

HIỆU QUẢ DIỆT VI KHUẨN *Vibrio parahaemolyticus* CỦA DỊCH TRÍCH HẠT TRÂM BẦU (*Combretum quadrangulare*) TRONG NƯỚC AO NUÔI TÔM

Nguyễn Công Tráng^{1,3}, Phan Ngọc Duyên², Lâm Quang Huy³

EFFICIENCY OF KILLING ON *Vibrio parahaemolyticus* IN WATER FROM SHRIMP CULTURED POND OF THE EXTRACTS FROM SAKAE NAA SEED (*Combretum quadrangulare*)

Nguyen Cong Trang^{1,3}, Phan Ngoc Duyen², Lam Quang Huy³

Tóm tắt – Nghiên cứu xác định hiệu quả diệt khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* của dịch trích từ hạt cây trâm bầu. Nghiên cứu chọn nồng độ 17, 20, 23 và 26 mL/L (dịch hạt trâm bầu/nước ao nuôi tôm) để khảo sát hiệu quả diệt vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* trong nước ao nuôi tôm thẻ; BKC (nồng độ 0,5 mg/L) được chọn làm nghiệm thức đối chứng. Kết quả cho thấy, hiệu quả diệt *Vibrio parahaemolyticus* của dịch hạt trâm bầu tăng dần theo nồng độ và thời gian từ hai đến mười giờ sau sử dụng. Ở nồng độ 26 mL/L, hạt trâm bầu cho hiệu quả diệt *Vibrio parahaemolyticus* cao nhất (93,8%) tại hai giờ và 95,9% tại mười giờ sau sử dụng. Ngược lại, hiệu quả diệt *Vibrio parahaemolyticus* của BKC mạnh nhất ở thời điểm hai giờ sau sử dụng (96,1%) và giảm dần theo thời gian. Dịch hạt trâm bầu (26 mL/L) cho khả năng diệt *Vibrio parahaemolyticus* trong nước ao tôm tương đương với BKC (0,5 mg/L).

Từ khóa: *Combretum quadrangulare*, hạt trâm bầu, hiệu quả diệt khuẩn, *Vibrio parahaemolyticus*.

Abstract – This study was carried out to determine the bactericidal effect of the sakae

*naa's seed extract. The experiment selected concentrations of 17, 20, 23 and 26 mL/L of seed extract per liter of water to assess resistance on *Vibrio parahaemolyticus*, and BKC chemical (concentration of 0.5 mg/L) was chosen control treatments. The results showed that the killing ability on *V. parahaemolyticus* of the extract from sakae naa's seed has gradually increased with the rising-concentration and the period of 2-10 hours after using. At a concentration of 26 mL/L, the extract of seeds gave the highest abilities to kill *V. parahaemolyticus* (93.8%) at 2 hours and 95.9% at 10 hours after using. In contrast, killing abilities on *V. parahaemolyticus* of BCK were highest at 2 hours after using (96.1%) and gradually decreased by time to time. The extracts from the seeds of sakae naa (at 26 mL/L of concentration) gave the killing ability on *V. parahaemolyticus* was equivalent to those of BKC at 0.5 mg/L of concentration.*

Keywords: *bactericidal ability, Combretum quadrangulare, sakae naa seed, Vibrio parahaemolyticus.*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tôm thẻ chân trắng (TCT) là một đối tượng thủy sản có giá trị kinh tế cao, được nuôi phổ biến nhiều nơi ở nước ta. Theo VASEP [1], diện tích nuôi tôm nước lợ năm 2019 của nước ta là 720.000 ha, sản lượng đạt 750.000 tấn, trong đó, sản lượng tôm TCT chiếm 480.000 tấn. Khi diện tích nuôi tôm TCT càng được mở rộng, sản lượng tôm ngày càng tăng thì sự bùng phát và

^{1,2,3}Trường Đại học Tiền Giang

Ngày nhận bài: 15/02/2021; Ngày nhận kết quả bình duyệt: 11/6/2021; Ngày chấp nhận đăng: 20/6/2021

Email: nguyencongtrang@tgu.edu.vn

^{1,2,3}Tien Giang University

Received date: 15th February 2021; Revised date: 11th June 2021; Accepted date: 20th June 2021

lây lan của các loại dịch bệnh gây hại tôm nuôi cũng gia tăng. Các loại dịch bệnh này ngày càng phức tạp và khó phòng trị. Đặc biệt, hội chứng EMS do vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* (*V. parahaemolyticus*) bị nhiễm Bacteriophage gây ra hay còn gọi là hội chứng gan tụy cấp tính ở tôm là một bệnh vô cùng nguy hiểm. Hội chứng này làm tôm chết cấp tính và hàng loạt, gây thiệt hại nặng cho người nuôi tôm thẻ chân trắng ở các nước châu Á và Việt Nam [2].

