

EFFECTIVENESS OF PREVENTING INFECTIOUS DISEASE BACILLARY NECROSIS OF *PANGASIANODON HYPOPHTHALMUS* OF HERBAL EXTRACTSNguyen Thi Truc Linh^{1*}, Hong Mong Huyen²¹School of Agriculture and Aquaculture - Tra Vinh University²Faculty of Agriculture and Rural Development - Kien Giang University

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 07/01/2024	The study was conducted to investigate the antibacterial activity of herbal extracts to <i>Edwardsiella ictaluri</i> . They are <i>Streblus asper</i> , <i>Triphasia trifolia</i> , <i>Leucaena leucocephala</i> , <i>Lagerstroemia speciosa</i> , <i>Polyscias fruticosa</i> , <i>Limnophila aromatica</i> , <i>Averrhoa carambola</i> , <i>Artocarpus altilis</i> , <i>Sansevieria cylindrica</i> and <i>Tradescantia discolor</i> . The method used to evaluate the effectiveness of herbal extracts by in-vitro and in-vivo screening against <i>E. ictaluri</i> bacteria disease of striped catfish (<i>Pangasianodon hypophthalmus</i>). The results showed that 7/10 herbal extracts were active against <i>E. ictaluri</i> , of which <i>Leucaena leucocephala</i> extract had the highest activity with inhibition zones of 35.67 mm. Minimum inhibitory concentration (MIC), Minimum bacterial concentration (MBC) were 0.78 mg/mL and 2.34 mg/mL, respectively. Adding 1% <i>Leucaena leucocephala</i> extract to the feed will help striped catfish improve growth and increase serum antibacterial activity against <i>E. ictaluri</i> bacteria. This result can be considered for further research on using medicinal herbs as an alternative to antibiotics to fight bacterial infections in striped catfish.
Revised: 25/3/2024	
Published: 05/4/2024	
KEYWORDS	
<i>Pangasianodon hypophthalmus</i>	
<i>Edwardsiella ictaluri</i>	
Herbal extracts	
Antibacterial activity	
<i>Leucaena leucocephala</i>	

HIỆU QUẢ CHẤT CHIẾT THẢO DƯỢC PHÒNG NGỪA BỆNH GAN THẬN MŨ Ở CÁ TRA (*Pangasianodon hypophthalmus*) CỦA CHẤT CHIẾT THẢO DƯỢCNguyễn Thị Trúc Linh^{1*}, Hồng Mộng Huyền²¹Khoa Nông nghiệp Thủy sản - Trường Đại học Trà Vinh²Khoa Nông nghiệp và Phát triển nông thôn - Trường Đại học Kiên Giang

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 07/01/2024	Nghiên cứu được thực hiện nhằm khảo sát hoạt tính kháng vi khuẩn <i>Edwardsiella ictaluri</i> của các chất chiết thảo dược. Cụ thể gồm có lá duối (<i>Streblus asper</i>), lá kim quýt (<i>Triphasia trifolia</i>), lá keo dậu (<i>Leucaena leucocephala</i>), lá bàng lẵng (<i>Lagerstroemia speciosa</i>), lá đinh lẵng (<i>Polyscias fruticosa</i>), lá diếp (<i>Limnophila aromatica</i>), lá khế (<i>Averrhoa carambola</i>), lá sa kê (<i>Artocarpus altilis</i>), lá ngà voi (<i>Sansevieria cylindrica</i>) và lá lẻ bạn (<i>Tradescantia discolor</i>). Nghiên cứu đánh giá hiệu quả chất chiết thảo dược thông qua các thử nghiệm in-vitro và in-vivo đối với vi khuẩn <i>E. ictaluri</i> gây bệnh gan thận mũ trên cá tra (<i>Pangasianodon hypophthalmus</i>). Kết quả cho thấy 7/10 chất chiết thảo dược có hoạt tính kháng <i>E. ictaluri</i> , trong đó chất chiết keo dậu có hoạt tính cao nhất với đường kính vòng vô trùng 35,67 mm; MIC, MBC tương ứng 0,78 mg/mL và 2,34 mg/mL. Bổ sung chất chiết keo dậu 1% vào thức ăn sẽ hỗ trợ cá tra cải thiện tăng trưởng và tăng hoạt tính kháng khuẩn huyết thanh đối với vi khuẩn <i>E. ictaluri</i> . Kết quả này có thể được xem xét để nghiên cứu sâu hơn về sử dụng dược liệu như một phương pháp thay thế kháng sinh chống nhiễm bệnh do vi khuẩn trên cá tra.
Ngày hoàn thiện: 25/3/2024	
Ngày đăng: 05/4/2024	
TỪ KHÓA	
Cá tra	
<i>Edwardsiella ictaluri</i>	
Chất chiết thảo dược	
Hoạt tính kháng khuẩn	
Keo dậu	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.9563>* Corresponding author. Email: truclinh@tvu.edu.vn

