

- Coman, G., S. Arnold, M.J. Jones, and N.P. Preston., 2007. Effects of rearing densities on growth, survival and reproductive performance of domesticated *Penaeus monodon*. *Aquaculture* 264 (1): 175-183.
- Chanratchakool, P., Turnbull, J. F., Funge-Smith, S. and Limsuwan, C., 1995. *Health management in shrimp ponds*. Aquatic Animal Health Research Institute. Department of Fisheries, Kasetsart University Campus, Bangkok, Thailand. Second Edition. pp. 2-58.
- Chen, J. C., and Lin, C. Y., 1992. Effects of nitrite on growth and molting of *Penaeus monodon* juveniles. *Comparative Biochemistry and Physiology*. Part C, Comparative. 101(3): 453-458.
- Wayne Knibb, Matt Kenway, Michael Burke, Michael Macbeth, Abigail Elizur, Philip Brady, Trevor Borchert, Michael Salini, Jason Bartlett, Kate Wilson, Matt Salmon, Neil Young, Jeff Cowley and Nigel Preston, 2006. Three generations of genetic improvement of *P. monodon* without inbreeding - major lifts in fertility of captive stocks. *WAS conference abstracts*. Flocence. August, 2006.
- Withyachumnarnkul B., Plodphai P., Nash G. and Fegan D., 2002. Performance of domesticated *Penaeus monodon* broodstock in Thailand. *Asian Aquaculture Magazine*. March/April 2002.

Study on farming domesticated tiger shrimp broodstock from post stage to broodstock stage in the recirculating filtration system

Phan Thi Thanh Truc, Huynh Kim Huong, Nguyen Thi Hong Nhi, Diep Thanh Toan, Do Van Truong, Mai Van Hoang, Lai Phuoc Son, Pham Van Day, Ho Khanh Nam, Tran Cong Binh, Chau Tai Tao

Abstract

The study aims to evaluate the growth and survival rate of domesticated black tiger shrimp cultured from the hatchery stage to brood stock in the recirculating filtration system. The shrimps were divided into two groups in two different systems; each system of circulating filtration included 4 tanks with the volume of each tank of 10 m³. The shrimps were divided into 5 phases of culture: Stage 1 dealt with shrimp body weight from 0.02 - 0.03 g/ind to > 3 g/ind, density of 200 shrimp/m³; Stage 2 shrimps from > 3 g/ind to > 30 g/ind; the stocking density was 35 shrimps/m³; Stage 3 shrimps from > 30 g/ind to > 60 g/ind; the stocking density was 20 shrimps/m³; Stage 4 (pre-mature) shrimp from > 60 g/ind to > 90 g/ind; the stocking density was 10 shrimps/m³; Stage 5 (mature) shrimp from > 90 g/ind to > 120 g/ind; the stocking density was 10 shrimps/m³. The results showed that after 344 days of raising, the recirculating filtration system worked well, so the environmental parameters were in the appropriate range for shrimp culture. Shrimp weight reached 124.32 ± 26.59 g/ind (herd 1) and 121.96 ± 23.04 g /ind (herd 2). The difference was not statistically significant (p > 0.05). The survival rate of shrimps in each period was high in both herds (> 84 per cent). The results of the study revealed that it is completely possible to culture domestic black tiger shrimps from the hatchery stage to brood stock in the recirculating filtration system.

Keywords: Black tiger shrimp (*Penaeus monodon*), domesticated black tiger shrimp, recirculating filtration system

Ngày nhận bài: 03/3/2021
Ngày phản biện: 19/3/2021

Người phản biện: TS. Mai Việt Văn
Ngày duyệt đăng: 30/3/2021

PHÂN LẬP VÀ SÀNG LỌC CÁC CHỦNG VI KHUẨN LACTIC CÓ KHẢ NĂNG KHÁNG VI KHUẨN *Vibrio parahaemolyticus*, GÂY BỆNH HOẠI TỬ GAN TỤY CẤP TÍNH TRÊN TÔM THẺ CHÂN TRẮNG

Nguyễn Thị Trúc Linh¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm sàng lọc chủng vi khuẩn lactic (LAB) có khả năng kháng vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus*, gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính trên tôm thẻ chân trắng, đồng thời xác định độ mặn thích hợp cho sự phát triển của LAB. Các chủng LAB được phân lập từ ruột cá rô phi được thu ở 2 huyện Cầu Ngang và Duyên Hải, tỉnh Trà Vinh. Các chủng LAB phân lập được kiểm tra các chỉ tiêu hình thái, sinh lý và sinh hoá, sau đó xác định khả năng đối kháng với vi khuẩn *V. parahemolyticus* bằng phương pháp khuếch tán giếng thạch. Kết quả đã sàng lọc được

¹ Trường Đại học Trà Vinh

45 chủng LAB, trong đó có 3 chủng có khả năng kháng *V. parahaemolyticus* mạnh nhất với vòng tròn vô khuẩn tương ứng (18,7; 19,3 mm và 18,7 mm). Kết quả thử nghiệm độ mặn đã cho thấy 3 chủng LAB này phát triển tốt ở độ mặn 5 - 10‰ và phát triển chậm hơn ở nồng độ muối 25‰. Các chủng LAB phân lập có thể sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo để đánh giá sự ảnh hưởng của LAB trong phòng bệnh hoại tử gan tụy cấp tính ở các nồng độ muối khác nhau.

