Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ
Số chuyên đề: Thủy sản
website: sj.ctu.edu.vn

DOI:10.22144/ctu.jsi.2018.048

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 (*Combretum quadrangulare*) TRONG ĐIỀU KIỆN *In vitro*

Triệu Thị Thanh Hằng*, Nguyễn Công Tráng, Cao Tuấn Đức và Lê Thị Thúy Vy

Khoa Nông nghiệp và Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Tiền Giang

Người chịu trách nhiệm về bài viết: Triệu Thị Thanh Hằng (email: hangtrieu96@gmail.com)

Thông tin chung:
Ngày nhận bài: 17/05/2018
Ngày nhận bài sửa: 05/07/2018
Ngày duyệt đăng: 30/07/2018

Title:
Study on the anti-bacterial activities of extracts from sakae naa (Combretum quadrangulare) on diseased aquatic animals-bacteria under in vitro conditions

Từ khóa:
Cây trâm bầu, Combretum quadragulare, kháng khuẩn, thảo dược

Keywords:
Anti-bacterial activities, fish disease, herbal medicine, sakae naa

ABSTRACT

The sakae naa (Combretum quadrangulare) which has long been regarded as a precious herb, can cure many diseases in human and aquatic animals. The extracts from its leaves and seeds using cold soaking in ethanol and heated extract method, were evaluated on anti-microbial activities in vitro against pathogenic bacteria such as Aeromonas hydrophyla, Edwardsiella ictaluri and Vibrio parahaemolyticus. The results showed that the three pathogens were inhibited by sakae naa extracts with the diameter of bacteria-free halos of 5.3 mm, 8.98 mm, and 6.25 mm, respectively. The extracts obtained by heated method showed higher anti-bacterial activity compared to those obtained by ethanol solvents. The MIC (minimum inhibitory concentration) of leaves and seeds extracts against E. ictaluri was similar (16 µL/mL). The MIC of the seed extracts against A. hydrophila (12 ± 2.5 µL/mL) was lower than that of leaf extracts (28.8 ± 3.2 µL/mL). In the case of V. parahaemolyticus, MIC of the seed extracts (14.4 ± 1.4 µL/mL) was also lower than that of leaf extracts (21.6 ± 6.4 µL/mL). The findings from this study would provide essential elements in planning strategies for future sustainability of aquaculture by using herbs replacing antibiotics in treatment for aquatic animal diseases.

TÓM TẮT

Cây trâm bầu (Combretum quadrangulare) từ lâu được xem là loại thảo dược quý, chữa nhiều bệnh trên người và động vật thủy sản. Nghiên cứu này đánh giá khả năng kháng của các chất chiết xuất từ hạt và lá của cây trâm bầu đối với một số loài vi khuẩn gây bệnh trên động vật thủy sản như: Aeromonas hydrophyla, Edwardsiella ictaluri và Vibrio parahaemolyticus. Thí nghiệm sử dụng dịch lá và hạt cây trâm bầu, trích theo hai phương pháp khác nhau (ngâm lạnh trong cồn và trích nước có gia nhiệt), để khảo sát tính kháng khuẩn bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch. Kết quả nghiên cứu xác định, dịch trâm bầu kháng vi khuẩn A. hydrophila; E. ictaluri và V. parahaemolyticus với đường kính vòng kháng khuẩn lần lượt là 5,3 mm, 8,98 mm và 6,25 mm. Dịch trâm bầu trích bằng nước kháng khuẩn tốt hơn dịch trâm bầu trích bằng cồn, dịch trích hạt trâm bầu kháng khuẩn tốt hơn dịch trích lá. Minimum inhibitory concentration (MIC) của dịch trích lá và hạt trâm bầu đối với E. ictaluri là như nhau (16 µL/mL). Với vi khuẩn A. hydrophila, MIC của dịch trích hạt (12 µL/mL) thấp hơn so với MIC của dịch trích lá (28,8 µL/mL). Với V. parahaemolyticus, MIC dịch trích hạt (14,4 µL/mL) cũng thấp hơn MIC dịch trích lá (21,6 µL/mL). Nghiên cứu này cung cấp thông tin có giá trị khoa học cho những nghiên cứu tiếp theo nhằm tìm ra các giải pháp ứng dụng cây trâm bầu vào phòng trị bệnh cho động vật thủy sản.

Trích dẫn: Triệu Thị Thanh Hằng, Nguyễn Công Tráng, Cao Tuấn Đức và Lê Thị Thúy Vy, 2018. 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 (*Combretum quadrangulare*) trong điều kiện *in vitro*. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 54(Số chuyên đề: Thủy sản)(2): 151-157.

