

HIỆU QUẢ XỬ LÝ CITRAL VÀ GERANIOL GIÚP CHỐNG CHỊU BỆNH THÁN THƯ DO NẤM *Colletotrichum gloeosporioides* Ở CÂY HÀNH LÁ

Lâm Chí Tâm^{1,*}, Lê Thanh Toàn², Trần Minh Nhật³,

Đặng Thị Mỹ Tiên³, Nguyễn Ngọc Hiền³

TÓM TẮT

Hành lá (*Allium fistulosum* L.) là loại cây gia vị, mang lại giá trị kinh tế cao và được trồng phổ biến ở Việt Nam. Tuy nhiên, bệnh thán thư gây hại làm nông dân phải sử dụng nhiều thuốc bảo vệ thực vật, ảnh hưởng đến sức khỏe người tiêu dùng, người sản xuất và môi trường. Việc ứng dụng dịch trích sả giúp quản lý hiệu quả bệnh thán thư, hạn chế việc sử dụng thuốc hóa học và thân thiện môi trường. Từ đó, nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá hiệu quả của citral và geraniol trong dịch trích sả trong quản lý bệnh thán thư trên cây hành lá. Kết quả cho thấy, ở điều kiện nhà lưới, xử lý citral và geraniol giúp cây hành lá chống chịu bệnh thán thư. Trong đó, nghiệm thức tưới gốc citral ở 2, 5, 7 ngày trước khi lây bệnh và tưới gốc geraniol ở 2, 5, 7 ngày trước khi lây bệnh thể hiện hiệu quả cao, trung bình hiệu quả giảm bệnh qua các thời điểm lần lượt là 61,23% và 47,72%. Bên cạnh đó, khi cây hành lá được xử lý citral/geraniol và chủng bệnh thán thư, góp phần gia tăng hoạt tính enzyme phenylalanine ammonia-lyase (PAL) cao hơn so với đối chứng qua các thời điểm khảo sát. Ở nghiệm thức citral, hoạt tính enzyme PAL cao hơn 1,94 lần (4 giờ sau khi lây bệnh nhân tạo) và nghiệm thức geraniol cao hơn 1,63 lần (8 giờ sau khi lây bệnh nhân tạo) so với đối chứng.

Từ khóa: *Hiệu quả giảm bệnh, hành lá, phenylalanine ammonia-lyase.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hành lá (*Allium fistulosum* L.) là loại cây gia vị, được liệu được trồng phổ biến trên thế giới. Hành được sử dụng hàng ngày ở các gia đình, còn là vị thuốc nam dùng chữa nhiều loại bệnh như cảm sốt, ho, ra mồ hôi trộm, có tác dụng lợi tiểu và sát trùng [1].

Năm 2021, diện tích trồng hành lá trên thế giới khoảng 1,22 triệu ha với tổng sản lượng khoảng 22,8 triệu tấn [2]. Ở đồng bằng sông Cửu Long, hành lá được trồng phổ biến và hình thành những vùng chuyên canh như tại huyện Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long với 2.271 ha được xuống giống

năm 2020 [3]. Về hiệu quả sản xuất, nông dân trồng hành ở huyện Hồng Ngự, tỉnh Đồng Tháp có lợi nhuận 24,000 triệu đồng/công và huyện Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long là 14,894 triệu đồng/công [4]. Thu hoạch 1 ha hành lá, năng suất trung bình đạt 21 tấn/ha, với giá bán 13.000 đồng/kg, người dân còn lãi trên 150 triệu đồng/ha [5]. Trong canh tác hành lá, các bệnh phổ biến gây ảnh hưởng đến năng suất như bệnh cháy lá do vi khuẩn *Xanthomonas* sp., bệnh thán thư *Colletotrichum* sp., cháy đầu lá hành *Botrytis* sp. [4]. Năm 2021, diện tích nhiễm bệnh thán thư trên hành tại Đồng Tháp là 200 ha, tăng so với năm 2020 là 78 ha [5].

Bên cạnh đó, việc sử dụng thuốc hóa học quá mức khuyến cáo dễ phát sinh tính kháng của nấm *Colletotrichum*. Ngoài ra, dư lượng thuốc bảo vệ thực vật làm giảm giá trị của sản phẩm, rào cản cho việc mở rộng thị trường tiêu thụ, nhất là thị trường xuất khẩu. Theo một số nghiên cứu, nhiều loại dịch trích thực vật được ghi nhận có khả năng

¹ Học viên cao học K28 Khoa Bảo vệ thực vật, Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

² Giảng viên Khoa Bảo vệ thực vật, Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

³ Sinh viên K44, 45 Khoa Bảo vệ thực vật, Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

ức chế mầm bệnh như: cây sả, rau má, cây ngũ sắc, cây neem, cây bạch đàn trắng, cây bình bát, cây sài đất,... với kết quả nghiên cứu đã chứng minh hiệu quả kháng bệnh tốt đối với nhiều bệnh và trên các loài cây trồng khác nhau [7], [8].

Việc tìm ra biện pháp sinh học giúp quản lý bệnh đạt hiệu quả và góp phần hạn chế việc sử dụng thuốc hóa học là nhu cầu cấp thiết hiện nay. Do đó, nghiên cứu đã được thực hiện nhằm đánh giá hiệu quả của citral và geraniol trong phòng trị bệnh thán thư trên cây hành lá, là cơ sở để ứng dụng vào thực tế phòng trị bệnh một cách hiệu quả, kinh tế, thân thiện với môi trường, an toàn cho người sản xuất và người tiêu dùng.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Các nghiên cứu đã được thực hiện tại Phòng thí nghiệm Phòng trừ Sinh học và nhà lưới, Khoa Bảo vệ Thực vật, Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ từ tháng 9/2022-02/2023.

