (-phelladrene, cineol và citral). Gingerols và shogaols được biết đến là những hợp chất có khả năng ức chế đến sự hình thành màng sinh học và sự hình thành sợi nấm làm giảm sự hoạt động của nấm mốc (Chrubasik et al., 2005).

#### 3.3.2. Hiệu lực ức chế của dịch chiết thuốc dòi

Hiệu lực ức chế nấm *C. scovillei* của dịch chiết thuốc dòi được khảo sát trong nghiên cứu cho thấy yêu cầu sử dụng nồng độ cao hơn nồng độ của dịch chiết gừng. Kết quả Bảng 2 và Hình 4B cho thấy tại nồng độ thuốc dòi 3% cho đường kính nấm vẫn phát triển đạt 41,5 mm tương ứng hiệu lực ức chế 48,1% sau 15 ngày nuôi cấy. Nghiệm thức sử dụng dịch chiết thuốc dòi ở nồng độ thí nghiệm cao nhất là 11,0% cho đường kính tán nấm không phát triển, hiệu lực ức chế đạt 100%. Xét về mặt thống kê, giữa các nghiệm thức có sự khác biệt rất có ý nghĩa với độ tin cậy 99%. Các nghiên cứu hiện nay về khả năng kháng nấm, kháng khuẩn của dịch chiết côn trùng *Pouzolzia zeylanica* (L.) Benn bằng phương pháp đĩa cho thấy với nồng độ 1 mg/mL có khả năng chống lại hoạt động của vi khuẩn gram âm và gram dương như *Bacillus* sp., *Staphylococcus aureus*, tương tự dịch chiết thô này ở mức nồng độ 62,5 µg/ml đến 500 µg/ml cũng có tác dụng đối với một số loại nấm *Blastomyces dermatitides*, *Aspergillus niger*, *Microsporum* spp. và *Aspergillus nigerwas* (Saha et al., 2012)

#### 3.3.3. Hiệu lực ức chế của hỗn hợp hai dịch chiết

Hiệu lực ức chế nấm *C. scovillei* của hỗn hợp dịch chiết gừng và thuốc dòi theo tỉ lệ 1:1 được thể hiện qua Bảng 3 và Hình 4C, cho thấy giữa các nghiệm thức khác biệt rất có ý nghĩa thống kê ở mức 1%. Kết quả cho thấy nghiệm thức sử dụng hỗn hợp dịch chiết gừng và thuốc dòi ở mức nồng độ 2,0% có đường kính tán nấm đạt 49,8 mm tương ứng với hiệu lực ức chế 37,7%, sau 15 ngày cấy. Nghiệm thức sử dụng hỗn hợp dịch chiết gừng và thuốc dòi ở nồng độ thí nghiệm cao nhất là 10,0% cho đường

kính tán nấm không phát triển, đạt hiệu lực ức chế 100%.

Xét về mặt thống kê, giữa các nghiệm thức có sự khác biệt rất có ý nghĩa với độ tin cậy 99%.

3.4. Ảnh hưởng của dịch chiết đến sự nảy mầm của bào tử nấm *C. scovillei*

Khả năng ức chế nảy mầm bào tử nấm *C. scovillei* của dịch chiết gừng, thuốc dòi và hỗn hợp dịch chiết gừng – thuốc dòi ở các nồng độ khảo sát, cho thấy các dịch chiết ở mức nồng độ khác nhau có ảnh hưởng đến sự nảy mầm của bào tử nấm, các nghiệm thức khác biệt rất có ý nghĩa thống kê ở mức 1%. Bào tử nấm *C. scovillei* nảy mầm ở nghiệm thức đối chứng bắt đầu hình thành ống mầm sau 8 giờ và nảy mầm hoàn toàn thành sợi nấm sau 24 giờ nuôi