1 GIỚI THIỆU

Việc sử dụng thuốc kháng sinh và các loại hóa chất để phòng trị bệnh cho động vật thủy sản hiện nay đang gặp phải một số thách thức lớn như hiện tượng đa kháng thuốc của các loài vi khuẩn gây bệnh, ô nhiễm môi trường và chứa đựng những yếu tố gây mất an toàn thực phẩm cho người tiêu thụ sản phẩm thủy sản (Kha, 2012). Nhằm góp phần giảm thiểu những thách thức và rủi ro đã nêu, dược liệu từ các loại từ cây cỏ thảo mộc như cây diệp hạ châu (*Phyllanthus niruri*), cây trâm bầu (*Combretum quadragulare*), cây sài đất (*Wedelia calendulacea*), cây cỏ mực (*Elipta alba*) và cây giác (*Cayratia trifolia*) là một trong 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 (Hoàng Ngân, 2016).

Hệ vi khuẩn gây bệnh trên động vật thủy sản hiện nay rất đa dạng, phức tạp với nhiều loài như: *Vibrio* sp., *Aeromonas* sp., *Pseudomonas* sp., *Edwardsiella* sp., *Streptococcus* sp. Trong đó, *Aeromonas hydrophila, Edwardsiella ictaluri* là hai loài vi khuẩn gây bệnh xuất huyết, lở loét cho hầu hết tất cả các loài động vật thủy sản, đặc biệt là cá da trơn (Từ Thanh Dung, 2012). Bên cạnh hai loài vi khuẩn này, vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* là một trong các tác nhân gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính trên tôm phổ biến hiện nay (Đặng Thị Hoàng Oanh và *ctv.*, 2015). Nhìn chung, khi động vật thủy sản bị bệnh, giải pháp đầu tiên người dân xử lý là sử dụng kháng sinh để điều trị (Vũ Đình Tôn và *ctv*., 2012). Tuy nhiên, hiện nay các loài vi khuẩn *A. hydrophila, E. ictaluri* và *V. parahaemolyticus* đã thể hiện tính kháng mạnh với hầu hết các loại kháng sinh (Từ Thanh Dung và *ctv.*, 2014).

Năm 1999, Banskota *et al.*, thuộc Viện Y học tự nhiên, Đại học Y Dược Toyama, Nhật Bản, đã tìm ra 15 loại hoạt chất từ lá trâm bầu là loại các loại triterpenes cycloartane. Năm 2000, Adnyana *et al*. tại Viện Y học tự nhiên, Đại học Y Dược Toyama, Nhật Bản, cũng nghiên cứu về thành phần hoạt chất từ hạt cây trâm bầu. Nghiên cứu này đã xác định được 6 loại glucosides triterpene mới từ hạt cây trâm bầu. Theo Nagatani *et al*. (2002) (trích Nguyễn Anh Hưng, 2011), chất acid 19-cyclo-24-en-β-hydroxy-4α-carboxylic có trong cây trâm bầu, có tính kháng mạnh đối với các chủng khuẩn như: *Alcaligennes faecalis, Bacillus cereus, Staphylococcus typhimurium* gây bệnh trên người và các động vật trên cạn. Tuy nhiên, hiện nay có rất ít công trình nghiên cứu sử dụng cây trâm bầu kháng vi khuẩn gây bệnh trên động vật thủy sản, mà chỉ dừng lại ở việc sử dụng dịch trích hạt cây trâm bầu để diệt các loài ký sinh trùng trên động vật thủy sản (Bùi Quang Tề, 2016). Vì vậy, nghiên cứu khả năng kháng khuẩn của cây trâm bầu đối với các loài vi khuẩn *A. hydrophila, E. ictaluri* và *V. parahaemolyticus* gây bệnh trên động vật thủy sản là một hướng nghiên cứu mới và cần thiết.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Vật liệu nghiên cứu

Lá và hạt cây trâm bầu được thu hái vào tháng 04/2017, tại xã Thân Cửu Nghĩa và xã Long An, huyện Châu Thành, tỉnh Tiền Giang. Lá trâm bầu được thu hái là các lá xanh, già, không sâu bệnh, nấm mốc hay vàng úa. Trái trâm bầu được thu hái là những trái già, nguyên vẹn, sau khi thu hái trái được tách lấy hạt để sử dụng.

Vi khuẩn *Aeromonas hydrophila, Edwardsiella ictaluri* và *Vibrio parahaemolyticus* được mua từ phòng thí nghiệm Bệnh học thủy sản, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh.