Từ khóa: Tôm thẻ chân trắng, bệnh hoại tử gan tụy cấp tính, vi khuẩn lactic, vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nghề nuôi tôm biển hiện nay đang đối mặt với nguy cơ bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (AHPND) diễn ra ở nhiều quốc gia trên thế giới. Bệnh xuất hiện đầu tiên ở Trung Quốc năm 2009 sau đó đến Việt Nam 2010, Malaysia và Thailand năm 2011 (Tran Huu Loc *et al.*, 2014). Bệnh gây thiệt hại trên 1 tỷ USD hàng năm (Zorriehzahra, 2015). Tác nhân gây AHPND là do vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* (Tran *et al.*, 2013). Ngày nay, LAB đã và đang được lựa chọn để bổ sung vào thức ăn cho động vật thủy sản do có nhiều lợi ích như: cạnh tranh loại trừ các vi khuẩn gây bệnh (Vine *et al.*, 2004). Ma và cộng tác viên (2001) đã xác định *Lactobacillus plantarum* có khả năng ức chế *Aeromonas hydrophila*. *Lactobacillus acidophilus* LA1 có khả năng kháng lại với vi khuẩn Gram âm và Gram dương (Bernet-Camard *et al.*, 1997; Michetti *et al.*, 1999). *Lactobacillus* sp. có khả năng kháng với *Vibrio* sp. (Trịnh Hùng Cường, 2011). Các nghiên cứu cho thấy rằng LAB có khả năng đối kháng với các vi khuẩn gây bệnh trên động vật thủy sản (Ma *et al.*, 2009; Ariole và Nyeche, 2013). Việc phân lập và sàng lọc các chủng khuẩn lactic kháng với vi khuẩn gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (*V. parahaemolyticus*) trên tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vannamei*) được tiến hành để giải quyết vấn đề cấp bách trong việc phòng bệnh hoại tử gan tụy cấp tính cũng như góp phần giảm thiểu ô nhiễm môi trường và nâng cao chất lượng tôm biển trên thị trường thế giới.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Cá rô phi, đĩa petri, môi trường MRS, ống nghiệm, eppendorf 1,5mL, máy ly tâm, đèn cồn, que cấy, pen, kéo, tấm bông tiệt trùng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phân lập vi khuẩn lactic từ ruột tôm, ruột cá rô phi và bùn đáy ao nuôi tôm (Nirunya *et al.*, 2008)

a) Phương pháp thu mẫu

Mẫu cá rô phi được thu ở các ao nuôi tôm thẻ kết hợp với cá rô phi và các ao lắng ở huyện Cầu Ngang và Duyên Hải tỉnh Trà Vinh với kích cỡ cá lớn hơn 100 gam/con gồm 18 ao (mỗi huyện thu 9 ao) và

mỗi ao thu 5 con. Cá sau khi thu về được rửa sạch bằng nước cất vô trùng và khử trùng bên ngoài bằng ethanol 70°, tiếp theo dùng dụng cụ giải phẫu để tách lấy phần ruột trước của cá rô phi cho vào lần lượt từng ống nghiệm chứa 9 mL nước muối sinh lý đã được khử trùng. Sau đó, dùng que thủy tinh nghiền cho đến khi mẫu đã đồng nhất với nước muối sinh lý, để lắng khoảng 5 phút sau đó hút 1 mL lấy dịch trong cho vào 5 mL môi trường MRS broth có bổ sung 1,5% NaCl.

Các ống nghiệm nuôi cấy LAB được ủ ở 28°C trong 48 giờ. Sau khi ủ, dịch nuôi được pha loãng thành 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} trong nước muối sinh lý đã được tiệt trùng (0,85% NaCl). Kế đến, hút lần lượt 50 μ L từ các ống nghiệm có độ pha loãng nêu trên trải lên môi trường MRS agar (có bổ sung 1,5% NaCl và CaCO₃ 1%) rồi đem ủ ở 28°C trong 48 giờ. Sau đó tiến hành chọn khuẩn lạc có màu trắng đục hoặc không màu và có khả năng làm tan CaCO₃, cấy ria ra các đĩa petri có chứa môi trường MRS agar (có bổ sung 1,5% NaCl và CaCO₃ 1%) để tách ròng.

b) Sàng lọc vi khuẩn bằng các chỉ tiêu hình thái, sinh lý và sinh hóa

Các chỉ tiêu về hình thái, sinh lý, sinh hóa như nhuộm Gram, khả năng sinh bào tử, phản ứng oxidase, và phản ứng catalase được thực hiện theo phương pháp của Kandler và Weiss (1986). Phương pháp xác định khả năng sử dụng đường glucose (O/F) được thực hiện theo Parvathy và Puthuvallil (2005). Khả năng làm tan CaCO₃ của LAB được thực hiện trên môi trường MRS Agar có bổ sung 1% CaCO₃ và 1,5% NaCl.