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Giống hành trâu: cây hành lá được mua từ cơ sở bán hành giống ở huyện Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long và sử dụng trong các thí nghiệm. Dung dịch stock citral 500 mg/L và geraniol 800 mg/L được pha trong chai thủy tinh sẫm màu, bọc giấy ngoài chai dung dịch, trữ ở tủ 5°C, ly trích từ dịch trích cây sả được cải tiến theo phương pháp của Alam và

cs (2017) [9], Mutara và cs (2017) [10] và nhận từ Phòng thí nghiệm Phòng trừ Sinh học, Khoa Bảo vệ Thực vật, Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ. Pha loãng dung dịch Stock đến nồng độ cần. Các thí nghiệm khảo sát nồng độ và cách xử lý citral và geraniol được tiến hành 2 lần và chọn ra nồng độ citral 500 mg/L và geraniol 150 mg/L để xử lý bằng cách tưới gốc ở thời điểm 2, 5 và 7 ngày trước khi lây bệnh nhân tạo.

Nguồn nấm *Colletotrichum gloeosporioides* DT3 đã được nghiên cứu và tồn trữ tại Phòng thí nghiệm Phòng trừ Sinh học, Khoa Bảo vệ Thực vật, Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ. Nguồn nấm *C. gloeosporioides* được nuôi cấy trên đĩa petri chứa môi trường PDA khoảng 10 ngày. Bào tử được thu bằng cách cho nước cất vô trùng vào đĩa petri, cạo trên bề mặt khuẩn ty để bào tử phân tán vào nước, thu được huyền phù bào tử nấm, xác định mật số bằng lam đếm hồng cầu và pha loãng để đạt mật số khoảng 10^6 bào tử/mL.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Đánh giá hiệu quả của citral và geraniol giúp cây hành lá chống chịu bệnh thán thư do nấm *C. gloeosporioides* ở điều kiện nhà lưới

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên trong nhà lưới với 7 nghiệm thức (Bảng 1), 7 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại là 2 cây hành.

Bảng 1. Đánh giá hiệu quả của citral và geraniol giúp cây hành lá chống chịu bệnh thán thư do nấm *C. gloeosporioides*

Nghiệm thức	Biện pháp xử lý
C-7	Tưới gốc citral ở 7 ngày trước khi lây bệnh
C-5, 7	Tưới gốc citral ở 5 và 7 ngày trước khi lây bệnh
C-2, 5, 7	Tưới gốc citral ở 2, 5 và 7 ngày trước khi lây bệnh
G-7	Tưới gốc geraniol ở 7 ngày trước khi lây bệnh
G-5, 7	Tưới gốc geraniol ở 5 và 7 ngày trước khi lây bệnh
G-2, 5, 7	Tưới gốc geraniol ở 2, 5 và 7 ngày trước khi lây bệnh
Đối chứng	Xử lý với nước cất thanh trùng

Cây hành được trồng và bón phân theo công thức 13,8 kg N + 25,2 kg K₂O + 11,2 kg P₂O₅ + 50 kg vôi + 1.500 kg phân chuồng/1.000 m² [11], chăm sóc trong điều kiện nhà lưới. Lây bệnh nhân tạo bằng huyền phù bào tử nấm *C. gloeosporioides* với mật số 10⁶ bào tử/mL. Mỗi tép hành được phun 10 mL huyền phù bào tử, phun đều lá vào buổi chiều mát. Các chậu được đặt trong phòng ủ bệnh 24 giờ tạo điều kiện cho nấm bệnh phát triển, sau đó đem ra điều kiện nhà lưới và chăm sóc bình thường.

Bệnh thán thư trên lá hành được ghi nhận chỉ tiêu vào các thời điểm 3, 5 và 7 ngày sau khi lây bệnh nhân tạo (SKLB), các cấp bệnh được đánh giá 6 cấp theo phương pháp của Ravichandran và cs (2017) [12], bao gồm cấp 0 (không có triệu chứng bệnh), cấp 1 (< 10% diện tích lá bị bệnh), cấp 2 (< 20% diện tích lá bị bệnh), cấp 3 (< 40% diện tích lá bị bệnh), cấp 4 (< 75% diện tích lá bị bệnh hoặc gãy lá) và cấp 5 (làm khô hoàn toàn lá hoặc lá gục).

Sau đó, tỉ lệ bệnh (TLB), chỉ số bệnh (CSB) và hiệu quả giảm bệnh (HQGB) được xác định theo công thức:

$TLB (\%) = (\text{số lá bệnh} / \text{tổng số lá quan sát} \times 100\%)$, $CSB (\%) = [(a_1 \times 1 + a_2 \times 2 + \dots + a_n \times n) / (5 \times A)] \times 100\%$.

Trong đó: a₁, a₂, ..., a_n tương ứng số lá bệnh ở cấp 1, 2, ..., n; 1, 2, ..., n tương ứng cấp bệnh; A tương ứng tổng số lá quan sát.

$HQGB (\%) = (CSB \text{ đối chứng} - CSB \text{ xử lý}) / CSB \text{ đối chứng} \times 100\%$.

Trong đó: CSB_{đối chứng} tương ứng chỉ số bệnh thán thư của nghiệm thức đối chứng; CSB_{xử lý} tương ứng chỉ số bệnh thán thư của nghiệm thức xử lý.