1. Giới thiệu

Bệnh gan thận mù trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) do vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* gây ra, bệnh xuất hiện gần như quanh năm [1]. Việc sử dụng kháng sinh trong phòng trị bệnh đã dẫn đến hiện tượng kháng kháng sinh diễn ra ở nhiều khu vực nuôi cá vùng Đồng bằng sông Cửu Long [2]. Ngoài ra, vaccin thương mại quá đắt để sử dụng rộng rãi và tính hiệu quả cũng không như mong muốn [3], những điều này đã trở thành những trở ngại trong điều trị bệnh trên cá. Gần đây, thảo dược được đánh giá là có hiệu quả trong nuôi trồng thủy sản, đã có nhiều nghiên cứu chứng minh thảo dược hiệu quả kháng vi khuẩn *E. ictaluri* như năm loại thảo dược có nguồn gốc từ Trung Quốc bao gồm chất chiết xuất cây xương cá (*Stellaria aquatica*), hoa móc tai (*Impatiens biflora*), cây anh thảo (*Oenothera biensis*), cây ngải cứu (*Artemisia vulgaris*) và cây kim ngân (*Lonicera japonica*) có khả năng kháng *E. ictaluri* [4]. Hay theo nghiên cứu của Huỳnh Kim Diệu [5] đối với 30 loài thực vật được thu hái ở vùng Đồng bằng Sông Cửu Long đều có hoạt tính kháng khuẩn đối với *E. ictaluri* với đường kính vòng kháng khuẩn dao động từ 6-37 mm.

Bên cạnh những loài thảo dược nêu trên thì vẫn còn nhiều loài thực vật có hoạt tính sinh học cao có tiềm năng sử dụng trong phòng trị bệnh trên động vật thủy sản trong các thử nghiệm *in-vitro* và *in-vivo* [6]-[9]. Theo Nguyễn Văn Hai [10] và Reverter [11], hoạt tính kháng khuẩn của chất chiết thảo dược đối với vi khuẩn sẽ chịu chi phối bởi nhiều yếu tố như tùy vào từng loài của cây, độ tuổi, bộ phận sử dụng, vùng trồng loài thực vật, dung môi chiết xuất. Trên những cơ sở đó, nghiên cứu này sẽ tập trung đánh giá hiệu quả kháng khuẩn của 10 loại thảo dược thu hái ở tỉnh Trà Vinh đối với vi khuẩn *E. ictaluri* gây bệnh gan thận mù trên cá tra, cũng như cải thiện hiệu quả về tăng trưởng và tỷ lệ sống của cá. Kết quả nghiên cứu nhằm cung cấp thêm thông tin các loại thảo dược tiềm năng có thể ứng dụng trong nuôi trồng thủy sản.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Thảo dược sử dụng trong nghiên cứu bao gồm lá đuối (*Streblus asper*), lá kim quýt (*Triphasia trifolia*), lá keo dậu (*Leucaena leucocephala*), lá bằng lăng (*Lagerstroemia speciosa*), lá đinh lăng (*Polyscias fruticosa*), lá diếp (*Limnophila aromatica*), lá khế (*Averrhoa carambola*), lá sa kê (*Artocarpus altilis*), ngà voi (*Sansevieria cylindrica*) và lá lẻ bạn (*Tradescantia discolor*). Các loại thảo dược này được thu hái tại Trà Vinh.

Chủng vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* được phục hồi từ bộ sưu tập vi khuẩn của khoa Nông nghiệp – Thủy sản, trường Đại học Trà Vinh.

Cá tra có khối lượng 15 g/con, những con cá này khỏe mạnh và không mang mầm bệnh.

2.2. Phương pháp ly trích chất chiết thảo dược

Lá thảo dược được rửa sạch và làm khô, sau đó được nghiền thành bột mịn. Bột thảo dược được ngâm trong dung môi ethanol theo tỉ lệ 1:10 trong 5 ngày. Lọc lấy dịch chiết, sau đó dung dịch này được cô quay chân không để loại bỏ dung môi và thu được chất chiết thảo dược [12]. Chất chiết được bảo quản ở 4°C để thực hiện thí nghiệm khảo sát hoạt tính kháng khuẩn và sử dụng cho thí nghiệm cho ăn.

2.3. Phương pháp xác định khả năng kháng khuẩn của chất chiết thảo dược

2.3.1. Xác định hoạt tính kháng khuẩn

Các bước chuẩn bị vi khuẩn được thực hiện theo Mohammed và Arias [13]. Đĩa giấy tẩm thảo dược được thực hiện theo Najiah [14]. Sau đó, dùng tấm bông tiệt trùng trải đều vi khuẩn *E. ictaluri* đã chuẩn bị lên mặt đĩa thạch TSA (Tryptone Soya Agar, Himedia, Ấn Độ), rồi tiến hành đặt đĩa tẩm chất chiết thảo dược lên đĩa. Đồng thời, đĩa tẩm Dimethyl sulfoxide (DMSO) được sử dụng làm đối chứng. Ủ đĩa ở 28°C trong 48 giờ. Khả năng kháng khuẩn của mỗi loại chất chiết thảo dược được xác định bằng cách đo đường kính vòng kháng khuẩn [15].

