

Thành phần hóa học và hoạt tính *in vitro* kháng nấm *Colletotrichum* spp. gây bệnh thán thư trên cây trồng của dầu nghệ (*Curcuma longa* L.)

Phạm Trung Hiếu¹, Trần Đại Lâm², Phạm Thị Năm³, Vũ Đình Hoàng³,
Nguyễn Hồng Tuyên⁴, Trịnh Thị Hồng⁵, Lê Đăng Quang^{1,6*}

¹Trung tâm Phát triển Công nghệ cao, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Viện Kỹ thuật Nhiệt đới, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³Trường Đại học Bách khoa Hà Nội

⁴Viện Bảo vệ Thực vật

⁵Học viện Nông nghiệp Việt Nam

⁶Trung tâm Nghiên cứu Triển khai các Hoạt chất Sinh học, Viện Hóa học Công nghiệp Việt Nam

Ngày nhận bài 8/12/2020; ngày chuyển phản biện 11/12/2020; ngày nhận phản biện 11/1/2021; ngày chấp nhận đăng 15/1/2021

Tóm tắt:

Quá trình sản xuất curcumin sản sinh ra lượng lớn sản phẩm phụ là nhựa dầu nghệ ở dạng keo, gây ô nhiễm môi trường. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm thu nhận một phần lượng dầu nghệ từ phụ phẩm này và khảo sát hoạt tính kháng nấm hại cây trồng. Dầu nghệ thu được bằng phương pháp chiết phân bố với *n*-hexan của phần nhựa dầu nghệ thu từ củ nghệ vàng (*Curcuma longa* L.) thể hiện hoạt tính mạnh đối với các chủng nấm gây bệnh thán thư trên cây vải. Các thành phần dễ bay hơi của dầu nghệ đã được xác định bằng phương pháp sắc ký khí nối ghép khối phổ (GC-MS). Kết quả xác định được 23 hợp chất, trong đó có 4 hợp chất chính là α -zingiberene, α -turmerone, ar-turmerone và β -sesquiphellandrene. Các tác giả cũng đã phân lập thành công chủng nấm *Colletotrichum gloeosporioides* từ quả vải bị bệnh thán thư thu hái tại Bắc Giang. Đồng thời thử nghiệm hiệu quả kháng 3 chủng nấm gây bệnh thán thư là *C. gloeosporioides*, *C. orbiculare*, *C. acutatum* và 2 chủng nấm khác là *Phytophthora infestans*, *Fusarium oxysporum* của dầu nghệ bằng phương pháp poisoned food technique. Kết quả cho thấy, ở nồng độ 1 mg/ml, dầu nghệ cho hiệu quả ức chế cao nhất với chủng nấm *C. gloeosporioides* (67,9%) phân lập từ quả vải, đối với các chủng nấm còn lại đạt hiệu quả ức chế trong khoảng 41-62%.

Từ khóa: bệnh thán thư, cây vải, *Colletotrichum* spp., *Curcuma longa* L., dầu nghệ.

Chỉ số phân loại: 1.4

Giới thiệu

Trên thế giới, tình hình sâu bệnh phá hoại mùa màng ngày càng trầm trọng hơn do quá trình biến đổi khí hậu cùng với sự phát triển của ngành nông nghiệp. Nhu cầu về thuốc bảo vệ thực vật (BVTV) vì thế cũng ngày một tăng theo. Để giảm thiểu tác hại của thuốc BVTV tới môi trường, xu hướng sử dụng các thuốc BVTV sinh học có nguồn gốc thảo mộc ngày một phổ biến hơn. Trong các loài thực vật được ứng dụng nghiên cứu tại Việt Nam, cây nghệ vàng (*Curcuma longa* L.) đã và đang được sử dụng rộng rãi trong các chế phẩm sinh học do sự phổ biến, giá thành rẻ, dễ nuôi trồng và quan trọng là đặc tính kháng khuẩn, kháng nấm tốt của các chiết xuất thu được từ loài cây này [1, 2]. Trong các thành phần từ cây nghệ, curcumin là thành phần nổi tiếng nhất bởi các ứng dụng của hợp chất này trong y học, đời sống. Tuy nhiên, quá trình sản xuất curcumin sinh ra lượng lớn sản phẩm phụ là nhựa dầu nghệ ở dạng keo gây ô nhiễm môi trường.