Từ thí nghiệm này, nghiệm thức đạt hiệu quả cao đối với từng loại hoạt chất được chọn để tiếp tục khảo sát hoạt tính của enzyme PAL liên quan tính kháng bệnh

2.2.2. Khảo sát hoạt tính enzyme phenylalanine ammonia-lyase cây hành lá sau xử lý citral và geraniol đối với bệnh thán thư do nấm *C. gloeosporioides*

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 3 nghiệm thức (Bảng 2), với 4 lần lặp lại, mỗi lặp lại là 2 cây hành.

Bảng 2. Khảo sát hoạt tính của enzyme PAL trong cây hành lá sau 24 giờ khi lây bệnh *C. Gloeosporioides*

Nghiệm thức	Biện pháp xử lý
Citral	Tưới gốc với citral 500 mg/L, ở 2, 5 và 7 ngày trước khi lây bệnh
Geraniol	Tưới gốc với geraniol 150 mg/L, ở 2, 5 và 7 ngày trước khi lây bệnh
Nước	Xử lý nước cất thanh trùng

Các bước tiến hành trồng cây, lây bệnh nhân tạo tương tự thí nghiệm trên.

Chuẩn bị mẫu lá và ly trích enzyme: mẫu lá (2 lá/2 cây hành trong mỗi lặp lại) được thu và ngâm trong nito lỏng ở các thời điểm cách nhau 4 giờ, cụ thể 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24 giờ SKLB và được trữ lạnh -80°C. Sau đó, mẫu hành được cắt nhuyễn và cân 0,1 g mẫu lá cho vào cối nghiền mẫu, cho 3-5 mL nito lỏng vào cối có chứa mẫu, nghiền thành bột mịn bằng cách nghiền mẫu bằng chày, bột mẫu được cho vào ống eppendorf. Dung dịch đệm borate 0,1 M, pH 8,7 được cho vào mỗi ống eppendorf 1,5 mL và trộn thật đều. Ly tâm lạnh hỗn hợp ở 4°C với tốc độ 10.000 vòng/phút trong 30 phút. Thu dịch lỏng bên trên và tiến hành thí nghiệm khảo sát hoạt tính enzyme.

Khảo sát hoạt tính enzyme phenylalanine ammonia-lyase (PAL): hoạt tính enzyme PAL được xác định dựa theo phương pháp được mô tả bởi Sadasivam và Manickam (1996) [13], thông qua sự thay đổi giá trị hấp thụ quang phổ ở bước sóng 290 nm (ký hiệu OD_{290nm}) của nồng độ sản phẩm trans-cinnamic acid trong phản ứng tách nhóm NH₂ từ L-phenylalanine dưới sự xúc tác của enzyme PAL. Thí nghiệm được lặp lại 4 lần, bao gồm mẫu đối chứng (blank) và 4 mẫu khảo sát. Mẫu đối chứng (blank) được đo ở bước sóng 290 nm và chỉnh về 0, gồm 0,7 mL dung dịch đệm borate, 0,1 M pH 8,7, 1 mL dung dịch L-Phe 1,0 M và 0,15 mL nước cất. Ở mẫu khảo sát, hỗn hợp phản ứng ở mỗi lần đo gồm

0,5 mL dung dịch đệm borate 0,1 M, pH 8,7, 1 mL dung dịch L-Phe 0,1 M, 0,15 mL nước cất và 0,2 mL dung dịch enzyme. Phản ứng được tiến hành ở nhiệt độ 37°C trong 40 phút, sau đó dừng phản ứng bằng 0,2 mL dung dịch HCl 5,0N. Dựa trên đường chuẩn trans-cinamic acid tính ra hoạt tính của PAL (đơn vị tính M trans-cinamic acid mg⁻¹ protein phút⁻¹).

2.3. Phương pháp phân tích số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel và thống kê bằng phần mềm SPSS 26.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hiệu quả của citral và geraniol giúp cây hành lá chống chịu bệnh thán thư ở điều kiện nhà lưới

Tỉ lệ bệnh thán thư trên hành lá tăng dần theo các thời điểm khảo sát (Bảng 3). Vào thời điểm 0 ngày trước khi xử lý, tỉ lệ bệnh các nghiệm thức và đối chứng đều bằng 0%. Ở thời điểm 3 ngày SKLB, các nghiệm thức có xử lý citral và geraniol (ngoại trừ G-7) có tỉ lệ bệnh từ 12,15 - 35,32%, thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với đối chứng (50,66%). Trong đó, nghiệm thức C-2,5,7 có tỉ lệ bệnh thấp nhất, kế đến là C-5,7, G-2,5,7, C-7. Tuy nhiên, ở thời điểm 5 và 7 ngày SKLB, tất cả nghiệm thức có tỉ lệ bệnh không khác biệt về mặt thống kê. Kết quả trung bình tỉ lệ bệnh qua các thời điểm khảo sát cho thấy nghiệm thức C-2,5,7 (trung bình tỉ lệ bệnh 33,84%), C-5,7 (46,70%) và G-2,5,7 (48,57%), thấp hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng (65,44%). Các nghiệm thức xử lý còn lại có trung bình tỉ lệ bệnh khác biệt không ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng.