cấy, quan sát dưới kính hiển vi ở vật kính 40X, hiệu lực ức chế bào tử nảy mầm của nấm *C. scovillei* tăng đáng kể khi tăng mức nồng độ dịch chiết vào môi trường. Thời điểm 24 GSC, dịch chiết gừng ở mức nồng độ 8,0% cho hiệu lực ức chế nảy mầm cao nhất đạt 94,1% (Bảng 4). Trong khi đó, dịch chiết thuốc dòi có hiệu lực thấp hơn dịch chiết gừng khi phải tăng đến mức nồng độ 9,0% thì cho hiệu lực ức chế 82,5% (Bảng 4). Hỗn hợp 2 loại dịch chiết gừng và thuốc dòi tại thời điểm 24 GSC cũng cho hiệu lực khá tốt khi ở mức nồng độ hỗn hợp là 8,0% thì đạt hiệu lực là 84,5% (Bảng 4). Như vậy, có thể thấy dịch chiết gừng là dịch chiết có khả năng ức chế sự nảy mầm bào tử của nấm *C. scovillei* gây bệnh thán thư trên ớt tốt hơn so với dịch chiết thuốc dòi tại thời điểm 24 GSC.

Bảng 1. Ảnh hưởng của nồng độ dịch chiết gừng đến *C. scovillei*

Dịch chiết	Nồng độ (%)	Đường kính tán nấm (mm)					
		3 NSC	6 NSC	9 NSC	12 NSC	15 NSC	
1	Gừng	2,0	8,2 <sup>b</sup> ±0,3	9,5 <sup>b</sup> ±0,5	26,8 <sup>b</sup> ±1,5	35,3 <sup>b</sup> ±1,0	42,8 <sup>b</sup> ±1,0
2	Gừng	4,0	0,0 <sup>c</sup> ±0,0	7,7 <sup>b</sup> ±0,3	16,2 <sup>c</sup> ±0,6	23,5 <sup>c</sup> ±1,5	27,2 <sup>c</sup> ±1,3
3	Gừng	6,0	0,0 <sup>c</sup> ±0,0	6,1 <sup>a</sup> ±0,3	7,7 <sup>d</sup> ±0,3	10,2 <sup>d</sup> ±0,3	14,7 <sup>d</sup> ±0,8
4	Gừng	8,0	0,0 <sup>c</sup> ±0,0	0,0 <sup>d</sup> ±0,0	6,3 <sup>d</sup> ±0,3	8,7 <sup>d</sup> ±0,3	11,5 <sup>e</sup> ±0,9
5	Gừng	10,0	0,0 <sup>c</sup> ±0,0	0,0 <sup>d</sup> ±0,0	0,0 <sup>e</sup> ±0,0	0,0 <sup>e</sup> ±0,0	0,0 <sup>f</sup> ±0,0
6	Đối chứng	0,0	18,3 <sup>a</sup> ±0,3	33,0 <sup>a</sup> ±2,2	50,7 <sup>a</sup> ±2,0	68,5 <sup>a</sup> ±1,5	80,0 <sup>a</sup> ±0,0
CV			3,8	9,9	6,0	4,2	2,8
Mức ý nghĩa			**	**	**	**	**

Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng ký tự đi kèm thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức  $\alpha = 0,01$ ; \*\*: khác biệt có ý nghĩa ở mức  $\alpha = 0,01$ ; ĐC: đối chứng; NSC: ngày sau cấy.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ dịch chiết thuốc dòi đến *C. scovillei*