Bệnh thán thư là bệnh hại cây trồng, khiến lá khô rụng, cành

héo úa, quả thối hỏng, gây thiệt hại nặng nề đến năng suất. Trên thế giới, theo nghiên cứu của Ann và cs (1994) [3], bệnh thán thư trên cây xoài có thể gây thất thu năng suất lên đến 60%. Cheng và cs (2013) [4] đã thông báo, bệnh thán thư làm giảm 15% năng suất trái quýt trên diện rộng ở tỉnh Quảng Đông, Trung Quốc. Tại Việt Nam, tác giả V.T. Mai (2002) [5] cho biết, tại Đồng bằng sông Cửu Long, tỷ lệ cây sầu riêng bị thán thư lên đến 60%. Đối với quả vải, bệnh còn có tên gọi khác là bệnh khô quả do nấm *C. gloeosporioides* gây ra. Bệnh này có tác động nghiêm trọng trên toàn cây vải, ảnh hưởng đến năng suất và phẩm chất quả vải [6].

Để góp phần nghiên cứu và phát triển các loại thuốc BVTV sinh học có nguồn gốc thiên nhiên phòng trừ nấm gây bệnh thán thư trên cây vải và làm cơ sở cho các nghiên cứu sâu hơn, chúng tôi tiến hành điều chế dầu nghệ bằng cách chiết phân bố với *n*-hexan phần nhựa dầu nghệ - sản phẩm phụ thu được sau khi kết tinh curcumin từ củ nghệ vàng (*C. longa* L.) tại Bắc Giang và phân tích thành phần các cấu tử dễ bay hơi trong đó. Đồng thời

*Tác giả liên hệ: Email: ledangquang2011@gmail.com

Chemical composition and *in vitro* antifungal activity of turmeric oil from *Curcuma longa* L. rhizome against *Colletotrichum* spp.

Trung Hieu Pham¹, Dai Lam Tran², Thi Nam Pham²,
Dinh Hoang Vu³, Hong Tuyen Nguyen⁴,
Thi Hong Trinh⁵, Dang Quang Le^{1,6*}

¹Center for High Technology Development,
Vietnam Academy of Science and Technology

²Institute for Tropical Technology, Vietnam Academy of Science and Technology

³Hanoi University of Science and Technology

⁴Plant Protection Research Institute

⁵Vietnam National University of Agriculture

⁶Research and Development Center of Bioactive Compounds,
Vietnam Institute of Industrial Chemistry (VIIC)

Received 8 December 2020; accepted 15 January 2021

Abstract:

The production of curcumin produces large quantities of the spent turmeric oleoresin as a by-product, which often pollutes the environment. This study was conducted to obtain turmeric oil from this by-product and evaluate its antifungal activity. Turmeric oil afforded by partitioning the turmeric oleoresin from the production of curcumin (*Curcuma longa* L.) with *n*-hexane showed a strong inhibition for *Colletotrichum* species. The volatile components of turmeric oil were determined by GC-MS. Then, 23 volatile compounds were identified from this oil, of which four main compounds were α -zingiberene, α -turmerone, ar-turmerone, and β -sesquiphellandrene. Besides, the authors also isolated *Colletotrichum gloeosporioides* from lychee fruits, which were harvested in Luc Ngan district, Bac Giang province. By poisoned food technique, the antifungal activity of turmeric oil against *C. gloeosporioides*, *C. orbiculare*, *C. acutatum*, *Phytophthora infestans*, and *Fusarium oxysporum* was demonstrated. The results showed that at a concentration of 1 mg/ml, turmeric oil showed the highest inhibitory effect on *C. gloeosporioides* (67.9%). As for other fungi, *in vitro* growth inhibition varied in the range of 41-62%.

Keywords: anthracnose, *Colletotrichum* spp., *Curcuma longa* L., litchi, turmeric oil.

Classification number: 1.4

thử nghiệm hoạt tính kháng nấm của dầu nghệ đối với 3 chủng nấm gây bệnh thán thư và một số chủng nấm khác. Trong đó, chủng nấm *C. gloeosporioides* được phân lập trực tiếp từ quả vải tại huyện Lục Ngạn, Bắc Giang.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng

Nguyên liệu thân củ và rễ cây nghệ vàng (*Curcuma longa* L.) được phơi khô, nghiền nhỏ tới kích thước 3-5 mm để tiến hành chiết cao.

Các chủng nấm được sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: *Phytophthora infestans* (gây bệnh mốc sương); *Fusarium oxysporum* (gây bệnh héo rũ chết vàng); *C. gloeosporioides*, *C. orbiculare* và *C. acutatum* (gây bệnh thán thư). Trong đó, *P. infestans*, *F. oxysporum*, *C. orbiculare* và *C. acutatum* được cung cấp bởi Trung tâm Nghiên cứu Triển khai các Hoạt chất Sinh học - Viện Hóa học Công nghiệp Việt Nam. Chủng nấm *C. gloeosporioides* được phân lập từ quả vải thu hoạch từ huyện Lục Ngạn, tỉnh Bắc Giang. Thí nghiệm phân lập và thử hoạt tính kháng nấm được thực hiện trên các đĩa thạch Petri với môi trường PDA (Potato Dextrose Agar), khoai tây - đường glucose - agar.

