

Impact assessment of the training on one Must do five Reductions - VnSAT project at Vi Thuy district, Hau Giang province

Pham Thi Kieu My and Huynh Quang Tin

Abstract

One Must Do - Five Reductions (1M5R) is a technical process that was applied for the training program of the VnSAT project in Hau Giang province during 2017- 2020. This study aims to assess the impact of 1M5R training at three villages of Vi Thuy district. 60 farmers, producing the same rice varieties pre- and post-training in three communes were interviewed. The analysis data showed that all trainees have improved their knowledge and were very satisfied with the training course; reduced the amount of seed by 35.2 kg/ha/crop, the amount of nitrogen fertilizer (7.2%) and phosphorus (11.3%), decreased by 20.8% the times of pesticide spraying; increased rice yield by 0.6 tons/ha and profit of 6.0 million VND/ha after training. The post-training farmers have adopted well the 1M5R technical process in rice production. The 1M5R-agricultural extension model is very necessary at the unarousable rice production areas.

Keywords: One Must do five Reductions, Hau Giang, economic efficiency, impacts, pre and post-training

Ngày nhận bài: 16/5/2023

Người phản biện: TS. Phạm Công Nghiệp

Ngày phản biện: 05/6/2023

Ngày duyệt đăng: 28/6/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA CHẤT CHIẾT LÁ MAI DƯƠNG LÊN TĂNG TRƯỞNG, TỶ LỆ SỐNG VÀ KHẢ NĂNG ỨC CHẾ *Vibrio parahaemolyticus* GÂY BỆNH HOẠI TỬ GAN TUY CẤP TÍNH TRÊN TÔM THẺ CHÂN TRẮNG

Nguyễn Thị Trúc Linh^{1*}, Lê Hồng Nhật¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành nhằm khảo sát ảnh hưởng của chất chiết từ lá mai dương lên khả năng kháng vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus*, đồng thời đánh giá tốc độ tăng trưởng và tỷ lệ sống của tôm khi trộn chất chiết mai dương vào thức ăn với tỷ lệ 1%, 1,5% và 2%. Kết quả ghi nhận chiết xuất methanol lá mai dương có hoạt tính kháng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính trên tôm cao hơn so với chất chiết sử dụng dung môi là ethanol và nước. Đường kính vòng kháng khuẩn tương ứng là 25,1 mm, 23,9 mm và 10,9 mm. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC), nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của chiết xuất methanol lá mai dương đối với *V. parahaemolyticus* tương ứng là 0,02, 0,04 mg/mL. Ở các nghiệm thức bổ sung chất chiết lá mai dương, tỷ lệ sống khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng. Việc bổ sung dịch chiết lá mai dương ở nồng độ 1% và 1,5% kích thích tăng trưởng của tôm thẻ chân trắng sau 20 ngày thí nghiệm. Kết quả nghiên cứu cho thấy chất chiết lá mai dương rất tiềm năng trong nuôi tôm thương phẩm.

Từ khóa: Tôm thẻ chân trắng, bệnh hoại tử gan tụy cấp tính, chất chiết lá mai dương, vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease - AHPND) được xác định do vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* mang plasmid mã hóa gen gây độc (*PirA*, *PirB*)

(*Vp_{AHPND}*) (Tran *et al.*, 2013; OIE, 2019). Hiện nay, việc sử dụng và lạm dụng kháng sinh trong nuôi tôm đã rất phổ biến và đã gây ảnh hưởng xấu tới sức khỏe động vật, môi trường sinh thái và đặc biệt là tạo ra các chủng vi khuẩn kháng lại thuốc

¹ Trường Đại học Trà Vinh

* Tác giả liên hệ, email; truclinh@tvu.edu.vn

kháng sinh. Vì thế, hướng nghiên cứu các chất có hoạt tính kháng khuẩn nguồn gốc thảo dược được tập trung nghiên cứu nhằm tạo ra các sản phẩm sử dụng trong phòng trị bệnh mà thân thiện với môi trường và đảm bảo an toàn thực phẩm (Mahesh & Satish, 2008). Kháng sinh có nguồn gốc thảo dược đã và đang được nghiên cứu ứng dụng trong phòng trị bệnh (Citarasu, 2010). Sử dụng thảo dược mang đến nhiều lợi ích: ít tốn kém khi sử dụng nguyên liệu thảo dược thô, có sẵn tại địa phương, dễ dàng chuẩn bị, dễ dàng bị phân hủy sinh học và không gây tác động bất lợi cho môi trường (Syahidah *et al.*, 2015). Một số loài thực vật khác như *Eucalyptus camaldulensis*, *Psidium guajava*, *Rhodomyrtus tomentosa* và *Syzygium cumini* cũng đã được xác định hiệu quả giúp nâng cao tỷ lệ sống cho tôm khi gây cảm nhiễm với vi khuẩn *Vibrio* (Ghosh *et al.*, 2021). Tất nhiên, kết quả trên phụ thuộc vào phương pháp chiết xuất và nồng độ sử dụng trong chế độ ăn của tôm (Harikrishnan *et al.*, 2011). Theo Bulfon *et al.* (2015), dung môi hữu cơ hoặc cồn có hiệu quả trong chiết xuất các hợp chất chuyển hóa sinh học thứ cấp (phân cực hoặc không phân cực) với hoạt tính kháng khuẩn và kích thích miễn dịch so với chiết xuất bằng nước.

Cây mai dương có tên khoa học là *Mimosa pigra*, thuộc họ Mimosaceae, có nguồn gốc có nguồn gốc từ Trung và Nam Mỹ và nó đã xâm lấn nhiều quốc gia ở Châu Á và Úc. Những khảo sát gần đây cho thấy rằng Mai dương đã mọc nhiều nơi ở Việt Nam, phổ biến ở đất trồng trọt, bờ sông, bờ hồ, đường lộ và một số vườn quốc gia (Nguyễn Chí Cương và *cs.*, 2015). Theo Gandhiraja *et al.* (2009) dịch chiết của mai dương có hoạt tính kháng khuẩn trên *Aspergillus fumigatus*, *Citrobacter divergens* và *Klebsiella pneumonia*. Ngoài tác dụng kháng khuẩn, chất chiết của cây mai dương còn có tác dụng kháng nấm, kháng viêm, chất chống oxy hoá. Ngoài ra, các chất chiết của lá mai dương từ các dung môi khác nhau như dầu hoả, ethylacetate, acetone và cả phương pháp đun sôi cũng có khả năng kháng một số vi khuẩn gây bệnh trên người như: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* và *Staphylococcus aureus*. Trong các dung môi thử nghiệm thì chất chiết lá mai dương được tách chiết từ dung môi acetone có tác dụng ức chế tối đa *Staphylococcus aureus* (Abirami *et al.*, 2014). Các nghiên cứu vừa nêu đã cho thấy chất chiết của lá mai dương có tác dụng kháng khuẩn trên người

và động vật. Tuy nhiên cho đến nay, vẫn chưa có các kết quả nghiên cứu về hiệu quả của chất chiết lá mai dương trên đối tượng thủy sản. Cụ thể như khả năng kháng vi khuẩn *Vibrio* gây bệnh trên tôm, khả năng kích thích tăng trưởng, tỷ lệ sống trên tôm. Nghiên cứu hiện tại đã đánh giá hiệu quả của chiết xuất lá mai dương lên khả năng kháng vi khuẩn *V. parahaemolyticus*, gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính gây bệnh trên tôm thẻ, đồng thời đánh giá tốc độ tăng trưởng và tỷ lệ sống trên tôm thẻ thí nghiệm.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Vật liệu thí nghiệm: Cao chiết lá mai dương, vi khuẩn *V. parahaemolyticus*, bể composite 500L, nước biển,...

