

ẢNH HƯỞNG CỦA CAO CHIẾT LÁ CHÙM NGÂY LÊN TỶ LỆ SỐNG VÀ KHẢ NĂNG KHÁNG BỆNH HOẠI TỬ GAN TỤY CẤP TÍNH TRÊN TÔM THẺ CHÂN TRẮNG

Nguyễn Thị Hồng Nhi¹, Nguyễn Thị Trúc Linh¹, Phan Thị Thanh Trúc¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành nhằm đánh giá tỷ lệ sống và khả năng kháng bệnh của cao chiết lá chùm ngây đối với vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (AHPND) trên tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*). Thí nghiệm được tiến hành với 5 nghiệm thức bố trí trong hệ thống bể kính, chứa 30 lít nước có độ mặn 15‰, 30 con tôm/bể với kích cỡ tôm 1g/con. Kết quả cho thấy cao chiết lá chùm ngây kháng vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* với đường kính vòng vô khuẩn 15 - 16 mm, nồng độ ức chế tối thiểu (MIC = 20.000 mg/L), nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC = 40.000 mg/L). Ngoài ra thí nghiệm khả năng kháng bệnh *Vibrio parahaemolyticus* của cao chiết lá chùm ngây cho ở nghiệm thức bổ sung 1MIC và 2MIC vào thức ăn thì tỷ lệ sống tôm đạt 65,6% và 66,7% cao hơn so với nghiệm thức (đối chứng dương) không bổ sung cao chiết chùm ngây (32,2%). Tuy nhiên, nghiệm thức bổ sung 3MIC vào thức ăn cho tôm thì tỷ lệ sống của tôm chỉ đạt 43,3%. Kết quả cho thấy cho ăn 1MIC và 2MIC cao chiết lá chùm ngây làm tăng tỷ lệ sống của tôm trong điều kiện có cảm nhiễm AHPND.

Từ khóa: Tôm thẻ chân trắng, vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus*, bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (AHPND), cao chiết lá chùm ngây

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngành nuôi tôm nước lợ chiếm vị trí đặc biệt quan trọng trong chiến lược phát triển kinh tế ngành thủy sản Việt Nam. Sản lượng tôm nước lợ cả nước đạt 89,8 nghìn tấn, tăng 8,2% so với cùng kỳ năm 2018, đưa tổng sản lượng 10 tháng đầu năm 2019 ước đạt 538 nghìn tấn, tăng 4,2% so với cùng kỳ năm trước (Bộ Nông nghiệp và PTNT, 2019). Tuy nhiên, tình hình dịch bệnh trên tôm diễn biến phức tạp như bệnh đốm trắng, vi bào tử trùng (EHP), bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (AHPND)... gây thiệt hại nặng nề trên tôm nuôi. Hoại tử gan tụy cấp tính (AHPND/EMS) lần đầu tiên được báo cáo ở Trung Quốc vào năm 2009, đến Việt Nam năm 2010. Năm 2017, diện tích bị thiệt hại là 1.557 ha do bệnh hoại tử gan tụy gây ra, chiếm khoảng 13,6%, trong đó tỉnh Bạc Liêu có diện tích bị bệnh lớn nhất (chiếm hơn 25,7% tổng diện tích tôm bị bệnh), tiếp đó là các tỉnh Sóc Trăng, Kiên Giang, Trà Vinh... (Tổng cục Thủy sản, 2017). Theo báo cáo của Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn Trà Vinh, trong 9 tháng đầu năm 2019 diện tích bị bệnh do đốm trắng và hoại tử gan tụy cấp tính gây thiệt hại 15 - 19% diện tích thả giống. Tác nhân gây ra hội chứng hoại tử gan tụy cấp tính là do vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* mang thể thực khuẩn (Bacteriophage) (Loc Tran *et al.*, 2013). Hiện nay nhiều biện pháp được đề xuất ngăn chặn sự phát triển của vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính như dùng hóa chất, sử dụng kháng sinh, áp dụng các biện pháp sinh học để giảm thiểu bệnh. Hiện nay có nhiều nghiên cứu