2.2 Phương pháp trích dịch trâm bầu

Lá trâm bầu sau khi hái rửa sạch, sấy ở 60^0C trong vòng 30 phút; trái thì tách lấy hạt. Phân loại và dùng cối xay hạt/lá của cây trâm bầu thành dạng bột thô.

Nghiên cứu trích dịch lá và hạt trâm bầu bằng 2 phương pháp: trích bằng nước có gia nhiệt và trích bằng cồn Ethanol.

Phương pháp trích bằng nước có gia nhiệt: 1 dịch trích từ lá và 1 dịch trích từ hạt.

Phương pháp trích bằng cồn (ethanol): 3 dịch trích trâm bầu từ lá (cồn 50^o, cồn 70^o và cồn 90^o), 3 dịch trích trâm bầu từ hạt (cồn 50^o, cồn 70^o và cồn 90^o).

2.2.1 Trích bằng nước

Phương pháp này được thực hiện theo Dodia *et al.* (1995). Lá trâm bầu sau khi hái rửa sạch, sấy ở 60^{o}C trong vòng 30 phút; trái thì tách lấy hạt. Phân loại và dùng cối xay hạt/lá của cây trâm bầu thành dạng bột thô. Trộn nguyên liệu trong nước cất vô trùng theo tỷ lệ khối lượng giữa bột nguyên liệu/nước cất là 1/5 g/mL (100g/500mL). Sau đó hấp cách thủy ở 98^{o}C trong 3 giờ. Sau khi hấp, để nguội, tiến hành lọc thô qua vải và sau đó lọc bằng giấy lọc để trích dịch và bảo quản dịch trích trong tủ lạnh ở 4^{o}C để sử dụng.

2.2.2 Trích theo phương pháp ngâm lạnh trong cồn Ethanol

Ngâm bột nguyên liệu trong cồn 50^0, 70^0 và 90^0 theo tỷ lệ khối lượng bột nguyên liệu/cồn là 1/5, ngâm trong 6 ngày. Sau khi ngâm, lọc hỗn hợp qua giấy lọc để thu phần dịch. Sau đó, phần dịch lọc

được cho vào máy cô quay chân không ở 78^0C, 1 atm để loại bỏ cồn, thu cao trích (gel), bảo quản cao trích trong tủ lạnh ở 4^0C để sử dụng.

2.3 Phương pháp khảo sát tính kháng khuẩn của các dịch chiết trâm bầu

Thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp của Schillinger and Luke (1989) và Sarkar *et al.* (1996) (phương pháp khuếch tán giếng thạch trên môi trường Mueller-Hinton Agar (MHA).

Nghiên cứu sử dụng chủng vi khuẩn có thời gian phát triển 18-24 giờ. Huyền phù vi khuẩn được chuẩn bị, so sánh với độ đục Mc Farland 0.5 và pha loãng 100 lần trước khi sử dụng. Sau đó, 1 mL dung dich huyền phù vi khuẩn được nhỏ lên đĩa thạch MHA và được chan đều mặt đĩa (phần huyền phù dư được loại bỏ), bằng que cấy trải cho đến khi bền mặt đĩa thạch vừa khô. Đĩa thạch MHA (sau khi đã được trang đều dung dịch vi khuẩn) được đục 6 giếng vị trí đều nhau với đường kính 7 mm/giếng.

Pha loãng dịch trích trâm bầu: đối với dịch trích lá/hạt trâm bầu bằng nước có gia nhiệt, không pha loãng dịch trích. Cao chiết lá/hạt trâm bầu trích bằng cồn (90^o, 70^o, 50^o), mỗi cao chiết được pha loãng với dung dịch cồn 20^o để đạt nồng độ 5.000 µg/mL. Mỗi dịch lá/hạt trâm bầu sau đó được nhỏ vào mỗi giếng thạch (0,15mL/giếng) sao cho mỗi đĩa thạch có 4 giếng được nhỏ với 4 loại dịch trích trâm bầu khác nhau và 2 giếng đối chứng âm (được nhỏ với 0,15mL dung dịch cồn 20^o và 0,15mL dung dịch nước muối sinh lý), thí nghiệm được lặp lại 5 lần. Các đĩa thạch này sau đó được ủ trong điều kiện 30^{o}C. Sau 24 giờ, đường kính vòng vô khuẩn ở mỗi giếng trên đĩa thạch được xác định.

Tiêu chuẩn đánh giá: theo Schillinger and Luke (1989) và Sarkar *et al.* (1996), để đánh giá khả năng kháng của dịch trích lá/hạt trâm bầu dựa vào đường kính vòng kháng khuẩn (X). Nếu X≥10 mm: tính kháng mạnh (+++); 5<X<10 mm: tính kháng trung bình (++); X≤5 mm: tính kháng yếu (+); X = 0 mm: không có tính kháng khuẩn.