- Đối tượng thí nghiệm: Tôm thẻ chân trắng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Tách chiết lá mai dương

Lá mai dương (*Mimosa pigra*) được thu 3 đợt ở các vị trí khác nhau tại tỉnh Trà Vinh, đợt 1 thu tại ấp Long Bình phường 4, thành phố Trà Vinh từ 18/6 - 18/7/2022, đợt 2 thu tại đường Vành Đai, khóm 10, phường 7 thành phố Trà Vinh từ ngày 19/8 - 17/9/2022 và đợt 3 thu tại ấp Nguyệt Hoá huyện Châu Thành, Trà Vinh từ ngày 20/10 - 15/11/2022. Mẫu lá được rửa sạch, sấy ở 50°C đến khô và sau đó được nghiền thành bột. Bột này được sử dụng để chiết xuất với ba loại dung môi khác nhau.

Phương pháp 1 (chiết xuất với dung môi methanol): Bột từ lá cây mai dương được ngâm trong dung môi methanol với tỉ lệ 1 : 10 trong 4 ngày. Sau đó hỗn hợp được lọc thô qua vải và tiếp tục được lọc qua giấy lọc Whatman No.1. Dung dịch qua lọc được cô quay chân không với tốc độ quay 150 vòng/phút ở nhiệt độ 50°C, để loại bỏ dung môi (Bindhu *et al.*, 2014). Để loại bỏ hoàn toàn dung môi, sản phẩm sau cô quay được sấy ở 50°C. Chất chiết sau cùng được lưu trữ ở 4°C.

Phương pháp 2 (chiết xuất với dung môi ethanol): Quy trình tương tự như đối với dung môi methanol. Ngâm bột lá mai dương trong dung môi ethanol với tỉ lệ 1 : 10 trong 4 ngày. Hỗn hợp được lọc qua vải và giấy lọc Whatman No.1. Dung dịch qua lọc được cô quay chân không 150 vòng/phút ở 60°C (Bindhu *et al.*, 2014). Trước khi được lưu trữ

ở 4°C, chiết xuất cũng được sấy ở 50°C cho đến khi trọng lượng không đổi.

Phương pháp 3 (chiết xuất với nước nóng): Ngâm 10 g bột lá mai dương với 150 mL nước (tỉ lệ 1 : 15). Hỗn hợp được đun ở nhiệt độ 150°C đến khi dịch chiết còn lại khoảng 10 mL (Kongchum *et al.*, 2016).

2.2.2. Thí nghiệm in-vitro xác định hoạt tính kháng khuẩn của chất chiết lá mai dương

Trước khi tiến hành thí nghiệm cần chuẩn bị đĩa tẩm chất chiết xuất và dung dịch huyền phù vi khuẩn *V. paraheamolyticus*. Thảo dược mai dương sau khi sấy khô đến trọng lượng không đổi, tiếp tục cân 0,8 g cao chiết hoà tan vào 2 mL dung dịch DMSO (Dimethyl sulfoxide). Nhỏ từ từ 50 µL dung dịch chất chiết lên một đĩa giấy có đường kính 8mm (Advantec, New Zealand). Các đĩa giấy được làm khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng (Najiah *et al.*, 2011). Dụng cụ và thao tác thực hiện trong điều kiện vô trùng.

Thí nghiệm sử dụng *V. paraheamolyticus* được phân lập và định danh từ nghiên cứu trước đây của Nguyen *et al.* (2019) được lưu trữ tại phòng thí nghiệm bệnh học của Trường Đại học Trà Vinh. Vi khuẩn này được kiểm tra độc lực gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính bằng kỹ thuật PCR (Dangtip *et al.*, 2015) trước khi được nuôi tăng sinh trong môi trường TSB (Tryptic Soy Broth, Himedia, Ấn Độ), có bổ sung 1,5% NaCl trong 18 - 24 giờ để thu dung dịch huyền phù.

Khả năng kháng khuẩn của chiết xuất lá mai dương được xác định bằng cách đo đường kính của vòng kháng khuẩn (Oometta-aree *et al.*, 2006). Dùng tấm bông tiệt trùng nhúng vào dung dịch huyền phù vi khuẩn *V. paraheamolyticus* với mật số 10^8 CFU/mL và tán đều lên bề mặt đĩa môi trường TSA có bổ sung 1,5% NaCl. Sau đó, đặt các đĩa giấy đã được tẩm chất chiết lên đĩa môi trường đã được trải vi khuẩn. Sử dụng các đĩa tẩm DMSO làm đối chứng âm và đĩa kháng sinh Doxycyclin (DOX, 30 µg) làm đối chứng dương. Các đĩa môi trường TSA được ủ ở 35°C trong 24 giờ. Đo đường kính vòng kháng khuẩn xuất hiện trên các đĩa môi trường TSA. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Từ số liệu đường kính vòng kháng khuẩn, khả năng kháng khuẩn của chất chiết được phân thành các loại: kháng, trung bình, nhạy (Lorian, 1995). Cụ thể, chất chiết có khả năng kháng khuẩn khi có đường kính vòng kháng khuẩn

≤ 9 mm, tính kháng trung bình khi đường kính khoảng 10 - 13 mm, tính kháng nhạy khi có đường kính ≥ 14 mm.

2.2.3. Xác định nồng độ ức chế tối thiểu (minimum inhibitory concentration - MIC) và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (minimum bactericidal concentration - MBC)

- Xác định nồng độ ức chế tối thiểu - MIC:

Mỗi chiết xuất thảo dược được pha loãng với DMSO thành các tỉ lệ 1 : 1, 1 : 2, 1 : 4, 1 : 8, 1 : 16, 1 : 32,... Tương ứng với mỗi độ pha loãng, cho 1 mL dịch chiết vào môi trường lỏng TSB - 1,5% NaCl có chứa sẵn 1 mL dịch huyền phù vi khuẩn *V. paraheamolyticus* với mật số 2×10^6 CFU/mL. Hỗn hợp được ủ ở 35°C trong 24 giờ. Thí nghiệm được lặp lại 2 lần. Giá trị MIC cần xác định là nồng độ thấp nhất của chiết xuất có khả năng không cho vi khuẩn phát triển trong môi trường lỏng (Oometta-aree *et al.*, 2006).

- Nồng độ diệt khuẩn tối thiểu - MBC: Trải 50 µL dịch huyền phù của thử nghiệm MIC lên môi trường thạch TCBS. Lặp lại 3 lần cho mỗi chất chiết và tương ứng mỗi độ pha loãng. Đĩa thạch được ủ ở 35°C trong 24 giờ. Giá trị MBC của chiết xuất thảo dược được xác định là nồng độ thấp nhất không có vi khuẩn phát triển trên bề mặt đĩa thạch (Oometta-aree *et al.*, 2006).