2.3.2. Xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC - Minimum inhibitory concentration)

Chất chiết thảo được thể hiện hoạt tính kháng cao với *E. ictaluri* được chọn để thực hiện tiếp thí nghiệm xác định nồng độ ức chế tối thiểu, cách thực hiện theo Oonmetta-aree [15]. Chất chiết được pha loãng theo cơ số 2 với nồng độ giảm dần từ 25 đến 0,025 mg/mL trong mỗi ống nghiệm có chứa sẵn môi trường LB (Luria Bertani Broth, Himedia, Ấn Độ) và bổ sung vi khuẩn *E. ictaluri*. Mẫu đối chứng dương là mẫu không bổ sung chất chiết chỉ bổ sung vi khuẩn và dung môi DMSO. Mẫu đối chứng âm là mẫu không bổ sung vi khuẩn. Các ống nghiệm ủ ở 28°C lắc trong 48 giờ. MIC (Minimum inhibitory concentration) của chất chiết được xác định là nồng độ thấp nhất của chất chiết trong môi trường lỏng không có vi khuẩn phát triển.

2.3.3. Xác định nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC - Minimum bacterial concentration)

Các ống nghiệm được xác định là các nồng độ ức chế tối thiểu được sử dụng để xác định nồng độ diệt khuẩn tối thiểu. MBC được xác định bằng phương pháp đếm khuẩn lạc vi khuẩn *E. ictaluri* trên đĩa môi trường TSA. Cụ thể, trải 100 μ L huyền phù từ các ống nghiệm nồng độ ức chế sự phát triển của vi khuẩn lên môi trường TSA, sau đó ủ ở 28°C trong 48 giờ. Giá trị MBC của chất chiết thảo được được xác định là nồng độ thấp của chất chiết trong môi trường lỏng không có vi khuẩn phát triển trên đĩa môi trường TSA [15].

2.4. Thí nghiệm xác định hiệu quả cải thiện tăng trưởng và tỷ lệ sống của cá tra khi ăn thức ăn bổ sung chất chiết thảo dược

2.4.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm cá tra cho ăn chất chiết thảo dược

Cá tra được nuôi trong bể composite 250 L với mật độ 30 cá/bể. Các thông số môi trường được duy trì phù hợp trong suốt quá trình nuôi, nước bể nuôi được sục khí liên tục và thay 50% nước mỗi ngày. Thí nghiệm bổ sung chất chiết thảo dược được thiết kế gồm 4 nghiệm thức như sau: đối chứng (không bổ sung chất chiết thảo dược), 1% chất chiết keo đậu, 1,5% chất chiết keo đậu và 2% chất chiết keo đậu. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần. Cá được cho ăn thức ăn bổ sung chất chiết thảo dược liên tục trong 30 ngày. Lượng thức ăn bằng 3% trọng lượng thân với chế độ ăn 2 lần/ngày. Thu mẫu cá để theo dõi tăng trưởng và tỷ lệ sống ở thời điểm 30 ngày sau khi cho ăn thức ăn bổ sung chất chiết thảo dược.

2.4.2. Phương pháp xác định các chỉ tiêu theo dõi

Tốc độ tăng trưởng và tỷ lệ sống: Chỉ tiêu về chiều dài được đo bằng thước cặp (Mitutoyo, Nhật Bản), chỉ tiêu về khối lượng được cân bằng cân kỹ thuật 2 số lẻ (SPX2202, Ohaus-Mỹ) và tỷ lệ sống được xác định theo các công thức sau:

$$DWG \text{ (g/ngày)} = (W_f - W_i)/T \quad (1)$$

$$SGR \text{ (%/ngày)} = \{(\ln(W_f) - \ln(W_i))/T\} \times 100 \quad (2)$$

$$DLG \text{ (cm/ngày)} = (L_f - L_i)/T \quad (3)$$

$$SGRL \text{ (%/ngày)} = \{(\ln(L_f) - \ln(L_i))/T\} \times 100 \quad (4)$$

Trong đó: DWG là tăng trưởng theo ngày về khối lượng, DLG là tăng trưởng theo ngày về chiều dài, SGR là tăng trưởng đặc biệt theo ngày về khối lượng, SGRL là tăng trưởng đặc biệt theo ngày về chiều dài, W_f là khối lượng cuối cùng, W_i là khối lượng ban đầu, L_f là chiều dài cuối cùng, L_i là chiều dài ban đầu và T là tổng thời gian thí nghiệm.