Phương pháp

Điều chế dầu nghệ: dầu nghệ (turmeric oil) thu được từ sản phẩm phụ nhựa dầu nghệ khi kết tinh curcumin theo quy trình sau: 3 kg bột nghệ được chiết hồi lưu với 12 l etyl acetat tại nhiệt độ sôi của dung môi (6 h×3 lần). Dịch chiết thu được sau đó được gộp lại và cô quay đuôi dung môi để thu cao chiết (nhựa dầu nghệ - turmeric oleoresin). Tiến hành kết tinh curcumin từ cao chiết trên sẽ thu được sản phẩm phụ là phần dịch ốt, sau khi cô hết dung môi của dịch ốt thu được nhựa dầu nghệ (spent turmeric oleoresin) chứa 30-40% dầu nghệ. Lấy 500 g nhựa dầu nghệ phân tán vào 500 ml methanol, sau đó chiết phân bố lỏng - lỏng với 500 ml *n*-hexan (3 lần). Tách riêng các lớp *n*-hexan phía trên rồi gộp lại, cất loại dung môi tới kiệt thu được 180 g dầu nghệ để sử dụng trong nghiên cứu.

Phân tích thành phần cấu tử dễ bay hơi trong dầu nghệ: dầu nghệ nêu trên đem chưng cất lôi cuốn theo hơi nước thu được hỗn hợp các hợp chất dễ bay hơi. Hỗn hợp sau đó đem làm khan bằng muối Na_2SO_4 để thu được mẫu phân tích. Sử dụng phương pháp GC-MS để xác định thành phần các chất trong mẫu phân tích. Phương pháp GC-MS được thực hiện trên máy GC Agilent HP mode 7890 A nối ghép khối phổ 5975C; cột HP5-MS (60 m×0,25 mm×0,25 μm); khí mang: Heli, tốc độ dòng 1 ml/phút. Nhiệt độ inlet: 250°C, chia dòng 100:1; Inject volume: 1 μl . Chương trình nhiệt độ: nhiệt độ ban đầu 60°C (giữ 5 phút), tăng 8 độ/phút đến 240°C (giữ 5 phút) cho đến khi kết thúc. Bắn mảnh ở thế 70 eV, khoảng quét 35-450 amu. So sánh phổ khối của các peak nhận được với thư viện phổ W09N08, HPCH1607 và sử dụng phần mềm khóa thời gian lưu, phần mềm xử lý kết quả MassFinder4.0.

Phân lập, giám định chủng nấm *C. gloeosporioides*: quá trình phân lập, giám định các chủng nấm được thực hiện theo phương pháp của Burgess và cs (2008) [7]. Tiến hành lấy quả vải mới có

triệu chứng nhiễm bệnh, có ranh giới giữa mô bệnh và mô khỏe. Rửa sạch mẫu quả bị bệnh bằng nước cất và lau khô bằng giấy đã khử trùng để loại bỏ đất bụi và các tạp chất khác. Chọn mô nằm giữa ranh giới của mô bệnh và mô khỏe. Khử trùng bề mặt mô bằng ethanol 70% khoảng 30-60 giây. Cắt mô thành miếng nhỏ (2×2 mm) từ phần ranh giới giữa mô khỏe và mô bệnh, sau đó cấy lên môi trường nghèo dinh dưỡng PDA. Đặt đĩa cấy ở nhiệt độ 25-28°C trong tủ định ôn 2-5 ngày. Kiểm tra đĩa cấy hàng ngày, khi nấm phát triển từ các miếng cấy, cấy truyền chúng sang môi trường PDA mới. Cấy truyền một bào tử nảy mầm để tạo một mẫu nấm thuần của chủng nấm nghiên cứu. Mẫu nấm *Colletotrichum* spp. sau khi thuần đã được lây nhiễm thành công trở lại trên quả vải. Việc định danh dựa theo khóa phân loại của Sutton (1980) [8] và bổ sung các đặc điểm khác của chủng nấm từ các tác giả như Gangadevi và cs (2008) [9] và Misael và cs (2015) [10].