2.4 Phương pháp xác định nồng độ ức chế tối thiểu

Kết quả khảo sát cho thấy dịch trích bằng nước của lá và hạt trâm bầu cho khả năng kháng mạnh đối với vi khuẩn *E. ictaluri, A. hydrophila* và *V. parahaemolyticus,* nên dịch trích bằng nước của lá và hạt trâm bầu được chọn để xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) theo tiêu chuẩn của (National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS) (2005), trích bởi Lưu Thị Thanh Trúc (2014).

Dịch trích bằng nước của lá, hạt trâm bầu được xem như là dung dịch gốc. Nghiên cứu sử dụng dung dịch gốc pha loãng thành các nồng độ khác nhau bằng nước cất vô trùng: 0,125; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8; 16; 32; 64; 128 µL/mL.

Các chủng vi khuẩn trong nghiên cứu có thời gian phát triển từ 18-24 giờ. Dung dịch huyền phù vi khuẩn được chuẩn bị như trên. Đánh dấu 12 ống nghiệm (1-12), cho môi trường BHI Broth vào các ống (1,98 mL/ống). Dịch trích trâm bầu ở các nồng độ pha loãng khác nhau được cho vào mỗi ống nghiệm 2 mL từ ống 1-11 (0.125 -128 µL/mL), ống 12 không cho dịch trích cây trâm bầu mà cho vào 2 mL nước muối sinh lý tương ứng. Cho 0,02 mL huyền phù vi khuẩn vào mỗi ống từ ống 1-12. Sau khi nhỏ xong, lắc đều ống nghiệm và đem ủ trong vòng 24 giờ với nhiệt độ 30^{o}C, sau đó đọc kết quả.

Đọc kết quả: ống số 12 sẽ đục do vi khuẩn phát triển và không có dịch trích trâm bầu, một loạt ống nghiệm đục hướng về ống số 12 và một loạt ống nghiệm trong hướng về ống số 1. Quan sát dãy ống nghiệm, tìm xem ống nào trong cuối cùng và ghi nhận kết quả nồng độ (µL/mL) của dịch trích trâm bầu tại ống đó.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Sự tương tác trong khả năng kháng khuẩn của dịch trích trâm bầu

Kết quả phân tích thống kê được thể hiện ở Bảng 1.

Bảng 1: Đường kính vòng kháng khuẩn của dịch trích trâm bầu ở các phương pháp trích khác nhau và dịch trích từ các bộ phận (lá/hạt) trâm bầu

Phương pháp trích dịch	Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)	
	Dịch lá	Dịch hạt
Trích bằng nước	13,5±0,82^a	15,9±0,82^a
Trích bằng cồn	5,1±0,27^b	7,1±0,29^b
Mức ý nghĩa (sig.) của phương pháp*bộ phận: p = 0.766		

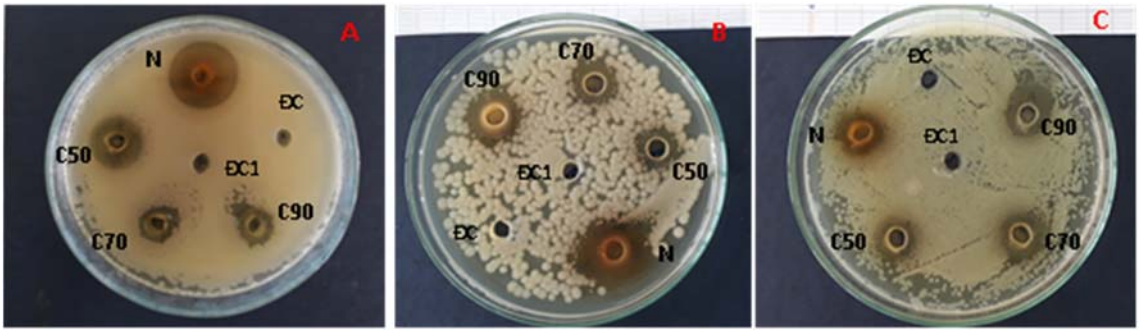
Ghi chú: Các giá trị trong bảng là trung bình và sai số chuẩn. Các giá trị trong cùng một cột có chứa các ký tự chữ khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,05)

Kết quả Bảng 1 cho thấy, xét riêng từng bộ phận (lá hoặc hạt), phương pháp trích nước và cồn cho kết quả kháng khuẩn là khác biệt có ý nghĩa (p<0,05), trong đó trích nước cho hiệu quả kháng khuẩn cao hơn so với phương pháp trích bằng cồn (Bảng 1). Tuy nhiên, khi khảo sát sự tương tác giữa phương pháp trích với các bộ phận của trâm bầu lên khả năng kháng các loài vi khuẩn, sự tương tác này lại không có ý nghĩa về mặt thống kê (p>0,05).