2.2.4. Đánh giá tác động của chất chiết lá mai dương lên tăng trưởng và tỷ lệ sống của tôm thẻ chân trắng

a) Chuẩn bị nguyên vật liệu

Tôm được thí nghiệm là tôm thẻ chân trắng ở giai đoạn Postlarvae 15 (âm tính với bệnh đốm trắng, bệnh vi bào tử trùng và bệnh hoại tử gan tụy cấp tính). Chúng được nuôi trong ao tại Trại thực nghiệm khoa Nông nghiệp Thủy sản Trường Đại học Trà Vinh đến khi tôm đạt kích cỡ khoảng 10 g/con. Trước khi bố trí vào các bể nuôi thí nghiệm, tôm được kiểm tra âm tính với mầm bệnh đốm trắng và AHPND thông qua phương pháp PCR với đoạn mã đặc hiệu (OIE, 2009) và chu trình nhiệt của Sirikharin *et al.* (2015). Tôm cũng được thuần dưỡng 3 trong ngày để quen với điều kiện môi trường trong bể nuôi, trước khi bắt đầu quá trình cho ăn thử nghiệm.

Nguồn nước sử dụng cho thí nghiệm là nước biển với độ mặn 28‰ ở Ba Động, Duyên Hải, Trà Vinh. Nước biển được lọc qua túi lọc, sau

đó được khử trùng với chlorin với nồng độ 20 - 30 mg/L. Tiếp theo, nước được sục khí mạnh và liên tục trong 24 giờ, và được trung hòa Cl tự do bằng $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (tỉ lệ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 : \text{Cl}$ là 7 : 1). Sau khi xử lý nước ót xong tiến hành pha loãng với nước ngọt để có độ mặn 15 ‰.

Bổ sung chất chiết lá mai dương vào thức ăn: viên thức ăn tôm với 40% đạm (Công ty chăn nuôi CP, Việt Nam) được áo bên ngoài với chất chiết lá mai dương (nồng độ 1%; 1,5% và 2%). Sau đó, viên thức ăn tiếp tục được áo thêm 2% dầu mực (Vemedim, Việt Nam). Viên thức ăn được bảo quản ở 4°C để sử dụng cho thí nghiệm. Đối với thí nghiệm thức đối chứng, viên thức ăn chỉ được áo với 2% dầu mực.

b) Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí trong bể composite 500 L có sục khí. Tôm thí nghiệm có khối lượng trung bình là khoảng 10 g/con và với mật độ 60 con/bể, độ mặn nước nuôi là 15‰. Tôm thí nghiệm được cho ăn thức ăn viên 40% đạm (Công ty Chăn nuôi CP, Việt Nam), thức ăn được bổ sung 1%, 1,5% và 2% chiết xuất lá mai dương. Tôm thí nghiệm được cho ăn 4 lần/ngày: vào lúc 7 giờ, 11 giờ, 15 giờ và 21 giờ. Lượng thức ăn theo nhu cầu của tôm, khoảng 7 - 10% trọng lượng thân). Thí nghiệm cho ăn được thực hiện trong thời gian 30 ngày và được lặp lại 3 lần.

c) Chỉ tiêu theo dõi

Các thông số môi trường như pH, nhiệt độ, NH_3 , KH, NO_2 được theo dõi mỗi ngày 1 lần bằng bộ test kit Sera. Đối với chỉ tiêu nhiệt độ được đo bằng nhiệt kế.

Tốc độ tăng trưởng của tôm: Được xác định bằng cách bắt ngẫu nhiên 5 con tôm để cân trọng lượng và đo chiều dài với tần suất 10 ngày/lần.

Tốc độ tăng trưởng tương đối theo trọng lượng (g/day): $\text{DWG} = (W_{\text{cuối}} - W_{\text{đầu}}) / t$.

Tốc độ tăng trưởng đặc biệt theo trọng lượng (%/day): $\text{SGR} = (\text{Ln}W_{\text{cuối}} - \text{Ln}W_{\text{đầu}}) \times 100 / t$.

Tốc độ tăng trưởng tương đối theo chiều dài: $\text{DLG} (\text{mm/day}) = (L_{\text{cuối}} - L_{\text{đầu}}) / t$.

Tốc độ tăng trưởng đặc biệt theo chiều dài (%/day): $\text{SGRL} = (\text{Ln}L_{\text{cuối}} - \text{Ln}L_{\text{đầu}}) \times 100 / t$.

Ghi chú: W là trọng lượng của tôm thí nghiệm thí nghiệm (g), L : chiều dài của tôm thí nghiệm (mm), t : thời gian thí nghiệm.

Tỷ lệ sống của tôm: Được xác định sau khi kết thúc thí nghiệm (30 ngày).

Tỉ lệ sống (%) = [(số tôm thu cuối thí nghiệm + số tôm bị thu làm mẫu định kỳ)/số tôm thả ban đầu] × 100.

2.2.5. 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).

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 6 đến tháng 12/2022 tại Bộ môn Thủy sản, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Trà Vinh.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khả năng kháng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* của các chất chiết lá mai dương với dung môi chiết khác nhau

3.1.1 Xác định đường kính vòng kháng khuẩn

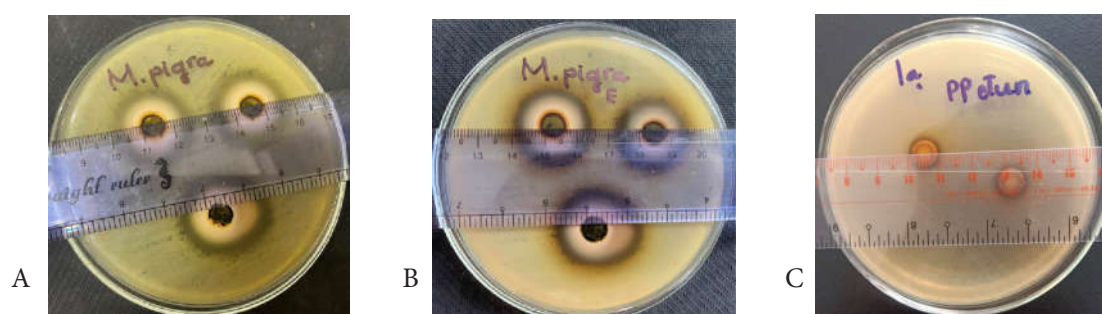
Hoạt tính kháng khuẩn đối với *V. parahaemolyticus* của chất chiết lá mai dương được đánh giá thông qua phương pháp khuếch tán đĩa thạch. Cụ thể là dựa vào đường kính vòng kháng khuẩn xuất hiện trên đĩa môi trường sau khi ủ. Đường kính vòng kháng khuẩn của các chất chiết với dung môi methanol, ethanol và phương pháp đun sôi được trình bày ở bảng 1.

Kết quả cho thấy chất chiết từ cả ba phương pháp đều có khả năng kháng vi khuẩn *V. parahaemolyticus*. Cụ thể, chất chiết lá mai dương với dung môi methanol có khả năng kháng khuẩn cao nhất với đường kính kháng khuẩn trung bình của 3 đợt thu mẫu là $25,1 \pm 0,6$ mm, cao gần 1,5 lần so với đối chứng dương (với đường kính trung bình là $16,1 \pm 0,6$ mm). Chất chiết sử dụng ethanol có đường kính vòng kháng khuẩn trung bình $23,9 \pm 0,6$ mm, thấp hơn so với chất chiết với phương pháp đun sôi ($10,9 \pm 0,6$ mm). Đối chứng âm DMSO (cũng là dung môi hòa tan chất chiết) không có ảnh hưởng đến sự phát triển của vi khuẩn trong thử nghiệm (Bảng 1, Hình 1).