$$\text{Tỷ lệ sống (\%)} = (\text{tổng số tôm thí nghiệm còn sống cuối cùng} / \text{tổng số tôm thí nghiệm lúc đầu}) \times 100 \quad (5)$$

Hoạt tính kháng khuẩn huyết thanh:

Xác định khả năng kháng khuẩn của huyết thanh được thực hiện theo phương pháp của Abd-El-Rhman [16]. Khuẩn lạc vi khuẩn *E. ictaluri* thuần được nuôi tăng sinh trong môi trường TSB ở 28°C trong 18 giờ được thu sinh khối bằng phương pháp ly tâm ở 5000 vòng/phút trong 5 phút, rửa lại 2 lần bằng PBS, sau đó hòa tan và xác định mật độ bằng máy

so màu quang phổ ở bước sóng 600 nm. Điều chỉnh để đạt giá trị OD= $1 \pm 0,2$ (tương đương với mật độ 10^9 CFU/mL), sau đó tiếp tục sử dụng để pha loãng thành dãy nồng độ giảm 10 lần với PBS (1:9) trong 5 lần. Hoạt tính kháng khuẩn của huyết thanh được xác định bằng cách ủ 5µL vi khuẩn ở nồng độ pha loãng cuối với 50µL huyết thanh cá trong 1 giờ ở 28°C. Sau thời gian ủ, chúng tôi tiến hành xác định mật độ vi khuẩn trong các ống bằng phương pháp đếm trên đĩa thạch trong môi trường TSA, ở 28°C trong 24 giờ và so sánh mật độ vi khuẩn giữa các nghiệm thức.

2.5. Phương pháp phân tích số liệu

Phân tích thống kê được thực hiện bằng phần mềm SPSS, phân tích phương sai một nhân tố (ANOVA). Sử dụng phép thử Duncan để so sánh sự khác biệt giữa các phương pháp điều trị ($p < 0,05$).

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Khả năng kháng khuẩn *E. ictaluri* của các chất chiết thảo dược

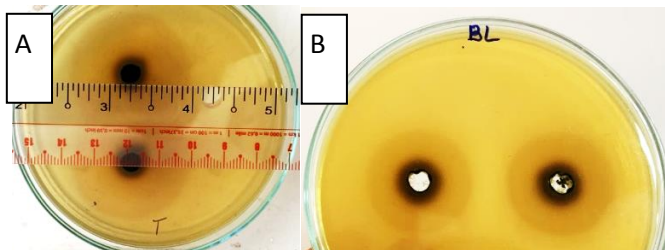
3.1.1. Hoạt tính kháng khuẩn

Kết quả kiểm tra hoạt tính kháng khuẩn cho thấy DMSO không có hoạt tính kháng khuẩn vi khuẩn thí nghiệm (Bảng 1, Hình 1). Đối với 10 loài thảo dược thử nghiệm thì có 7/10 chất chiết thể hiện hoạt tính kháng khuẩn nhạy đối với chủng vi khuẩn *E. ictaluri*, với đường kính vòng kháng khuẩn dao động từ 15,33 đến 35,67 mm; hoạt tính cao nhất ở chất chiết keo đậu (35,67 mm). Đồng thời, ghi nhận 2/10 chất chiết có hoạt tính kháng khuẩn trung bình là kim quýt và lá khế, với đường kính vòng ức chế là 12,33-12,33 mm; trong khi ngà voi với đường kính thấp nhất là 8,67 mm.

Bảng 1. Hoạt tính kháng khuẩn *E. ictaluri* của chất chiết thảo dược ở nghiệm cứu này

Thảo dược	Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)	Phân loại
Keo đậu	35,67	Nhạy
Bằng lăng	24,67	Nhạy
Sa kê	18,67	Nhạy
Đinh lăng	18,34	Nhạy
Lê bẹn	16,33	Nhạy
Diếp	15,33	Nhạy
Duối	13,33	Nhạy
Kim quýt	12,33	Trung bình
Lá khế	12,33	Trung bình
Ngà voi	8,67	Kháng
DMSO	0	

Ghi chú: Kháng: ≤ 9 mm; trung bình: ≥ 10 -13 mm; Nhạy: ≥ 14 mm [17]



Hình 1. Vùng ức chế của chất chiết keo đậu (A) và bằng lăng (B) chống lại vi khuẩn *E. ictaluri*

E. ictaluri gây bệnh gan thận mủ trên cá tra là vi khuẩn Gram âm. Vi khuẩn này cũng được xác định khá nhạy cảm với nhiều hợp chất có nguồn gốc từ thực vật. Cụ thể, chất chiết của cây vệt (*Bruguiera gymnorrhiza*), vọng cách (*Premna corymbosa*), trầm bầu (*Combretum*

quadrangulare), cây *Anadendrum microstachyum*, cây *Selaginella plana* có hoạt tính kháng vi khuẩn *E. ictaluri* [18]-[20]. Chất chiết của các loài thảo dược có sự hiện diện của các hợp chất phenols, quinones, flavonoids, flavones, tannins, coumarins. Đây là những hợp chất chính tham gia vào hoạt động kháng khuẩn; cơ chế kháng khuẩn thông qua các hoạt động phá vỡ thành tế bào, ngăn chặn sự tổng hợp protein và tổng hợp DNA, ức chế sự tiết enzyme của vi khuẩn. Tuy nhiên, tùy vào từng loài thảo dược có chứa thành phần và hàm lượng khác nhau nên hiệu quả kháng khuẩn khác nhau [21].