LAB được xác định khi những chủng phân lập có hình oval hoặc hình que, không sinh bào tử, không di động, Gram dương, phản ứng oxidase và catalase âm tính, trung hòa được CaCO₃.

2.2.2. Xác định tính đối kháng bằng phương pháp khuếch tán giếng thạch (Sivakumar *et al.*, 2012)

Vi khuẩn *V. parahaemolyticus* được lưu trữ tại Bộ môn Thủy sản, Trường Đại học Trà Vinh được nuôi sinh khối trong môi trường TSB có bổ sung 1,5% NaCl trong 24 giờ. Sau đó sử dụng tấm bông tiệt trùng nhúng vào ống nghiệm đã nuôi vi khuẩn (nhúng ướt đầu bông tấm) và tán đều trên các đĩa petri chứa môi trường NA có bổ sung 1,5% NaCl,

đặt vào tủ mát 4°C khoảng 1 giờ. Sau khi làm mát, mỗi đĩa petri được đục 4 lỗ để tạo các giếng có đường kính 6 mm.

Các chủng LAB (45 chủng) dùng trong thí nghiệm xác định tính đối kháng được nuôi trong ống nghiệm có chứa 5 mL MRS broth có bổ sung 1,5% NaCl, ủ ở 28°C trong 48 giờ. Tiếp theo hút 1mL dịch nuôi cấy cho vào ống tuýp (1,5 mL), ly tâm 10.000 rpm trong 20 phút ở 4°C để lấy phần dịch trong. Sau đó hút 50 µL phần dịch trong bơm vào mỗi giếng. Trên mỗi đĩa petri, bơm dịch trong vào 3 giếng, giếng còn lại được bơm vào nước cất vô trùng. Các đĩa petri này sau đó được ủ ở 28°C trong 24 giờ.

Khả năng kháng *V. parahaemolyticus* của LAB được xác định thông qua sự hình thành vòng vô trùng. Mức độ kháng khuẩn *V. parahaemolyticus* của LAB được đánh giá dựa trên đường kính của vòng vô trùng (Sivakumar *et al.*, 2012). Khả năng kháng khuẩn được chia thành 3 mức sau:

Kháng yếu (+): đường kính vòng vô trùng nhỏ hơn 8 - 12 mm.

Kháng trung bình (++) : đường kính vòng vô trùng 12 - 15 mm.

Kháng mạnh (+++) : đường kính vòng vô trùng lớn hơn 15 mm.

2.2.3. Thử nghiệm các nồng độ muối khác nhau ảnh hưởng lên mật số của LAB

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên trong ống nghiệm có chứa 10 mL môi trường MRS với 3 lần lặp lại, và ba chủng LAB có khả năng kháng với *V. parahaemolyticus* mạnh nhất ở 6 nồng độ muối thí nghiệm tương ứng như sau: 0; 5; 10; 15; 20 và 25‰. Muối sử dụng trong thí nghiệm này là NaCl và pha với nước cất để đạt các nồng độ muối

thí nghiệm. Sau khi bố trí nồng độ muối cho từng nghiệm thức, tiến hành hút lần lượt 1 mL dung dịch nuôi vi khuẩn lactic sau 48 giờ nuôi cho vào từng ống nghiệm chứa 10 mL môi trường MRS ở các nồng độ muối khác nhau. Ủ ở nhiệt độ 28°C và tiến hành kiểm tra mật số vi khuẩn ở các mốc thời gian thí nghiệm: 48 giờ, 72 giờ và 96 giờ bằng phương pháp so màu quang phổ ở bước sóng 610 nm ở từng mốc thời gian thí nghiệm. Ghi nhận nồng độ muối và thời gian nuôi thích hợp cho từng loài vi khuẩn.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng tháng 01 - 5/2020 tại Bộ môn Thủy sản, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Trà Vinh.

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

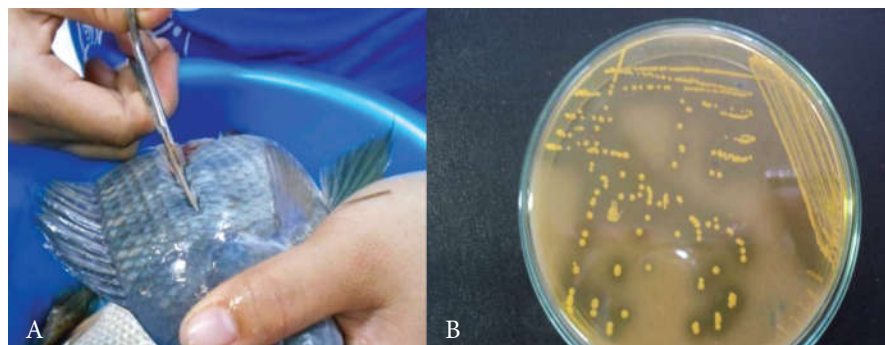
Các số liệu được phân tích bằng phương sai một yếu tố (ANOVA) trên phần mềm SPSS 16.0 với phép kiểm định Duncan's Test được sử dụng để xác định sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với mức ý nghĩa $p < 0,05$. Tất cả các số liệu trong thí nghiệm được trình bày dưới dạng trung bình (Mean) ± độ lệch chuẩn (Std).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập các chủng LAB và xác định các chỉ tiêu hình thái, sinh lý và sinh hóa

Phân lập LAB từ ruột cá rô phi

Số lượng LAB phân lập được trong 90 mẫu cá rô phi đã tìm được 45 chủng vi khuẩn lactic. Tất cả các khuẩn lạc của LAB đều có các chỉ tiêu hình thái như sau: màu trắng đục, tròn, lồi, có kích cỡ 1 - 2 mm và có khả năng làm tan CaCO_3 sau 48 giờ nuôi cấy trên môi trường MRS agar (bổ sung 1,5% NaCl và 1% CaCO_3) (Hình 1A, B).