sử dụng các hoạt chất từ thực vật để phòng trị bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (Hồng Mộng Tuyền và *ctv.*, 2018a; Trần Vinh Phương và *ctv.*, 2019). Cây chùm ngây có chứa nhiều hoạt chất sinh học bao gồm: 4-(4'-O-acetyl-a-L-rhamnopyranosyloxy) benzyl isothiocyanate, 4-(a-L-rhamnopyranosyloxy) benzyl isothiocyanate, niazimicin, pterygospermin, benzyl isothiocyanate và 4-(a-L-rhamnopyranosyloxy) benzyl glucosinolate có hoạt tính kháng khuẩn cao (Abrams *et al.*, 1993; Abuye *et al.*, 1999; Akhtar *et al.*, 1995; Anderson *et al.*, 1986; Anwar *et al.*, 2003; Asres, 1995, trích dẫn Fahey, 2005). Trong chùm ngây có các hoạt chất sinh học có tác dụng ức chế sự phát triển của vi khuẩn bằng cách phá vỡ các cơ chế của màng và tổng hợp enzyme của vi khuẩn (Brilhante *et al.*, 2017). Các kết quả vừa nêu đã khẳng định hợp chất trong lá chùm ngây có khả năng kháng khuẩn. Mục đích của nghiên cứu nhằm xác định khả năng ngừa bệnh hoại tử gan tụy cấp tính của cao chiết chùm ngây trên tôm thẻ chân trắng.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

2.1.1. Nguồn thảo dược

Lá chùm ngây được thu hái về được rửa sạch, để ráo nước, xay nhuyễn và ngâm trong ethanol 95° với tỷ lệ 1: 4 (100 g lá chùm ngây ngâm trong 400 ml ethanol 95°), ngâm trong 7 ngày. Sử dụng lưới lọc dung dịch ngâm, sau đó phần dịch lọc được sấy ở nhiệt độ 40°C thu được cao chiết chùm ngây và được

¹ Khoa Nông nghiệp - Thủy sản, Trường Đại học Trà Vinh

bảo quản trong tủ lạnh ở nhiệt độ 4 °C để kiểm tra hoạt tính kháng khuẩn (Rahman *et al.*, 2009) và bổ sung vào thức ăn cho tôm thẻ chân trắng.

2.1.2. Nguồn vi khuẩn

Thu mẫu tôm thẻ chân trắng có dấu hiệu bệnh hoại tử gan tụy, phân lập, định danh theo phương pháp của Cowan and Steels (Barrow and Feltham, 1993) kết hợp với sử dụng kit API 20E (BioMerieux, Pháp). Tôm bị chết do AHPND được xét nghiệm bằng bộ kit công ty Nam Khoa. Cặp mồi AP3-F (ATG-AGTAAC-AAT-ATA-AAA-CAT-GAA-AC) & AP3-R (GTG-GTA-ATA-GAT-TGT-ACA-GAA-3) được sử dụng để khuếch đại đoạn gene gây độc (Sirikharin *et al.*, 2014). Chu trình nhiệt thực hiện phản ứng như sau: khởi đầu 95°C trong 15 phút; sau đó biến tính 94°C trong 30 giây; gắn mồi 57°C trong 30 giây; kéo dài 72°C trong 60 giây; và bước kéo dài cuối cùng 72°C trong 10 phút. Sản phẩm của phản ứng PCR được chạy điện di trên gel 1,5% trong dung dịch đệm TBE 1x.

2.1.3. Bể thí nghiệm

Hệ thống bể thí nghiệm là bể kính 60L được rửa bằng nước sạch sau đó khử trùng với chlorine 30 mg/L và phơi nắng khoảng 1 ngày trước khi sử dụng.