3.1.2. Giá trị MIC và MBC của chất chiết thảo dược

Keo dậu có mức độ ức chế *E. ictaluri* cao nhất, đã được thử nghiệm trong xét nghiệm MIC và MBC. Kết quả được thể hiện trong Bảng 2. Chất chiết xuất keo dậu có nồng độ ức chế tối thiểu là 0,78 mg/mL. Kết quả của MBC là 2,34 mg/mL, tỷ lệ MBC/MIC nhỏ hơn 4. Nếu tỷ lệ MBC/MIC nhỏ hơn hoặc bằng 4 thì dịch chiết có thể tiêu diệt vi khuẩn [22]. Kết quả chỉ ra rằng chất chiết keo dậu có khả năng diệt khuẩn.

Bảng 2. Nồng độ ức chế tối thiểu và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu chất chiết keo dậu

Thảo dược	MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)	MBC/MIC
Keo dậu	0,78	2,34	<4

Gần đây, sự quan tâm toàn cầu đã tăng lên trong chiết xuất thực vật được sử dụng cho mục đích điều trị như một nguồn thuốc thay thế kháng sinh. Ở cá, ứng dụng chiết xuất thực vật đã thành công thông qua các đánh giá *in-vitro* và *in-vivo*; chúng thể hiện các hoạt tính kháng khuẩn cải thiện tăng trưởng, tăng cường thông số miễn dịch, chống lại vi khuẩn gây bệnh [23], [24].

3.2. Hiệu quả cải thiện tăng trưởng, tỷ lệ sống của cá tra khi ăn thức ăn bổ sung chất chiết thảo dược

3.2.1. Tăng trưởng và tỷ lệ sống của cá tra

Kết quả thí nghiệm cho thấy tốc độ tăng trưởng theo chiều dài của cá tra ở nghiệm thức ăn thức ăn bổ sung 1,5% chất chiết keo dậu có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức bổ sung 1% chất chiết keo dậu và nghiệm thức đối chứng ($p < 0,05$) sau 30 ngày thí nghiệm. Cụ thể, tốc độ tăng trưởng của cá theo ngày và tốc độ tăng trưởng đặc biệt theo ngày về chiều dài tương ứng là $0,25 \pm 0,053$ cm/ngày và $1,603 \pm 0,51$ %/ngày (Bảng 3).

Tốc độ tăng trưởng về khối lượng của tôm cũng cùng xu thế với tốc độ tăng trưởng về chiều dài. Cụ thể, tăng trưởng theo ngày về khối lượng cao nhất ở nghiệm thức bổ sung dịch chiết keo dậu 1,5% ($3,01 \pm 0,71$ g/ngày), tăng trưởng đặc biệt theo ngày về khối lượng ($4,03 \pm 0,79$ %/ngày) khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức cá tra ăn thức ăn bổ sung 1% chất chiết keo dậu và nghiệm thức đối chứng ($p < 0,05$) (Bảng 3). Tóm lại, bổ sung dịch chiết 1,5% chất chiết keo dậu làm tăng tốc độ tăng trưởng theo chiều dài và khối lượng của cá tra trong 30 ngày thí nghiệm.

Bảng 3. Tăng trưởng về chiều dài, khối lượng, tỷ lệ sống và hoạt tính kháng khuẩn huyết thanh của cá tra ăn thức ăn bổ sung chất chiết keo dậu ở các nồng độ khác nhau

Nghiệm thức	Đối chứng	1% keo dậu	1,5% keo dậu	2% keo dậu
Chiều dài				
DLG (cm/ngày)	$0,107 \pm 0,075^a$	$0,183 \pm 0,04^a$	$0,25 \pm 0,053^b$	$0,22 \pm 0,01^{ab}$
SGRL (%/ngày)	$0,803 \pm 0,54^a$	$1,057 \pm 0,22^a$	$1,603 \pm 0,51^b$	$1,39 \pm 0,48^{ab}$
Khối lượng				
DWG (g/ngày)	$0,89 \pm 0,15^a$	$1,61 \pm 0,45^a$	$3,01 \pm 0,71^b$	$2,49 \pm 0,75^{ab}$
SGR (%/ngày)	$2,71 \pm 1,49^a$	$2,89 \pm 0,19^a$	$4,03 \pm 0,79^b$	$3,28 \pm 1,16^{ab}$
Tỷ lệ sống	$97,8 \pm 2,55^a$	$96,67 \pm 1,73^a$	$98,89 \pm 1,93^a$	$95,56 \pm 0,19^a$