Hình 1. Phân lập LAB từ ruột cá rô phi

Ghi chú: A: giải phẫu cá rô phi để phân lập LAB; B: các chủng LAB được phân lập từ ruột cá rô phi.

Kết quả phân tích các chỉ tiêu hình thái sinh lý sinh hoá bảng 1 đã cho thấy rằng các vi khuẩn phân lập được quan sát dưới kính hiển vi ghi nhận các

chủng vi khuẩn lactic có hình cầu và hình que, Gram dương, không sinh bào tử. Đối với đặc điểm sinh hóa đã chỉ ra rằng tất cả các chủng vi khuẩn được

lựa chọn khi kiểm tra các chỉ tiêu như oxydase và catalase đều âm tính nhưng dương tính với O/F. Kết quả nghiên cứu này cũng phù hợp với nghiên cứu của Nguyễn Văn Thành và Nguyễn Ngọc Trai (2012) các khuẩn lạc được xác định là *Lactobacillus* đều có dạng tròn lồi, trắng đục hoặc kem với kích thước khuẩn lạc từ 1 - 2 mm, là vi khuẩn Gram dương, âm tính với oxydase và catalase đặc biệt là chúng có khả năng làm tan $CaCO_3$. Ponce và cộng tác viên (2008) cũng đã chỉ ra rằng vi khuẩn lactic có khả năng tiết

ra acid hữu cơ làm giảm pH của môi trường dẫn đến làm tan $CaCO_3$. Kết quả này cũng tương đồng với nghiên cứu của Klaenhammer (1987) vi khuẩn lactic là một nhóm các vi khuẩn Gram dương, chúng là trực khuẩn ngắn hay que (rod) và cầu khuẩn (cocci) không sinh bào tử. Kết quả này cũng được Ngô Thị Phương Dung và cộng tác viên (2011) xác nhận những chủng vi khuẩn lactic phân lập được có hình cầu hoặc hình que, không sinh bào tử, Gram dương, oxydase, catalase âm tính.

Bảng 1. Các chỉ tiêu hình thái, sinh lý, sinh hoá của vi khuẩn lactic

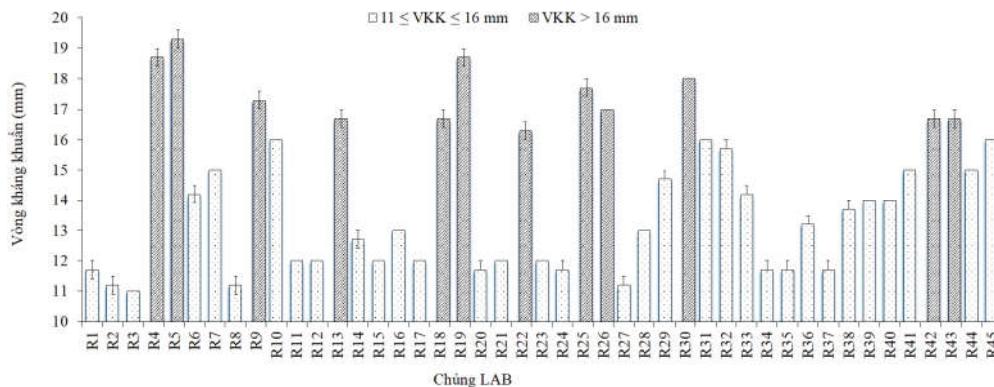
Địa điểm thu mẫu	Tổng số phân lập	Đặc điểm hình thái		Đặc điểm sinh lý			Đặc điểm sinh hóa			
		Hình dạng kl	Kích thước kl (mm)	Hình dạng vi khuẩn	Nhuộm Gram	Khả năng sinh bào tử	Khả năng làm tan $CaCO_3$	Oxi	Cat	O/F
Cầu Ngang	18	//	1-2	Cầu:7 que: 11	+	-	+	-	-	+/+
Duyên Hải	27	//	1-2	Cầu:8 que: 19	+	-	+	-	-	+/+

Ghi chú: //: dạng tròn lồi, trắng đục hoặc kem; +: dương tính; -: âm tính; oxi: oxydase; cat: catalase; Cầu: vi khuẩn LAB hình cầu; Que: vi khuẩn LAB hình que.

