

INVESTIGATION OF *IN VITRO* ANTIFUNGAL EFFECT OF LIPID-BASED NANOEMULSIONS ENCAPSULATING GARLIC OIL, CINNAMON OIL AND NEEM OIL ON *LEVEILLULA TAURICA* CAUSING POWDERY MILDEW ON BELL PEPPER PLANTS

Nguyen Minh Hiep*, Tran Thi Ngoc Mai

Dalat nuclease research institute

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 10/01/2022	This study aims to investigate the <i>in vitro</i> antifungal effect of lipid-based nanoemulsions of garlic oil (Ne-GA), cinnamon oil (Ne-CI) and neem oil (Ne-NE) against <i>Leveillula taurica</i> causing powdery mildew disease on bell pepper plants. Firstly, lipid-based nanoemulsions (Ne) encapsulating essential oil were prepared by a combining method of homogenization and sonication. Next, <i>in vitro</i> antifungal effect of Ne-GA, Ne-CI and Ne-NE was carried out by agar disk method using bell pepper leaves at dilution concentration of 25, 50, 100, 200, 400 and 600 times. The results showed that the nano-formulations of essential oils were successfully prepared with a particle size of less than 140 nm and zeta potential of more than -30 mV. The results also indicated that Ne-GA had a higher antifungal activity than Ne-CI and Ne-NE. In addition, at a dilution of 400 times, Ne-GA still exhibited the high disease-preventing and disease-treating effectiveness of 96.67% and 90%, respectively. Therefore, this study indicates that essential oil-encapsulated lipid-based nanoemulsions can be widely applied in clean and sustainable horticulture to protect bell pepper plants from <i>Leveillula taurica</i> .
Revised: 08/4/2022	
Published: 13/4/2022	
KEYWORDS	
Nanocarriers	
<i>Leveillula taurica</i>	
Garlic essential oil	
Cinnamon essential oil	
Neem essential oil	

KHẢO SÁT HIỆU QUẢ KHÁNG NẤM *LEVEILLULA TAURICA* GÂY BỆNH PHẤN TRẮNG TRÊN CÂY ỚT CHUÔNG CỦA HỆ NHŨ NANO BẢN CHẤT LIPID CHỨA TINH DẦU TỎI, HỆ NHŨ NANO BẢN CHẤT LIPID CHỨA TINH DẦU QUẾ VÀ HỆ NHŨ NANO BẢN CHẤT LIPID CHỨA TINH DẦU NEEM

Nguyễn Minh Hiệp*, Trần Thị Ngọc Mai

Trung tâm Công nghệ bức xạ và Công nghệ sinh học - Viện Nghiên cứu Hạt nhân

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 10/01/2022	Nghiên cứu nhằm mục đích đánh giá hiệu quả kháng nấm <i>Leveillula taurica</i> gây bệnh phấn trắng trên cây ớt chuông của hệ nhũ nano bản chất lipid chứa tinh dầu tỏi (Ne-GA), tinh dầu quế (Ne-CI) và tinh dầu neem (Ne-NE) ở điều kiện <i>in vitro</i> . Đầu tiên, tinh dầu thực vật được đóng gói vào hệ nhũ nano bản chất lipid bằng phương pháp đồng hóa tốc độ cao kết hợp với sóng siêu âm để giảm kích thước. Sau đó, hiệu quả kháng nấm ở điều kiện <i>in vitro</i> của 3 hệ nano này được thực hiện bằng phương pháp đĩa thạch sử dụng lá ớt chuông ở các độ pha loãng khác nhau 25, 50, 100, 200, 400 và 600 lần. Kết quả cho thấy, các hệ nano tinh dầu đã được tổng hợp thành công với kích thước hạt trung bình nhỏ hơn 140 nm và thế zeta lớn hơn -30 mV. Kết quả cũng cho thấy, Ne-GA cho hiệu quả kháng nấm cao hơn Ne-CI và Ne-NE. Ở độ pha loãng 400 lần, Ne-GA vẫn cho hiệu quả phòng và trị bệnh đạt lần lượt là 96,67% và 90%. Do đó, nghiên cứu này đã cho thấy, các hệ nhũ nano bản chất lipid chứa tinh dầu thực vật có thể được ứng dụng rộng rãi trong nông nghiệp sạch, bền vững để bảo vệ cây ớt chuông khỏi tác hại của nấm <i>L. taurica</i> .
Ngày hoàn thiện: 08/4/2022	
Ngày đăng: 13/4/2022	
TỪ KHÓA	
Hệ nhũ nano bản chất lipid	
Nấm <i>Leveillula Taurica</i>	
Tinh dầu tỏi	
Tinh dầu quế	
Tinh dầu neem	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.5446>