3.2 Khả năng kháng khuẩn của dịch trích cây trâm bầu đối

3.2.1 Khả năng kháng 3 loài vi khuẩn thí nghiệm của dịch trích trâm bầu

Kết quả khả năng kháng các loài vi khuẩn gây bệnh trên động vật thủy sản của dịch trích trâm bầu được thể hiện ở Bảng 2 và Hình 1.



Hình 1: Vòng kháng khuẩn của dịch trích từ hạt cây trâm bầu

(A): vi khuẩn E. ictaluri; (B): vi khuẩn V. parahaemolyticus; (C): vi khuẩn A. hydrophila; (ĐC): Đối chứng cồn 20°; (ĐC1): Đối chứng nước muối sinh lý; (N): Dịch trích từ nước; (C50): dịch trích từ cồn 50°; (C70): dịch trích từ cồn 70°; C90: dịch trích từ cồn 90°.

Bảng 2: Đường kính vòng kháng khuẩn (đã trừ đường kính giếng thạch) của dịch trích trâm bầu đối với 3 loài vi khuẩn gây bệnh

Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)	*A. hydrophila*	*V. parahaemolyticus*	*E. ictaluri*
	5,30 ± 0,42[b]	6,25 ± 0,14[b]	8,98 ± 0,24[a]

Ghi chú: Các giá trị trong bảng là trung bình và 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).

Kết quả từ Bảng 2 cho thấy, đường kính vòng kháng khuẩn của dịch trích cây trâm bầu đối với vi khuẩn *E. ictaluri* là lớn nhất 8,98 mm, kế đến là vi khuẩn *A. hydrophila* và sau cùng là *V. parahaemolyticus* với đường kính lần lượt là 5,3 mm và 6,25 mm. Khả năng kháng khuẩn của 3 loài vi khuẩn của dịch trích từ cây trâm bầu khác biệt có ý nghĩa (p<0,05), trong đó khả năng kháng khuẩn của dịch trích từ cây trâm bầu với loài vi khuẩn *E. ictaluri* là mạnh nhất và yếu nhất đối với loài *A. hydrophila.* So với tiêu chuẩn Schillinger and Luke (1989), dịch trích lá và hạt trâm bầu kháng 3 loài vi khuẩn thí nghiệm ở mức trung bình (++).

3.2.2 Khả năng kháng khuẩn của dịch trích trâm bầu ở các phương pháp trích khác nhau

Kết quả khả năng kháng các loài vi khuẩn thí nghiệm của dịch trâm bầu được trích bằng phương pháp trích nước và cồn (ở các nồng độ khác nhau) thể hiện quả Bảng 3.

Bảng 3: Khả năng kháng 3 loài vi khuẩn thí nghiệm của dịch cây trâm bầu được trích bằng các phương pháp khác nhau

Phương pháp trích (NT)	Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)		
	E. ictaluri	*A. hydrophila*	*V. parahaemolyticus*
Trích bằng nước	17,3 ± 0,1[b]	14,2 ± 0,9[b]	12,7 ± 0,9[b]
Trích bằng cồn 50°	7,8 ± 0,4[a]	5,2 ± 0,6[a]	5,9 ± 0,9[a]
Trích bằng cồn 70°	8,7 ± 0,3[a]	3,8 ± 0,1[a]	4,6 ± 0,2[a]
Trích bằng cồn 90°	7,7 ± 0,3[a]	4,2 ± 0,2[a]	6,1 ± 0,1[a]

Ghi chú: Các giá trị trong bảng là trung bình và độ lệch 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 3 cho thấy, phương pháp trích bằng nước cho khả năng kháng khuẩn tốt hơn so với phương pháp trích bằng cồn. Đối với vi khuẩn *E. ictaluri*, dịch trích trâm bầu bằng nước cho khả năng kháng mạnh (+++) với đường kính vòng kháng khuẩn là 17,3 mm, còn với dịch trích trâm bầu bằng cồn (50^0, 70^0, 90^0), khả năng kháng trung bình (++) (với đường kính kháng khuẩn lần lượt là 7,8 mm; 8,7 mm và 7,7 mm). Với vi khuẩn *A. hydrophila,* khả năng kháng của các dịch trích từ cồn (50^0, 70^0, 90^0) từ trung bình (++) đến yếu (+) (5,2 mm; 3,8 mm; 4,2

mm), trong khi đó, dịch trích bằng nước kháng mạnh (+++) với đường kính vòng kháng khuẩn là 14,2 mm. Dịch trích trâm bầu trích bằng nước kháng mạnh (+++) với vi khuẩn *V. parahaemolyticus* với đường kính vòng vô khuẩn là 12,7 mm, nhưng dịch trích trâm bầu trích bằng cồn (50^0, 70^0, 90^0) cho khả năng kháng trung bình (++) với đường kính vòng vô khuẩn lần lượt là 5,9 mm; 4,6 mm và 6,1 mm.