3.2. Kết quả xác định tính đối kháng của vi khuẩn lactic với *V. Parahaemolyticus*

Tính đối kháng của LAB với vi khuẩn *V. parahemolyticus* được xác định bằng phương pháp

khuếch tán giếng thạch. Kết quả đã cho thấy hầu hết các chủng vi khuẩn phân lập ở huyện Cầu Ngang và Duyên Hải, tỉnh Trà Vinh có khả năng ức chế vi khuẩn *V. parahemolyticus* thể hiện cụ thể ở (Hình 2).

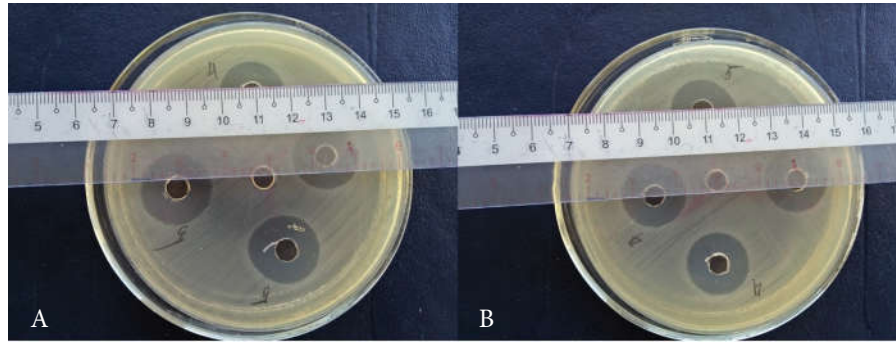


Hình 2. Khả năng kháng khuẩn của LAB với *V. parahemolyticus*

Ghi chú: vkk: vòng kháng khuẩn, R: chủng LAB phân lập từ ruột cá rô phi, LAB: vi khuẩn lactic.

Kết quả xác định tính đối kháng với *V. parahemolyticus* của các chủng LAB phân lập đã cho thấy 33 chủng LAB có khả năng kháng với *V. parahemolyticus* có khả năng kháng *V. parahemolyticus* ở mức trung bình (++) , với đường kính vô trùng (11.00 - 16.00 mm). Mười hai chủng LAB còn lại có khả năng kháng vi khuẩn *V. parahemolyticus* với vòng kháng khuẩn lớn (+++), đặc biệt là đối với chủng LAB R4, R5 và R19 có vòng

tròn kháng khuẩn khá lớn tương ứng là 18,7, 19,3 và 18,7 mm (Hình 3). Do đó, các chủng LAB này có thể sử dụng làm chế phẩm sinh học. Kết quả tương tự cũng được Nguyễn Văn Minh và cộng tác viên (2014) đã nghiên cứu *Bacillus polyfermenticus* F27 đối kháng với vi khuẩn *V. parahemolyticus* NT7 với đường kính lớn nhất là 18,5 mm và có khả năng sử dụng làm chế phẩm sinh học.



Hình 3. Khả năng kháng *V. parahaemolyticus* của LAB; R4 (A) và R5 (B)

3.3. Thử nghiệm các nồng độ muối khác nhau ảnh hưởng lên mật số của LAB

Nhìn chung, ba chủng LAB thí nghiệm đều phát triển tốt ở độ mặn từ 0 - 25% trong thời gian nuôi từ 48 - 96 giờ. Tuy nhiên, chúng đạt mật số cao nhất ở thời gian nuôi là 48 giờ, độ mặn 5% và thấp nhất là ở độ mặn 25% và thời gian nuôi là 96 giờ. Mỗi chủng LAB khác nhau phát triển tối ưu ở các nồng độ muối và thời gian nuôi khác nhau (Bảng 2).

Đối với nghiệm thức LAB1 với thời gian nuôi là 48 giờ, vi khuẩn phát triển tốt nhất ở độ mặn 5% và 10% thể hiện lần lượt là $(2,02 \times 10^9 \pm 2,1 \times 10^6 \text{ CFU/mL}; 1,85 \times 10^9 \pm 1,5 \times 10^6 \text{ CFU/mL})$ và thấp nhất ở nghiệm thức có độ mặn 25% $(1,7 \times 10^9 \pm 3,1 \times 10^6 \text{ CFU/mL})$.

Tương tự, đối với thời gian nuôi 72 và 96 giờ chủng vi khuẩn này cũng phát triển tốt nhất ở nghiệm thức 5% $(1,5 \times 10^9 \pm 7,4 \times 10^6 \text{ CFU/mL})$ và thấp nhất ở 25% $(1,39 \times 10^9 \pm 4,7 \times 10^6 \text{ CFU/mL})$. Nghiệm thức LAB2, vi khuẩn phát triển rất tốt và khác biệt không có ý nghĩa thống kê lẫn nhau giữa các nghiệm thức khi nuôi ở độ mặn 0 - 25% trong 48 giờ. Tuy nhiên, ở thời gian nuôi 72 và 96 giờ, chủng LAB này phát triển tốt nhất ở độ mặn 5%, và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại. Đối với nghiệm thức LAB3 cho thấy độ mặn thích hợp nhất cho vi khuẩn phát triển ở 5% và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại.