* Corresponding author. Email: jackminhhiep@yahoo.com

1. Đặt vấn đề

Ớt chuông (*Capsicum annuum* L.), thuộc họ *Solanaceae*, được trồng chủ yếu để lấy quả là một trong những loại cây trồng ngày càng có giá trị kinh tế cao. Tuy nhiên, bệnh phấn trắng do nấm *Leveillula taurica* gây ra trên lá làm giảm chất lượng cây dẫn tới giảm năng suất, làm tăng chi phí thuốc nấm và giá thành sản phẩm [1], [2]. Từ lâu, chiết xuất từ thực vật đã được sử dụng như là các chất bảo vệ thực vật thay thế cho thuốc hóa học [3]. Nhiều nghiên cứu cho thấy tinh dầu tỏi, quế và neem có hiệu quả ức chế các loại nấm như *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus* sp., *Botrytis* sp.,... [4]. Tuy nhiên, các loại tinh dầu này đều có độ tan trong nước kém, khả năng thẩm vào mô thực vật kém và các hoạt chất thành phần chứa trong tinh dầu dễ bị phân hủy ở điều kiện bất lợi môi trường [5]. Vì vậy, để có thể tăng hiệu quả sử dụng, hệ nhũ nano bản chất lipid (Ne) gần đây đã được phát triển để “đóng gói” các loại tinh dầu. Điều này là do, Ne có giá thành sản xuất thấp và có khả năng gia tăng độ phân tán trong nước cho tinh dầu lên hàng trăm, hàng ngàn lần, đồng thời giúp gia tăng tính thẩm vào mô thực vật cho tinh dầu, giúp bảo vệ các hoạt chất trong tinh dầu khỏi tác động bất lợi điều kiện môi trường [6], [7].

Với mục tiêu nghiên cứu một chế phẩm sinh học có hiệu quả cao trong việc kháng nấm *L. taurica* gây bệnh phấn trắng trên cây ớt chuông, trong nghiên cứu này, đầu tiên, hệ nhũ nano bản chất lipid chứa tinh dầu tỏi (Ne-GA), tinh dầu quế (Ne-CI) và tinh dầu neem (Ne-NE) được tổng hợp bằng phương pháp đồng hóa tốc độ cao kết hợp với sóng siêu âm để giảm kích thước. Sau đó, hiệu quả kháng và trị nấm ở điều kiện *in vitro* của Ne-GA, Ne-CI, Ne-NE được thực hiện bằng phương pháp đĩa thạch.

2. Vật liệu và phương pháp

2.1. Tổng hợp dịch phân tán nano Ne-NE, Ne-GA và Ne-CI

Hệ nhũ nano bản chất lipid của tinh dầu tỏi, tinh dầu neem, tinh dầu quế được tổng hợp bằng phương pháp đồng hóa tốc độ cao kết hợp với giảm kích thước bằng sóng siêu âm [8]. Cụ thể, phân tán 15g hỗn hợp lecithin:Tween 80 (1:1, w/w) vào 100g nước cất, quay trong 30 phút. Sau đó, cho 10g tinh dầu thực vật (tỏi, quế và neem) (công ty TNHH tinh dầu thảo dược Dalosa, Việt Nam) vào hỗn hợp trên và khuấy ở tốc độ 18000 vòng/phút bằng thiết bị Ultra Turax T-25 (IKA, Đức). Dịch phân tán nano thô tạo thành được giảm kích thước bằng sóng siêu âm trong 5 phút bằng thiết bị siêu âm đầu dò VCX 750 (Sonics, Hoa Kỳ). Dịch phân tán nano tạo thành sẽ được sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.

2.2. Xác định thông số đặc điểm của hệ nhũ nano tạo thành

Kích thước hạt trung bình, chỉ số phân tán và thế zeta của dịch phân tán hệ nhũ nano (tinh dầu neem, tỏi, quế) được xác định bằng thiết bị Zeta Sizer Nano ZS (Malvern, UK) [8]. Cụ thể, mẫu được pha loãng 100 lần với nước cất. Phép đo được thực hiện ở nhiệt độ 25°C, góc đo 173°.

2.3. Khảo sát hiệu quả phòng bệnh phấn trắng của Ne-NE, Ne-GA, Ne-CI trên lá cây ớt chuông trong điều kiện *in vitro*

Thí nghiệm khảo sát khả năng phòng bệnh phấn trắng trên lá cây ớt chuông trong điều kiện *in vitro* được chia thành 7 nghiệm thức với 10 lá cho 1 nghiệm thức và được lặp lại 3 lần. Cụ thể, nghiệm thức đối chứng 1 (sử dụng mẫu lá sạch không xử lý chế phẩm và không nhiễm bệnh), nghiệm thức đối chứng 2 (sử dụng mẫu lá sạch không được xử lý chế phẩm, sau đó được nhiễm bệnh) và các nghiệm thức còn lại chứa mẫu lá sạch được xử lý chế phẩm ở các độ pha loãng khác nhau 25, 50, 100, 200, 400 và 600 lần tương ứng với nồng độ lần lượt là 3,2; 1,6; 0,8; 0,4; 0,2; 0,133 mg/mL, sau đó nhiễm bệnh. Sau 5 ngày, quan sát vết bệnh trên lá, hiệu quả phòng bệnh được tính theo công thức (1):

$$\text{Hiệu quả phòng bệnh (\%)} = \frac{\text{Số lá không bệnh}}{\text{Tổng số lá nhiễm bệnh}} \times 100 \quad (1)$$