Bảng 1. Đường kính vòng kháng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* của chất chiết lá mai dương

Phương pháp	Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)			
	Đợt thu mẫu thứ 1	Đợt thu mẫu thứ 2	Đợt thu mẫu thứ 3	Trung bình
Chiết xuất lá mai dương từ phương pháp methanol	25,3 ± 0,6	24,7 ± 0,6	25,3 ± 0,6	25,1 ± 0,6
Chiết xuất lá mai dương từ phương pháp ethanol	22,7 ± 0,6	24,3 ± 0,6	24,7 ± 0,6	23,9 ± 0,6
Chiết xuất lá mai dương từ phương pháp đun bằng nước	11,3 ± 0,6	10,7 ± 0,6	10,7 ± 0,6	10,9 ± 0,6
Doxycyclin 30 µg (đối chứng dương)	16,3 ± 0,6	16,3 ± 0,6	15,7 ± 0,6	16,1 ± 0,6
Dimethyl Sulfoxide (đối chứng âm)	0,0	0,0	0,0	0,0

Ghi chú: Kháng: ≤ 9 mm; Trung bình: ≥ 10 - 13 mm; Nhạy: ≥ 14 mm (Lorian, 1995).



Hình 1. Vòng kháng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* của chất chiết lá mai dương từ phương pháp methanol (A); phương pháp ethanol (B); phương pháp đun sôi trong nước (C)

Kết quả này tương tự như nghiên cứu của Abirami *et al.* (2014) các chất chiết của lá mai dương từ các dung môi khác nhau như dầu hoả, ethylacetate, acetone và cả phương pháp đun sôi cũng có khả năng kháng một số vi khuẩn trên người như: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Lactobacillus*, *Salmonella typhi* và *Staphylococcus aureus*. Trong các dung môi thử nghiệm thì chất chiết lá mai dương từ dung môi acetone có tác dụng ức chế tối đa *Staphylococcus aureus*. Một nghiên cứu khác của Nguyễn Kim Phi Phụng (2007) đã khẳng định dung môi chiết xuất khác nhau thì chất chiết thu được sẽ cho hoạt tính sinh học khác nhau, nghĩa là dung môi chiết xuất sẽ ảnh hưởng đến thành phần các hợp chất hóa học cô lập và theo đó ảnh hưởng đến các hoạt tính sinh học của chất chiết. Trong nghiên cứu này, chất chiết sử dụng dung môi methanol và ethanol cho ra kết quả kháng khuẩn cao hơn so với phương pháp đun sôi ở 150°C. Kết quả của nghiên cứu này hoàn toàn phù hợp với các nghiên cứu trước đây. Methanol có độ phân cực cao hơn ethanol, và theo kết quả nghiên cứu, phương pháp chiết tách bằng methanol có đường kính vòng kháng khuẩn lớn hơn so với phương pháp chiết tách bằng ethanol.

3.1.2. Nồng độ ức chế tối thiểu và diệt khuẩn tối thiểu của chất chiết lá mai dương

Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của chất chiết lá mai dương sử dụng dung môi methanol là 0,02 mg/mL. Giá trị này của chất chiết sử dụng dung môi ethanol là 0,04 mg/mL (Bảng 2). Kết quả này có nghĩa là chất chiết lá mai dương sử dụng dung môi methanol có khả năng ức chế vi khuẩn *V. parahaemolyticus* cao hơn so với chất chiết sử dụng dung môi ethanol. Theo đó kết quả này tương đồng với kết quả xác định đường kính vòng kháng khuẩn được mô tả nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của chất chiết lá mai dương sử dụng dung môi methanol và ethanol cũng có sự khác biệt đáng kể, tương ứng là 0,04 và 0,24 mg/mL, tương ứng. Theo Canillac và Mourey (2001) khi tỷ lệ MBC/MIC của một chất chiết nhỏ hơn hoặc bằng 4 thì chất chiết đó có khả năng diệt khuẩn. Tỷ lệ MBC/MIC của chất chiết sử dụng dung môi methanol là 2. Trong khi đó phương pháp ethanol có tỷ lệ MBC/MIC lớn hơn 4 (Bảng 2). Từ kết quả trên có thể kết luận rằng dịch chiết lá mai dương sử dụng dung môi methanol có khả năng diệt khuẩn.

Bảng 2. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC), nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của chất chiết lá mai dương sử dụng 2 loại dung môi khác nhau

Dung môi	MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)	MBC/MIC
Methanol	0,02	0,04	2
Ethanol	0,04	0,24	>4

3.2. Tác động của chất chiết lá mai dương lên sự tăng trưởng và tỷ lệ sống của tôm thẻ chân trắng

3.2.1. Các chỉ tiêu môi trường

Việc bổ sung chất chiết vào thức ăn không có tác động tiêu cực tới các thông số môi trường. Kết quả thí nghiệm cho thấy NH₃ trong suốt quá trình thí nghiệm dao động từ 0,0 đến 0,13 mg/L; NO₂ từ 0 đến 4 mg/L, nhiệt độ 27 - 28°C, độ kiềm 110 - 120 mg CaCO₃/L và pH 8,0 - 8,5 (Bảng 3). Tóm lại, các yếu tố môi trường được quản lý tốt và không gây ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển bình thường trên tôm trong suốt thời gian thí nghiệm.

Bảng 3. Giá trị của các thông số môi trường nước

Nghiệm thức	Các yếu tố môi trường				
	NH ₃ (mg/L)	NO ₂ (mg/L)	Nhiệt độ (t°)	Độ kiềm mg CaCO ₃ /L	pH
Đối chứng	0,0 - 0,13	0,0 - 3,5	27,0 - 28,0	110 - 120	8,0 - 8,5
Mai dương 1,0%	0,0 - 0,13	0,0 - 3,5	27,0 - 28,0	110 - 120	8,0 - 8,5
Mai dương 1,5%	0,0 - 0,13	0,0 - 3,5	27,0 - 28,0	110 - 120	8,0 - 8,5
Mai dương 2,0%	0,0 - 0,13	0,0 - 4,0	27,0 - 28,0	110 - 120	8,0 - 8,5

3.2.2. Tốc độ tăng trưởng của tôm thí nghiệm

- Kết quả thí nghiệm cho thấy tốc độ tăng trưởng theo chiều dài của tôm tăng dần qua các đợt thu mẫu và khác biệt không có ý nghĩa thống kê với nhau trong 10 ngày bố trí thí nghiệm. Đến ngày thu mẫu thứ 20 thì có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức (Bảng 4). Tốc độ tăng trưởng về chiều dài thấp nhất là ở nghiệm thức đối chứng (12,03 mm), khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức bổ sung dịch chiết lá mai dương 1% (13,12 mm) và 1,5% (12,66 mm) nhưng lại khác

biệt không có ý nghĩa thống kê đối với nghiệm thức bổ sung dịch chiết lá mai dương 2% (12,52 mm). Đến ngày thu mẫu thứ 30, tốc độ tăng trưởng theo chiều dài của nghiệm thức đối chứng cũng thấp nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức bổ sung dịch chiết mai dương. Cụ thể ở nghiệm thức đối chứng chỉ 12,45 mm, trong khi các nghiệm thức bổ sung dịch chiết lá mai dương 1%, lá mai dương 1,5% và lá mai dương 2% tương ứng là: 13,89 mm; 13,77 mm và 13,66 mm. Tóm lại, việc bổ sung dịch chiết mai dương làm tăng tốc độ tăng trưởng theo chiều dài của tôm thí nghiệm.