Khi tôm TCT bị bệnh, người nuôi thường dùng kháng sinh. Đây là biện pháp xử lý đầu tiên. Tuy nhiên, thực tế cho thấy có sự lạm dụng các loại hóa chất, kháng sinh trong phòng trị bệnh cho tôm nuôi. Điều này đã gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe vật nuôi, hệ sinh thái, an toàn thực phẩm và đặc biệt hơn là tạo ra nhiều chủng vi khuẩn kháng lại thuốc kháng sinh, làm giảm hiệu quả của quá trình trị bệnh [3]. Để góp phần giảm thiểu những thách thức và rủi ro đã nêu, việc sử dụng các loại dược liệu thảo mộc như cây diệp hạ châu, cây trâm bầu, cây sài đất, cây cỏ mực, cây giác là những giải pháp đang được khuyến khích ứng dụng trong nuôi động vật thủy sản vì nó an toàn hơn nhiều so với các loại kháng sinh, hóa chất [4]. Trâm bầu (*Combretum quadrangulare*) là một loại cây thường gặp ở vùng Đồng bằng sông Cửu Long và có nhiều ứng dụng trong điều trị bệnh trên người và thủy sản. Theo đó, nhiều nghiên cứu ban đầu đã xác định, dịch trích từ hạt trâm bầu (*C. quadrangulare*) có tính kháng mạnh với vi khuẩn *V. parahaemolyticus* [4], [5]. Tuy nhiên, những nghiên cứu này mới chỉ được thực hiện trong điều kiện phòng thí nghiệm. Do đó, việc khảo sát khả năng diệt *V. parahaemolyticus* của dịch trích hạt trâm bầu (DTTB) trong điều kiện thực tiễn tại ao nuôi là điều cần thiết. Kết quả nghiên cứu sẽ cung cấp những dữ liệu quan trọng cho các nghiên cứu tiếp theo, nhằm tìm ra khả năng ứng dụng của hạt trâm bầu trong phòng trị bệnh do vi khuẩn *V. parahaemolyticus* cho nghề nuôi tôm.

II. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

Hiện nay, có rất nhiều loại cây thảo mộc như tỏi, gừng, riềng, cỏ gà, thầu dầu, lõi rần, mật gấu, chùm ngây, lược vàng, ô rô, sài đất, sim, cỏ

lào đã và đang được nghiên cứu để ứng dụng như xu thế để thay thế hóa chất, kháng sinh phòng, trị bệnh cho tôm TCT [6]-[9]. Việc sử dụng cây thảo mộc là một xu thế hiện nay vì chúng thân thiện với môi trường. Đối với cây trâm bầu, tại Việt Nam, đã có một vài nghiên cứu ban đầu nhằm mục tiêu đưa loại cây này vào ứng dụng cho phòng trị bệnh cho nuôi tôm TCT. Tuy nhiên, những nghiên cứu này mới chỉ được thực hiện trong điều kiện phòng thí nghiệm.

Nguyễn Công Tráng [4] đã nghiên cứu về tính kháng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* dịch trích từ cây trâm bầu (*C. quadrangulare*) trong điều kiện in vitro. Kết quả cho thấy, dịch trích từ lá, vỏ và hạt cây trâm bầu đều có tính kháng *V. parahaemolyticus* với đường kính vòng kháng khuẩn trung bình 13,2 mm. Trong đó, dịch trích từ hạt cho tính kháng mạnh hơn dịch trích từ lá và từ vỏ với đường kính vòng kháng khuẩn lần lượt là 16,3 mm, 11,8 mm và 11,4 mm. Tính kháng khuẩn của dịch trích cây trâm bầu ở các tỉ lệ phối trộn nước cất, giảm dần theo sự tăng dần của nước cất, cụ thể, đường kính vòng kháng khuẩn ở NT1 là 14,2 mm, ở NT2 là 13,3 mm, ở NT3 là 14,1 mm và ở NT4 là 12,3 mm. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của dịch trích từ hạt trâm bầu (tỉ lệ trích 1/5) đối với vi khuẩn *V. parahaemolyticus* là 7,5 $\mu\text{L/mL}$.

Bên cạnh đó, Triệu Thị Thanh Hằng [5] cũng nghiên cứu về khả năng kháng một số loài vi khuẩn gây bệnh trên động vật thủy sản của dịch trích từ lá và hạt cây trâm bầu. Nghiên cứu trích dịch từ lá và hạt trâm bầu bằng hai phương pháp: phương pháp ngâm lạnh trong cồn và trích bằng nước có gia nhiệt. Kết quả cho thấy, dịch trích ngâm lạnh bằng cồn và dịch trích gia nhiệt bằng nước của lá và hạt cây trâm bầu đều có tính kháng từ thấp đến cao với cả ba loài vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri*, *Aeromonas hydrophyla*, *V. parahaemolyticus*. DTTB từ hạt cho tính kháng khuẩn mạnh hơn dịch trích từ lá và dịch trích bằng nước có gia nhiệt cho tính kháng mạnh hơn dịch trích bằng cồn. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của dịch trích lá và hạt trâm bầu đối với *E. ictaluri* là như nhau (16 $\mu\text{L/mL}$). Với vi khuẩn *A. hydrophyla*, MIC của dịch trích hạt (12 $\mu\text{L/mL}$) thấp hơn so với MIC của dịch trích lá (28,8 $\mu\text{L/mL}$). Với *V. parahaemolyticus*, MIC

dịch trích hạt (14,4 $\mu\text{L}/\text{mL}$) cũng thấp hơn MIC dịch trích lá (21,6 $\mu\text{L}/\text{mL}$). Nghiên cứu này cho thấy DTTB có thể được sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo nhằm tìm ra giải pháp ứng dụng DTTB vào phòng trị bệnh cho động vật thủy sản.

III. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

A. Vật liệu nghiên cứu

Trâm bầu: Chọn những trái già, được thu hái tại xã Thân Cửu Nghĩa, huyện Châu Thành, tỉnh Tiền Giang. Sau khi hái về, trái được tách lấy hạt để sử dụng.

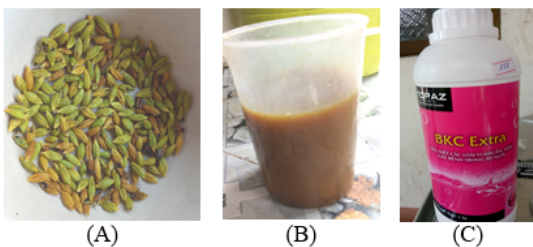
Nguồn nước thí nghiệm: Nước được lấy trong ao đất đang nuôi tôm TCT 45 ngày tuổi, có độ mặn 15‰. Các chỉ tiêu chất lượng nước trong ao thí nghiệm như sau: nhiệt độ là 28°C, pH là 8,5, kiềm là 142,4 mg/L, NH_4^+ là 0,5 mg/L và NO_2^- là 5 mg/L.