Ghi chú: Giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn. Các giá trị trên cùng một cột mang mẫu tự (a,b,c) giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$)

Kết quả thí nghiệm cho thấy tỷ lệ sống của cá tra qua 30 ngày thí nghiệm ở các nghiệm thức đều đạt từ 95,56 đến 98,89%. 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 ($p > 0,05$). Nghiệm thức đạt tỷ lệ sống cao nhất là nghiệm thức bổ sung chất chiết keo đậu 1,5% (Bảng 3). Như vậy, việc bổ sung dịch chiết keo đậu vào thức ăn không ảnh hưởng đến tỷ lệ sống bình thường của cá tra thí nghiệm.

Cho cá tra chất chiết keo đậu mang lại những tác động tích cực đến sự tăng trưởng ở chiều dài, khối lượng và tỷ lệ sống. Nhiều chất chiết thảo dược có thể kích thích tăng trưởng, tăng cường hấp thu và tiêu hóa chất dinh dưỡng, giúp cải thiện chỉ số chuyển đổi thức ăn (FCR). Các loại thảo dược có thể kích thích tăng trưởng vì chúng giúp tăng cường hoạt động của các enzyme tiêu hóa (protease, amylase và lipase) [25]-[27]. Do đó, trong thí nghiệm này, bổ sung chiết keo đậu với liều lượng 1,5% vào thức ăn giúp gia tăng đáng kể các thông số tăng trưởng so sánh với nhóm đối chứng. Đặc biệt, chế độ ăn có bổ sung các chất chiết này không ảnh hưởng tiêu cực đến tỷ lệ sống của cá tra sau 30 ngày nuôi.

3.2.2. Hoạt tính kháng khuẩn huyết thanh

Hoạt tính diệt khuẩn trong huyết thanh chống lại *E. ictaluri* là cao hơn đáng kể ở nghiệm thức bổ sung chất chiết keo đậu so với nhóm đối chứng. Cụ thể, ở thời điểm 15 ngày sau khi bổ sung 1,5 và 2% chất chiết keo đậu khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức bổ sung 1% và nghiệm thức đối chứng ($p < 0,05$). Ở thời điểm 30 ngày số lượng khuẩn lạc vi khuẩn ở các nghiệm thức bổ sung chất chiết keo đậu thấp hơn nhóm đối chứng và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) (Bảng 4).

Bảng 4. Kết quả xác định khả năng kháng khuẩn của huyết thanh ở các nghiệm thức

Nghiệm thức	Mật độ vi khuẩn ($\times 10^3$ CFU/mL)		
	Ngày 0	Ngày 15	Ngày 30
Đối chứng	$1,45 \pm 0,07^a$	$1,37 \pm 0,01^a$	$1,19 \pm 0,35^a$
1% keo đậu	$1,39 \pm 0,01^a$	$0,46 \pm 0,09^b$	$0,55 \pm 0,01^b$
1,5% keo đậu	$1,40 \pm 0,05^a$	$0,32 \pm 0,01^c$	$0,57 \pm 0,02^b$
2% keo đậu	$1,37 \pm 0,02^a$	$0,34 \pm 0,03^c$	$0,48 \pm 0,07^b$

Ghi chú: Giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn. Các giá trị trên cùng một cột mang mẫu tự (a,b,c) giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Tất cả các phương pháp điều trị bằng Fucoidan được ly trích từ tảo lá cuộn (*Padina boergesenii*) trong chế độ ăn đều làm tăng đáng kể khả năng kháng khuẩn trong huyết thanh hoạt động của cá trê (*Clarias* sp.) đối với vi khuẩn *A. hydrophila* [28]. Hay keo ong thô và chiết xuất ethanol của nó giúp tăng đáng kể hoạt tính diệt khuẩn trong huyết thanh của cá rô phi (*Oreochromis niloticus*) đối với vi khuẩn *A. hydrophila* [16].

Keo đậu (*Leucaena leucocephala*) đã được chứng minh có tiềm năng như một nguồn protein thực vật hữu ích trong khẩu phần cá và trong ngành chăn nuôi nói chung [29], [30]. Ngoài ra, các thành phần có trong keo đậu không chỉ kiểm soát mầm bệnh mà còn tăng cường cơ chế phòng vệ của cá [31], [32].