Dịch chiết	Nồng độ (%)	Đường kính tán nấm (mm)					
		3 NSC	6 NSC	9 NSC	12 NSC	15 NSC	
1	Thuốc dòi	3,0	11,3 <sup>b</sup> ±0,3	19,8 <sup>b</sup> ±1,3	26,2 <sup>b</sup> ±1,0	34,5 <sup>b</sup> ±1,5	41,5 <sup>b</sup> ±2,2
2	Thuốc dòi	5,0	8,5 <sup>c</sup> ±0,5	9,3 <sup>c</sup> ±0,3	17,7 <sup>c</sup> ±0,8	24,0 <sup>c</sup> ±0,9	25,8 <sup>c</sup> ±1,0
3	Thuốc dòi	7,0	0,0 <sup>d</sup> ±0,0	7,8 <sup>c</sup> ±0,3	13,8 <sup>d</sup> ±0,8	19,2 <sup>d</sup> ±0,8	21,2 <sup>d</sup> ±1,1
4	Thuốc dòi	9,0	0,0 <sup>d</sup> ±0,0	0,0 <sup>d</sup> ±0,0	0,0 <sup>e</sup> ±0,0	6,7 <sup>c</sup> ±0,8	10,3 <sup>e</sup> ±1,5
5	Thuốc dòi	11,0	0,0 <sup>d</sup> ±0,0	0,0 <sup>d</sup> ±0,0	0,0 <sup>e</sup> ±0,0	0,0 <sup>f</sup> ±0,0	0,0 <sup>f</sup> ±0,0
6	ĐC	0,0	18,3 <sup>a</sup> ±0,3	33,0 <sup>a</sup> ±2,2	50,7 <sup>a</sup> ±2,0	68,5 <sup>a</sup> ±1,5	80,0 <sup>a</sup> ±0,0
CV			4,1	8,9	5,7	4,1	4,2
Mức ý nghĩa			**	**	**	**	**

Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng ký tự đi kèm thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức  $\alpha = 0,01$ ; \*\*: khác biệt có ý nghĩa ở mức  $\alpha = 0,01$ ; ĐC: đối chứng; NSC: ngày sau cấy.

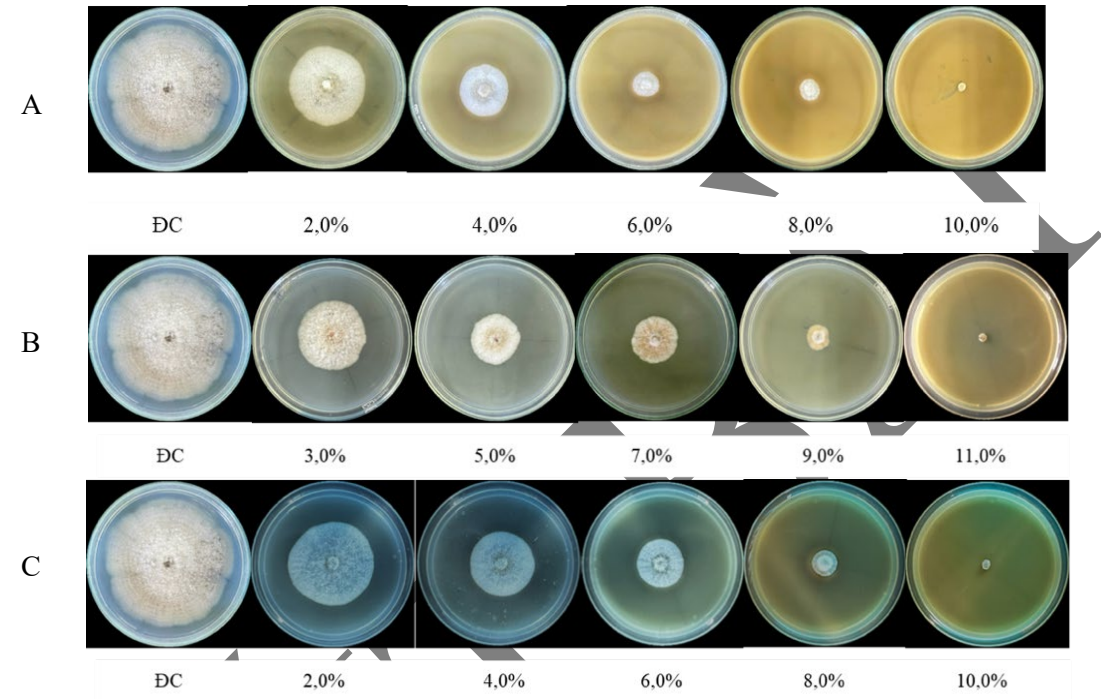
Bảng 3. Ảnh hưởng của nồng độ hỗn hợp dịch chiết gừng và thuốc dòi (1:1) đến *C. scovillei*