2.4. Khảo sát hiệu quả trị bệnh phấn trắng của Ne-NE, Ne-GA, Ne-CI trên lá cây ớt chuông trong điều kiện *in vitro*

Thí nghiệm khảo sát khả năng trị bệnh phấn trắng trên lá cây ớt chuông của hệ Ne-NE, Ne-GA, Ne-CI trong điều kiện *in vitro* được chia thành 7 nghiệm thức với mỗi 10 lá cho 1 nghiệm thức và được lặp lại 3 lần. Cụ thể, nghiệm thức đối chứng sử dụng mẫu lá nhiễm bệnh và không được xử lý chế phẩm. Các nghiệm thức còn lại chứa mẫu lá nhiễm bệnh và được xử lý chế phẩm ở các độ pha loãng khác nhau từ 25, 50, 100, 200, 400 và 600 lần (tương ứng với nồng độ lần lượt là 3,2; 1,6; 0,8; 0,4; 0,2; 0,133 mg/mL). Sau 5 ngày, quan sát sự phát triển của sợi nấm trên lá, hiệu quả trị bệnh được tính theo công thức (2):

$$\text{Hiệu quả trị bệnh (\%)} = \frac{\text{Số lá hết bệnh}}{\text{Tổng số lá bị bệnh}} \times 100 \quad (2)$$

2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu được thu thập và xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel. Kết quả được thể hiện bằng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn ($n=3$). Đánh giá độ tin cậy thông qua phân tích thống kê bằng phần mềm SPSS, phương pháp One-Way Anova, phép thử Duncan (mức ý nghĩa $p < 0,05$).

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Tổng hợp hệ nhũ nano bản chất lipid của tinh dầu quế, neem và tỏi

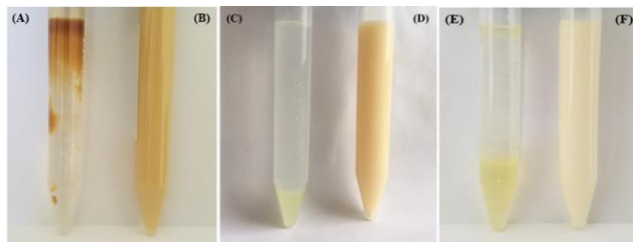
Ne-NE, Ne-GA, Ne-CI được tổng hợp bằng phương pháp đồng hóa tốc độ cao kết hợp với giảm kích thước bằng sóng siêu âm. Như được trình bày ở Bảng 1, giá trị PDI của cả 3 hệ nano tuy có sự khác nhau nhưng đều nhỏ hơn 0,3 và điều này chứng tỏ các hạt nano trong dịch phân tán có kích thước khá đồng đều. Bên cạnh đó, cả 3 hệ Ne-GA, Ne-CI và Ne-NE đều có kích thước nhỏ hơn 140 nm, trong đó, hệ Ne-NE có kích thước hạt lớn nhất (139,7 nm) và hệ Ne-CI có kích thước hạt nhỏ nhất (95,1 nm). Sự khác nhau về kích thước hạt và chỉ số phân tán của 3 hệ nano này có thể được giải thích bằng mối tương quan giữa giá trị HLB (Hydrophilic Lipophilic Balance) của chất/hỗn hợp hoạt động bề mặt và giá trị RHLB (Required Hydrophilic Lipophilic Balance) của pha lipid (tinh dầu) [8]. Khi giá trị RHLB của pha lipid tiệm cận với giá trị HLB của chất/hỗn hợp chất hoạt động bề mặt thì hệ nano bản chất lipid tạo thành sẽ có giá trị kích thước hạt và chỉ số phân tán tối ưu. Trong khi đó, ở thí nghiệm này, 3 loại tinh dầu này đều được đóng gói bởi cùng một hỗn hợp chất hoạt động bề mặt của Tween 80 và lecithin (1:1, w/w) (có giá trị HLB như nhau), nhưng mỗi loại tinh dầu này lại có giá trị RHLB khác nhau. Với kích thước hạt này, cả 3 hệ nano này sẽ dễ dàng tác động trực tiếp đến nấm bệnh, đồng thời dễ dàng thâm sâu vào mô thực vật để giúp kéo dài hiệu quả tác động [7], [9]. Mặt khác, kết quả Bảng 1 cũng cho thấy, cả 3 hệ nano này đều mang điện tích âm trên bề mặt và có giá trị tuyệt đối của thế zeta lớn hơn 30 mV, đủ để tạo lực đẩy tĩnh điện ngăn cản các hạt nano kết hợp lại với nhau thành hạt lớn hơn, giúp cho hệ nano có độ bền cao [10].