2.1.4. Nguồn tôm thí nghiệm

Tôm được sử dụng trong thí nghiệm đạt kích cỡ 1g/con màu sắc sáng, phản ứng nhanh, không có tổn thương bên ngoài và kiểm tra âm tính với các mầm bệnh (WSSV, YHV, MBV, IMNV, HPV và *Vibrio parahaemolyticus* gây bệnh AHPND).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp xác định hoạt tính kháng khuẩn bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch

Chủng vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* mang độc lực gây bệnh AHPND được phục hồi và nuôi tăng sinh trong môi trường TSB có bổ sung 1,5% NaCl. Mật độ vi khuẩn 10^8 CFU/mL được xác định bằng máy so màu quang phổ ở bước sóng 610 nm kết hợp với phương pháp đếm số khuẩn lạc trên môi trường thạch (CFU/mL). Hút 100µl dung dịch huyền phù vi khuẩn nhỏ vào giữa đĩa thạch TSA có bổ sung 1,5% NaCl, cho 100 µL cao chiết lá chum ngậy vào lỗ thạch [1 g cao chiết pha 10 mL trong dimethyl sulfoxide (DMSO)] và 1 lỗ đối chứng âm cho vào 100 µL DMSO, thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Đĩa thạch được đặt trong tủ ấm 37°C trong 24 giờ, đọc kết quả bằng cách đo đường kính vòng vô khuẩn.

2.2.2. Nồng độ ức chế tối thiểu (minimum inhibitory concentration - MIC)

Chủng vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* được nuôi tăng sinh trong môi trường TSB có bổ sung 1,5% NaCl trong 24 giờ. Mật độ vi khuẩn thí nghiệm là 2×10^6 (CFU/ml). Cao chiết lá chum ngậy được pha loãng trong dimethyl sulfoxide (DMSO) với nồng độ 78,125 mg/L, 156,25 mg/L, 312,5 mg/L, 625 mg/L, 1.250 mg/L, 2.500 mg/L, 5.000 mg/L, 10.000 mg/L, 20.000 mg/L, 40.000 mg/L... Mỗi nồng độ chum ngậy được lặp lại 3 lần. Sau 24 giờ đọc và ghi nhận kết quả.

2.2.3. Nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (minimum bacterial concentration - MBC)

Nồng độ diệt khuẩn tối thiểu của thảo cao chiết lá chum ngậy được kiểm tra bằng phương pháp đếm trên đĩa thạch TCBS. MBC là nồng độ cao chiết lá chum ngậy thấp nhất trong môi trường không có vi khuẩn phát triển.

2.2.4. Ảnh hưởng bổ sung cao chiết lá chum ngậy lên tỷ lệ sống của tôm thẻ chân trắng

Thí nghiệm được bố trí với 5 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần. Đối chứng dương (cho tôm ăn thức ăn không bổ sung cao chiết lá chum ngậy và gây cảm nhiễm vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus*), đối chứng âm (cho tôm ăn thức ăn không bổ sung cao chiết lá chum ngậy và không gây cảm nhiễm vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus*), nồng độ 1MIC của cao chiết lá chum ngậy (NT1- cho tôm ăn thức ăn bổ sung 1MIC cao chiết lá chum ngậy và gây cảm nhiễm vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus*), nồng độ 2MIC (NT2 - cho tôm ăn thức ăn bổ sung 2MIC cao chiết lá chum ngậy và gây cảm nhiễm vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus*) và nồng độ 3MIC (NT3 - cho tôm ăn thức ăn bổ sung 3MIC cao chiết lá chum ngậy và gây cảm nhiễm vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus*).

Thí nghiệm được tiến hành trong bể kính chứa 30 L nước với độ mặn 15‰, mỗi nghiệm thức bố trí mật độ 30 con và sục khí liên tục trong suốt quá trình thí nghiệm. Tôm được cho ăn 3 lần/ngày (7 giờ, 13 giờ và 15 giờ) bằng thức ăn Grobest 40% đậm. Tôm ở NT1, NT2 và NT3 cho ăn bổ sung cao chiết lá chum ngậy 10 ngày sau đó tiến hành gây cảm nhiễm vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus*.