Dịch chiết		Nồng độ (%)	Đường kính tán nấm (mm)				
			3 NSC	6 NSC	9 NSC	12 NSC	15 NSC
1	Hỗn hợp	2,0	11,3 <sup>b</sup> ±0,2	20,7 <sup>b</sup> ±0,8	29,3 <sup>b</sup> ±0,6	40,5 <sup>b</sup> ±1,1	49,8 <sup>b</sup> ±1,0
2	Hỗn hợp	4,0	6,2 <sup>c</sup> ±0,2	11,8 <sup>c</sup> ±0,6	20,7 <sup>c</sup> ±0,6	30,3 <sup>c</sup> ±1,0	39,3 <sup>c</sup> ±1,0
3	Hỗn hợp	6,0	0,0 <sup>d</sup> ±0,0	8,8 <sup>d</sup> ±0,5	15.5 <sup>d</sup> ±0,4	20,8 <sup>d</sup> ±1,0	29,8 <sup>d</sup> ±1,0
4	Hỗn hợp	8,0	0,0 <sup>d</sup> ±0,0	0,0 <sup>e</sup> ±0,0	6,7 <sup>c</sup> ±0,6	11,7 <sup>e</sup> ±0,5	15,5 <sup>e</sup> ±0,7
5	Hỗn hợp	10,0	0,0 <sup>d</sup> ±0,0	0,0 <sup>e</sup> ±0,0	0,0 <sup>f</sup> ±0,0	0,0 <sup>f</sup> ±0,0	0,0 <sup>f</sup> ±0,0



Dịch chiết	Nồng độ (%)	Đường kính tán nấm (mm)					
		3 NSC	6 NSC	9 NSC	12 NSC	15 NSC	
6	ĐC	0,0	18,3 <sup>a</sup> ±0,3	33,0 <sup>a</sup> ±2,2	50,7 <sup>a</sup> ±2,0	68,5 <sup>a</sup> ±1,5	80,0 <sup>a</sup> ±0,0
	CV		3,4	8,6	4,9	3,9	2,7
	Mức ý nghĩa		**	**	**	**	**

Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng ký tự đi kèm thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức  $\alpha = 0,01$ ; \*\*: khác biệt có ý nghĩa ở mức  $\alpha = 0,01$ ; ĐC: đối chứng; NSC: ngày sau cấy.



Hình 4. Ảnh hưởng của các loại dịch chiết khảo sát đến sự phát triển đường kính tán nấm *C. scovillei* ở thời điểm 15 ngày sau cấy.

(A): dịch chiết gừng, (B): dịch chiết thuốc dòi, (C): hỗn hợp hai dịch chiết (1:1)

Bảng 4. Hiệu lực ức chế (%) sự nảy mầm bào tử *C. scovillei* của các loại dịch chiết ở các nồng độ khác nhau

Loại dịch chiết	Hiệu lực ức chế nảy mầm bào tử (%)					
	Gừng		Thuốc dòi		Hỗn hợp	
Nồng độ (%)	2,0%	8,0%	3,0%	9,0%	2,0%	8,0%
8 GSC	57,7 <sup>b</sup> ±3,4	100 <sup>a</sup> ±0,0	37,7 <sup>b</sup> ±2,1	94,1 <sup>a</sup> ±4,7	45,7 <sup>b</sup> ±2,6	100,0 <sup>a</sup> ±2,1
24 GSC	34,3 <sup>b</sup> ±4,2	94,1 <sup>a</sup> ±2,9	30,0 <sup>b</sup> ±3,6	82,5 <sup>a</sup> ±3,3	27,7 <sup>b</sup> ±2,9	84,5 <sup>a</sup> ±4,0

Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng ký tự đi kèm thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức  $\alpha = 0,01$ ; GSC: giờ sau cấy.