Bảng 2. Biến động của mật số LAB ở các độ mặn khác nhau

NT	Giờ	Nồng độ muối (‰)					
		0	5	10	15	20	25
LAB1 (CFU/mL)	48	$1,76 \times 10^9 \pm 1,5 \times 10^{6d}$	$2,02 \times 10^9 \pm 2,1 \times 10^{6a}$	$1,85 \times 10^9 \pm 1,5 \times 10^{6a}$	$1,82 \times 10^9 \pm 3,1 \times 10^{6b}$	$1,77 \times 10^9 \pm 4,7 \times 10^{6c}$	$1,70 \times 10^9 \pm 3,1 \times 10^{6c}$
	72	$1,46 \times 10^9 \pm 4,5 \times 10^{6b}$	$1,51 \times 10^9 \pm 1,3 \times 10^{6a}$	$1,47 \times 10^9 \pm 3,2 \times 10^{6b}$	$1,47 \times 10^9 \pm 4,9 \times 10^{6b}$	$1,43 \times 10^9 \pm 5,3 \times 10^{6c}$	$1,39 \times 10^9 \pm 2,0 \times 10^{6d}$
	96	$1,46 \times 10^9 \pm 1,5 \times 10^{6b}$	$1,5 \times 10^9 \pm 7,4 \times 10^{6a}$	$1,47 \times 10^9 \pm 5,5 \times 10^{6b}$	$1,47 \times 10^9 \pm 1,5 \times 10^{6b}$	$1,43 \times 10^9 \pm 2 \times 10^{6c}$	$1,39 \times 10^9 \pm 4,7 \times 10^{6c}$
LAB2 (CFU/mL)	48	$1,69 \times 10^9 \pm 4,1 \times 10^{6a}$	$1,96 \times 10^9 \pm 2,6 \times 10^{6a}$	$1,88 \times 10^9 \pm 2,5 \times 10^{6a}$	$1,9 \times 10^9 \pm 1,5 \times 10^{6a}$	$1,69 \times 10^9 \pm 5,9 \times 10^{6a}$	$1,69 \times 10^9 \pm 6,1 \times 10^{6a}$
	72	$1,5 \times 10^9 \pm 2 \times 10^{6b}$	$1,51 \times 10^9 \pm 2 \times 10^{6a}$	$1,46 \times 10^9 \pm 3,5 \times 10^{6c}$	$1,46 \times 10^9 \pm 1,5 \times 10^{6c}$	$1,42 \times 10^9 \pm 5,9 \times 10^{6d}$	$1,41 \times 10^9 \pm 1,5 \times 10^{6c}$
	96	$1,5 \times 10^9 \pm 2 \times 10^{6b}$	$1,52 \times 10^9 \pm 3,5 \times 10^{6a}$	$1,47 \times 10^9 \pm 1,5 \times 10^{6c}$	$1,46 \times 10^9 \pm 2,5 \times 10^{6c}$	$1,4 \times 10^9 \pm 1,4 \times 10^{6d}$	$1,4 \times 10^9 \pm 7,5 \times 10^{6d}$
LAB3 CFU/mL	48	$1,92 \times 10^9 \pm 4,2 \times 10^{6b}$	$1,96 \times 10^9 \pm 3,1 \times 10^{6a}$	$1,81 \times 10^9 \pm 3,1 \times 10^{6c}$	$1,81 \times 10^9 \pm 6,1 \times 10^{6c}$	$1,7 \times 10^9 \pm 2,4 \times 10^{6d}$	$1,7 \times 10^9 \pm 5,8 \times 10^{6e}$
	72	$1,49 \times 10^9 \pm 5,5 \times 10^{6b}$	$1,52 \times 10^9 \pm 4,4 \times 10^{6a}$	$1,49 \times 10^9 \pm 5 \times 10^{6b}$	$1,49 \times 10^9 \pm 4,9 \times 10^{6b}$	$1,46 \times 10^9 \pm 5,8 \times 10^{6c}$	$1,4 \times 10^9 \pm 7,5 \times 10^{6d}$
	96	$1,92 \times 10^9 \pm 4,2 \times 10^{6c}$	$1,96 \times 10^9 \pm 3,1 \times 10^{6a}$	$1,81 \times 10^9 \pm 3,1 \times 10^{6c}$	$1,81 \times 10^9 \pm 6,1 \times 10^{6c}$	$1,69 \times 10^9 \pm 2,4 \times 10^{6d}$	$1,67 \times 10^9 \pm 5,8 \times 10^{6e}$

Ghi chú: a, b, c, d, e: các số liệu trong cùng một hàng có chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Nhìn chung, các chủng LAB đều phát triển ở độ mặn từ 0 - 25‰ nhưng phát triển tốt nhất ở độ mặn 5‰, và phát triển chậm nhất ở độ mặn 25‰. Kết quả thí nghiệm này cũng tương đồng với nghiên cứu của Nguyễn Tuấn Huy (2014) vi khuẩn *Lactobacillus* có khả năng sinh trưởng và phát triển ở độ mặn 0 - 3‰, nhưng phát triển tốt nhất ở độ mặn 1‰. Mật độ vi khuẩn bắt đầu giảm ở độ mặn 2‰, và giảm nhiều ở độ mặn 3‰. Một nghiên cứu khác cũng đã chỉ ra rằng độ mặn có ảnh hưởng lên quần thể vi khuẩn lactic trong hệ thống tiêu hóa của cá (Sakata *et al.*, 1980; Ringø *et al.*, 1995). Quần thể *Lactobacilli* giảm, số lượng *Leuconostoc* spp. và *Streptococcus* spp. vẫn ổn định khi cá hồi chấm được ương trong nước biển. Tóm lại, vi khuẩn lactic vẫn phát triển tốt cả điều kiện nước ngọt và nước lợ.