Vi khuẩn *V. parahaemolyticus*: Là nguồn vi khuẩn có sẵn trong nước ao nuôi tôm thẻ chân trắng 45 ngày nuôi với mật độ được kiểm tra ban đầu là 40.080 CFU/mL.

Nguồn gốc ao lấy mẫu nước và vi khuẩn: Ao nuôi tôm thẻ chân trắng được sử dụng để lấy nước và vi khuẩn làm thí nghiệm thuộc Trại Nuôi tôm của Công ty TNHH NTTS Tuấn Hiền (huyện Tân Phú Đông, tỉnh Tiền Giang).

Môi trường và hóa chất: Môi trường cấy khuẩn là CHROM AgarTM Vibrio. Hóa chất sử dụng là BKC (80%) do Công ty TNHH SX & TM TOPAZ sản xuất.

Vật liệu khác: Cân điện tử, nồi hấp, cốc thủy tinh, thùng xốp, ca nhựa, đĩa petri, micropipet, testkit đo chất lượng nước, khúc xạ kế, dụng cụ cấy khuẩn.



Hình 1: Một số nguyên vật liệu dùng trong nghiên cứu (hạt trâm bầu-A, dịch hạt trâm bầu-B, hóa chất BKC-C)

B. Phương pháp thực hiện

1) **Kiểm tra các yếu tố chất lượng nước:** Các chỉ tiêu chất lượng nước được theo dõi là nhiệt độ (°C), pH, kiềm (mg/L), NH_4^+ (mg/L), và NO_2^- (mg/L). Nhiệt độ được đo bằng nhiệt kế, pH được bút đo Hanna; kiềm, NH_4^+ và NO_2^- được kiểm tra bằng các bộ testkit Sera (do Đức sản xuất).

2) **Trích dịch hạt trâm bầu:** Trái trâm bầu sau khi hái về tách lấy hạt, hạt được xay nhuyễn và pha với nước cất theo tỉ lệ 1/5 (1 g hạt hòa với 5 g nước cất) với nước thành hỗn hợp. Trích dịch theo phương pháp Dodia [10], hỗn hợp được gia nhiệt trong nồi hấp vô trùng với nhiệt độ 98°C trong ba giờ. Hỗn hợp sau khi gia nhiệt, để nguội lọc bằng giấy lọc thưa để thu lấy dịch. DTTB sau khi lọc sẽ được bảo quản trong tủ lạnh ở 4°C chờ sử dụng cho thí nghiệm.

3) **Bố trí thí nghiệm:** Thí nghiệm khảo sát khả năng diệt *V. parahaemolyticus* được tiến hành bằng cách sử dụng DTTB hay BKC với mẫu nước ao nuôi tôm TCT 45 ngày tuổi. Nước ao chứa khuẩn *V. parahaemolyticus* (có tự nhiên) được bố trí trong các thùng xốp (thể tích 94,5L), mỗi thùng chứa 60 lít nước ao.

Thí nghiệm được bố trí trong thời gian 12 giờ ở trong nhà lưới, không có sục khí. TN bố trí theo kiểu ngẫu nhiên với sáu nghiệm thức, mỗi nghiệm thức được lặp lại năm lần, mỗi đơn vị thí nghiệm là một thùng xốp chứa nước ao có khuẩn.

+ **Nghiệm thức đối chứng:** Thí nghiệm có hai nghiệm thức (NT) đối chứng. NT0: sử dụng nước ao nuôi tôm thẻ không xử lí BKC hay DTTB, để làm NT đối chứng âm, mục đích theo dõi sự phát triển của *V. parahaemolyticus* tự nhiên trong nước ao nuôi theo thời gian. NT1: sử dụng nước nuôi tôm đã dùng BKC 80% với nồng độ là 0,5 ppm (nồng độ diệt khuẩn định kì trong ao nuôi tôm theo hướng dẫn của nhà sản xuất) để diệt khuẩn, làm NT đối chứng dương.

+ **Nghiệm thức có sử dụng DTTB:** NT2, NT3, NT4 và NT5 là các nghiệm thức sử dụng nước nuôi tôm TCT được xử lí bằng DTTB với các nồng độ lần lượt là 17 mL/L, 20 mL/L, 23 mL/L, 26 mL/L (mL DTTB/L nước ao). Các nồng độ DTTB được chọn thí nghiệm dựa trên kết quả nhóm tác giả đã thực hiện gồm: thí nghiệm xác định LC_{50} của DTTB đối với tôm TCT 45 ngày nuôi và thí nghiệm xác định nồng độ ức chế

tối thiểu (MIC) của DTTB đối với vi khuẩn *V. parahaemolyticus* (kết quả đã xác định giá trị LC_{50} của DTTB đối với tôm TCT 45 ngày nuôi là 29,3 mL/L và MIC của DTTB đối với *V. parahaemolyticus* 14,4 μ L/mL).

+ Các chỉ tiêu theo dõi: Các yếu tố môi trường nước (nhiệt độ, pH, kiềm NH_4^+ , NO_2^-) và mật độ vi khuẩn *V. parahaemolyticus* được ghi nhận tại thời điểm bố trí thí nghiệm và sau 2 giờ, 6 giờ và 10 giờ sau khi sử dụng BKC hoặc DTTB.

C. Thu thập và xử lý số liệu

1) *Cấy khuẩn và tính toán số liệu*: Mật độ vi khuẩn *V. parahaemolyticus* trong nước của các nghiệm thức được cấy, đếm và tính theo phương pháp pha loãng tối hạn MPN (Most Probate Number).