Phương pháp gây cảm nhiễm được thực hiện theo phương pháp của Loc Tran và cộng tác viên (2013). Thí nghiệm được theo dõi 14 ngày ghi nhận tỷ lệ sống và dấu hiệu bệnh lý.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 3 đến tháng 10 năm 2019 tại Khoa Nông nghiệp - Thủy sản, Trường Đại học Trà Vinh.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hoạt tính kháng khuẩn cao chiết lá chùm ngây đối với vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus*

Hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết lá chùm ngây đối với vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính được trình bày qua bảng 1.

Bảng 1. Hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết lá chùm ngây đối với vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus*

Cao chiết	Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)	MIC (mg/L)	MBC (mg/L)
Lá chùm ngây	15,3 ± 0,57	20.000	40.000

Đường kính vòng kháng khuẩn của cao chiết lá chùm ngây đối với vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* là 15,3 mm. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Peixoto và cộng tác viên (2011) cho thấy đường kính vòng kháng khuẩn 15,5 mm với chiết xuất chùm ngây bằng ethanol. Tuy nhiên, kết quả này cao hơn nghiên cứu của Hồng Mộng Huyền và cộng tác viên (2018a) khi chiết xuất chùm ngây trong methanol cho kết quả đường kính vòng kháng khuẩn là 9 mm.

Dalukdeniya và cộng tác viên (2016) nghiên cứu đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của chiết xuất từ nước, chiết xuất từ chloroform và chiết xuất methanol thu được từ lá, vỏ cây và rễ của chùm ngây chống lại vi khuẩn gây bệnh *Salmonella enteritica*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Escherichia coli* và *Listeria monocytogenes*. Kết quả cho thấy các chất chiết xuất thu được kháng lại tất cả các vi khuẩn thí nghiệm. Hoạt tính kháng khuẩn thấp nhất là chiết xuất từ nước và cao nhất là chiết xuất từ chloroform. Dịch chiết bột lá chùm ngây trong dung môi ethanol thể hiện hoạt tính kháng khuẩn với cả 2 chủng vi khuẩn *Bacillus subtilis* và *Escherichia coli*. Các dịch chiết bột lá chùm ngây trong các dung môi n-hexan, diclometan, etyl axetat không thể hiện hoạt tính kháng khuẩn với 2 chủng vi khuẩn *Bacillus subtilis* và *Escherichia coli* (Võ Thị Diệu, 2016). Hoạt tính kháng khuẩn của lá chùm ngây trên một số loài vi khuẩn cho thấy với chiết xuất ethanol kết quả kháng

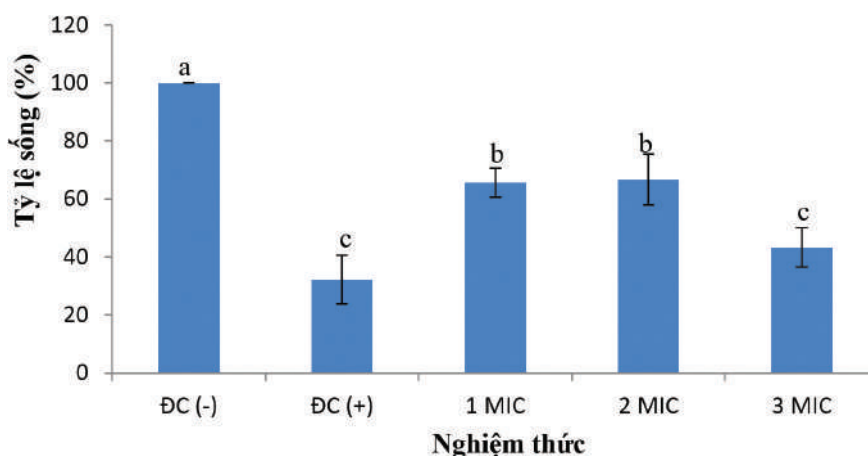
khuyến cao nhất và thấp nhất là chiết xuất từ nước (Doughari *et al.*, 2007).