Bảng 3. Tỉ lệ bệnh thán thư do nấm *C. gloeosporioides* gây bệnh trên hành lá qua các thời điểm trong điều kiện nhà lưới

Nghiệm thức	Ngày sau khi lây bệnh			
	3	5	7	Trung bình
C-7	25,91 ^b	60,66	73,76	53,44 ^{ab}
C-5,7	12,99 ^c	54,36	72,75	46,70 ^b
C-2,5,7	12,15 ^c	37,11	52,25	33,84 ^c
G-7	44,44 ^a	58,93	82,34	61,90 ^{ab}
G-5, 7	35,32 ^a	51,12	74,45	53,63 ^{ab}
G-2, 5, 7	25,78 ^b	47,15	72,79	48,57 ^b
Đối chứng	50,66 ^a	66,61	79,05	65,44 ^a
Mức ý nghĩa	**	ns	ns	**
CV (%)	33,31	31,98	19,76	22,34

Ghi chú: Các trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi các chữ cái giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa thống kê Duncan, ns: không khác biệt, **: khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; C: citral, G: Geraniol.

Nhìn chung ở các thời điểm khảo sát, cây hành lá có xử lý citral và geraniol có chỉ số bệnh thấp từ 2,75 - 24,43% và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với đối chứng (32,14%). Chỉ số bệnh thán thư

tăng dần theo thời gian khảo sát ở các nghiệm thức. Ở thời điểm 3 ngày SKLB, nghiệm thức C-2,5,7 có CSB thấp nhất (2,75%), tiếp đến là C-5,7 (4,51%), G-2,5,7 (5,16%). Chỉ số bệnh các nghiệm thức còn lại khoảng 7,29 - 8,38%, thấp hơn so với đối chứng (11,37%) và khác biệt có ý nghĩa thống kê. Tại thời điểm 5 ngày SKLB, chỉ số bệnh các nghiệm thức xử lý tiếp tục thấp hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng; trong đó, nghiệm thức C-2,5,7 có CSB thấp nhất (9,51%), kế đến là G-2,5,7

(10,72%) so với đối chứng (21,68%). Ở thời điểm quan sát cuối (7 ngày SKLB), các nghiệm thức có xử lý citral và geraniol tiếp tục có chỉ số bệnh thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng (32,14%). Trong đó, nghiệm thức được xử lý citral C-2,5,7 có CSB thấp nhất (15,53%), kế đến là nghiệm thức G-2,5,7 (19,72%). Trung bình chỉ số bệnh qua các thời điểm quan sát của các nghiệm thức xử lý đều thấp hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng (Bảng 4).

Bảng 4. Chỉ số bệnh thán thư do nấm *C. gloeosporioides* gây bệnh trên hành lá qua các thời điểm trong điều kiện nhà lưới

Nghiệm thức	Ngày sau khi lây bệnh			
	3	5	7	Trung bình
C-7	7,29 ^{bc}	17,48 ^b	23,52 ^b	16,10 ^b
C-5,7	4,51 ^d	15,77 ^b	22,23 ^b	14,17 ^{bc}
C-2,5,7	2,75 ^d	9,51 ^d	13,53 ^c	8,60 ^d
G-7	8,38 ^b	14,08 ^{bc}	24,43 ^b	15,63 ^b
G-5,7	7,54 ^{bc}	13,52 ^{bcd}	24,24 ^b	15,10 ^{bc}
G-2,5,7	5,16 ^{cd}	10,72 ^{cd}	19,72 ^b	11,86 ^{cd}
Đối chứng	11,37 ^a	21,68 ^a	32,14 ^a	21,73 ^a
Mức ý nghĩa	**	**	**	**
CV (%)	34,39	26,49	23,90	22,38

Ghi chú: Các trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi các chữ cái giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa thống kê Duncan **: khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; C: citral, G: Geraniol.

Kết quả ở bảng 5 cho thấy, các nghiệm thức xử lý citral và geraniol có HQGB thán thư trên hành lá khá cao, dao động 21,72% đến 73,35% ở các thời điểm khảo sát 3, 5 và 7 ngày SKLB. HQGB cao nhất vào 3 ngày SKLB, sau đó giảm dần.

Ở thời điểm 3 ngày SKLB, hai nghiệm thức C-2,5,7 và C-5,7 có hiệu quả giảm bệnh lần lượt là 75,35% và 61,30%, cao hơn có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại (ngoại trừ nghiệm thức G-

2,5,7). Tại thời điểm 5 ngày SKLB, HQGB cao nhất ở nghiệm thức C-2,5,7 và G-2,5,7 đạt 53,82% và 51,11%. Đến thời điểm 7 ngày SKLB, HQGB của nghiệm thức C-2,5,7 cao nhất (54,52%), tiếp đến G-2,5,7 (37,19%). Trung bình hiệu quả giảm bệnh qua 3 ngày khảo sát cho thấy, hiệu quả cao nhất ở nghiệm thức C-2,5,7 (61,23%), tiếp theo là G-2,5,7 (47,72%), C-5,7 (39,20%), G-5,7 (30,77%), C-7 (26,88%) và G-7 (26,88%) (Bảng 5).