Thử nghiệm hoạt tính kháng nấm của dầu nghệ: sử dụng phương pháp poisoned food technique để khảo sát hoạt tính của dầu nghệ đối với các chủng nấm thử nghiệm, xác định bằng cách trộn dầu nghệ vào môi trường PDA nóng chảy theo đúng nồng độ thử nghiệm (0,0625; 0,125; 0,25; 0,5 và 1 mg/ml). Chủng nấm được phân lập và làm thuần, dùng dụng cụ đục lỗ có đường kính 4 mm tiến hành đục vành ngoài đường kính tảo nấm, sau đó đặt lên môi trường PDA của đĩa petri và nuôi trong tủ định ôn ở nhiệt độ 25°C. Mỗi nồng độ khác nhau sẽ được thử nhắc lại 3 lần trên môi trường PDA. Theo dõi sự phát triển của chủng nấm trong 2-4 ngày và đo đường kính tảo nấm. Hiệu quả kháng nấm được tính theo công thức [11]:

$$C_v (\%) = 100 \times \frac{D_c - D_t}{D_c - 4}$$

Trong đó: D_c là đường kính tảo nấm trên đĩa petri đối chứng (mm); 4 là đường kính khoanh agar - nấm; D_t là đường kính tảo nấm trên đĩa petri trộn mẫu thí nghiệm (mm).

Tốc độ phát triển của thể sợi các chủng nấm (MGR: mycelial growth rate) được tính theo công thức:

$$MGR (\text{mm/ngày}) = \frac{D_4 - D_2}{2}$$

Trong đó: D_4 là đường kính tảo nấm trên đĩa petri ở ngày nuôi cấy thứ 4 (mm); D_2 là đường kính tảo nấm ở ngày nuôi cấy thứ 2 (mm).

Kết quả và thảo luận

Thành phần các hợp chất dễ bay hơi trong dầu nghệ

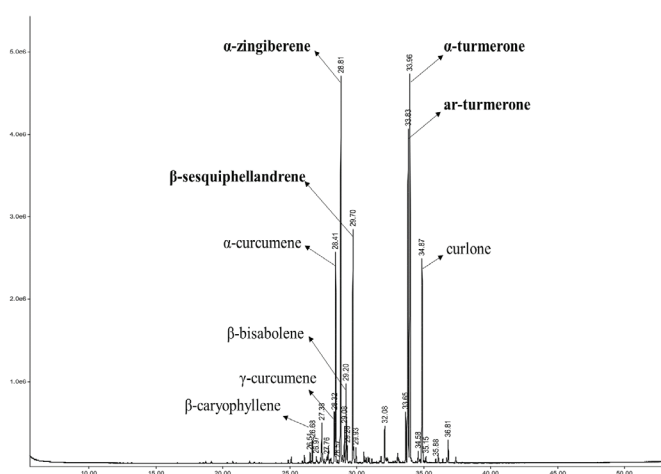
Trong dầu nghệ có chứa nhiều hợp chất dễ bay hơi. Hỗn hợp cấu tử dễ bay hơi này thu được từ quá trình chưng cất lôi cuốn theo hơi nước từ dầu nghệ ban đầu. Bằng phương pháp GC-MS, chúng tôi đã xác định được thành phần các hợp chất dễ bay hơi nêu trên, kết quả trình bày ở bảng 1 và hình 1. Có 23 hợp chất dễ bay hơi đã được xác định và chiếm 93,35% tổng hàm lượng. Các thành phần chính dễ bay hơi được xác định là α -zingiberene (17,63%), α -turmerone (16,68%), ar-turmerone (16,55%) và β -sesquiphellandrene (10,65%). Các hợp chất có tỷ lệ từ 0,97-8,44% gồm curlone (8,44%), α -curcumene (7,61%), β -bisabolene

(3,11%), 4 hợp chất không xác định được tên (1,91%; 1,71%; 1,64%; 1,52%), γ -curcumene (1,85%), β -caryophyllene (0,97%). Hai hợp chất α -turmerone và ar-turmerone được tìm thấy nhiều nhất trong tinh dầu của loài cây này. Ngoài ra, α -zingiberene, β -sesquiphellandrene, curlone và α -curcumene cũng là các hợp chất được báo cáo và tìm thấy trong tinh dầu thu được từ củ nghệ. Nghiên cứu của tác giả N.T.M. Huong và cs (2013) [12] về thành phần hóa học trong rễ củ nghệ vàng thu hái tại Hưng Yên cho thấy: α -turmerone và ar-turmerone chiếm tỷ lệ hơn 44% hàm lượng tinh dầu, theo sau đó là các sesquiterpene như β -sesquiphellandrene, α -zingiberene và β -caryophyllene chiếm hơn 10%. Nghiên cứu về thành phần hóa học của củ nghệ thu hái tại Faisalabad, Pakistan của Shagufta và cs (2010) [13] cũng cho thấy: thành phần chính trong tinh dầu nghệ là ar-turmerone (25,33%) và α -turmerone (18,35%), ngoài ra curlone (12,5%) và caryophyllene (2,26%) cũng chiếm tỷ lệ hàm lượng lớn. Tương tự, các thành phần trên cũng được tìm thấy với hàm lượng lớn trong tinh dầu thu được từ củ nghệ vàng tại Lào [14], Nhật Bản [15], Ấn Độ [16]. Các hợp chất này cũng là thành phần chính trong tinh dầu thu được từ phần lá cây nghệ, tuy nhiên hợp chất β -sesquiphellandrene chiếm hàm lượng lớn nhất (22,8%) thay vì ar-turmerone (1,6%) hay α -turmerone (1,9%) [17]. Có thể thấy rằng, thành phần dễ bay hơi của dầu nghệ trong nghiên cứu có hàm lượng α -zingiberene (17,63%) cao hơn so với các báo cáo trước đây, đây là hợp chất hay được tìm thấy trong tinh dầu cây gừng - cùng họ Zingiberaceae với cây nghệ.