Theo nghiên cứu của Huỳnh Kim Diệu (2010), khảo sát tính kháng khuẩn của một số thảo mộc như: trầu không (*Piper betle*), rau mương (*Ludwigia octovalvis*), diệp hạ châu (*Phyllanthus urinaria*), cỏ mực (*Eclipta alba*) với phương pháp trích bằng cồn đối với 2 vi khuẩn *E. ictaluri* và *A. hydrophila*, kết quả kháng khuẩn tốt. Nghiên cứu này cũng sử dụng phương pháp trích bằng cồn để khảo sát tính kháng đối với 2 loài vi khuẩn *E. ictaluri* và *A. hydrophila*, và cũng cho kết quả kháng tốt. Hai nghiên cứu đã góp phần bổ sung thêm dữ liệu về các loại cây thảo mộc có khả năng kháng các loài vi khuẩn gây bệnh trên động vật thủy sản, từ đó tìm ra khả năng ứng dụng của dịch trích trâm bầu trong điều trị bệnh cá nuôi, tôm nuôi.

Ngô Thị Kim Cúc và Phan Ngọc Thịnh (2017) nghiên cứu tính kháng của dịch chiết từ cây trâm bầu từ lá và hạt, bằng phương pháp trích nước và cùng tỷ lệ phối trộn nguyên liệu (1/5), thì đường kính vòng kháng khuẩn đối với vi khuẩn *E. ictaluri* là 4,27 mm và với *V. parahaemolyticus* là 14,09 mm. Trong nghiên cứu này, dịch trích trâm bầu kháng vi khuẩn *E. ictaluri* (17,3 mm) mạnh hơn so với nghiên cứu của Ngô Thị Kim Cúc và Phan Ngọc Thịnh. Tuy nhiên, với *V. parahaemolyticus*, đường kính vòng kháng khuẩn (12,7±2,9 mm) thấp hơn so với nghiên cứu của nhóm tác giả nói trên. Từ hai kết quả trên cho thấy, dịch trâm bầu được trích bằng nước và cồn đều cho kết quả kháng tốt với các loài vi khuẩn khảo sát.

3.2.3 Khả năng kháng khuẩn của lá và hạt trâm bầu

Nhằm đánh giá hiệu quả kháng khuẩn của dịch trích từ các bộ phận khác nhau của cây trâm bầu lên các loài vi khuẩn, 2 bộ phận là lá và hạt được chọn để khảo sát. Kết quả đường kính vòng kháng khuẩn của dịch trích từ 2 bộ phận cây trâm bầu được thể hiện ở Bảng 4.

Bảng 4: Đường kính vòng kháng của dịch trích lá và hạt trâm bầu

Bộ phận	Đường kính vòng kháng khuẩn		
	E. ictaluri	***A. hydrophila***	***V. parahaemolyticus***
Lá	$8,2 \pm 0,2^a$	$4,5 \pm 0,2^a$	$5,3 \pm 0,3^a$
Hạt	$9,9 \pm 0,3^b$	$6,3 \pm 0,4^b$	$7,2 \pm 0,8^b$

Ghi chú: Các giá trị trong bảng là trung bình và độ lệch chuẩn. Các giá trị trong cùng một cột có chứa các ký tự chữ khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa (p<0,05)

Bảng 4 cho thấy, đường kính vòng kháng khuẩn trung bình của dịch trích hạt cây trâm bầu đều lớn hơn và khác biệt có ý nghĩa (p<0,05) so với đường kính vòng kháng khuẩn của dịch trích lá. Kết quả ở Bảng 3 còn cho thấy, hạt cây trâm bầu có khả năng kháng trung bình (++) đối với 3 loài vi khuẩn thí nghiệm, nên có thể sử dụng dịch trích hạt cây trâm bầu để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo nhằm tìm ra khả năng ứng dụng của cây trâm bầu trong thực tiễn nuôi trồng thủy sản.