Bảng 5. Hiệu quả giảm bệnh thán thư do nấm *C. gloeosporioides* gây bệnh trên hành lá qua các thời điểm trong điều kiện nhà lưới

Nghiệm thức	Ngày sau khi lây bệnh			
	3	5	7	Trung bình
C-7	36,69 ^{bc}	19,08 ^b	24,90 ^b	26,89 ^c
C-5,7	61,30 ^a	26,65 ^b	29,64 ^b	39,20 ^{bc}
C-2,5,7	75,35 ^a	53,82 ^a	54,52 ^a	61,23 ^a
G-7	23,95 ^c	34,97 ^{ab}	21,72 ^{bc}	26,88 ^c
G-5,7	31,66 ^c	38,16 ^{ab}	22,49 ^{bc}	30,77 ^{bc}
G-2,5,7	54,86 ^{ab}	51,11 ^a	37,19 ^{ab}	47,72 ^{ab}
Mức ý nghĩa	**	**	**	**
CV (%)	49,30	55,29	76,31	47,20

Ghi chú: Các trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi các chữ cái giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa thống kê Duncan **: khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; C: citral, G: Geranio.

Nhìn chung việc xử lý citral hay geraniol đều giúp cây hành chống chịu bệnh thán thư, với hiệu quả giảm bệnh trung bình đạt khoảng 26-61%. Kết quả này tương tự nghiên cứu của Garcia và cs (2008) [14], đã khảo sát khả năng của citral, citronellal, L-carvone, isopulegol và α -pinene giúp ức chế sự phát triển *in vitro* của nấm *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* và *Fusarium subglutinans* f.sp. *ananas* gây bệnh trên các loại trái cây. Kết quả ghi nhận citral 0,5% thể hiện tốt nhất hiệu quả ức chế các loại nấm hại. Tiếp theo đó, khi xử lý trên trái chuối, citral giúp giảm 60% đường kính vết bệnh thán thư. Tương tự, citral được ghi nhận ức chế hoàn toàn sinh trưởng *in vitro* của các loại nấm gây bệnh cây trồng như *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *Curvularia lunata*, *Fusarium moniliforme*, *F. pallidoroseum* và *Phoma sorghina* [15]. Theo Chen và cs (2023) [16], geraniol 0,5 và 1 mg/mL ức chế sự phát triển của nấm *Colletotrichum camelliae* gây hại trên cây chè (trà). Samithri và cs (2020) [17] báo cáo geraniol giúp giảm bệnh thán thư do nấm *Colletotrichum*

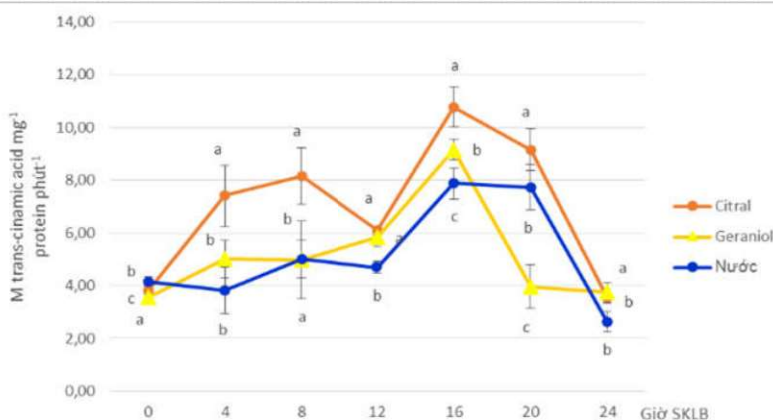
sp. trên trái đu đủ. Điều này cho thấy hai chất citral và geraniol có khả năng giúp cây hành lá chống lại sự tấn công của mầm bệnh *C. gloeosporioides* DT3. Hiệu quả chống chịu bệnh có thể là do sau khi xử lý hóa chất, sự tích lũy các chất kháng bệnh ở vách tế bào biểu bì đã diễn ra và cây cũng đủ thời gian để tổng hợp các chất kháng bệnh để chuyển vào vách tế bào mô lá, vì thế chúng có thể ngăn cản sự lan rộng của nấm bệnh. Tác động làm tăng tính kháng bệnh trên cây hành từ citral và geraniol có liên quan đến một số enzyme, trong đó có PAL.

3.2. Hoạt tính enzyme phenylalanine ammonia-lyase trong cây hành lá sau xử lý citral và geraniol giúp chống chịu bệnh thán thư do nấm *C. gloeosporioides*

Kết quả ở hình 1 cho thấy, hoạt tính enzyme phenylalanine ammonia-lyase (PAL) ở các nghiệm thức có xử lý citral và geraniol cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng (nước cất thanh trùng) qua các thời điểm khảo sát.

Ở nghiệm thức xử lý citral, nồng độ enzyme tăng từ 4 - 20 giờ SKLB, cao nhất vào thời điểm 16 giờ SKLB (đạt 10,79 M trans-cinamic axit mg^{-1} protein phút $^{-1}$), hơi giảm vào thời điểm 20 giờ SKLB (9,17 M trans-cinamic axit mg^{-1} protein phút $^{-1}$). Sau đó, hoạt tính enzyme PAL có xu hướng giảm dần sau 24 giờ SKLB. Tuy nhiên, ở nghiệm thức xử lý geraniol, nồng độ enzyme gia