Bảng 1. Thành phần các cấu tử dễ bay hơi trong dầu nghệ.

STT	Hợp chất	Thời gian lưu (phút)	RI ^a	Tỷ lệ (%) ^b
1	α -santalene	26,51	1431	0,27
2	β -caryophyllene	26,68	1436	0,97
3	trans- α -bergamotene	26,97	1446	0,22
4	ND ^c	27,38	1459	1,91
5	α -humulene	27,76	1471	0,17
6	γ -curcumene	28,32	1488	1,85
7	α -curcumene	28,41	1492	7,61
8	trans- β -bergamotene	28,57	1497	0,13
9	α-zingiberene	28,81	1504	17,63
10	ND	29,08	1513	1,52
11	β -bisabolene	29,20	1517	3,11
12	β -curcumene	29,28	1520	0,64
13	β-sesquiphellandrene	29,70	1534	10,65
14	(E)- γ -bisabolene	29,93	1542	0,64
15	ND	32,08	1615	1,64
16	ND	33,65	1671	1,71
17	ar-turmerone	33,83	1677	16,55
18	α-turmerone	33,96	1682	16,68
19	(Z)- γ -atlantone	34,58	1704	0,42
20	curlone	34,87	1715	8,44
21	(Z)- α -atlantone	35,15	1725	0,18
22	α -oxobisabolene	35,89	1752	0,17
23	(E)- α -atlantone	36,81	1787	0,86
Tổng cộng				93,95

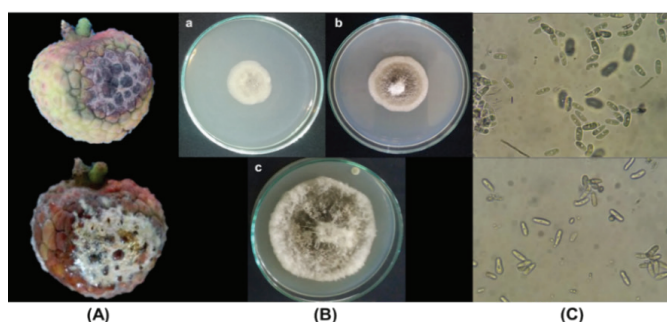
^aRI: Kovats Retention Index; ^bTỷ lệ (%): tính theo diện tích peak sắc ký; ^cND: không xác định được.



Hình 1. Sắc ký đồ GC-MS của các cấu tử dễ bay hơi thu được từ dầu nghệ.

Phân lập chủng nấm bệnh *C. gloeosporioides* từ quả vải

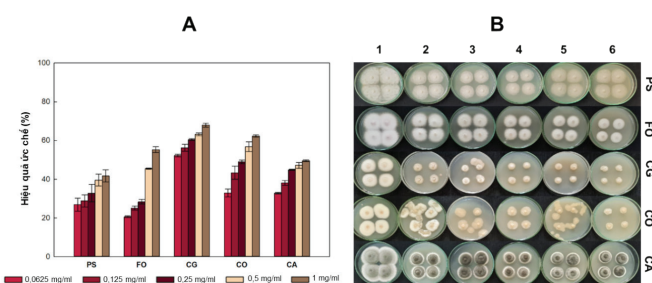
Từ các mẫu quả vải bị bệnh thu được tại huyện Lục Ngạn, tỉnh Bắc Giang (hình 2A) đã phân lập được chủng nấm trên môi trường PDA (hình 2B). Từ hình 2B có thể thấy hình thái tản nấm khi non có sợi nấm màu trắng, mọc thưa, tản nấm đều, khi già sợi nấm chuyển sang màu nâu đen ở tâm, ngoài rìa mọc thưa hơn, màu trắng, bông xốp. Bào tử nấm có hình trụ hai đầu cùn hoặc một đầu cùn, một đầu hẹp chóp lại, một số bào tử vùng giữa có dạng thắt eo. Các bào tử riêng biệt, màu nâu nhạt hoặc trắng xám, thuôn, mỏng (hình 2C). Dựa vào các đặc điểm của vết bệnh và chủng nấm (hình 2) so sánh với khóa phân loại các loài thuộc chi nấm *Colletotrichum* của Sutton (1980) [8] và bổ sung các đặc điểm khác từ các tài liệu công bố trước đây của tác giả Gangadevi và cs (2008) [9], Misael và cs (2015) [10], chủng nấm phân lập được xác định là *C. gloeosporioides*.