3.5. Đánh giá khả năng lây bệnh của *Colletotrichum* spp.

Bốn mẫu đã được định danh được dùng để chủng bệnh, bao gồm loài *C. scovillei* (TT3.3, MPT2.2) và *C. gleosporioides* (TH3.1 và TTB2.1). Kết quả chủng bệnh cho thấy ở điều kiện chủng không gây vết thương, quả ớt có tỷ lệ nhiễm bệnh 50%. Trong điều kiện có gây vết thương, các mẫu nấm

*Colletotrichum* spp. đều gây bệnh cho quả với vết chủng bị bệnh là 100%. Sau 6 ngày lây bệnh, sự xuất hiện triệu chứng bệnh thán thư ở các mẫu quả ớt được ghi nhận có 2 dạng vết loét điển hình khác nhau, vết loét có màu đen và màu vàng nâu. Vết bệnh có hình dạng bất định, màu nâu đậm đến màu đen. Vết bệnh lúc đầu là các đốm đen nhỏ, sau lan rộng thành các vết bệnh lớn, mô bệnh không có ranh

giới rõ rệt với mô khỏe. Ở vùng gây vết thương, biểu bì bắt đầu chuyển sang màu nâu đen.



**Hình 5. Triệu chứng sau khi chủng bệnh nấm *Colletotrichum* spp. 6 ngày trên giống ớt chỉ thiên Hai mũi tên đỏ**

Trên vết bệnh màu vàng nâu (Hình 5A) thường thấy xuất hiện những khối bào tử màu vàng xỉn, khối bào tử này ẩm ướt, xung quanh vết bệnh lõm xuống và thường có đường viền màu đen lan rộng và không đều nhau. Trên vết bệnh màu nâu đen, thịt quả bị trũng hóp xuống, khô và nhăn lại (Hình 5B) xuất hiện những chấm nhỏ li ti màu đen có kích thước không đều nhau xếp thành vòng tròn đồng tâm hoặc xếp lộn xộn. Vết bệnh ban đầu nhỏ, màu nâu nhạt, sau chuyển sang màu nâu đậm hoặc đen. Theo Than et al. (2008) các triệu chứng điển hình của quả là các vết bệnh thường có hình tròn hoặc hơi tròn lõm xuống xuất hiện những chấm nhỏ màu đen xếp thành những vòng tròn đồng tâm bên trong màu vàng cam hoặc nâu đen. Khi bệnh nặng, các vết bệnh liên kết với nhau. Khối bào tử cũng có thể xuất hiện rải rác hoặc thành vòng tròn đồng tâm trên vết bệnh. Như vậy, kết quả từ thí nghiệm đánh giá khả năng gây bệnh của 4 nhóm nấm *Colletotrichum* spp. trên quả ớt chỉ thiên hai mũi tên đỏ này tương đồng với kết quả trong nghiên cứu của Than et al. (2008).

Kết quả từ Bảng 5 cho thấy được cả 4 mẫu nấm *Colletotrichum* spp. đều gây bệnh trên quả ớt trong điều kiện phòng thí nghiệm ở nhiều mức độ khác nhau. Đối với chỉ tiêu về tỷ lệ bệnh ở các nghiệm thức dao động từ 0% đến 77,24%, trong đó nghiệm thức TT3.3 có tỷ lệ bệnh cao nhất là 77,24% và khác

biệt rất có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại. Sau khi lây nhiễm các mẫu nấm *Colletotrichum* spp. ghi nhận triệu chứng của bệnh thán thư trên các quả ớt (Hình 5). Dựa vào những triệu chứng nhiễm bệnh và tỷ lệ bệnh, nhận thấy rằng chỉ số bệnh ở nghiệm thức TT3,3 cao nhất với 32,56% khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại. Bên cạnh đó, nghiệm thức MPT2.2 tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh là thấp nhất so với các nghiệm thức còn lại với số liệu lần lượt là 31,493% và 19,923%.