4. Kết luận

Chất chiết lá keo đậu, lá bằng lăng, lá sa kê, lá đinh lăng, lá lẻ bạn, lá diếp, lá bàng đều thể hiện hoạt tính kháng khuẩn cao đối với vi khuẩn *E. ictaluri* gây bệnh gan thận mủ trên cá tra. Chất chiết lá keo đậu có hoạt tính kháng vi khuẩn *E. ictaluri* cao nhất với đường kính vòng vô trùng là 35,67 mm. MIC và MBC của chất chiết keo đậu đối với vi khuẩn *E. ictaluri* tương ứng là 0,78 mg/mL; 2,34 mg/mL.

Cá tra ăn thức ăn bổ sung 1,5% chất chiết keo đậu giúp cải thiện tăng trưởng và tăng cường hoạt tính kháng khuẩn huyết thanh đối với vi khuẩn *E. ictaluri*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] M. Crumlish, T. D. Tran, J. F. Turnbull, T. N. N. Nguyen, and H. W. Ferguson, "Identification of *Edwardsiella ictaluri* from diseased freshwater catfish, *Pangasius hypophthalmus* (Sauvage), cultured in the Mekong Delta, Vietnam," *Journal of Fish Diseases*, vol. 25, no. 12, pp. 733-736, 2002.
- [2] T. D. Tran, F. Haesebrouck, P. Sorgeloos, M. Baele, A. Decostere, and N. A. Tuan, "Antimicrobial resistance of *Edwardsiella ictaluri* isolates from natural outbreaks of bacillary necrosis of *Pangasianodon hypophthalmus*," *Can Tho University Journal of Science*, vol. 15a, pp. 162-171, 2010.
- [3] R. Harikrishnan, C. Balasundaram, and M. S. Heo, "Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish," *Aquaculture*, vol. 317, no. 1-4, pp. 1-15, 2011.
- [4] S. Direkbusarakom, "Application of medicinal herbs to aquaculture in Asia," *Walailak Journal of Science and Technology*, vol. 1, no. 1, pp. 7-14, 2004.
- [5] K. D. Huynh, "Antibacterial activity of some medicinal plants in the Mekong Delta of Viet Nam against common fish pathogens," *Can Tho University Journal of Science*, vol. 15b, pp. 222-229, 2010.
- [6] T. B. H. Bui and T. T. H. Tran, "Effects of Pomegranate (*Punica granatum*) extract on growth performance and immune responses of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*)," *Can Tho University Journal of Science*, vol. 56 (Aquaculture), pp. 161-169, 2020.
- [7] M. Reverter, N. Tapissier-Bontemps, S. Sarter, P. Sasal, and D. Caruso, "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*, vol. 13, no. 1, pp. 537-555, 2021.
- [8] T. T. L. Nguyen, T. T. H. Luu, T. T. Nguyen, V. D. Pham, T. N. Nguyen, Q. P. Truong, and M. H. Hong, "A comprehensive study in efficacy of Vietnamese herbal extracts on whiteleg shrimp (*Penaeus vannamei*) against *Vibrio parahaemolyticus* causing acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND)," *Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgheh*, vol. 75, no. 2, pp. 1-22, 2023.
- [9] M. H. Hong, T. H. Vo, and T. T. H. Tran, "Effects *Ricinus communis* L. extraction on survival rate, growth performance of white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*)," *TNU Journal of Science and Technology*, vol. 228, no. 13, pp. 73-81, 2023.
- [10] V. H. Nguyen, "The use of medicinal plants as immunostimulants in aquaculture: A review," *Aquaculture*, vol. 446, pp. 88-96, 2015.
- [11] M. Reverter, N. Tapissier-Bontemps, P. Sasal, and D. Saulnier, "Use of medicinal plants in aquaculture," *Diagnosis and Control of Diseases of Fish and Shellfish*, vol. 9, pp. 223-261, 2017.
- [12] K. P. P. Nguyen, *Fractionation Method for Organic Compounds*. Viet Nam National University Ho Chi Minh Press, 2007, p. 528.
- [13] S. Abutbul, A. Golan-Goldhirsh, O. Barazani, and D. Zilberg, "Use of *Rosmarinus officinalis* as a treatment against *Streptococcus iniae* in tilapia (*Oreochromis* sp.)," *Aquaculture*, vol. 238, no. 1-4, pp. 97-105, 2004.
- [14] M. Najiah, Z. Nadirah, S. Arief, L. W. Zahrol, A. D. Tee, Ranzi, and R. J. Aida, "Antibacterial activity of Malaysian edible herbs extracts on fish pathogenic bacteria," *Research Journal of Medicinal Plant*, vol. 5, no. 6, pp. 772-778, 2011.
- [15] J. Oonmetta-aree, T. Suzuki, P. Gasaluck, and G. Eumkeb, "Antimicrobial properties and action of galangal (*Alpinia galanga* Linn.) on *Staphylococcus aureus*," *LWT-Food Sci Technol.*, vol. 39, no. 10, pp. 1214-1220, 2006.
- [16] A. M. M. Abd-El-Rhman, "Antagonism of *Aeromonas hydrophila* by propolis and its effect on the performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*," *Fish & shellfish immunology*, vol. 27, no. 3, pp. 454-459, 2009.
- [17] V. Lorian, Eds., *Antibiotics in laboratory medicine*. Disk susceptibility test, Fourth Edition. London: Williams and Walkins Awaverly, p.1, 1998.
- [18] H. Novita, A. D. Novitaningrum, B. D. Madusari, M. F. I. Nugraha, M. A. Rajamuddin, R. Yunita, and W. Enggarini, "Antibacterial activity of *Anadendrum microstachyum* and *Selaginella plana* against two pathogenic bacteria (*Edwardsiella ictaluri* and *Streptococcus agalactiae*) causing freshwater fish diseases," *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, vol. 535, no. 1, p. 012025, 2020.
- [19] H. Syawal, A. R. Siregar, Y. Yuharmen, and I. Effendi, "Phytochemical analysis and inhibitory effect of *Bruguiera gymnorhiza* leaf extract on *Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas hydrophila* and