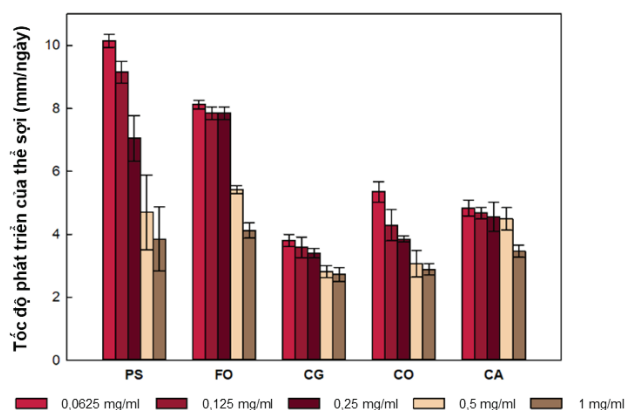
Hình 2. Kết quả phân lập chủng nấm bệnh *C. gloeosporioides* từ quả vải. (A) Mẫu quả vải bị bệnh thán thư tại huyện Lục Ngạn, tỉnh Bắc Giang; (B) Hình thái phát triển của chủng nấm *C. gloeosporioides* nuôi cấy trên môi trường PDA ở ngày thứ 3 (a), thứ 5 (b) và thứ 7 (c); (C) Ảnh chụp dưới kính hiển vi quang học của bào tử nấm *C. gloeosporioides* với độ phóng đại 40X.

Hoạt tính kháng nấm của dầu nghệ

Dầu nghệ được thử nghiệm hoạt tính *in vitro* với 5 chủng nấm: *P. infestans*, *F. oxysporum*, *C. gloeosporioides*, *C. orbiculare* và *C. acutatum*. Kết quả được thể hiện ở hình 3 và hình 4.



Hình 3. Kết quả thử nghiệm *in vitro* hiệu quả ức chế của dầu nghệ đối với 5 chủng nấm. (A) Hiệu quả ức chế (%) đối với 5 chủng nấm của dầu nghệ ở các nồng độ 0,0625; 0,125; 0,25; 0,5 và 1 mg/ml sau 4 ngày nuôi cấy. PS: *P. infestans*, FO: *F. oxysporum*, CG: *C. gloeosporioides*, CO: *C. orbiculare* và CA: *C. acutatum*. (B) Đường kính tản nấm của 5 chủng nấm trên môi trường PDA sau 4 ngày nuôi cấy. 1: đối chứng âm; 2: dầu nghệ nồng độ 0,0625 mg/ml; 3: dầu nghệ nồng độ 0,125 mg/ml; 4: dầu nghệ nồng độ 0,25 mg/ml; 5: dầu nghệ nồng độ 0,5 mg/ml; 6: dầu nghệ nồng độ 1 mg/ml.



Hình 4. Tốc độ phát triển của thể sợi 5 chủng nấm (mm/ngày) trong thí nghiệm *in vitro* hoạt tính kháng nấm của dầu nghệ. PS: *P. infestans*, FO: *F. oxysporum*, CG: *C. gloeosporioides*, CO: *C. orbiculare* và CA: *C. acutatum*.

Kết quả ở hình 3 và 4 cho thấy, dầu nghệ thể hiện hoạt tính ức chế với cả 5 chủng nấm sử dụng trong thí nghiệm sau 4 ngày nuôi cấy. Tại nồng độ 1 mg/ml dầu nghệ ức chế từ 50% sự phát triển của cả 5 chủng nấm, tốc độ phát triển ở các sợi nấm đều nhỏ hơn 4 mm/ngày. Tại nồng độ 0,5 mg/ml cũng thể hiện hoạt tính khá tốt khi ức chế trên 40% sự phát triển của các chủng nấm. Trong số 5 chủng nấm nghiên cứu, dầu nghệ thể hiện hoạt tính ức chế tốt nhất đối với chủng nấm *C. gloeosporioides* với hiệu quả ức chế đạt 67,89% tại nồng độ 1 mg/ml và 52,19% tại nồng độ 0,0625 mg/ml. Tốc độ phát triển của thể sợi chủng nấm *C. gloeosporioides* tại nồng độ 1 mg/ml là thấp nhất (2,725 mm/ngày). Theo sau đó là khả năng ức chế chủng nấm *C. orbiculare* với hiệu quả ức chế ở nồng độ 1 mg/ml là 62,32%, tốc độ phát triển thể sợi của chủng nấm *C. orbiculare* tương ứng với nồng độ là 2,888 mm/ngày. Bằng phần mềm WINPEPI 11.65, tính toán được nồng độ ức chế 50% của dầu nghệ với chủng nấm *C. orbiculare* $IC_{50}=0,279\pm0,075$ mg/ml. Hiệu quả ức chế hai chủng nấm *C. acutatum* (ức chế 49,57% và tốc độ phát triển thể sợi 3,463 mm/ngày tại nồng độ 1 mg/ml) và *F. oxysporum* (ức chế 55,24% và tốc độ phát triển thể sợi 4,125 mm/ngày tại nồng độ 1 mg/ml) ở mức