Bảng 1. Các thông số đặc điểm của hệ Ne-NE, Ne-GA và Ne-CI ($n=3$)

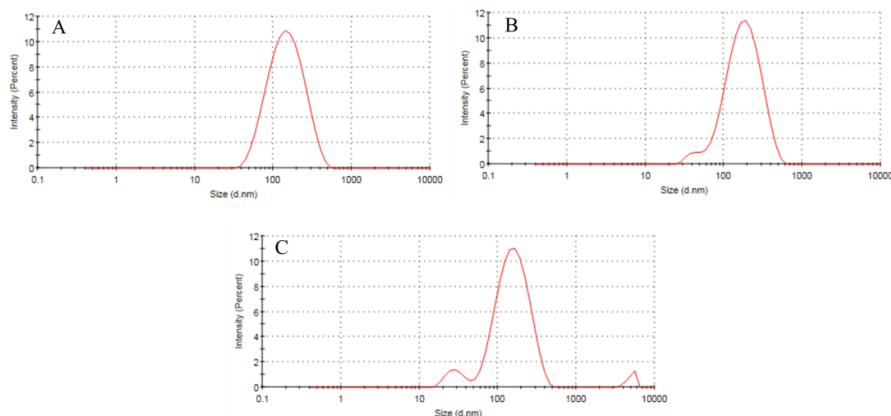
	Ne-NE	Ne-GA	Ne-CI
Kích thước hạt (nm)	139,7 $\pm$ 5,8	98,6 $\pm$ 4,9	95,1 $\pm$ 5,2
Chỉ số phân tán (PDI)	0,297 $\pm$ 0,009	0,285 $\pm$ 0,01	0,201 $\pm$ 0,005
Thế zeta (mV)	-31,7 $\pm$ 1,2	-30,9 $\pm$ 0,8	-33,5 $\pm$ 1,4

Bên cạnh đó, Hình 1 cho thấy hệ Ne-NE, Ne-GA và Ne-CI có độ phân tán trong nước tốt hơn gấp nhiều lần so với dạng thô. Cụ thể, hệ Ne-NE sau khi tổng hợp có màu nâu nhạt và phân tán tốt trong nước (Hình 1B), trong khi đó tinh dầu neem dạng thô có màu nâu đậm và phân tán kém trong nước (tách lớp ngay sau khi lắc mạnh) (Hình 1A). Nguyên nhân là do tinh dầu neem dạng thô có độ tan trong nước kém, nhưng khi được đóng gói trong hệ Ne thì đã được làm tăng độ tan (thực chất là phân tán) lên gấp nhiều lần. Điều này là do hệ nhũ nano bản chất lipid (Ne) có cấu tạo bởi lớp chất hoạt động bề mặt với đầu ưa nước quay ra ngoài và đuôi kỵ nước quay vào trong [11]. Tương tự, tinh dầu tỏi và tinh dầu quế dạng thô phân tán rất kém trong nước và có màu vàng (Hình 1C, E). Trong khi đó, khi được đóng gói vào trong hệ Ne thì có độ phân tán rất tốt trong nước (Hình 1D, F). Bên cạnh đó, phổ kích thước hạt (Hình 2) cũng cho thấy, hệ Ne-NE, Ne-GA và Ne-CI có kích thước nano trong khoảng 20 nm đến 600 nm.

Như vậy, tất cả kết quả trên đã cho thấy Ne-NE, Ne-GA và Ne-CI được tổng hợp thành công với các thông số đặc điểm phù hợp cho việc ứng dụng phòng trị một số nấm bệnh hại trên cây trồng. Mặt khác, nghiên cứu của Nguyễn và cộng sự (2021) cũng cho thấy rằng, việc đóng gói tinh dầu thực vật vào trong hệ mang nano không những không gây ảnh hưởng tiêu cực đến các hoạt chất chứa trong tinh dầu, mà còn giúp tăng độ phân tán trong nước, tăng tính thấm vào đối tượng gây hại, đồng thời tăng tính thấm vào mô thực vật, từ đó giúp gia tăng hiệu quả sinh học của tinh dầu [7], [9].