Bảng 4. Tốc độ tăng trọng theo chiều dài của tôm

Chỉ tiêu đánh giá	Nghiệm thức	Ngày 0	Ngày 10	Ngày 20	Ngày 30
Chiều dài tôm (mm)	ĐC	11,61 ^a ± 0,23	11,66 ^a ± 0,006	12,03 ^c ± 0,09	12,45 ^b ± 0,16
	Mai dương 1%	11,42 ^a ± 0,32	11,71 ^a ± 0,55	13,12 ^a ± 0,39	13,89 ^a ± 0,19
	Mai dương 1,5%	11,53 ^a ± 0,12	11,75 ^a ± 0,06	12,66 ^b ± 0,11	13,77 ^a ± 0,31
	Mai dương 2%	11,43 ^a ± 0,14	11,73 ^a ± 0,37	12,52 ^{bc} ± 0,11	13,66 ^a ± 0,43
SGR (g/ngày)	ĐC		0,45 ^a ± 0,35	0,11 ^b ± 0,97	0,310 ^a ± 0,31
	Mai dương 1%		0,61 ^a ± 0,64	0,82 ^a ± 0,24	0,970 ^a ± 0,53
	Mai dương 1,5%		0,44 ^a ± 0,06	0,84 ^a ± 0,27	1,030 ^a ± 0,28
	Mai dương 2%		0,44 ^a ± 0,24	0,55 ^{ab} ± 0,27	1,010 ^a ± 0,64
DWG (%/day)	ĐC		0,053 ^a ± 0,04	0,013 ^b ± 0,01	0,039 ^a ± 0,04
	Mai dương 1%		0,083 ^a ± 0,08	0,099 ^a ± 0,03	0,129 ^a ± 0,07
	Mai dương 1,5%		0,068 ^a ± 0,01	0,077 ^a ± 0,03	0,128 ^a ± 0,04
	Mai dương 2%		0,062 ^a ± 0,03	0,076 ^a ± 0,04	0,117 ^a ± 0,09

Tốc độ tăng trưởng đặc biệt theo chiều dài (SGRL mm/ngày) và tốc độ tăng trưởng tương đối (DLG%/ngày) cũng cùng xu thế, có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ở ngày thu mẫu thứ 20, các ngày thu mẫu còn lại thì không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức. Cụ thể như sau: Ở ngày thu mẫu thứ 20, tốc độ tăng trưởng đặc biệt (SGRL) và tốc độ tăng trưởng tương đối (DLG%/ngày) cũng thấp nhất ở nghiệm thức đối chứng tương ứng là (0,11 mm/ngày; 0,013%/ngày) và khác biệt có ý nghĩa thống kê với các nghiệm thức còn lại, chỉ riêng ở nghiệm thức bổ sung dịch chiết lá mai dương 2%, tốc độ tăng trưởng đặc biệt khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa nghiệm thức đối chứng và các nghiệm thức còn lại. Tóm lại, việc bổ sung dịch chiết lá mai dương 1% và 1,5% cải thiện

tốc độ tăng trưởng tương đối và tuyệt đối theo chiều dài của tôm thí nghiệm.

- Đối với tốc độ tăng trưởng theo trọng lượng cho thấy, trọng lượng của tôm cũng tăng dần qua các đợt thu mẫu. Các nghiệm thức khác biệt không có ý nghĩa thống kê với nhau trong 20 ngày bố trí thí nghiệm. Đến ngày thu mẫu thứ 30 mới bắt đầu xuất hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức. Trọng lượng tôm đạt cao nhất là nghiệm thức bổ sung dịch chiết lá mai dương 1% (21,87 g/con), kế đến là nghiệm thức bổ sung dịch chiết lá mai dương 1,5% (21,72 g/con) và lá mai dương 2% (20,85 g/con) và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng (17,93 g/con). Tóm lại, việc bổ sung dịch chiết lá mai dương ở nồng độ 1%, 1,5% và 2% đều cải thiện tốc độ tăng trưởng của tôm sau 30 ngày bố trí thí nghiệm (Bảng 5).

Bảng 5. Tốc độ tăng trọng theo trọng lượng tôm

Chỉ tiêu đánh giá	NT	Ngày 0	Ngày 10	Ngày 20	Ngày 30
Trọng lượng của tôm (g)	ĐC	10,54 ^a ± 0,39	11,46 ^a ± 0,27	14,74 ^a ± 0,60	17,93 ^b ± 0,78
	MD 1%	10,12 ^a ± 0,26	11,91 ^a ± 0,6	16,46 ^a ± 0,34	21,87 ^a ± 0,38
	MD 1,5%	10,41 ^a ± 0,28	11,49 ^a ± 0,6	15,64 ^a ± 2,21	21,72 ^a ± 2,45
	MD 2%	10,32 ^a ± 0,22	11,29 ^a ± 0,9	14,84 ^a ± 0,77	20,85 ^a ± 0,97
SGRW (g/ngày)	ĐC		0,97 ^a ± 0,44	2,099 ^a ± 1,75	1,59 ^b ± 1,096
	MD 1%		1,65 ^a ± 0,58	2,48 ^a ± 1,29	3,95 ^{ab} ± 1,17
	MD 1,5%		1,68 ^a ± 0,09	2,31 ^a ± 1,09	4,54 ^a ± 1,17
	MD 2%		1,09 ^a ± 0,58	2,67 ^a ± 0,79	3,68 ^{ab} ± 0,52
DWG (%/ngày)	ĐC		0,087 ^c ± 0,05	0,29 ^a ± 0,24	0,27 ^b ± 0,32
	MD 1%		0,253 ^a ± 0,06	0,52 ^a ± 0,19	0,77 ^a ± 0,21
	MD 1,5%		0,19 ^{ab} ± 0,01	0,34 ^a ± 0,165	0,88 ^a ± 0,299
	MD 2%		0,123 ^b ± 0,07	0,38 ^a ± 0,103	0,7 ^{ab} ± 0,09

Tốc độ tăng trưởng đặc biệt (SGR) của tôm khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ở ngày thu mẫu thứ 10 và ngày thu mẫu thứ 20, đến ngày thu mẫu thứ 30 có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức. Thấp nhất là ở nghiệm thức đối chứng 1,59 g/ngày và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức bổ sung 1,5% dịch chiết mai dương nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại. Đối với tốc độ tăng trưởng tương đối (DWG) của tôm có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức cụ thể ở ngày thu mẫu thứ 10 và ngày

thứ 30 (Bảng 5). Ở ngày thu mẫu thứ 10, tốc độ tăng trưởng tương đối thấp, nhất là ở nghiệm thức đối chứng 0,087 g/ngày khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức bổ sung chất chiết lá mai dương. Ở ngày thu mẫu thứ 30, tốc độ tăng trưởng tương đối của tôm cũng thấp nhất ở nghiệm thức đối chứng (0,27%/ngày) và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức bổ sung dịch chiết mai dương 1% (0,77%/ngày) và 1,5% (0,88%/ngày) nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức bổ sung dịch chiết lá mai dương 2% (0,7%/ngày). Tóm lại, việc bổ sung dịch chiết lá mai