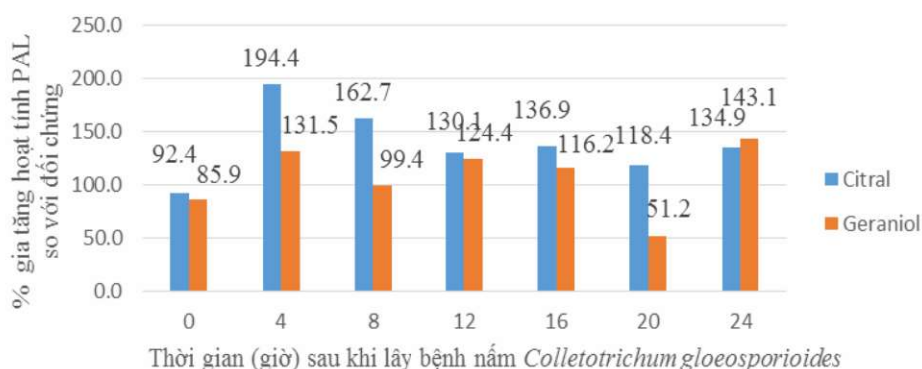
tăng từ 4 - 16 giờ SKLB (đạt 9,16 M trans-cinamic axit mg^{-1} protein phút $^{-1}$), đạt cao nhất vào thời điểm 16 giờ SKLB, sau đó nồng độ giảm dần. Trong khi ở nghiệm thức đối chứng (nước có chứa bệnh), nồng độ PAL sau 16 - 20 giờ SKLB (đạt 7,79-7,88 M trans-cinamic axit mg^{-1} protein phút $^{-1}$) mới bắt đầu gia tăng và giảm dần sau 24 giờ SKLB.



Hình 1. Diễn biến hoạt tính enzyme PAL trong cây hành lá sau 24 giờ khi lây bệnh *C. gloeosporioides*

Sự gia tăng hoạt tính của PAL so với đối chứng (Hình 2) cho thấy hoạt tính của enzyme PAL đạt tối đa ở nghiệm thức citral vào 4 giờ SKLB, cao hơn 194,4% hoạt tính so với đối chứng và khác biệt

có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 1%. Nghiệm thức geraniol cao hơn 162,7% hoạt tính so với đối chứng vào 8 giờ SKLB.



Hình 2. Mức độ gia tăng hoạt tính PAL (% so với đối chứng) trong cây hành lá

Kết quả gia tăng hoạt tính của enzyme PAL trong nghiên cứu này phù hợp với các nghiên cứu sử dụng dịch trích thực vật trong quản lý bệnh của Sangeetha và cs (2013), Khumalo và cs (2017), Nguyễn Thị Thu Hương và cs (2018) [18], [19], [20]. Kết quả phân tích sinh hóa của quả chuối

được xử lý bằng chiết xuất lá Zimmu cho thấy sự gia tăng đáng kể hoạt tính phenylalanine amoniacylase (PAL), chitinase và β -1,3-glucanase và tăng cường tích lũy các hợp chất phenolic so với các phương pháp xử lý khác [18]. Khumalo và cs (2017) [19] đã báo cáo dịch trích cỏ xạ hương làm

giảm tỷ lệ thối nâu bằng cách tăng hoạt động của PAL, hàm lượng catechin, chlorogenic và axit caffeic. Nguyễn Thị Thu Hương và cs (2018) [21] cho biết, khi cây lúa được phun dịch trích lá sống đờn và được chủng bệnh với vi khuẩn *Xoo*, hoạt tính hai enzyme tăng, trong đó phenylalanine ammonia-lyase tăng tại thời điểm 2 ngày sau chủng bệnh, còn polyphenol oxidase tăng tại 4 ngày sau chủng bệnh.

Nguyên nhân làm hoạt tính enzyme PAL trong cây tăng liên quan mật thiết đến quá trình xâm nhiễm và phát triển của nấm *Colletotrichum*. Theo Panday và cs (2012) [21], nấm *Colletotrichum gloeosporioides* trên cây hành, bào tử nảy mầm và ký sinh trên các vết lõm của lá hành chỉ sau 6 giờ sau khi chủng bệnh; trung bình sau 16 giờ chủng bệnh thì ống mầm hình thành một đĩa áp hình cầu ở đầu đạt đến sự phát triển đầy đủ trong khoảng 36 - 48 giờ. Thời điểm 6 giờ trong quá trình xâm nhiễm của nấm phù hợp với sự tăng hoạt tính PAL ở hai nghiệm thức xử lý citral và geraniol. Trong đó, nghiệm thức xử lý với citral giúp cây hành lá tăng hoạt tính PAL ở thời điểm sớm (4 giờ), so với thời điểm 8 giờ ở nghiệm thức xử lý với geraniol. Điều này cho thấy, cây hành lá khi được xử lý với hoạt chất kích kháng đã được kích hoạt sự kháng (chống chịu bệnh) sớm, tăng hiệu quả làm giảm vết bệnh. Đồng thời, kết quả này cũng phù hợp với kết quả đánh giá hiệu quả giảm bệnh ở thí nghiệm nhà lưới, xử lý citral hay geraniol đều giúp giảm bệnh thán thư và citral cho kết quả giảm bệnh tốt hơn geraniol.

Enzyme PAL đã được chứng minh trong hoạt động trao đổi chất của nhiều thực vật bậc cao và là enzyme quan trọng trong việc tổng hợp một số các hợp chất thứ cấp liên quan đến phòng bệnh như phenol và lignins [22]. Sự hiện diện của các hợp chất phenolic trong thực vật và sự tổng hợp của chúng trong phản ứng với sự xâm nhiễm có liên quan đến khả năng kháng bệnh, ngoài ra enzyme PAL là một trong những enzym trong quá trình trao đổi chất thứ cấp của thực vật vì vai trò quan trọng trong sinh tổng hợp phenylpropanoid [23]. Mặt khác, kết quả nghiên cứu của Xiangyang và cs (2009) [24] cho thấy rằng, enzyme PAL tham gia vào con đường sinh tổng hợp jasmonic axit (JA),