Hình 1. Độ phân tán của các loại tinh dầu và dịch phân tán nano: (A) Tinh dầu neem dạng thô; (B) Dịch phân tán Ne-NE; (C) Tinh dầu tỏi dạng thô; (D) Dịch phân tán Ne-GA; (E) Tinh dầu quế dạng thô; (F) Dịch phân tán Ne-CI



Hình 2. Phổ phân bố kích thước của các dịch phân tán nano: (A) Ne-CI, (B) Ne-GA (C) Ne-NE

3.2. Hiệu quả phòng bệnh phấn trắng của hệ nhũ nano tinh dầu thực vật trên lá cây ớt chuông trong điều kiện *in vitro*

Kết quả Bảng 2 và Hình 3 cho thấy cả 3 hệ Ne-NE, Ne-GA, Ne-CI đều cho hiệu quả phòng nấm *L. taurica* trong điều kiện *in vitro*. Cụ thể, ở nghiệm thức đối chứng 2 (mẫu lá không được xử lý chế phẩm trước khi nhiễm nấm), sau 5 ngày, hệ sợi nấm phát triển mạnh trên bề mặt lá. Trong khi đó, ở tất cả các nghiệm thức xử lý chế phẩm với các độ pha loãng khác nhau từ 25 đến 600 lần đều cho hiệu quả hạn chế sự phát triển của sợi nấm. Cụ thể, ở độ pha loãng 25; 50 và 100

lần, cả 3 hệ nano tinh dầu đều cho hiệu quả ức chế gần như hoàn toàn sự phát triển của hệ sợi nấm *L. tauria* (Bảng 2), các lá vẫn có màu xanh và không có sợi nấm trắng trên bề mặt lá (Hình 3). Tuy nhiên, ở độ pha loãng 200 lần, hiệu quả ức chế của hệ Ne-NE đã giảm nhanh chóng từ 96,67% (ở độ pha loãng 100 lần) xuống còn 66,67%, trong khi đó, hệ Ne-GA và Ne-CI vẫn cho hiệu quả ức chế trên 90%. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với nhiều nghiên cứu trước đây về hiệu quả ức chế nhiều loại nấm, khuẩn gây bệnh cây trồng như của allicin, diallyl disulfide và diallyl trisulfide có trong tỏi và cinnamaldehyde trong quế [9], [12], [13]. Đồng thời, một số nghiên cứu của Nguyễn và cộng sự (2020) và Ribeiro và cộng sự (2014) cũng đã chứng minh được rằng khi đóng gói vào trong hệ mang nano thì hiệu quả sinh học của tinh dầu có thể tăng lên từ 3-5 lần so với khi sử dụng ở dạng thô [8], [14].

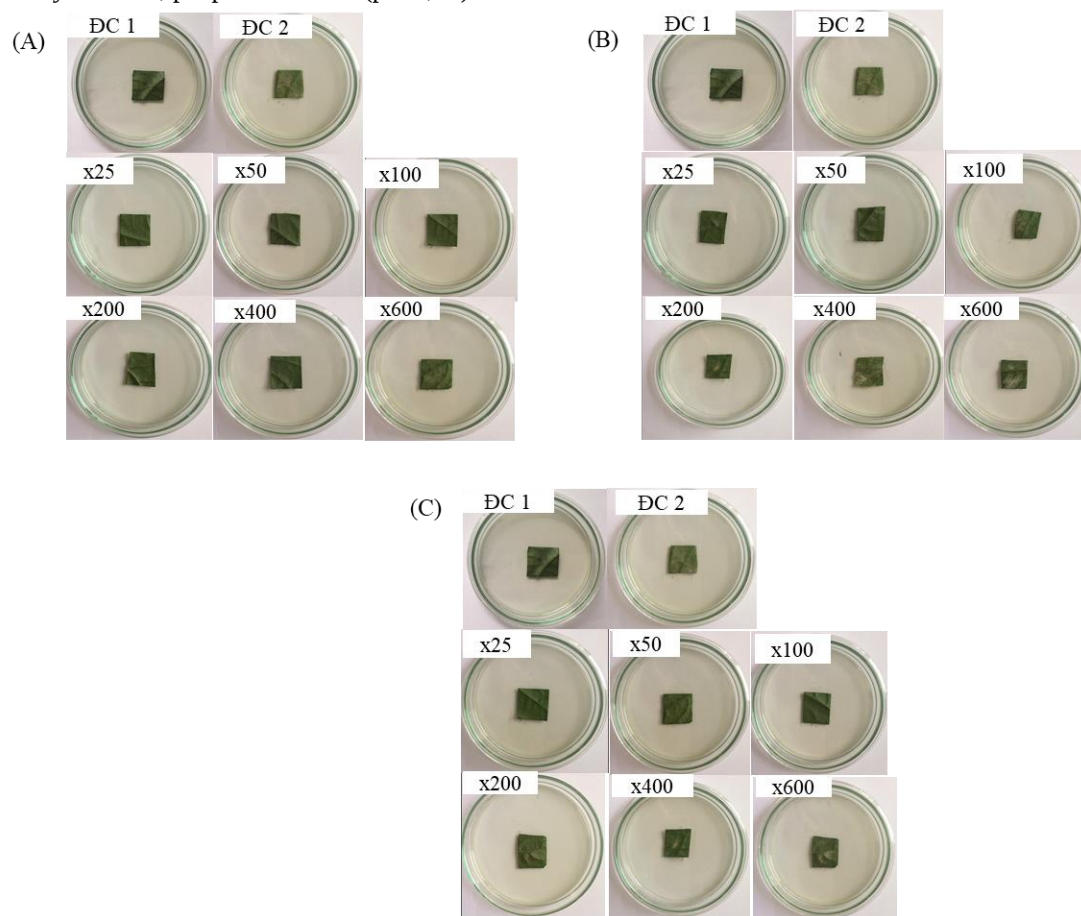
Bảng 2. Hiệu quả phòng bệnh của 3 hệ nano tinh dầu (10 lá/nghiệm thức, $n = 3$)