IV. KẾT LUẬN

Trong 45 chủng LAB phân lập từ ruột cá rô phi đã xác định được 3 chủng R4, R5 và R19 có khả năng kháng với vi khuẩn *V. parahaemolyticus*, gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính trên tôm thẻ chân trắng. Ba chủng LAB này phát triển tốt ở nồng độ muối 5-10‰ và thời gian nuôi là 48 h.

Các chủng LAB thí nghiệm có thể ứng dụng trong việc phòng bệnh hoại tử gan tụy cấp tính trên tôm thẻ chân trắng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Trình Hùng Cường, 2011. *Phân lập vi khuẩn Lactobacillus sp. trên tôm sú nuôi công nghiệp có khả năng kháng vi khuẩn gây bệnh Vibrio sp.* Luận văn Cao học chuyên ngành Công nghệ sinh học. Đại học Cần Thơ.

Ngô Thị Phương Dung, Huỳnh Thị Yến Ly and Huỳnh Xuân Phong, 2011. *Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn lactic có khả năng sinh chất kháng khuẩn.* Tạp chí Khoa học - Trường Đại học Cần Thơ. 19a: 176-184.

Nguyễn Tuấn Huy, 2014. *Phân lập và tuyển chọn các chủng Lactobacillus có tiềm năng probiotic từ tôm sú.* Luận văn cao học chuyên ngành Nuôi trồng Thủy sản. Đại học Cần Thơ.

Nguyễn Văn Minh, Lê Anh Tuấn, Đào Văn Toàn, Võ Ngọc Yến Nhi, Dương Nhật Linh, Nguyễn Thị Ngọc Tinh, 2014. *Khả năng kiểm soát sinh học Vibrio parahaemolyticus NT7 phân lập từ tôm thẻ bệnh hoại tử gan tụy (AHPND) của chủng Bacillus polyfermenticus F27 phân lập từ giun quế.* Kỷ yếu Hội thảo Ứng dụng Công nghệ sinh học trong Nông nghiệp và Phát triển nông thôn.

Nguyễn Văn Thành và Nguyễn Ngọc Trai, 2012. *Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn Lactobacillus sp. có khả năng ức chế vi khuẩn gây bệnh gan thận mù và đốm*

đỏ trên cá tra. Tạp chí Khoa học - Trường Đại học Cần Thơ số 23a: 224-234.

Ariole, C.N. Nyeche, G.E., 2013. *In vitro* antimicrobial activity of *Lactobacillus* isolates against shrimp (*Penaeus monodon*) pathogens. *International Journal of Biosciences* 3(1): 7 - 12.

Bernet-Camard, M.F., V. Lievin, D. Brassart, J.R. Neeser, A.L. Servin and S. Hudault, 1997. The human *Lactobacillus acidophilus* strain LA1 secretes a nonbacteriocin antibacterial substance(s) active *in vitro* and *in vivo*. *Applied and Environmental Microbiology* 63: 2747-2753.

Kandler O. and N. Weiss, 1986. Genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, 212AL. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. In: P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe, and J.G. Holt (Eds). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol 2, Baltimore: Williams and Wilkins: 1209-1234.

Klaenhammer T.R., 1987. Plasmid-directed mechanisms for bacteriophage defense in *Lactic streptococci*. *FEMS Microbiol. Rev.* 46: 313-325.

Tran, L.; Nunan, L.; Redman, R.M.; Mohny, L.L.; Pantoja, C.R.; Fitzsimmons, K.; Lightner, D.V., 2013. Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp. *Dis. Aquat. Organ.* 105: 45-55.

Nirunya, B., C. Suphitchaya and H. Tipparat, 2008. Screening of lactic acid bacteria from gastrointestinal tracts of marine fish for their potential use as probiotics. *Journal of Science Technology.* 30: 141-148.

Ma, C.W., Y.S. Cho and K.H. Oh, 2009. Removal of pathogenic bacteria and nitrogens by *Lactobacillus* spp. JK-8 and JK-11. *Aquaculture.* 287: 266-270.

Michetti, P., G. Dorta, P.H. Wiesel, D. Brassart, E. Verdu, M. Herranz, C. Felley, N. Porta, M. Rouvet, A.L. Blum and I. Cortesy-Theulaz, 1999. Effect of whey-based culture supernatant of *Lactobacillus acidophilus* (johnsanii) La1 on *Helicobacter pylori* infection in huMans. *Digestion.* 60: 203-209.

Parvathy Seema Nair and Puthuvallil Kumaran Surendran, 2005. Biochemical characterization of lactic acid bacteria isolated from fish and prawn. *Journal of culture collections.* Volume 4, 2004-2005: 48-52.