khá. Dầu nghệ có hoạt tính ức chế yếu nhất đối chủng nấm *P. infestans* với 40% hiệu quả ức chế tại nồng độ 1 mg/ml, tương ứng với tốc độ phát triển thể sợi của chủng nấm là 3,85 mm/ngày. Trong nghiên cứu trước đây của Dhingra và cs (2007) [2], chiết xuất dầu nghệ với diclometan có hiệu quả ức chế dao động từ 36-77% sự phát triển của 7 chủng nấm bao gồm: *A. flavus*, *A. ruber*, *A. ochraceous*, *A. niger*, *F. semitectum*, *C. gloeosporioides* và *C. musae* ở nồng độ 0,1% trên môi trường PDA. Trong đó, *A. flavus*, *F. semitectum*, *C. gloeosporioides* và *C. musae* là những chủng nấm cảm nhận bị ức chế trên 70% sự phát triển. Nghiên cứu của Saju và cs (1998) [18] đã báo cáo tính dầu nghệ ở nồng độ 5% có hiệu quả ức chế hoàn toàn sự phát triển của *C. gloeosporioides*. Bhardwaj và Sahu (2014) [19] cũng chỉ ra chủng nấm *C. falcatum* bị ức chế 79,25; 72,78 và 63,69% bởi tinh dầu nghệ tại các nồng độ tương ứng là 15; 10 và 5%. Dầu chiết *n*-hexan từ cao chiết methanol của củ nghệ vàng ở nồng độ 2000 ppm cho hiệu quả ức chế kém với chủng nấm *C. coccodes* (5±4,6%) trong nghiên cứu của Cho và cs (2006) [20]. Từ các báo cáo trước đây có thể thấy, dầu nghệ trong nghiên cứu mặc dù thu được từ phần sản phẩm phụ trong quá trình kết tinh curcumin nhưng có hiệu quả kháng nấm không hề thua kém so với các tinh dầu, dịch chiết thu được trực tiếp từ củ nghệ vàng. Đây cũng là báo cáo đầu tiên về hoạt tính của dầu nghệ đối với chủng nấm *C. gloeosporioides* được phân lập từ quả vải và 2 chủng nấm gây bệnh thán thư khác là *C. orbiculare* và *C. acutatum* tại Việt Nam.

Các kết quả thu được đã chứng minh khả năng sử dụng sản phẩm phụ dầu nghệ từ quá trình sản xuất curcumin trong việc phòng chống bệnh thán thư trên cây vải.

Kết luận

Nghiên cứu đã phân lập thành công chủng nấm *C. gloeosporioides* từ quả vải thu tại Bắc Giang. Kết quả khảo sát hoạt tính kháng nấm cho thấy, dầu nghệ có hiệu quả ức chế tốt đối với các chủng nấm gây bệnh thán thư trên cây vải, trong đó hiệu quả ức chế tốt nhất đối với sự phát triển của chủng nấm *C. gloeosporioides* (67,89%) ở nồng độ 1 mg/ml.

Các cấu tử dễ bay hơi trong dầu nghệ có thành phần chính là α -zingiberene (17,63%), α -turmerone (16,68%), ar-turmerone (16,55%) và β -sesquiphellandrene (10,65%).

LỜI CẢM ƠN

Tập thể tác giả xin trân trọng cảm ơn Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam và Sở KH&CN tỉnh Bắc Giang đã hỗ trợ thực hiện nghiên cứu này thông qua đề tài mã số UDNGDP.06/19-20.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] H.S. Lee, K.J. Choi, K.Y. Cho, Y.J. Ahn (2003), "Fungicidal activity of ar-turmerone identified in *Curcuma longa* rhizome against six phytopathogenic fungi", *Agricultural Chemistry and Biotechnology*, **46**, pp.25-28.
- [2] O.D. Dhingra, G.N. Jham, R.C. Barcelos, F.A. Mendonca, I. Ghiviriga (2007), "Isolation and identification of the principal fungitoxic component of turmeric essential oil", *Journal of Essential Oil Research*, **19**, pp.387-391.