	Hiệu quả phòng bệnh (%)					
	Pha loãng 25 lần	Pha loãng 50 lần	Pha loãng 100 lần	Pha loãng 200 lần	Pha loãng 400 lần	Pha loãng 600 lần
Ne-GA	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	96,67 ± 5,77 ^a	53,33 ± 5,77 ^a
Ne-CI	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	90,00 ± 0 ^b	56,67 ± 5,77 ^b	20,00 ± 0 ^b
Ne-NE	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	96,67 ± 5,77 ^a	66,67 ± 5,77 ^c	33,33 ± 5,77 ^c	6,67 ± 5,77 ^c

Ghi chú:

- Số liệu trình bày là trung bình ± độ lệch chuẩn.

- Các chữ cái a, b, c giữa các dòng trong 1 cột chỉ sự khác biệt có ý nghĩa thống kê bằng phương pháp One-way ANOVA, phép thử Duncan ($p < 0,05$).



Hình 3. Hiệu quả phòng bệnh sau 5 ngày của (A) Ne-GA, (B) Ne-NE, (C) Ne-CI

Tuy nhiên, khi tăng độ pha loãng từ 200 lên 400 lần thì hiệu quả ức chế của hệ Ne-CI và Ne-NE giảm lần lượt xuống còn 56,67 và 33,33%, trong khi hiệu quả của hệ Ne-GA vẫn duy trì ở mức cao (96,67%). Ở độ pha loãng lên 600 lần thì hiệu quả ức chế sự phát triển của hệ sợi nấm *L. taurica* đã giảm đi rõ rệt (dưới 55% đối với hệ Ne-GA, dưới 20% đối với Na-CI và dưới 7% đối với hệ Ne-NE). Điều này là do, ở độ pha loãng cao, nồng độ các hoạt chất trong tinh dầu đã thấp hơn nồng độ tối thiểu cần để ức chế sự phát triển của sợi nấm [9].

Như vậy, hệ Ne-GA cho hiệu quả phòng nấm *L. taurica* trong điều kiện *in vitro* cao nhất và độ pha loãng tối ưu phù hợp với hiệu quả kinh tế là 400 lần.

3.3. Hiệu quả trị bệnh phần trắng của hệ nhũ nano tinh dầu thực vật trên lá cây ớt chuông trong điều kiện *in vitro*

Kết quả Bảng 3 và Hình 4 cho thấy, hệ Ne-GA, Ne-CI và Ne-NE đều cho hiệu quả ức chế nấm *L. taurica* trong điều kiện *in vitro*, nhưng hiệu quả của mỗi loại là khác nhau. Cụ thể, kết quả Hình 4 cho thấy ở mẫu đối chứng (lá bị nhiễm bệnh và không được xử lý chế phẩm) thì có sự phát triển lan ra của hệ sợi nấm trên bề mặt lá. Trong khi, ở các nghiệm thức xử lý chế phẩm hệ Ne-NE, Ne-GA và Ne-CI ở các độ pha loãng khác nhau từ 25 đến 600 lần đều cho thấy hiệu quả tốt trong việc ức chế sự phát triển của nấm (các vết bệnh đã khô lại, có màu vàng nâu). Trong đó, ở độ pha loãng 25 đến 100 lần, tất cả các mẫu đều có hiệu quả ức chế sự phát triển của sợi nấm gần như hoàn toàn (93,33-100%) (Hình 4 và Bảng 3). Tuy nhiên, khi tăng độ pha loãng vượt quá 100 lần thì hiệu quả của hệ Ne-CI và Ne-NE đã giảm xuống đáng kể, trong khi, hệ Ne-GA vẫn cho hiệu quả cao. Cụ thể, ở độ pha loãng 200 lần, hiệu quả ức chế của hệ Ne-NE đã giảm nhanh chóng từ 93,33% (ở độ pha loãng 100 lần) xuống còn 56,67% và hiệu quả ức chế của hệ Ne-CI đã giảm từ 100% (ở độ pha loãng 100 lần) xuống còn 76,67%. Trong khi, hệ Ne-GA vẫn cho hiệu quả ức chế 100%. Ở độ pha loãng 400 lần, hệ Ne-GA vẫn duy trì hiệu quả trị bệnh trên 90%. Trong khi đó, hệ Ne-CI và Ne-NE cho hiệu quả dưới 35%. Điều này cũng phù hợp với nghiên cứu của Shang và cộng sự (2019) cho thấy tinh dầu tỏi có khả năng ức chế nấm do khả năng thâm vào trong tế bào; phá hủy cấu trúc tế bào; làm thất thoát tế bào chất và các đại phân tử; ảnh hưởng đến quy trình sinh tổng hợp các chất [12]. Khi tiếp tục tăng độ pha loãng lên 600 lần, hiệu quả ức chế nấm ở cả 3 hệ nano tinh dầu đều giảm đi đáng kể. Cụ thể, hiệu quả trị bệnh của hệ Ne-GA chỉ còn khoảng 45%, trong khi hệ Ne-CI và hệ Ne-NE gần như không còn hiệu quả (Bảng 3), các sợi nấm vẫn tiếp tục phát triển (Hình 4B và 4C). Điều này là do, ở các độ pha loãng này thì nồng độ các hoạt chất trong tinh dầu thấp hơn nồng độ ức chế tối thiểu cho nấm *L. taurica* [9].