**Bảng 5. Triệu chứng sau khi chủng bệnh nấm *Colletotrichum* spp. 6 ngày trên giống ớt chỉ thiên Hai mũi tên đỏ**

NT	Chỉ tiêu theo dõi	
	Tỷ lệ bệnh (%)	Chỉ số bệnh (%)
TT3.3	77,2 <sup>a</sup> ±5,2	32,6 <sup>a</sup> ±1,9
TH3.1	62,2 <sup>ab</sup> ±4,6	25,9 <sup>b</sup> ±1,1
TTB2.1	48,2 <sup>bc</sup> ±5,2	25,5 <sup>b</sup> ±2,5
MPT2.2	31,5 <sup>c</sup> ±16,1	19,9 <sup>c</sup> ±1,5
ĐC	0,0 <sup>d</sup> ±0,0	0,0 <sup>d</sup> ±0,0
CV (%)	22,8	9,7
Ý nghĩa	**	**

Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng ký tự đi kèm thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức  $\alpha = 0,01$ ; \*\*: khác biệt có ý nghĩa ở mức  $\alpha = 0,01$ , NT: Nghiệm thức.

#### 4. KẾT LUẬN

Kết quả định danh bằng hình thái và sinh học phân tử dựa trên vùng gen ITS cho thấy phát hiện được 2 tác nhân gây bệnh thán thư trên 2 giống ớt chỉ thiên, ớt sừng vàng tại ba huyện Gò Công Đông, Chợ Gạo, Thị xã Cai Lậy trong tỉnh Tiền Giang là *Colletotrichum scovillei* và *Colletotrichum gloeosporioides*.

Thử nghiệm hoạt tính kháng nấm *C. scovillei* bằng phương pháp khuếch tán trên thạch của dịch chiết từ gừng, thuốc dòi và hỗn hợp dịch chiết cho thấy các loại dịch chiết trên biểu hiện hoạt tính kháng nấm *C. scovillei* gây bệnh thán thư trên ớt tốt với nồng độ đề nghị lần lượt là 10%, 11% và 10% cho hiệu lực ức chế tối đa. Ngoài ra, sử dụng dịch chiết gừng 8%, thuốc dòi 9% và hỗn hợp ở nồng độ 8% có thể ức chế bào tử nấm với hiệu lực lần lượt là 94,1%, 82,5% và 84,5% sau 24 giờ cấy và quan sát.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO (REFERENCES)