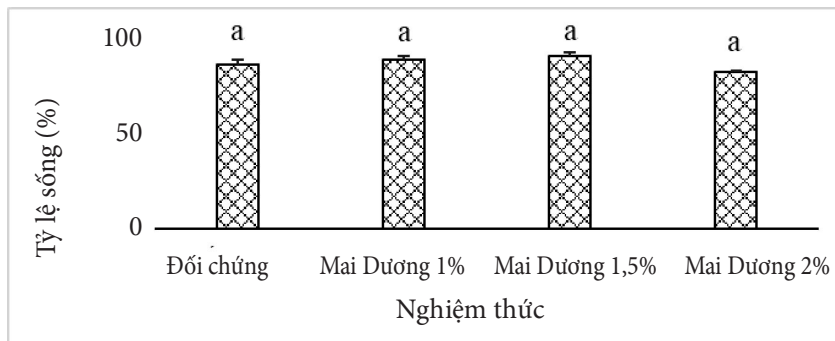
dương đã làm tăng tốc độ tăng trưởng đặc biệt và tốc độ tăng trưởng tương đối của tôm thí nghiệm.

Một số chất chiết xuất từ thực vật đã được báo cáo là có khả năng làm tăng tốc độ tăng trưởng, khả năng tiêu hóa và khả năng cung cấp chất dinh dưỡng ở tôm (Ghosh *et al.*, 2021; Reverter *et al.*, 2021). Bổ sung chiết xuất *Zingiber officinale* (0,2 mg và 2 mg/g thức ăn) giúp tôm thẻ chân trắng tốc độ tăng trưởng cụ thể cao hơn (SGR), tốc độ tăng trưởng trung bình hàng ngày (ADG), thể trọng cuối cùng (FBW) và phần trăm tăng trọng (WG) (Soowannayan *et al.*, 2019). Chiết xuất lá chùm ngây (*Moringa oleifera*) với nồng độ 0,5% giúp *Macrobrachium rosenbergii* cải thiện tốc độ tăng trưởng (WG, FW và SGR), đồng thời làm giảm hệ số chuyển đổi thức ăn (FCR) và tăng protein tỷ lệ hiệu quả (PER) trong thời gian nuôi 60 ngày (Kaleo *et al.*, 2019). Tương tự như các loại thảo dược nêu trên, kết quả nghiên cứu này cho thấy việc bổ sung dịch chiết lá mai dương làm tăng tốc độ tăng trưởng của tôm về chiều dài và trọng lượng. Tác động tích cực của chế độ ăn có bổ sung dịch chiết mai dương lên tăng trưởng của tôm thẻ chân trắng cũng được thể hiện. Ghosh *et al.* (2021) tổng hợp các kết quả nghiên cứu và xác

định một số chất chiết từ thực vật (thảo dược) có khả năng làm tăng tốc độ tăng trưởng, tăng cường tiêu hóa và hấp thu chất dinh dưỡng, điều này dẫn đến cải thiện chỉ số chuyển đổi thức ăn (FCR) ở tôm. Radhakrishnan *et al.* (2014) cho rằng thảo dược có thể kích thích tăng trưởng, vì chúng giúp tăng cường các enzyme tiêu hóa (protease, amylase và lipase). Như vậy trong thí nghiệm này, các chất chiết bổ sung với liều lượng 1% và 1,5% có gia tăng chỉ số tăng trưởng về trọng lượng và sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng.

3.2.3. Tỷ lệ sống

Kết quả thí nghiệm cho thấy tỷ lệ sống của tôm qua 30 ngày thí nghiệm ở các nghiệm thức đều đạt từ 82,44 đến 90,56%. Các nghiệm thức này đều cho tỷ lệ sống khá cao và không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức. Nghiệm thức đạt tỷ lệ sống cao nhất là nghiệm thức bổ sung dịch chiết mai dương 1,5% (90,56%), kế đến là nghiệm thức bổ sung dịch chiết lá mai dương 1% (88,67%) và thấp nhất là nghiệm thức bổ sung dịch chiết lá mai dương 2% (82,44%) (Hình 2). Tóm lại, việc bổ sung dịch chiết lá mai dương vào thức ăn không ảnh hưởng đến tỷ lệ sống bình thường của tôm thẻ thí nghiệm.



Hình 2. Tỷ lệ sống của tôm thí nghiệm

Một số nghiên cứu đã báo cáo rằng chiết xuất thảo dược làm tăng khả năng đề kháng và tỷ lệ sống của tôm khi bị nhiễm *Vibrio* spp. Cụ thể, tôm thẻ chân trắng được cho ăn thức ăn có chứa chiết xuất methanol *Punica granatum* có tỷ lệ chết thấp (44,5% ở nhóm bổ sung 2% chiết xuất) so với nhóm đối chứng (71,1%) khi những con tôm này cảm nhiễm với *V. parahaemolyticus* (Trần Thị Tuyết Hoa và cs., 2021). Tương tự, chiết xuất methanol của một số thảo dược như *Acalypha indica*, *Cynodon dactylon*, *Picrorrhiza kurroa*, *Withania somnifera* và *Zosmarinus officinalis* kết hợp bổ sung trong

chế độ ăn của tôm trong 60 ngày, có khả năng kích thích miễn dịch và bảo vệ tôm khỏi bệnh đốm trắng (Yogeeswaran *et al.*, 2012).

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Chất chiết mai dương với dung môi methanol có hoạt tính kháng khuẩn cao (đường kính vòng vô khuẩn trung bình là 25,1 mm). Chất chiết này có khả năng ức chế và tiêu diệt vi khuẩn *V. parahaemolyticus* (MIC: 0,02 mg/mL, MBC: 0,04 mg/mL).

Khi bổ sung 1%, 1,5% chất chiết lá mai dương vào thức ăn, tôm thẻ chân trắng có sự tăng trưởng về chiều dài và trọng lượng nhiều hơn so với tôm không được bổ sung sau 10 ngày cho ăn liên tục. Đồng thời, việc bổ sung dịch chiết mai dương không ảnh hưởng tiêu cực đến tỷ lệ sống của tôm thí nghiệm.