- [3] P.J. Ann, M.F. Chen, R.C. Hwang (1994), "Effects of environmental factors on disease incidence of mango anthracnose", *Plant Pathology Bulletin*, **3**, pp.34-44.

- [4] B.P. Cheng, Y.H. Huang, X.B. Song, A.T. Peng, J.F. Ling, X. Chen (2013), "First report of *Colletotrichum siamense* causing leaf drop and fruit spot of *Citrus reticulata* Blanco cv. Shiyue Ju in China", *Plant Disease*, **97**, p.1508.

- [5] V.T. Mai (2002), *Sổ tay người nông dân trồng cây ăn trái cần biết*, Công ty Dịch vụ bảo vệ thực vật An Giang.

- [6] T.D. Ngô (2011), *Nghiên cứu kỹ thuật ghép nhãn lên vải, duy trì thu nhập hàng năm của người làm vườn tại tỉnh Bắc Giang và Hải Dương*, Dự án khoa học công nghệ nông nghiệp vốn vay ADB.

- [7] L.W. Burgess, T.E. Knight, L. Tesoriero, T.H. Phan (2008), *Diagnostic manual for plant diseases in Vietnam*, Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra.

- [8] B.C. Sutton (1980), *The Coelomyces*, Commonwealth Mycological Institute, Kew, U.K, p.696.

- [9] V. Gangadevi, J. Muthumary (2008), "Isolation of *Colletotrichum gloeosporioides*, a novel endophytic taxol-producing fungus from the leaves of a medicinal plant, *Justicia gendarussa*", *Mycologia Balcanica*, **5**, pp.1-4.

- [10] M.B. Misael, T. Daniel, M.A. Antonio, V.P. Guadalupe (2015), "Anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) of litchi fruit (*Litchi chinensis* Soon.) in Oaxaca, México", *Revista Mexicana de FITOPATOLOGÍA*, **33**, pp.140-155.

- [11] Q. Le Dang, W.K. Kim, C.M. Nguyen, Y.H. Choi, G.J. Choi, K.S. Jang, M.S. Park, C.H. Lim, N.H. Luu, J.-C. Kim (2011), "Nematicidal and antifungal activities of annonaceous acetogenins from *Annona squamosa* against various plant pathogens", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **59**, pp.11160-11167.

- [12] N.T.M. Huong, P.V. Cuong, N.T.K. Cuc (2013), "Assesment of antidermatophyte activity of oil from *Curcuma longa* L. in vitro", *Academia Journal of Biology*, **35**, pp.206-211.

- [13] N. Shagufta, I. Saiqa, P. Zahida, J. Sumera (2010), "Chemical analysis of essential oils from turmeric (*Curcuma longa*) rhizome through GC-MS", *Asian Journal of Chemistry*, **22**, pp.3153-3158.

- [14] S. Menvilay, H.C. Đào (2016), "Nghiên cứu xác định thành phần hóa học có trong củ nghệ vàng Cham - pa - sắc, Lào và so sánh với nghệ vàng Kontum, Việt Nam", *Tạp chí Khoa học Xã hội, Nhân văn & Giáo dục*, **6**, tr.29-34.

- [15] B. Gopalan, M. Goto, A. Kodama, T. Hirose (2000), "Supercritical carbon dioxide extraction of turmeric (*Curcuma longa*)", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**, pp.2189-2192.

- [16] N.K. Leela, T. Aldo, M.S. Pottachola, P.J. Sinu, C. Bhagirathy (2002), "Chemical composition of essential oils of turmeric (*Curcuma longa* L.)", *Acta Pharmaceutica*, **52**, pp.137-141.

- [17] R. Priya, A. Prathapan, K.G. Raghu, A.N. Menon (2012), "Chemical composition and in vitro antioxidative potential of essential oil isolated from *Curcuma longa* L. leaves", *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, **2**, pp.S695-S699.

- [18] M.V.N. Saju, M.J. Mathew (1998), "Activities of essential oil of turmeric (*Curcuma longa* L.)", *Current Science*, **75**, pp.660-662.

- [19] N. Bhardwaj, R.K. Sahu (2014), "Evaluation of some fungicides, botanicals and essential oils against the fungus *Colletotrichum falcatum* causing red rot of sugarcane", *International Quarterly Journal of Life Sciences*, **9**, pp.175-178.

- [20] J.Y. Cho, G.J. Choi, S.W. Lee, H.K. Lim, K.S. Jang, C.H. Lee, K.Y. Cho, J.C. Kim (2006), "In vivo antifungal activity against various plant pathogenic fungi of curcuminoids isolated from the rhizomes of *Curcuma longa*", *The Plant Pathology Journal*, **22**, pp.94-96.