các hợp chất hoạt hóa các gen kháng trong thực vật trong cơ chế tự vệ của cây. Chính nhờ nhóm gen này, cây được bảo vệ ngăn chặn các tác nhân bên ngoài tốt hơn, bằng cách tăng độ dày thành tế bào hoặc sản sinh các hợp chất có tính oxy hóa cao như quinone. Bên cạnh đó, PAL tham gia xúc tác cho các phản ứng trong con đường phenylpropanoid, giúp tổng hợp các chất lignin, phenol, phytoalexin, callose có khả năng giúp cây kháng với sự tấn công của mầm bệnh [25]. Ngoài ra, PAL có thể tham gia vào con đường sinh tổng hợp salicylic axit (SA), là hợp chất liên quan đến sự phòng vệ của cây và là thành phần tín hiệu thiết yếu cho sự hoạt hóa của gen PR (pathogenesis - related genes).

Như vậy, xử lý citral và geraniol là nguyên nhân giúp tăng nồng độ enzyme PAL khi so sánh với đối chứng, giúp cây trồng chủ động hoạt hóa cơ chế tự vệ của cây. Từ đó, hạn chế khả năng gây hại và góp phần trong quản lý bệnh thán thư trên cây hành lá.

4. KẾT LUẬN

Xử lý citral và geraniol dịch trích sả giúp cây hành lá chống chịu bệnh thán thư thông qua giảm tỉ lệ bệnh, chỉ số bệnh và hiệu quả giảm bệnh. Nghiệm thức C-2,5,7 và G-2,5,7 thể hiện trung bình hiệu quả giảm bệnh qua các thời điểm lần lượt là 61,23% và 47,72%. Khi cây hành lá được xử lý citral và geraniol và lây nhiễm bệnh thán thư, góp phần gia tăng hoạt tính enzyme PAL cao hơn so với đối chứng qua các thời điểm khảo sát. Ở nghiệm thức citral, hoạt tính enzyme PAL cao hơn 1,94 lần (4 giờ SKLB) và nghiệm thức geraniol cao hơn 1,63 lần (8 giờ SKLB) so với đối chứng.

Các nghiên cứu sâu hơn về cơ chế kháng bệnh trên cây hành lá sau khi xử lý citral và geraniol sẽ được thực hiện.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Mạnh Chinh và Nguyễn Đăng Nghĩa (2007). *Trồng - chăm sóc và phòng trừ sâu bệnh rau gia vị*. Nhà xuất bản Nông nghiệp. 94 trang.
2. FAO (2022). Production Data (<http://faostat.fao.org>). Truy cập ngày 21/02/2023.

3. Hồng Vân (2020). Bình Tân (Vĩnh Long): Giá hành lá tăng 850.000 đ/tạ. Nguồn: <http://vietlinh.vn/tin-tuc/2020/trong-trot-2020-s.asp?ID=451>. Truy cập ngày 21/02/2023.
4. Lê Thị Trúc Phương (2018). Khảo sát hiện trạng canh tác, tình hình dịch hại và biện pháp phòng trị trong sản xuất hành lá tại huyện Hồng Ngự (Đồng Tháp) và Bình Tân (Vĩnh Long). Luận văn tốt nghiệp Cao học ngành Bảo vệ thực vật, Trường Đại học Cần Thơ.
5. Đinh Bá Khánh Toàn (2020). Đánh giá hiệu quả sản xuất mô hình canh tác hành lá của nông hộ tại huyện Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long: Luận văn tốt nghiệp Cao học ngành Hệ thống nông nghiệp. Trường Đại học Cần Thơ.
6. Chi cục Trồng trọt và Bảo vệ thực vật tỉnh Đồng Tháp (2021). Báo cáo kết quả công tác bảo vệ thực vật năm 2021. Báo cáo số 1445/BC-TTBVT, ngày 29/11/2021.
7. Aparat, M., Patcharee, P., Vullapa, A. and Poonsook, A. (1998). Control of the plant pathogenic fungus *Macrophomina phaseolina* in mung bean by a microalgal extract. *Phycological Research*-1440-1835.
8. Shivakumar, P. D. (2001). Induced of systemic resistance in pearl millet against downy mildew disease and the mechanism of resistance. PhD Thesis, University of Mysore, pp. 11-38.
9. Alam P. N., Husin H, Asnawi T. M., Adisalamun. (2017). Extraction of citral oil from lemongrass (*Cymbopogon citratus*) by steam-water distillation technique. *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.* 345 012022: 1-6.
10. Murata C., Yoshizawa-Fujita M., Rikukawa M, Usuki T. (2017). Extraction of Essential Oils of Lemon Grass Using Ionic Liquid. *Asian Journal of Chemistry* 29(2): 309-312.
11. Lê Khắc Phúc, Trần Đăng Hòa, Lê Như Cương và Phạm Bá Phú (2020). Ảnh hưởng của liều lượng kali đến năng suất hạt giống hành lá (*Allium fistulosum* L.) tại thị xã hương trà, tỉnh Thừa Thiên Huế. *Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 129(3B), 93-103.
12. Ravichandran, S., Kamanna, B. C., Jayalakshmi, K., Benagi, V. I., & Yadahalli, K. B. (2017). Severity of Purple Blotch of Onion Caused by *Alternaria porii* in Northern Karnataka, India. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 6(12), 3634-3638
13. Sadasivam, S., & Manickam A. (1996). *Biochemical Methods*. New Delhi: New Age International (P) Limited, (89), 136-137.
14. Garcia R., Alves E. S. S., Santos M. P., Aquije M. F. V., Fernades A. R., dos Santos R. B., Ventura J. A., Fernandes P. M. B. (2008). Antimicrobial activity and potential use of monoterpenes as tropical fruits preservatives. *Brazilian Journal of Microbiology* (2008) 39 : 163-168.
15. Kishore G. K., Pande S. (2007). Evaluation of essential oils and their components for broad-spectrum antifungal activity and control of late leaf spot and crown rot diseases in peanut. *Plant Disease*, 91(4): 375 - 379.
16. Chen W., Liu H., Chen Y., Liu Y., Ma C., Cheng Y., Yang W. (2023). Geraniol: A potential defense-related volatile in “Baiye No. 1” Induced by *Colletotrichum camelliae*. *Agriculture* 13(15): 1-11. <https://doi.org/10.3390/agriculture13010015>.
17. Samithri Y. A. S., Karunanayake K. O. I. C., Kulasinhe A. A. (2020). In vitro study of selected essential oils against *Colletotrichum* sp. and *Lasiodiplodia* sp. causing postharvest diseases in papaya. *Ceylon Journal of Science* 49 (Special Issue): 389-396.
18. Sangeetha, G., Thangavelu, R., Rani, S. U., & Muthukumar, A. (2013). Antimicrobial activity of medicinal plants and induction of defense related compounds in banana fruits cv. Robusta against crown rot pathogens. *Biological Control*, 64(1), 16-25.
19. Khumalo, K. N., Tinyane, P., Soundy, P., Romanazzi, G., Glowacz, M., & Sivakumar, D. (2017). Effect of thyme oil vapour exposure on the brown rot infection, phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activity, phenolic content and antioxidant activity in red and yellow skin peach cultivars. *Scientia horticulturae*, 214, 195-199.
20. Nguyễn Thị Thu Hương, Nguyễn Đắc Khoa, và Lâm Tấn Hào (2018). Hiệu quả giảm bệnh và cơ chế kích kháng liên quan đến enzyme phenylalanine ammonia-lyase và polyphenol