Cấy khuẩn: Mẫu khuẩn *V. parahaemolyticus* trong nước của các nghiệm thức được cấy trên các đĩa petri chứa môi trường thạch CHROMagar. Cấy 0,1 mL mẫu nước đã pha loãng từ 10 – 100 lần/đĩa, bằng phương pháp cấy trang, tại thời điểm ban đầu (chưa xử lý BKC hoặc DTTB) và 2, 6, 10 giờ sau khi sử dụng BKC hoặc DTTB.

Ghi nhận số lượng khuẩn lạc của *V. parahaemolyticus*: Đĩa CHROMagar sau khi cấy khuẩn, sẽ được ủ trong tủ ấm ở 30°C, sau 24 giờ ủ sẽ đọc kết quả và đếm số lượng khuẩn lạc cho màu tím trên đĩa.

Công thức tính mật độ vi khuẩn *V. parahaemolyticus*:

$$M_i = (A_i * D_i) / V$$

Trong đó:

+ M_i là mật độ vi khuẩn (CFU/mL)

+ D_i là độ pha loãng

+ A_i là số khuẩn lạc đếm được trên đĩa ở nồng độ pha loãng (i)

+ V (mL) là thể tích nước mẫu (từ các NT) đã pha loãng cho vào đĩa

Công thức tính tỉ lệ diệt vi khuẩn *V. parahaemolyticus*:

$$\text{Tỉ lệ diệt khuẩn(\%)} = (A - B) / A * 100$$

Trong đó:

+ A: Số khuẩn lạc trước khi xử lý DTTB hoặc BKC (CFU/mL)

+ B: Số khuẩn lạc sau khi xử lý DTTB hoặc BKC (CFU/mL)

2) *Xử lý số liệu*: Số liệu sau khi được thu thập, chúng tôi sử dụng phần mềm SPSS 16.0 để xử lý. Phân tích ANOVA một yếu tố bằng phép thử Duncan ($\alpha = 0,05$) để so sánh khả năng diệt khuẩn *V. parahaemolyticus* giữa các nghiệm thức với nhau.

IV. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

A. Các yếu tố môi trường nước

Chất lượng môi trường nước là một trong những yếu tố quan trọng luôn được theo dõi trong suốt quá trình tiến hành thí nghiệm. Các chỉ tiêu này được đo trước và trong khi thực hiện thí nghiệm (sau 02 giờ, 06 giờ và 10 giờ sử dụng BKC hay DTTB). Các yếu tố của chất lượng nước trong các thùng xốp (đơn vị thí nghiệm) trong quá trình thí nghiệm được kiểm tra và thể hiện qua Bảng 1.

Bảng 1 cho thấy, nhiệt độ dao động trong khoảng 28 – 29°C. Nhiệt độ không có sự chênh lệch qua các nghiệm thức nhưng lại dao động theo thời gian. Khoảng biến động nhiệt độ trong 10 giờ thí nghiệm là 1°C. Sự dao động này có thể là do sự ảnh hưởng của yếu tố thời tiết lên nước thí nghiệm. Tuy nhiên, với khoảng nhiệt độ 28 – 29°C, các chủng vi khuẩn nước ấm như *V. parahaemolyticus* sẽ tăng sinh tốt.

Sự chênh lệch của pH được thể hiện khá rõ (Bảng 1). Mức biến động pH nằm trong khoảng 7,0 – 8,5. pH bắt đầu có xu hướng giảm đi khi DTTB được thêm vào môi trường nước và càng giảm dần khi nồng độ dịch trích tăng lên. Nguyên nhân là do thành phần chính trong hạt trầm bầu chứa các triterpenoids, flavonoids, miscellaneous – đây là các hợp chất có khả năng diệt khuẩn và làm giảm pH trong nước nuôi [11]. Ngược lại, trong cùng một nghiệm thức, pH luôn ổn định theo các thời điểm ghi nhận (từ 2 đến 10 giờ). Như vậy, pH trong môi trường nước, thí nghiệm biến động phụ thuộc vào nồng độ DTTB nhưng không phụ thuộc vào thời gian sử dụng dịch trích. Khoảng dao động giảm của pH từ 0,5 đến 1,5 trong một thời gian ngắn (02 đến 10 giờ) sẽ làm ảnh hưởng đến sự tăng sinh của *V. parahaemolyticus* trong nước, cho nên pH giảm

Bảng 1: Các yếu tố chất lượng nước trong thí nghiệm

Thí nghiệm	Nhiệt độ (°C)			pH			Độ kiềm (mg CaCO ₃ /L)			NH ₄ ⁺ (mg/L)			NO ₂ ⁻ (mg/L)		
	2G	6G	10G	2G	6G	10G	2G	6G	10G	2G	6G	10G	2G	6G	10G
NT0 (ĐC âm)	29	28	28	8,5	8,5	8,5	142,4	142,4	142,4	0,5	0,5	0,5	5	5	5
NT1 (BKC)	29	28	28	8,5	8,5	8,5	142,4	142,4	142,4	0,5	0,5	0,5	5	5	5
NT2 (17 mL/L)	29	28	28	8,0	8,0	8,0	142,4	142,4	142,4	0,5	0,5	0,5	5	5	5
NT3 (20 mL/L)	29	28	28	7,5	7,5	7,5	142,4	142,4	142,4	0,5	0,5	0,5	5	5	5
NT4 (23 mL/L)	29	28	28	7,5	7,5	7,5	142,4	142,4	142,4	0,5	0,5	0,5	5	5	5
NT5 (26 mL/L)	29	28	28	7,0	7,0	7,0	142,4	142,4	142,4	0,5	0,5	0,5	5	5	5

(Ghi chú: Giá trị trong bảng là trung bình; G là giờ sau khi sử dụng DTTB hoặc BKC)

có thể là nguyên nhân làm tăng hiệu quả diệt khuẩn của DTTB ở các thí nghiệm.