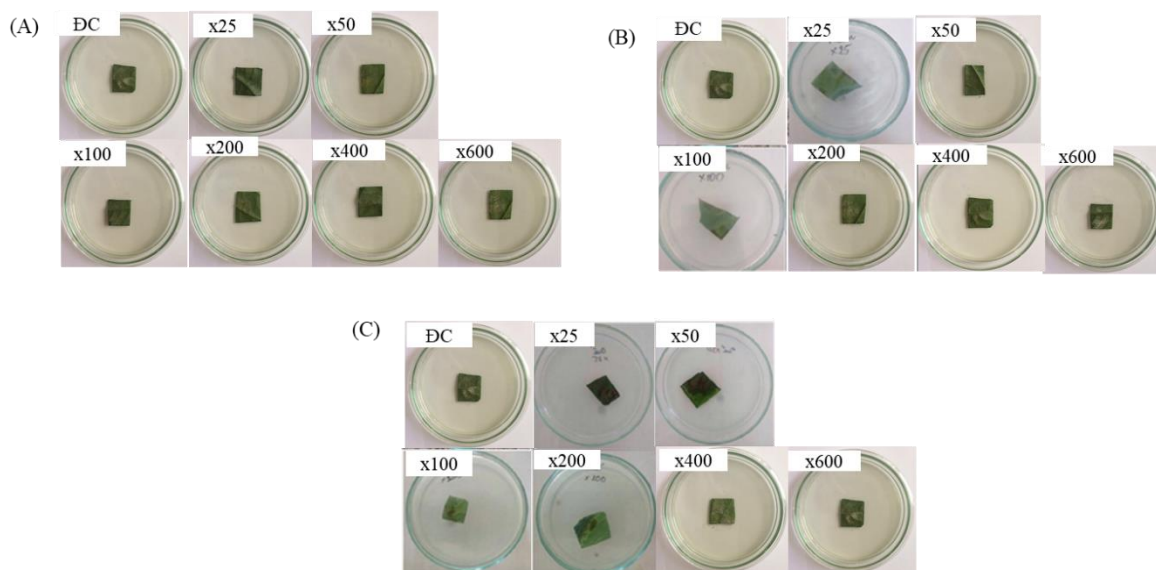
Từ những kết quả trên cho thấy, hiệu quả của chế phẩm phụ thuộc vào loại tinh dầu và độ pha loãng của chế phẩm. Đồng thời, trong nghiên cứu này, hệ Ne-GA cho hiệu quả trị nấm *L. taurica* trong điều kiện *in vitro* cao nhất và độ pha loãng tối ưu phù hợp với hiệu quả kinh tế là 400 lần.

Bảng 3. Hiệu quả trị bệnh của 3 hệ nano tinh dầu (10 lá/nghiệm thức, $n = 3$)

	Hiệu quả trị bệnh (%)					
	Pha loãng 25 lần	Pha loãng 50 lần	Pha loãng 100 lần	Pha loãng 200 lần	Pha loãng 400 lần	Pha loãng 600 lần
Ne-GA	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	90,00 ± 5,77 ^a	46,67 ± 5,77 ^a
Ne-CI	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	76,67 ± 5,77 ^b	33,33 ± 5,77 ^b	10,00 ± 0 ^b
Ne-NE	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	93,33 ± 5,77 ^a	56,67 ± 5,77 ^c	16,67 ± 5,77 ^c	0 ^c

Ghi chú:

- Số liệu trình bày là trung bình ± độ lệch chuẩn.
- Các chữ cái a, b, c giữa các dòng trong 1 cột chỉ sự khác biệt có ý nghĩa thống kê bằng phương pháp One-way ANOVA, phép thử Duncan ($p < 0,05$).