Thành phần hóa học của chùm ngây có hoạt tính sinh học như axit phenolic, axit gallic, ellagic axit, axit chlorogen, axit ferulic, glucosinolates, flavonoid, quercetin, vanillin và kaempferol, có dinh dưỡng, được phẩm và tính chất kháng khuẩn (Singh *et al.*, 2009; Mensah *et al.*, 2012). Do đó, chùm ngây có thể trở thành các chất chống vi khuẩn tự nhiên ứng dụng tiềm năng trong ngành nuôi trồng thủy sản để kiểm soát bệnh do vi khuẩn gây ra.

Kết quả xác định khả năng ức chế vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* của cao chiết lá chùm ngây là 20.000 mg/L và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu là 40.000 mg/L. Nghiên cứu của Cannillac và Mourey (2001) nếu tỷ lệ MBC/MIC nhỏ hơn hoặc bằng 4 thì chiết xuất được xem là có khả năng diệt khuẩn, tỷ lệ này nhỏ hơn 4 thì chiết xuất có tác dụng kim khuẩn. Từ kết quả nghiên cứu cho thấy cao chiết lá chùm ngây có khả năng diệt được vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus*. Theo nghiên cứu Brillhante và cộng tác viên (2015), khả năng kháng khuẩn của chiết xuất từ thân, lá, quả và hạt của cây chùm ngây chống lại vi khuẩn *Vibrio spp.* được chiết xuất trong chloroform và ethanol, kết quả cho thấy chiết xuất ethanol của quả và lá ức chế vi khuẩn *Vibrio cholerae*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio mimicus* có nồng độ MIC từ 0,312 - 5 mg/mL. Chiết xuất chloroform của hoa có hiệu quả chống lại tất cả *V. cholerae* và *E. coli* (MIC khoảng 0,625 - 1,25 mg/mL). Tuy nhiên, ethanol chiết xuất từ thân và hạt cho thấy hiệu quả thấp trong việc ức chế sự phát triển của vi khuẩn. Nghiên cứu chỉ ra rằng quả, lá và hoa có khả năng kiểm soát được vi khuẩn *Vibrio spp.* trên tôm.

3.2. Ảnh hưởng bổ sung cao chiết lá chùm ngây lên tỷ lệ sống của tôm thẻ chân trắng

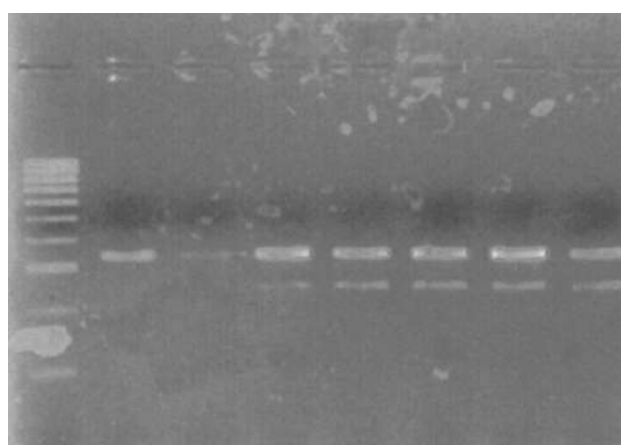
Tôm thẻ chân trắng được cho ăn bổ sung cao chiết chùm ngây 10 ngày trước khi tiến hành gây cảm nhiễm vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính bằng phương pháp ngâm. Lightner và cộng tác viên (2012) cho biết tôm bệnh hoại tử gan tụy trong ao nuôi thường có một số các dấu hiệu như tôm chết đấy, bỏ ăn, gan tụy teo, dai, nhạt màu, ruột rỗng và có hiện tượng mềm vỏ. Sau 24 giờ quan sát gan tụy tôm teo lại, dai, nhạt màu và tôm bắt đầu chết ở các nghiệm thức gây cảm nhiễm bệnh.