3.3 Kết quả xác định MIC

Từ kết quả của thí nghiệm khảo sát tính kháng khuẩn, nghiên cứu tiến hành xác định MIC của dịch trích lá và hạt cây trâm bầu trích bằng nước có gia nhiệt. Nguyên nhân là do dịch trâm bầu trích bằng nước có hoạt tính kháng khuẩn mạnh hơn dịch trích từ cồn. Kết quả MIC được thể hiện qua Bảng 5.

Kết quả xác định MIC ở Bảng 5 cho thấy, MIC đối với lá và hạt dao động từ 12-28,8 µL/mL. MIC đối với *A. hydrophila* (12,0 µL/mL) thấp hơn ở hạt và cao hơn ở lá (28,8 µL/mL). MIC đối với *E. ictaluri* của lá và hạt như nhau (16 µL/mL). Đối với vi khuẩn *V. parahaemolyticus*, MIC của hạt (14,4 µL/mL) thấp hơn so với MIC của lá (21,6 µL/mL).

Bảng 5: MIC của dịch trích trâm bầu đối với 3 loài vi khuẩn thí nghiệm

Loài vi khuẩn	Kết quả MIC (µL/mL)	
	Lá	**Hạt**
E. ictaluri	$16,0 \pm 0,0$	$16,0 \pm 0,0$
V.parahaemolyticus	$21,6 \pm 6,4$	$14,4 \pm 1,6$
A. hydrophila	$28,8 \pm 3,2$	$12,0 \pm 2,5$

Ghi chú: Các giá trị trong bảng là trung bình và sai số chuẩn

Kết quả nghiên cứu của Nguyễn Hải Vân và *ctv.* (2015) về khả năng kháng khuẩn của tinh dầu cây màng tang (*Litae cubela*) đối với vi khuẩn *A. hydrophila*, *V. parahaemolyticus,* có MIC dao động từ 5,53-11,05 µL/mL, thấp hơn so với dịch trích lá và hạt cây trâm bầu trong nghiên cứu này (12-28,8 µL/mL). Theo nghiên cứu của Ngô Thị Kim Cúc và Phan Ngọc Thịnh (2017) về tính kháng khuẩn của cây trâm bầu, kết quả MIC của dịch trích hạt trâm bầu trích bằng nước cất vô khuẩn (cùng tỷ lệ phối trộn 1/5) đối với *V. parahaemolyticus* là 7,5 µL/mL,

thấp hơn so với MIC dịch trích từ hạt cây trâm bầu trong nghiên cứu này (14,4 µL/mL). Nguyên nhân có thể là do thời điểm thu hái khác nhau nên hàm lượng hoạt chất trong lá và hạt trâm bầu có thể khác nhau, dẫn đến MIC cũng khác nhau.

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

4.1 Kết luận

Dịch trích lá và hạt cây trâm bầu đều có tính kháng ở mức trung bình đối với 3 loài vi khuẩn thí nghiệm. Đường kính vòng vô khuẩn trung bình là 5,3 mm đối với *A. hydrophila*; 6,3 mm đối với *V. parahaemolyticus* và 9,0 mm đối với *E. ictaluri.*

Dịch trích trâm bầu từ dung môi nước kháng khuẩn mạnh hơn dịch trích từ dung môi cồn 50^0, cồn 70^0 và cồn 90^0, với đường kính vòng vô khuẩn trung bình lần lượt là 14,7 mm; 6,3 mm; 5,7 mm và 6,0 mm.

Tính kháng khuẩn của dịch trích từ hạt trâm bầu (7,8 mm) mạnh hơn so với tính kháng khuẩn của dịch trích từ lá (6,0 mm).

Từ kết quả MIC cho thấy, MIC của hạt cho khả năng ức chế tốt hơn so với MIC của lá. Đối với *A. hydrophila*, MIC của hạt cho hiệu quả tốt nhất và ở thể tích thấp nhất kế đến là *V. parahaemolyticus* và thấp nhất là *E. ictaluri*. Đối với MIC của lá, kết quả tốt nhất với *E. ictaluri* và thấp nhất với *A. hydrophila.*

4.2 Đề xuất

Để tìm ra khả năng ứng dụng của cây trâm bầu trong thực tiễn phòng trị bệnh cho các loài động vật thủy sản, nhóm tác giả đề xuất:

Nghiên cứu thêm tính kháng với 3 loài vi khuẩn *A. hydrophila, E. ictaluri và V. parahaemolyticus* của cây trâm bầu được thu thu hái ở các thời điểm khác nhau.

Xác định tính an toàn của dịch trích cây trâm bầu đối với các loài thủy sản khác nhau đang được nuôi phổ biến hiện nay như cá tra, cá lóc, cá rô phi, tôm sú, tôm thẻ, v.v.