4.2. Đề nghị

Nghiên cứu tác động của chất chiết lá cây mai dương lên tôm nuôi trong điều kiện môi trường bất lợi (stress, tấn công của mầm bệnh,...) và với thời gian thí nghiệm lâu hơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nguyễn Chí Cường, Đào Thị Hồng Xuyên, và Trần Thị Thu Thủy**, 2015. Sử dụng thuốc trừ cỏ hóa học trong phòng trừ cây Mai dương tại thành phố Cần Thơ. *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, (38), 82-87. Ngày truy cập 26/5/2023. Địa chỉ: <https://ctujsvn.ctu.edu.vn/index.php/ctujsvn/article/view/1557>.
- Nguyễn Kim Phi Phụng**, 2007. *Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ*. Nhà xuất bản Đại học Quốc Gia Thành phố Hồ Chí Minh, 528 trang.
- Trần Thị Tuyết Hoa, Lê Quốc Việt, Trần Thị Mỹ Duyên, Trần Nguyễn Duy Khoa, Trần Ngọc Hải và Ahn Hyeong Chul**, 2020. Ảnh hưởng của chế độ cho ăn kháng thể lòng đỏ trứng gà lên đáp ứng miễn dịch và khả năng đề kháng bệnh của tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vannamei*). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 56 (5B): 193-200.
- Abirami, S.G., Mani, K.S., Devi, M.N., & Devi, P.N.**, 2014. The antimicrobial activity of *Mimosa pudica* L. *International Journal of Ayurveda and Pharma Research*, 2 (1): 105-108.
- Bindhu, F., Velmurugan, S., Donio, M.B.S., Michaelbabu, M., Citarasu, T.**, 2014. Influence of *Agathi grandiflora* active principles inhibit viral multiplication and stimulate immune system in Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus* against white spot syndrome virus infection. *Fish and Shellfish Immunology*, 41: 482-492.
- Bulfon, C., Volpatti, D., & Galeotti, M.**, 2015. Current research on the use of plant-derived products in farmed fish. *Aquaculture Research*, 46: 513-551.
- Canillac, N., and Mourey A.**, 2001. Antibacterial activity of the essential oil of *Picea excelsa* on *Listeria*, *Staphylococcus aureus* and coliform bacteria. *Food Microbiology*, 18 (3): 261-268.
- Citarasu, T.**, 2010. Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry. *Aquaculture International*, 18 (3): 403-414.
- Dangtip, S, Sirikharin, R., Sanguanrut, P., Thitamadee., S, Sritunyalucksana., K, Taengchaiyaphum., S, Mavichak., R, Proespraiwong., P, Flegel., T**, 2015. AP4 method for two-tube nested PCR detection of AHPND isolates of *Vibrio parahaemolyticus*. *Aquaculture Reports*: 158-162.
- Gandhiraja, N., Sriram, S., Meena, V., Srilakshmi, J. K., Sasikumar, C., & Rajeswari, R.**, 2009. Phytochemical screening and antimicrobial activity of the plant extracts of *Mimosa pudica* L. against selected microbes. *Ethnobotanical Leaflets*, (5): 8.
- Ghosh, A. K., Panda, S. K., & Luyten, W.**, 2021. Anti-vibrio and immune-enhancing activity of medicinal plants in shrimp: A comprehensive review. *Fish and Shellfish Immunology*, 117: 192-210.
- Harikrishnan, R., Balasundaram, C., & Heo, M.S.**, 2011. Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. *Aquaculture*, 317 (1-4): 1-15.
- Kaleo, I.V., Gao, Q., Liu, B., Sun, C., Zhou, Q., Zhang, H, Shan F, Xiong Z, Bo L, Song, C.**, 2019. Effects of *Moringa oleifera* leaf extract on growth performance, physiological and immune response, and related immune gene expression of *Macrobrachium rosenbergii* with *Vibrio anguillarum* and ammonia stress. *Fish & Shellfish Immunology*, 89: 603-613.
- Kongchum, P.; Suphavadee Chimtong, Nantana Chareansak, Papimon Subprasert**, 2016. Effect of Green Tea Extract on *Vibrio Parahaemolyticus* Inhibition in Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Postlarvae. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 11: 117-124. DOI:10.1016/j.aaspro.2016.12.020.
- Lorian, V**, 1995. *Antibiotics in laboratory medicine*. In: Acar, J.F. & Goldstein, F.W. (Eds.). Disk susceptibility test, Fourth Edition. London: Williams & Walkins Awaverly, p.1.
- Mahesh, B. and Satish S.**, 2008. Antimicrobial activity of some important medicinal plants against plant and human pathogens. *World Journal of Agricultural Sciences*, 4: 839 - 843.
- Najiah, K.L. Lee, H. Noorasikin, M. Nadirah, S.W. Lee**, 2011. Phenotypic and genotypic characteristics of Mycobacterium isolates from fighting fish *Betta* spp. in Malaysia. *Research in Veterinary Science*, 91: 342-345.
- Nguyen Thi Truc Linh, Trinh Ngoc Ai, Tran Thi Hong To, Nguyen Thanh Tuu, Huynh Kim Huong, Pham Kim Long, Huynh Trung Giang, Truong Quoc Phu and Nguyen Thi Ngoc Tinh**, 2019. Selection of lactic acid bacteria (LAB) antagonizing *Vibrio parahaemolyticus*: The pathogen of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in

- Whiteleg Shrimp (*Penaeus vannamei*). *Biology*, 8: 91; doi:10.3390/biology8040091.
- OIE (World Organization for Animal Health), 2009. *Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals*. World Organization for Animal Health, Paris.
- OIE - Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals, 2019. *Acute hepatopancreatic necrosis disease*, 12 pp. https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/aahm/current/chapitre_ahpnd.pdf.
- Oometta-aree, J., Suzuki, T., Gasaluck, P., & Eumkeb, G., 2006. Antimicrobial and action of galangal (*Alpinia galanga* Linn.) on *Staphylococcus aureus*. *Food Science and Technology*, 39: 59-965.
- Radhakrishnan, S., Saravana Bhavan, P., Seenivasan, C., Shanthi, R., & Poongodi, R., 2014. Influence of medicinal herbs (*Alteranthera sessilis*, *Eclipta alba* and *Cissus quadrangularis*) on growth and biochemical parameters of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture International*, 22 (2): 551-572.
- Reverter, M., Tapissier-Bontemps, N., Sarter, S., Sasal, P., & Caruso, D., 2021. Moving towards more sustainable aquaculture practices: a meta-analysis on the potential of plant-enriched diets to improve fish growth, immunity and disease resistance. *Reviews in Aquaculture*, 13 (1): 537-555.
- Sirikharin R., Taengchaiyaphum S., Sanguanrut P., Chi T.D., Mavichak R., Proespraiwong P., Nuangsaeng B., Thitamadee S., Flegel T.W., Sritunyalucksana K., 2015. Characterization and PCR Detection Of Binary, Pir-Like Toxins from *Vibrio parahaemolyticus* Isolates that Cause Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND) in Shrimp. *PLoS One*. 2015 May 27; 10 (5): e0126987. doi: 10.1371/journal.pone.0126987. PMID: 26017673; PMCID: PMC4446338.
- Soowannayan, S., Boonmee, S., Puckcharoen, S., Anatamsombat, T., Yatip, P.W-K, Ng, Thitamadee, S., Tuchinda, P., Munyoo, P., Chabang, N., Nuangsaeng, B., Molruedee S., Withyachumnarnkul, B., 2019. Ginger and its component shogaol inhibit *Vibrio biofilm* formation *in vitro* and orally protect shrimp against acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). *Aquaculture*, 504: 139-147.
- Syahidah, A., Saad, C.R., Daud, H.M., & Abdelhadi, Y.M., 2015. Status and potential of herbal applications in aquaculture: A review.
- 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. *Diseases of Aquatic Organisms*, 105: 45-55.
- Yogeswaran, A., Velmurugan, S., Punitha, S.M.J., Babu, M.M., Selvaraj, T., Kumaran, T., & Citarasu, T., 2012. Protection of *Penaeus monodon* against white spot syndrome virus by inactivated vaccine with herbal immunostimulants. *Fish & Shellfish Immunology*, 32 (6): 1058-1067.