- Edwardsiella ictalurid*,” *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation*, vol. 14, no. 4, pp. 1926-1933, 2021.
- [20] T. M. D. Tran, T. T. Nguyen, and T. T. H. Tran, “In vitro antibacterial activity of several plant extracts against fish bacterial pathogens,” *Can Tho University Journal of Science*, vol. 13, pp. 106-112, 2020.
- [21] M. M. Cowan, “Plant products as antimicrobial agents,” *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 12, no. 4, pp. 564-582, 1999.
- [22] N. Canillac and A. Mourey, “Antibacterial activity of the essential oil of *Picea excelsa* on *Listeria*, *Staphylococcus aureus* and coliform bacteria,” *Food Microbiology*, vol. 18, no. 3, pp. 261-268, 2001.
- [23] M. Reverter, N. Bontemps, D. Lecchini, B. Banaigs, and P. Sasal, “Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: current status and future perspectives,” *Aquaculture*, vol. 433, pp. 50-61, 2024.
- [24] C. Bulfon, D. Volpatti, and M. Galeotti, “Current research on the use of plant-derived products in farmed fish,” *Aquaculture Research*, vol. 46, no. 3, pp. 513-551, 2015.
- [25] M. Abdel-Tawwab, F. Samir, A. S. Abd El-Naby, and M. N. Monier, “Antioxidative and immunostimulatory effect of dietary cinnamon nanoparticles on the performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) and its susceptibility to hypoxia stress and *Aeromonas hydrophila* infection,” *Fish Shellfish Immunol.*, vol. 74, pp. 19-25, 2018.
- [26] M. Tan and Z. Sun, “Dietary dandelion extract improved growth performance, immunity, intestinal morphology and microbiota composition of golden pompano *Trachinotus ovatus*,” *Aquacult. Rep.*, vol. 18, 2020, Art. no. 100491.
- [27] D. L. Chowdhury, N. P. Sahu, P. Sardar, A. D. Deo, M. L. Bedekar, L. P. Singha, and M. L. Maiti, “Feeding turmeric in combination with ginger or garlic enhances the digestive enzyme activities, growth and immunity in *Labeo rohita* fingerlings,” *Anim. Feed Sci. Technol.*, vol. 277, 2021, Art. no.114964.
- [28] C. Purbomartono and A. Isnansetyo, “Improving resistance against *Aeromonas hydrophila* and growth performance by oral administration of fucoidan from *Padina boergesenii* Allender & Kraft, 1983 in catfish (*Clarias* sp.),” *Aquaculture, Aquarium Conservation & Legislation*, vol. 16, no. 3, pp. 1294-1304, 2023.
- [29] R. J. Jones, “The value of *Leucaena leucocephala* as a feed for ruminants in the tropics,” *World Anim. Rev.*, vol. 31, pp. 13-23, 1979.
- [30] J. P. F. D’Mello and T. Acamovic, “*Leucaena leucocephala* in poultry nutrition, A review,” *Animal Feed Science and Technology*, vol. 26, pp. 1-28, 1989.
- [31] V. K. Verma, K. V. Rani, N. Sehgal, and O. Prakash, “Immunostimulatory effect of artificial feed supplemented with indigenous plants on *Clarias gariepinus* against *Aeromonas hydrophila*,” *Fish Shellfish Immunol*, vol. 35, pp. 1924-1931, 2013.
- [32] V. K. Verma, K. V. Rani, N. Sehgal, and O. Prakash, “Enhanced disease resistance in the Indian snakehead, *Channa punctata* against *Aeromonas hydrophila*, through 5 % feed 523 supplementation with *F. benghalensis* (aerial root) and *L. leucocephala* (pod seed),” *Aquacult. Int.*, vol. 23, no. 5, pp. 1127-1140, 2015.