Ponce A.G., M.R. Moreira, C.E. Valle and S.I. Roura, 2008. Preliminary characterization of bacteriocin like substances from lactic acid bacteria isolated from organic leafy vegetables. *LWT - Food Science and Technology* (41)3: 432-441.

- Ringø E., E. Strøm, J.A. Tabachek**, 1995. Intestinal microflora of salmonids: a review. *Aquacult. Res.* 26: 773-789.
- Sakata T., J. Okabayashi, D. Kakimoto**, 1980. Variations in the intestinal microflora of Tilapia reared in fresh and sea water. *Jpn. Soc. Sci. Fish.* 46: 313-317.
- Sivakumar, N., Sundararaman, M. and Selvakumar, G.**, 2012. Probiotic effect of Lactobacillus acidophilus against vibriosis in juvenile shrimp (*Penaeus monodon*). *African Journal of Biotechnology Vol.* 11(91): 15811-15818.
- Tran Huu Loc, K. Fitzsimmons, D.V. Lightner**, 2014. The Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND/EMS) in shrimp: From the academic science perspective to the production point of view. *Aquaculture Asia Pacific Magazine: esearchgate.net/publication/281747687_EARLY_MORTALITY_SYNDROME_EMS_AS_NEW_EMERGING_THREAT_IN_SHRIMP_INDUSTRY*. Ngày truy cập 24/2/2021.
- Vine N.G., W.D. Leukes, H. Kaiser**, 2004. In-vitro growth characteristics of five candidate aquaculture probiotics and two fish pathogens grown in fish intestinal mucus. *FEMS Microbiol. Lett.* 231: 145-152.
- Zorriehzahra M.J., Banaederakhshan R.**, 2015. Early mortality syndrome (EMS) as new emerging threat in shrimp industry. *Adv. Anim. Vet. Sci.* 3: 64-72.

Isolation and screening of lactic acid bacteria that can antagonize *Vibrio parahaemolyticus* causing acute hepatopancreatic necrosis disease in whiteleg shrimp

Nguyen Thi Truc Linh

Abstract

The study aimed to select lactic acid bacteria (LAB) strains that can antagonize *Vibrio parahaemolyticus* for further studies on prevention of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in shrimp and to determine the appropriate salt concentration for the development of LAB. LAB strains were isolated from the gut of Tilapia at Cau Ngang and Duyen Hai district, Tra Vinh province. Isolated LAB strains were identified by using morphological, physiological and bio-chemical characteristics and then determined their antagonism toward *V. parahaemolyticus* by using agar well diffusion method. A total of 45 LAB strains were screened, of which, 3 strains R4, R5 and R19 had the biggest inhibition diameters (18.7; 19.3 and 18.7 mm, respectively). The result also showed that 3 LAB strains grew well at salinity of 5 - 10‰ and grew slowly at salinity of 25‰. These strains can be used for further studies to evaluate the effect of LAB in prevention AHPND in shrimp at different salt concentrations.

Keywords: White leg shrimp, acute hepatopancreatic necrosis disease, lactic acid bacteria, *Vibrio parahaemolyticus*

Ngày nhận bài: 02/3/2021

Ngày phản biện: 15/3/2021

Người phản biện: PGS. TS. Châu Tài Tào

Ngày duyệt đăng: 30/3/2021

BIẾN ĐỘNG MÔI TRƯỜNG NƯỚC KHU VỰC NUÔI CÁ TRA THÀNH PHỐ CẦN THƠ

Bùi Thị Diễm My¹, Lâm Phúc Nhân¹,
Trần Thanh Hải¹, Trần Trung Giang²

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm theo dõi sự biến động, thay đổi các yếu tố môi trường nước của kênh cấp ngoài tự nhiên và các ao nuôi cá tra tại vùng nuôi trọng điểm của thành phố Cần Thơ. Kết quả nghiên cứu sẽ đưa ra những nhận định, cảnh báo để có biện pháp quản lý, xử lý phù hợp về chất lượng nước để hướng đến phát triển nghề nuôi cá tra bền vững của vùng và bảo vệ nguồn tài nguyên nước trong khu vực. Mẫu nước được thu tại 4 điểm ở kênh cấp và 4 điểm ở ao nuôi cá tra thâm canh. Thời gian thu mẫu được thực hiện 12 tháng. Kết quả cho thấy hàm lượng COD (tiêu hao oxy hóa học), TAN (tổng đạm ammonia) và nitrite trong nước ở các ao nuôi có giá trị cao hơn so với nhóm thủy vực kênh cấp, đặc biệt là hàm lượng nitrite cần phải được xử lý trước khi đưa vào ao nuôi. Hàm lượng oxy hòa tan trong ao nuôi khá thấp. Tuy nhiên, chất lượng môi trường nước tại các điểm thu vẫn phù hợp, đạt các yêu cầu trong phục vụ nuôi cá tra thâm canh của vùng.

Từ khóa: Cá tra (*Pangasius hypophthalmus*), môi trường nước, nuôi trồng thủy sản, Cần Thơ

¹ Chi cục Thủy Sản Thành phố Cần Thơ; ² Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