Khảo sát khả năng diệt khuẩn của dịch trích cây trâm bầu trong điều kiện *in vivo.*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Adnyana, I. K., Yasuhiro, T., Suresh, A., Arjun, H. B., Qui, T. K. and Shigetoshi, K., 2000. Quadranosides VI-XI, Six New Triterpene Glucosides from the Seeds of Combretum quadrangulare. Chem. Pharm. Bull. 48(8), 1114-1120.

Bùi Quang Tề, 2006a. Bệnh học thủy sản- Phần 2. Bệnh truyền nhiễm của động vật thủy sản. Viện nghiên cứu nuôi trồng thủy sản I, trang 167-171.

Bùi Quang Tề, 2006b. Bệnh nhiễm trùng do vi khuẩn Aeromonas di động ở động vật thủy sản. Ngày truy cập 15/02/2017. Địa chỉ: http://tepbac.com/disease/full/31/Benh-nhiem-trung-do-vi-khuan-Aeromonas-di-dong-o-dong-vat-thuy-san.htm.

Bùi Quang Tề, 2016. Một số thảo dược thay thế kháng sinh. Ngày truy cập 15/02/2017. Địa chỉ: http://thuysanvietnam.com.vn/mot-so-thao-duoc-thay-the-khang-sinh-article-16086.tsvn.

Dodia, D.A., Patel, I.S. and Pathak, A.R., 1995. Antifeedant properties of some indigenous plant extracts against larvae of Helicoverpa armigera. Pestology, 19, pp.21-22

Hoàng Ngân, 2016. Sản phẩm thay thế kháng sinh trong nuôi tôm. Ngày truy cập 15/02/2017. Địa chỉ: http://thuysanvietnam.com.vn/san-pham-thay-the-khang-sinh-trong-nuoi-tom-article-15962.tsvn.

Từ Thanh Dung, Quách Văn Cao Thi và Đặng Phạm Hòa Hiệp, 2014. Hiện trạng kháng thuốc kháng sinh trên hai loài vi khuẩn Edwardsiella ictaluri và Aeromonas hydrophila gây bệnh trên cá tra (Pangasianodon hypophthalmus) ở đồng bằng sông Cửu Long. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 2, 7-10.

Từ Thanh Dung, 2012. Bệnh trên cá tra (Pangasianodon hypophthalmus) và quản lý dịch bệnh trong ao nuôi. Khoa Thủy Sản, Trường Đại học Cần Thơ.

Đặng Thị Hoàng Oanh, Nguyễn Trọng Nghĩa, Trương Quốc Phú và Phạm Anh Tuấn, 2015. Phân lập và xác định khả năng gây hoại tử gan tụy của vi khuẩn Vibrio parahaemolyticus phân lập từ tôm nuôi ở Bạc Liêu. Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ. 39, 99-107.

Huỳnh Kim Diệu, 2010. Hoạt tính kháng vi khuẩn gây bệnh trên cá của một số cây thuốc nam ở Đồng bằng sông Cửu Long. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 15b, 222-229.

Lưu Thị Thanh Trúc, 2014. Thực hành chuẩn đoán bệnh trên động vật thủy sản, NXB Nông Nghiệp TP.HCM.

Kha, N. H. N., 2012. Molecular characterization of antibiotic resistant bacteria isolated from farmed catfish and humans in Vietnam, PhD thesis. RMIT University, Australia.

Ngô Thị Kim Cúc và Phan Ngọc Thịnh, 2017. Nghiên cứu khảo sát tính kháng một số loài vi khuẩn gây bệnh trên động vật thủy sản của dịch trích từ cây trâm bầu (Combretum quadrangulare). Luận văn tốt nghiệp đại học. Trường Đại học Tiền Giang.

Nguyễn Anh Hưng, 2011. Nghiên cứu thành phần lignan của Ficus callosa. Khóa luận tốt nghiệp. Trường Đại học Sư Phạm Hà Nội 2.

Schillinger, U., & Lücke, F. K. (1989). Antibacterial activity of Lactobacillus sake isolated from

meat. Applied and environmental microbiology, 55(8), 1901-1906.

Sarkar, S., Kuila, R. K., & Misra, A. K. (1996). Organoleptical, microbiological and chemical quality of misti dahi sold in different districts of West Bengal. Indian journal of dairy science, 59(1), 54-61.

Vũ Đình Tôn, Phạm Kim Đăng, Phan Đăng Thắng Đỗ Thúy Nga, Heiman Wertheim và Marie-Louise Scippo, 2012. Giám sát sử dụng kháng sinh trong nuôi trồng thủy sản nước ngọt ở Việt Nam.Trường Đại học Nông Nghiệp Hà Nội.