- Ministry of Agriculture and Rural Development. (2014). QCVN 01-160:2014/BNNPTNT. *National technical regulation QCVN 01-160:2014/BNNPTNT on field trials for evaluating the effectiveness of fungicides in controlling anthracnose disease (Colletotrichum spp.) on chili plants (in Vietnamese)*.
- Chrubasik, S., Pittler, M. H., & Roufogalis, B. D. (2005). *Zingiberis rhizoma*: a comprehensive review on the ginger effect and efficacy profiles. *Phytomedicine*, 12(9), 684-701. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2004.07.009>
- Ngo, H. B. (1991). Preliminary research results on the composition of chili diseases and some biological characteristics of the anthracnose fungus *Colletotrichum spp.* affecting chili. *Scientific Research Results - Hanoi University of Agriculture*, 86-91. Agriculture Publishing House (in Vietnamese).
- Ngo, H. B. (1992). Anthracnose disease on chili. *Plant Protection Journal*, 124(4), 15-17 (in Vietnamese).
- Nguyen, H. D., & Ha, V. C. (2017). Identification of *Colletotrichum* fungi causing anthracnose disease on chili in the Red River Delta. *Vietnam Journal of Agricultural Science and Technology*, 12(85), 87-93. (in Vietnamese).
- Nguyen, T. D. H., & Le, T. L. (2019). Antifungal potential of ginger extract against anthracnose-causing fungi on post-harvest banana and chili. *Journal of Science and Agricultural Technology, Hue University of Agriculture and Forestry*, 3(3), 1439-1447 (in Vietnamese).
- Mahasuk, P., Khumpeng, N., Wasee, S., Taylor, P., & Mongkolporn, O. (2009). Inheritance of resistance to anthracnose (*Colletotrichum capsici*) at seedling and fruiting stages in chili pepper (*Capsicum spp.*). *Plant Breeding*, 128, 701-706. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2008.01615.x>
- Mistry, D. S., Sharma, L. P., & Patel, S. T. (2008). Biochemical parameters of chilli fruits as influenced by *Colletotrichum capsici* (Sydow) Butler and Bisby infection. *Karnataka J. Agrl. Sci.*, 21, 586-587.
- Panacek, A., Kolar, M., Vecerova, R., Prucek, R., Soukupova, J., Krystof, V., Hamal, P., Zboril, R., & Kvittek, L. (2009). Antifungal activity of silver nanoparticles against *Candida spp.* *Biomaterials*, 30(31), 6333-6340. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.07.065>
- Saha, B., Mukherjee, P. K., Das, J., & Pal, M. (2012). Anti-fungal activity of *Pouzolzia zeylanica* (L.) Benn. *International Journal of Pharmacy Teaching & Practices*, 3, 826-830.
- Sutton, B. C. (1995). *The Coelomycetes fungi Imperfecti with pycnidia Acervuli and Stromaea*. Principal Mycologist. *Common wealth Mycological Institute*, 523-537.
- Nguyen, D. T., Vo, T. X. T. & Nguyen, M. T. (2017). Comparative analysis of bioactive compound content in *Pouzolzia zeylanica* with red-purple and green stems collected in An Giang province. *Vietnam Journal of Agricultural Science and Technology*, 6(79), 81-85 (in Vietnamese).
- Than, P. P., Rajesh, J., Hyde, K. D., Pongsupasamit, S., Mongkolporn, O., & Taylor, P. W. J. (2008). Characterization and pathogenicity of *Colletotrichum* species associated with anthracnose infection on chili (*Capsicum spp.*). *P. Pathol*, 57, 562-572.
- White, T., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J., Innis, M., Gelfand, D., & Sninsky, J. (1990). *Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics*, 315-322.
- Yao, H. J., & Tian, S. P. (2005). Effects of a biocontrol agent and methyl jasmonate on postharvest diseases of peach fruit and the possible mechanisms involved. *J. Appl. Microbiol*, 98(4), 941-950. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02531.x>
- Nguyen, T. B. T., Vu, T. M. T., Le, N. T. D., Nguyen, D. H. V., & Trinh, T. P. L. (2024). Inhibitory effect of polyphenol-rich cashew leaves extracts (*Anacardium occidentale* L.) on *Fusarium oxysporum*. *Proceedings of the National Scientific Conference on Biotechnology 2024, Vietnam (in Vietnamese)*.
- Cronin, M. J., Yohalem, D. S., Harris, R. F., & Andrews, J. H. (1996). Putative mechanism and dynamics of inhibition of the apple scab pathogen *Venturia inaequalis* by compost extracts. *Soil Biology and Biochemistry*, 28(9), 1241-1249.
- Montri, P., Taylor, P. W. J., & Mongkolporn, O. (2009). Pathotypes of *Colletotrichum capsici*, the causal agent of chili anthracnose, in Thailand. *Plant Disease*, 93(1), 17-20.