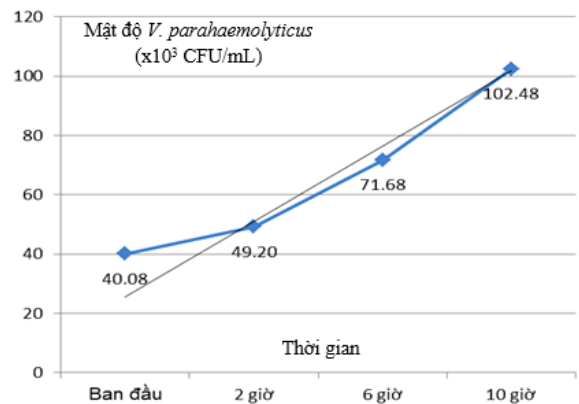
Độ kiềm không có sự biến động qua các NT trong suốt 10 giờ tiến hành thí nghiệm (Bảng 1). Điều này cho thấy, độ kiềm không bị ảnh hưởng khi môi trường nước có DTTB hay BKC. Kiềm không biến động nên không làm ảnh hưởng đến quá trình tăng sinh của *V. parahaemolyticus* trong nước.

Nước dùng trong thí nghiệm có sự hiện diện của hai yếu tố là NH₄⁺ và NO₂⁻ (Bảng 1). Nguyên nhân là do ao nuôi tôm thẻ chân trắng được 45 ngày nên có sự tích lũy dinh dưỡng. Tuy nhiên, môi trường nước ô nhiễm nhẹ sẽ thuận lợi cho sự phát triển của vi khuẩn *V. parahaemolyticus*. Khi nước giàu đạm (NH₄⁺, NO₂⁻), nguồn thức ăn cho vi khuẩn sẽ nhiều hơn, vi khuẩn sẽ tăng sinh tốt hơn. Trong suốt 10 giờ diễn ra thí nghiệm, nồng độ NH₄⁺ và NO₂⁻ vẫn không có sự biến động. Điều này cho thấy, do sự hiện diện của DTTB và BKC trong môi trường nước không làm thay đổi nồng độ của NH₄⁺ và NO₂⁻ nên không làm ảnh hưởng đến tăng sinh của *V. parahaemolyticus* trong nước.

B. Mật độ vi khuẩn *V. parahaemolyticus* trong nước theo thời gian

NT0 được thực hiện nhằm kiểm tra mật độ vi khuẩn *V. parahaemolyticus* có sẵn trong môi trường nước ao nuôi khi không có một sự tác động nào của hóa chất hay các sản phẩm diệt khuẩn. Mật độ vi khuẩn *V. parahaemolyticus* có sự biến động tăng đáng kể từ thời điểm ban đầu đến thời điểm kết thúc thí nghiệm (40.080 –

102.480 CFU/mL). Kết quả được thể hiện chi tiết qua Hình 2.



Hình 2: Sự gia tăng mật độ *V. parahaemolyticus* ở NT0 trong quá trình thí nghiệm

Nhìn chung, trong suốt quá trình diễn ra thí nghiệm, mật độ vi khuẩn *V. parahaemolyticus* ở NT0 đối chứng âm không ngừng tăng lên. Mật độ trung bình của vi khuẩn lúc ban đầu là 40.080 CFU/mL, sau 02 giờ là 49.200 CFU/mL, 06 giờ là 71.680 CFU/mL và 10 giờ là 102.480 CFU/mL. Qua đó cho thấy, trong môi trường nước ao nuôi bình thường, không được diệt khuẩn bằng chất sát trùng, vi khuẩn luôn luôn tồn tại và tăng sinh một cách mạnh mẽ.

C. Hiệu quả diệt khuẩn *V. parahaemolyticus* theo từng thí nghiệm

Hiệu quả diệt khuẩn của DTTB và BKC được đánh giá thông qua tỉ lệ diệt khuẩn (TLĐK) và được thể hiện chi tiết qua Bảng 2.

Bảng 2: Tỷ lệ diệt khuẩn *V. parahaemolyticus* (%) của dịch trích hạt trâm bầu và BKC ở các nghiệm thức

Thời điểm sau sử dụng (giờ)	Tỷ lệ diệt khuẩn (%)				
	NT1 (BKC: 0,5 ppm)	NT2 (DTTB: 17 mL/L)	NT3 (DTTB: 20 mL/L)	NT4 (DTTB: 23 mL/L)	NT5 (DTTB: 26 mL/L)
2	96,1 ± 1,03 ^d	81,0 ± 1,39 ^a	85,9 ± 0,96 ^b	89,9 ± 0,89 ^c	93,8 ± 0,79 ^d
6	94,9 ± 0,57 ^d	82,5 ± 0,88 ^a	87,7 ± 1,07 ^b	90,3 ± 0,69 ^c	94,8 ± 0,50 ^d
10	94,1 ± 0,69 ^{cd}	85,3 ± 0,95 ^a	88,3 ± 0,85 ^b	92,0 ± 1,19 ^c	95,9 ± 0,36 ^d

Giá trị sig. của NT*Thời gian: p = 0,118

(Ghi chú: giá trị thể hiện trong bảng trung bình ± sai số chuẩn. Các giá trị trong cùng một hàng có chứa các ký tự chữ khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$))

Bảng 2 cho thấy, TLDK của DTTB tăng dần theo nồng độ và theo thời gian từ 17 mL/L (81,0% tại thời điểm 02 giờ) đến 26 mL/L (95,9% tại thời điểm 10 giờ). Tất cả nghiệm thức có chứa DTTB qua các thời điểm đều có khả năng diệt vi khuẩn *V. parahaemolyticus*. Hiệu quả diệt *V. parahaemolyticus* càng mạnh khi nồng độ DTTB càng tăng. Qua thí nghiệm trên, có thể thấy DTTB ở nồng độ 26 mL/L cho TLDK cao nhất, khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) với các nồng độ còn lại và có khả năng diệt khuẩn tương đương với hóa chất BKC.