oxidase đối với bệnh cháy bìa lá lúa khi phun qua lá với dịch trích lá sống đời. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 54(7), 13-21.

21. Panday, S. S., Alberto, R. T., & Labe, M. S. (2012). Ultrastructural characterization of infection and colonization of *Colletotrichum gloeosporioides* in onion. *Plant Pathol. Quar*, 2, 168-177.

22. Hemm, M. R., Rider, S. D., Ogas, J., Murry, D. J., & Chapple, C. (2004). Light induces phenylpropanoid metabolism in *Arabidopsis* roots. *Plant J.* (38), 765-778.

23. Whetten, R., & Sederoff, R. (1995). Lignin biosynthesis. *Plant Cell*, (7), 1001-1013.

24. Xiangyang, H., Wansha, L., Chen, Q., & Yongping, Y. (2009). Early signal transduction linking the synthesis of jasmonic acid in plant. *Plant Signal Behavior*, 4(8), 696-697.

25. Way, H. M., Kazan, K., Miter, N., Goulter, K. C., Birch, R. G., & Manners, J. M. (2002). Constitutive expression of a phenylalanine ammonia-lyase gene from *Stylosanthes humilis* in transgenic tobacco leads to enhanced disease resistance but impaired plant growth. *Physiological & Molecular Plant Pathology*, (60), 275-282.

EFFICACY OF CITRAL AND GERANIOL FOR MANAGING ANTHRACNOSE CAUSED BY *Colletotrichum gloeosporioides* IN GREEN ONION

Lam Chi Tam¹, Le Thanh Toan², Tran Minh Nhat³,

Dang Thi My Tien³, Nguyen Ngoc Hien³

¹Graduate student Course 28, Plant Protection Department,
School of Agriculture, Can Tho University

²Plant Protection Department, School of Agriculture, Can Tho University

³Undergraduate Student Course 44 and 45, Plant Protection Department,
School of Agriculture, Can Tho University

Summary

Green onion (*Allium fistulosum* L.) is a kind of spicy and popularly cultivated at our country. However, damage of anthracnose affects farmers to use lots of pesticides, impact health of farmer and consumer as well as environment. Application of lemongrass extract on managing anthracnose limits usage of pesticides and is environmentally friendly. Therefore, the research was carried out to evaluate efficacy of citral and geraniol from lemongrass extract on managing green onion anthracnose. The results showed that at net-house conditions, treatments of citral and geraniol helped green onion plants tolerate to anthracnose. Among them, the treatment of stem watering by citral at 2, 5, 7 days before pathogen inoculation and the treatment of stem watering by geraniol at 2, 5, 7 days before pathogen inoculation showed high efficacy, average of disease reduction during all observation time points at 61.23% and 47.72%, respectively. In addition, the green onion plants treated by citral/geraniol and inoculated with anthracnose increase active enzyme phenylalanine ammonia-lyase (PAL), significantly higher than those of the control treatment during all observation time points. Concentration PAL of the treatment citral gained 1.94 times (at 4 hours after pathogen inoculation) and that of the treatment geraniol gained 1.63 times (at 4 hours after pathogen inoculation), compared to the control.

Keywords: Disease reduction efficacy, green onion, phenylalanine ammonia-lyase.

Người phản biện: TS. Đặng Thị Kim Uyên

Ngày nhận bài: 10/3/2023

Ngày thông qua phản biện: 01/4/2023

Ngày duyệt đăng: 5/5/2023