Hình 4. Hiệu quả trị bệnh sau 5 ngày: (A) Ne-GA; (B) Ne-NE, (C) Ne-CI

4. Kết luận

Hệ Ne-NE, Ne-GA và Ne-CI đã được tổng hợp thành công với kích thước trung bình lần lượt là 139,7; 98,6 và 95,1 nm, với giá trị tuyệt đối thế zeta đều trên 30 mV cho thấy chúng có độ bền tương đối cao. Các kết quả thí nghiệm *in vitro* cho thấy, 3 hệ nano này có hiệu quả cao trong việc phòng, trị bệnh phấn trắng do nấm *L. taurica* gây ra trên lá cây ớt chuông. Trong đó, hệ Ne-GA cho hiệu quả cao hơn hai hệ còn lại với hiệu quả phòng và trị bệnh đạt lần lượt là 96,67% và 90% ở độ pha loãng 400 lần. Nghiên cứu cho thấy tiềm năng ứng dụng của các hệ nhũ nano bản chất lipid chứa tinh dầu thực vật như là các thuốc bảo vệ thực vật sinh học cho nông nghiệp sạch và bền vững tại Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] S. K. Mohan and N. D. Molenaar, "Powdery Mildew Caused by *Leveillula taurica* on Glossy Leaf Genotypes of Onion in Idaho," *Plant Dis.*, vol. 89, p. 431, 2005.
- [2] R. W. Jones, J. R. Stommel, and L. A. Wanner, "First Report of *Leveillula taurica* Causing Powdery Mildew on Pepper in Maryland," *Plant Dis.*, vol. 93, p. 1222, 2009.
- [3] M. A. Hegazi, "Efficacy of Some Essential Oils on Controlling Powdery Mildew on Zinnia (*Zinnia elegans* L.)," *J. Agric. Sci.*, vol. 4, pp. 63-74, 2010.
- [4] N. Tabassum and G. M. Vidyasagar, "Antifungal investigations on plant essential oil: a review," *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, vol. 5, pp. 19-28, 2013.
- [5] A. Mutlu-Ingok, D. Devecioglu, D. N. Dikmetas, F. Karbancioglu-Guler, and E. Capanoglu, "Antibacterial, Antifungal, Antimycotoxigenic, and Antioxidant Activities of Essential Oils: An Updated Review," *Molecules*, vol. 25, p. 4711, 2020.
- [6] C. Maes, S. Bouquillon, and M. L. Fauconnier, "Encapsulation of Essential Oils for the Development of Biosourced Pesticides with Controlled Release: A Review," *Molecules*, vol. 24, p. 2539, 2019.
- [7] M. H. Nguyen, J. S. Lee, I. C. Hwang, and H. J. Park, "Evaluation of penetration of nanocarriers into red pepper leaf using confocal laser scanning microscopy," *Crop Prot.*, vol. 66, pp. 61-66, 2014.
- [8] M. H. Nguyen, N. B. D. Vu, T. H. N. Nguyen, T. N. M. Tran, H. S. Le, T. T. Tran, X. C. Le, V. T. Le, N. T. T. Nguyen, and N. A. Trinh, "Effective biocontrol of nematodes using lipid nanoemulsions co-encapsulating chili oil, cinnamon oil and neem oil," *Int. J. Pest Manage.*, pp. 1-10, 2020, doi: 10.1080/09670874.2020.1861361
- [9] M. H. Nguyen, T. N. M. Tran, and N. B. D. Vu, "Antifungal activity of essential oil-encapsulated lipid nanoemulsions formulations against leaf spot disease on tomato caused by *Alternaria alternata*," *Arch. Phytopathol. Plant Prot.*, vol. 55, pp. 235-257, 2021.

-
- [10] W. Mehnert and K. Mäder, "Solid lipid nanoparticles: production, characterization and applications," *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 47, pp. 165-196, 2001.
- [11] R. Piorr, "Structure and Application of Surfactants," *Surfactants Consum. Prod.*, 1987, pp. 5-22.
- [12] A. Shang, S. Y. Cao, X. Y. Xu, R. Y. Gan, G. Y. Tang, H. Corke, V. Mavumengwana, and H.-B. Li, "Bioactive Compounds and Biological Functions of Garlic (*Allium sativum* L.)," *Foods*, vol. 8, p. 246, 2019.
- [13] P. V. Rao and S. H. Gan, "Cinnamon: A Multifaceted Medicinal Plant," *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, vol. 2014, pp. 1-12, 2014.
- [14] J. C. Ribeiro, W. L. C. Ribeiro, A. L. F. Camurça-Vasconcelos, I. T. F. Macedo, J. M. L. Santos, H. C. B. Paula, J. V. A. Filho, R. D. Magalhães, and C. M. L. Bevilaqua, "Efficacy of free and nanoencapsulated *Eucalyptus citriodora* essential oils on sheep gastrointestinal nematodes and toxicity for mice," *Vet. Parasitol.*, vol. 204, pp. 243-248, 2014.