Tại thời điểm 02 giờ sau sử dụng, BKC và DTTB ở tất cả nghiệm thức đều có khả năng diệt vi khuẩn *V. parahaemolyticus*. TLDK của hóa chất ở các nghiệm thức khác biệt có ý nghĩa thống kê với nhau ($p < 0,05$). Trong đó, TLDK giữa NT1 (BKC: 0,5 ppm) và NT5 (DTTB: 26 mL/L) khác biệt không có ý nghĩa thống kê với nhau ($p > 0,05$). Điều này cho thấy, hiệu quả diệt khuẩn ở NT5 (DTTB: 26 mL/L) tương đương với NT1 (BKC), đồng thời cao nhất (93,78%) so với các nghiệm thức còn lại. NT2 (với TLDK 81,0%) cho khả năng diệt khuẩn thấp nhất so với các NT còn lại. Vì vậy, nếu muốn diệt *V. parahaemolyticus* nhanh trong nước ao nuôi tôm, người nuôi có thể chọn DTTB với nồng độ 26 mL/L để sử dụng, vì DTTB (26 mL/L) cho TLDK mạnh nhất và tương đương với BKC.

Sau 06 giờ sử dụng, TLDK của BKC có xu hướng giảm, tuy nhiên, tỉ lệ đó của DTTB ở tất cả nghiệm thức có xu hướng tăng so với thời điểm 02 giờ và TLDK khác biệt có ý nghĩa thống kê

với nhau ($p < 0,05$). TLDK giữa NT1 (BKC) và NT5 (DTTB: 26 mL/L) khác biệt không có ý nghĩa với nhau ($p > 0,05$). Nồng độ DTTB có tỉ lệ diệt khuẩn thấp nhất ở NT2 (82,5%) và cao nhất ở NT5 (94,8%). Điều này cũng chứng minh, DTTB (26 mL/L) có khả năng ứng dụng tốt hơn so với các nồng độ khác ở thời điểm này.

Ở thời điểm 10 giờ sau sử dụng, nhìn chung, TLDK của BKC và DTTB ở các nghiệm thức trong thí nghiệm tiếp tục có xu hướng tăng lên so với các thời điểm 02 và 06 giờ, đồng thời cũng khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) giữa các nghiệm thức với nhau. Riêng NT4 và NT5 có TLDK khác nhau nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với NT1 ($p > 0,05$). Ở thời điểm này, NT5 vẫn cho TLDK là cao nhất (95,9%), cao hơn cả NT1 (94,1%) và NT2, cho khả năng diệt khuẩn là thấp nhất (85,3%). Tại thời điểm này, kết quả cho thấy, khả năng diệt khuẩn của DTTB ở nồng độ 26 mL/L vẫn là tốt hơn so với các nồng độ còn lại.

D. Hiệu quả diệt khuẩn *V. parahaemolyticus* theo thời gian

Mật độ vi khuẩn *V. parahaemolyticus* giữa các nghiệm thức còn có sự biến động theo thời gian sau khi sử dụng hóa chất và được thể hiện qua Bảng 3.

Bảng 3 cho thấy, mật độ vi khuẩn *V. parahaemolyticus* theo thời gian (sau 02, 06 và 10 giờ) ở tất cả nghiệm thức khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Ở NT1 (BKC), NT3 (DTTB:

Bảng 3: Mật độ vi khuẩn *V. parahaemolyticus* của các nghiệm thức theo thời gian

Nghiệm thức	Mật độ vi khuẩn (CFU/mL) theo thời gian		
	2 giờ sau sử dụng	6 giờ sau sử dụng	10 giờ sau sử dụng
NT0 (không diệt khuẩn)	49.200 ± 1.469 ^a	71.680 ± 2.166 ^b	102.480 ± 2.374 ^c
NT1 (BKC: 0,5 ppm)	1.600 ± 419 ^a	2.080 ± 233 ^a	2.400 ± 282 ^a
NT2 (DTTB: 17 mL/L)	7.440 ± 545 ^b	6.880 ± 344 ^{ab}	5.760 ± 370 ^a
NT3 (DTTB: 20 mL/L)	5.680 ± 387 ^a	4.960 ± 430 ^a	4.720 ± 344 ^a
NT4 (DTTB: 23 mL/L)	3.920 ± 344 ^a	3.760 ± 370 ^a	3.120 ± 463 ^a
NT5 (DTTB: 26 mL/L)	2.560 ± 324 ^b	2.160 ± 203 ^{ab}	1.680 ± 149 ^a

(Ghi chú: giá trị thể hiện trong bảng là trung bình ± độ lệch chuẩn. Các giá trị trong cùng một hàng có chứa các kí tự chữ khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$))

20 mL/L) và NT4 (DTTB: 23 mL/L) mật độ vi khuẩn *V. parahaemolyticus* khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) qua các thời điểm sau khi sử dụng hóa chất. Ở NT2 (DTTB: 17 mL/L) và NT5 (DTTB: 26 mL/L) mật độ vi khuẩn tại thời điểm 02 và 10 giờ sau khi sử dụng DTTB, khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) với nhau nhưng lại khác biệt không có ý nghĩa ($p > 0,05$) với thời điểm 06 giờ. Mật độ vi khuẩn *V. parahaemolyticus* qua từng thời điểm (02, 06 và 10 giờ sau sử dụng hóa chất) có xu hướng giảm đối với các nghiệm thức có chứa DTTB; tuy nhiên, mật độ vi khuẩn lại có xu hướng tăng đối với NT1 (BKC: 0,5 ppm) và NT0 (NT đối chứng âm). Điều này chứng minh rõ ràng, hiệu quả diệt khuẩn của BKC giảm dần theo thời gian sử dụng từ 02 đến 10 giờ, nhưng hiệu quả của DTTB thì tăng dần theo thời gian sử dụng từ 02 đến 10 giờ.