Effect of *Mimosa pigra* extracts on growth and survival rate and against *Vibrio parahaemolyticus* causing acute hepatopancreatic necrosis disease on whiteleg shrimp

Nguyen Thi Truc Linh, Le Hong Nhut

Abstract

This study was carried out to determine the effect of *Mimosa pigra* leaf extracts on *Vibrio parahaemolyticus*, and at the same time to evaluate the growth and survival rate of whiteleg shrimps fed with dosages of 1%, 1.5% and 2% *M. pigra* leaf extracts. The results showed that the leaf extract of *M. pigra* was more active against *V. parahaemolyticus* causing acute hepatopancreatic necrosis disease in shrimp than the extracts using ethanol and water as solvents. The average of inhibition zones under the methanol, ethanol and water solvents were 25.1 mm, 23.9 mm, 10.9 mm, respectively. The MIC and MBC of the extract via methanol against *V. parahaemolyticus* were 0.02, 0.04 mg/mL, respectively. In the treatments supplemented with *Mimosa pigra* leaf extract, the survival rate was not statistically significant compared with the control treatment. The addition of *Mimosa pigra* leaf extract at concentrations of 1% and 1.5% stimulated the growth of whiteleg shrimp after 20 days of experiment. The results showed that *Mimosa pigra* leaf extract has great potential in commercial shrimp farming.

Keywords: Whiteleg shrimp, acute hepatopancreatic necrosis disease, *Mimosa pigra* leaf extract, *Vibrio parahaemolyticus*

Ngày nhận bài: 29/4/2023
Ngày phản biện: 13/5/2023

Người phản biện: TS. Lê Hồng Phước
Ngày duyệt đăng: 28/6/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA CAO CHIẾT VỎ QUẾ LÊN MỘT SỐ CHỈ TIÊU MIỄN DỊCH VÀ HÌNH THÁI RUỘT CÁ RÔ PHI CẢM NHIỄM VỚI VI KHUẨN *Streptococcus agalactiae*

Nguyễn Thị Trúc Quyên^{1,2*}, Đoàn Văn Cường³, Mã Tú Lan³,
Tùng Thanh Dung⁴, Nguyễn Thị Ngọc Tĩnh³

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm đánh giá ảnh hưởng của cao chiết vỏ quế bổ sung vào thức ăn lên các chỉ tiêu miễn dịch và ruột của cá rô phi (*Oreochromis spp.*) khi được cảm nhiễm với vi khuẩn *Streptococcus agalactiae* gây bệnh xuất huyết, lồi mắt. Cao chiết vỏ quế được bổ sung vào thức ăn với các tỷ lệ 10; 20 và 40 g/kg thức ăn. Cá rô phi giống khỏe $3,8 \pm 0,1$ g/con được gây cảm nhiễm bằng phương pháp tiêm xoang bụng với liều 0,1 mL vi khuẩn *S. agalactiae* có nồng độ $1,8 \times 10^4$ CFU/mL. Kết quả cho thấy, sau 14 ngày theo dõi, tỷ lệ chết tích lũy ghi nhận được ở nghiệm thức tiếp tục bổ sung cao chiết vỏ quế với hàm lượng 20 g/kg thức ăn sau khi cảm nhiễm vi khuẩn là thấp nhất (37,8). Việc bổ sung cao chiết vỏ quế ở hàm lượng 20 và 40 g/kg vào thức ăn trong 28 ngày giúp hỗ trợ nâng cao một số chỉ tiêu miễn dịch và tăng cường khả năng kháng bệnh do vi khuẩn *S. agalactiae* gây ra, đồng thời không làm ảnh hưởng đến hình thái mô học ruột của cá. Cao chiết vỏ quế là loại cao chiết thảo dược tiềm năng có thể sử dụng để nâng cao sức khỏe miễn dịch do *S. agalactiae* gây ra trên cá thí nghiệm.

Từ khóa: Cá rô phi (*Oreochromis spp.*), cao chiết vỏ quế, *Streptococcus agalactiae*, miễn dịch, hình thái ruột

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá rô phi (*Oreochromis spp.*) là đối tượng nuôi phổ biến ở Việt Nam và được xác định là sản phẩm chủ lực sau tôm nước mặn, lợ và cá tra với mục tiêu đến năm 2030 diện tích nuôi trên cả nước đạt 40.000 ha và 1,8 triệu m³ lồng nuôi trên hệ thống sông và hồ chứa lớn; sản lượng đạt 400.000 tấn (Bộ Nông nghiệp và PTNT, 2016). Cá rô phi có nhiều ưu điểm như dễ nuôi, tốc độ tăng trưởng nhanh, thời gian nuôi ngắn, sống được ở nhiều môi trường. Vi khuẩn *Streptococcus agalactiae* là tác nhân gây ra bệnh xuất huyết, lồi mắt trên cá rô phi, gây thiệt hại kinh tế rất nghiêm trọng cho người nuôi (Lingam *et al.*, 2021), gây tỷ lệ tử vong cao và kéo dài (Yang & Li, 2009). Hiện nay, nhiều công trình nghiên cứu sử dụng thảo dược có nguồn gốc từ thiên nhiên để kiểm soát dịch bệnh trong thủy sản, đặc biệt là vi khuẩn *S. agalactiae* trên cá rô phi đã được công bố. Việc bổ sung 0,5% tỏi vào khẩu phần ăn cho cá rô phi lai trong 4 tuần có tác dụng nâng cao miễn dịch của cá thí nghiệm (Ndong *et al.*, 2007). Cá rô phi vẫn ăn thức ăn có bổ sung 1% kim ngân, 1% nấm linh chi và hỗn hợp chứa 0,5% mỗi loại trong vòng ba tuần cho thấy giúp cải thiện tình trạng miễn

dịch và khả năng kháng khi tiếp xúc với vi khuẩn *Aeromonas hydrophila* (Yin *et al.*, 2008); chiết xuất từ lá ổi giúp làm tăng kích thích miễn dịch đối với vi khuẩn *A. hydrophila* và giúp cải thiện tăng trưởng (Pachanawan *et al.*, 2008); tinh dầu của hương nhu trắng (*Ocimum gratissimum*) và gừng (*Zingiber officinale*) giúp cải thiện phản ứng miễn dịch chống lại *S. agalactiae* (Brum *et al.*, 2017). Vỏ thân quế (*Cinnamomum verum*) chứa hoạt chất chính là cinnamic aldehyde, có hoạt tính kháng khuẩn và điều hòa chức năng miễn dịch (Faikoh *et al.*, 2014). Trong nghiên cứu trước đây, cao chiết vỏ quế chiết xuất với dung môi ethanol 96% đã được đánh giá khả năng kháng vi khuẩn *S. agalactiae* trên cá rô phi (Nguyễn Thị Trúc Quyên và *cs.*, 2019). Nghiên cứu này nhằm khảo sát ảnh hưởng của việc bổ sung cao chiết vỏ quế vào thức ăn lên một số chỉ tiêu miễn dịch và hình thái ruột của cá khi được cảm nhiễm với vi khuẩn *S. agalactiae*.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vỏ quế (phần thân) được cung cấp từ Viện Y học Dân tộc - Thành phố Hồ Chí Minh.

¹ Khoa Khoa học sinh học, Trường Đại học Nông Lâm Tp. HCM

² Sở Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn tỉnh Đồng Nai

³ Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II

⁴ Trường Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

* Tác giả liên hệ, email: nguyentrucquyen306@gmail.com