Để đánh giá sâu hơn hiệu quả diệt khuẩn của BKC và DTTB, nghiên cứu đã tính TLĐK ở cùng một nghiệm thức theo thời gian. Kết quả được thể hiện qua Bảng 4.

Bảng 4 cho thấy, TLĐK của BKC và DTTB giữa các giờ khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Ở NT3 và NT4, TLĐK của DTTB cao nhất tại thời điểm 10 giờ và khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) với thời điểm 02 và 06 giờ. Ở NT2 và NT5, hiệu quả diệt khuẩn của DTTB cao nhất tại thời điểm 10 giờ (85,3%, 95,9%) và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) với các thời điểm 02 và 06 giờ. Riêng NT1, hiệu quả diệt khuẩn của BKC tại thời điểm 02 giờ cao nhất (96,1%) nhưng lại khác biệt không

có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) với các thời điểm 06 và 10 giờ.

Tổng hợp kết quả ở Bảng 3 và Bảng 4 cho thấy, BKC là hóa chất có khả năng diệt khuẩn *V. parahaemolyticus* rất mạnh và có tác dụng ngay lập tức chỉ trong 02 giờ sau sử dụng, nhưng khi thời gian sau sử dụng kéo dài thì TLĐK càng giảm dần (Bảng 4). Trong khi DTTB thì ngược lại, khả năng diệt khuẩn *V. parahaemolyticus* tăng dần theo nồng độ và cả thời gian sau sử dụng (Bảng 3 và Bảng 4), vì DTTB là thảo dược nên có thời gian bán rã dài; điều này cho thấy, hiệu quả diệt khuẩn DTTB được duy trì dài hơn so với BKC.

Kết quả từ Bảng 2, Bảng 3 và Bảng 4 cho thấy, khả năng diệt khuẩn *V. parahaemolyticus* của DTTB càng mạnh khi nồng độ càng cao và hiệu quả càng tăng theo thời gian sau sử dụng. Tuy nhiên, khi phân tích sự tương tác giữa các nghiệm thức (nồng độ DTTB) và thời gian sau sử dụng (Nghiệm thức*Thời gian) đối với khả năng diệt *V. parahaemolyticus*, sự tương tác này lại không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) (Bảng 2). Vì vậy, chúng tôi có thể chọn nồng độ DTTB 26 mL/L để ứng dụng trong quá trình diệt khuẩn *V. parahaemolyticus* cho tôm vì DTTB luôn cho hiệu quả diệt khuẩn cao nhất ở nồng độ này. Bên cạnh đó, để ứng dụng DTTB vào phòng và trị bệnh trong ao nuôi tôm TCT hiệu quả nhất, nghiên cứu chọn nồng độ 17 mL/L vì DTTB cũng cho TLĐK tương đối cao (81,0-85,3%) ở nồng độ này, tuy nhiên nó ít làm giảm pH hơn các nồng độ 20, 23 và 26 mL/L nên ít ảnh hưởng đến môi

Bảng 4: Tỷ lệ diệt *V. parahaemolyticus* của DTTB và BKC theo thời gian

Thí nghiệm thức	Tỷ lệ diệt khuẩn (%) theo thời gian		
	2 giờ sau sử dụng	6 giờ sau sử dụng	10 giờ sau sử dụng
NT1 (BKC: 0,5 ppm)	96,1 ± 1,03 ^a	94,9 ± 0,57 ^a	94,1 ± 0,69 ^a
NT2 (DTTB: 17 mL/L)	81,0 ± 1,39 ^a	82,5 ± 0,88 ^{ab}	85,3 ± 0,95 ^b
NT3 (DTTB: 20 mL/L)	85,9 ± 0,96 ^a	87,7 ± 1,07 ^a	88,3 ± 0,85 ^a
NT4 (DTTB: 20 mL/L)	89,9 ± 0,85 ^a	90,3 ± 0,96 ^a	92,0 ± 1,19 ^a
NT5 (DTTB: 26 mL/L)	93,8 ± 0,79 ^a	94,8 ± 0,50 ^{ab}	95,9 ± 0,36 ^b

(Ghi chú: giá trị thể hiện trong bảng trung bình ± sai số chuẩn. Các giá trị trong cùng một hàng có chứa các ký tự chữ khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$))

trường nước ao nuôi tôm TCT và chi phí cho sử dụng DTTB cũng thấp nhất.

Theo Nantachit and Roongjang [12], thành phần Steroidoids trong hạt cây trâm bầu có tính kháng khuẩn mạnh, chống lại ung thư gan và ung thư mô đại tràng ở người với nồng độ 300 mcg/mL khi được chiết xuất bằng DMSO (dimethyl sulfoxide). Như vậy, có thể thấy hoạt chất từ hạt trâm bầu không chỉ kháng khuẩn gây bệnh trên tôm TCT, mà còn kháng khuẩn gây bệnh trên người. Tại Việt Nam, Hồng Mộng Huyền [8] đã nghiên cứu về ứng dụng cao chiết của một số cây thảo mộc như thầu dầu, lười rắn, mật gấu để diệt khuẩn *Vibrio harveyi* và *V. parahaemolyticus* gây bệnh trên tôm với kết quả rất cao. Trước đó, Đái Thị Xuân Trang và Võ Thị Tú Anh [13] cũng nhận định, dịch chiết cây cỏ mực (*Eclipta alba*) có tính kháng mạnh với *V. parahaemolyticus* phân lập được từ ruột tôm sú (*Penaeus monodon*) ở nồng độ 8 µg/mL. Kết hợp với những nghiên cứu trên, nghiên cứu của nhóm tác giả đã bổ sung cây trâm bầu vào danh sách những cây thảo mộc có khả năng diệt khuẩn *V. parahaemolyticus* cho nghề nuôi tôm nước lợ nói chung và nghề nuôi tôm TCT nói riêng.

V. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

A. Kết luận

Dịch trích hạt trâm bầu có khả năng diệt vi khuẩn *V. parahaemolyticus*, hiệu quả diệt khuẩn của dịch trích hạt trâm bầu tăng dần theo nồng độ sử dụng và thời gian tiếp xúc.

Sử dụng dịch trích hạt trâm bầu ở nồng độ từ 17-26 mL/L để diệt vi khuẩn *V. parahaemolyticus*

trong nguồn nước lấy từ ao nuôi tôm thẻ chân trắng.

B. Đề xuất

Nghiên cứu xác định thời gian bán rã ($T_{1/2}$) của dịch trích hạt trâm bầu trong nước ao nuôi tôm.

Thực hiện thêm các thí nghiệm về khảo sát tính kháng của dịch trích hạt trâm bầu đối với vi khuẩn khác trong họ Vibrionaceae như *V. harveyi*, *V. vulnificus* và *V. cholerae*.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả chân thành cảm ơn Công ty TNHH NTTS Tuấn Hiền (huyện Tân Phú Đông, tỉnh Tiền Giang) đã hỗ trợ cho chúng tôi thực hiện nghiên cứu này. Cảm ơn sinh viên Cao Tuấn Đức và Nguyễn Duy Linh (lớp Đại học NTTS 14 – Trường Đại học Tiền Giang) đã hỗ trợ chúng tôi theo dõi thí nghiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] VASEP (Hiệp hội Chế biến và Xuất khẩu Thủy sản Việt Nam). *Tổng quan ngành thủy sản Việt Nam*; 2020. Truy cập từ: <http://vasep.com.vn/1192/OneContent/tong-quan-nganh.htm> [Ngày truy cập 15/08/2020].
- [2] Lightner DV, Redman RM, Pantoja CR, Noble BL, Tran L. *Early mortality syndrome affects shrimp in Asia (40)*. Global Aquaculture Advocate; 2012.
- [3] Cao Thành Trung, Nguyễn Văn Hảo, Lê Hồng Phước. Thực trạng sử dụng thuốc hóa chất và chế phẩm sinh học trong ao nuôi thâm canh, vấn đề tôm bệnh trên diện rộng và các mô hình trang trại ở Mỹ Thanh, Sóc Trăng. Trong *Kỷ yếu Báo cáo Hội nghị Khoa học Thủy sản Toàn quốc lần thứ IV*. 2011; Trường Đại học Nông lâm Thành phố Hồ Chí Minh.

- [4] Nguyễn Công Tráng, Ngô Thị Kim Cúc, Phan Ngọc Thịnh. Khảo sát tính kháng khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* của dịch trích từ cây trám bầu (*Combretum quadrangulare*). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học An Giang*. 2018;19(1): 1–6.
- [5] Triệu Thanh Hằng, Nguyễn Công Tráng, Cao Tuấn Đức, Lê Thị Thúy Vy. Nghiên cứu khả năng kháng một số loại vi khuẩn gây bệnh trên động vật thủy sản bằng dịch trích từ lá và hạt cây trám bầu (*Combretum quadrangulare*) trong điều kiện in vitro. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 2018;54(2): 151–157.
- [6] Chaweepeak T, Muenthaisong B, Chaweepeak S, Kamei K. The potential of galangal (*Alpinia galanga* Linn.) extract against the pathogens that cause white feces syndrome and acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *International Journal of Biology*. 2015;7(3): 8–17.
- [7] Đặng Thị Lụa, Lại Thị Ngọc Hà, Nguyễn Thanh Hải. Tác dụng diệt khuẩn của dịch chiết lá sim và hạt sim (*Rhodomyrtus tomentosa*) đối với vi khuẩn gây bệnh hoại tử cấp trên tôm nuôi nước lợ. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*. 2015;7: 1101–1108.
- [8] Hồng Mộng Huyền, Võ Tấn Huy, Trần Thị Tuyết Hoa. Hoạt tính kháng khuẩn của một số cao chiết thảo dược kháng vi khuẩn gây bệnh ở tôm nuôi. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 2018;54(2): 143–150.
- [9] Nguyễn Thị Diễm Phương, Trần Phạm Vũ Linh, Bùi Thị Thanh Tịnh, Bùi Thị Mỹ Hạnh, Trần Thị Yến Nhi, Ngô Huỳnh Phương Thảo. Khảo sát một số thảo dược kháng *Vibrio parahaemolyticus* pVPA3-1 gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính trên tôm nuôi. *Tạp chí Khoa học – Công nghệ Thủy sản*. 2019;3: 107–114.
- [10] Dodia DA, Patel IS, Pathak AR. Antifeedant properties of some indigenous plant extracts against larvae of *Helicoverpa armigera*. *Pestology*. 1995;19: 21–22.
- [11] Rajiv R, Singh RK, Jash SK, Sarkar A, Gorai, D. *Combretum quadrangulare* (Combretaceae): Phytochemical Constituents and Biological activity. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*. 2014;4(11): 5266–5299.
- [12] Nantachit K, Roongjang S. Anti-mycobacterium and anti-cancer activities of combretin, an isolated steroidal alkaloid from the seeds of *Combretum quadrangulare* Kurz. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2016;4: 88–98.
- [13] Đái Thị Xuân Trang, Võ Thị Tú Anh. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của dịch chiết cỏ mực (*Eclipta alba*) đối với vi khuẩn được phân lập từ ruột tôm sú (*Penaeus monodon*). *Tạp chí Sinh học*. 2015;37(1se): 261–266.