Hình 1. Biểu đồ thể hiện tỷ lệ sống sau 14 ngày thí nghiệm

Kết quả cho thấy sau 14 ngày cảm nhiễm tỷ lệ sống của tôm cao nhất ở nghiệm thức đối chứng âm khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức đối chứng dương, nghiệm thức 1MIC, 2MIC và 3MIC. Đối với nghiệm thức bổ sung 1MIC và 2MIC cao chiết lá chùm ngây vào thức ăn cho tôm trước khi cảm nhiễm có tỷ lệ sống cao lần lượt là 65,6% và 66,7% cao hơn so với nghiệm thức không bổ sung cao chiết chùm ngây và khác biệt có ý nghĩa thống kê. Kết quả tỷ lệ sống cũng tương đối thấp ở nghiệm thức bổ sung 3MIC vào thức ăn chỉ đạt 43,3%. Kết quả này cũng tương tự với nghiên cứu của Hồng Mộng Huyền và cộng tác viên (2018b) khi bổ sung 0,5% và 1% chất chiết rong mơ tỷ lệ chết tích lũy thấp nhất (0,5% và 33,33%) và cao nhất là tỷ lệ chết không bổ sung chất chiết rong mơ (53,33%), tuy nhiên khi bổ sung 2% chất chiết rong mơ cho tỷ lệ chết tích lũy 50% sau 14 ngày cảm nhiễm. Tỷ lệ tử vong của tôm càng xanh cao nhất (53%) trong một khoảng thời gian 96 giờ với nghiệm thức đối chứng dương với vi khuẩn *V. anguillarum* so với tỷ lệ chết thấp nhất (27%) khi bổ sung chiết xuất chùm ngây 0,5% (Kaleoa *et al.*, 2019). Một số nghiên cứu về thảo dược chống lại vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* cho thấy các hoạt chất trong thảo dược kích hoạt đại thực bào, tăng hệ thống miễn dịch, tổng hợp cytokine, lysozyme và có tác dụng kháng khuẩn, kháng virút (Dotta *et al.*, 2014; Prabua *et al.*, 2018).

Tôm thí nghiệm ở các nghiệm thức được kiểm chứng bệnh AHPND khi cảm nhiễm, kết quả PCR cho thấy có sự hiện diện của gene độc tố của vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* gây bệnh AHPND.



Hình 2. Kết quả PCR trên tôm thí nghiệm

Giếng M: thang đo DNA, giếng 1: đối chứng âm, giếng 2: NT đối chứng âm, giếng 3: NT 1MIC, giếng 4: NT 2MIC, giếng 5: NT 3MIC, giếng 6: NT đối chứng dương, giếng 7: đối chứng dương.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

- Cao chiết lá chùm ngây kháng khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* gây bệnh AHPND với đường kính vòng vô khuẩn từ $15,3 \pm 0,57$ mm, nồng độ ức chế tối thiểu (MIC là 20.000 mg/L), nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC là 40.000 mg/L).

- Khả năng kháng bệnh AHPND cho thấy sau 14 ngày tôm vẫn còn nhiễm AHPND nhưng tỷ lệ sống tôm đạt cao nhất ở nghiệm thức bổ sung 1MIC (65,6%) và 2MIC (66,7%).

4.2. Đề xuất

Nghiên cứu thêm khả năng kháng khuẩn của một số bộ phận cây chùm ngây (hoa, quả, thân, rễ) với các chiết xuất dung môi khác nhau để tìm ra bộ phận cây chùm ngây có tính kháng khuẩn hiệu quả nhất đối với bệnh AHPND.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bộ Nông nghiệp và PTNT**, 2019. Báo cáo kết quả thực hiện sản xuất, kinh doanh ngành nông nghiệp và phát triển nông thôn tháng 10 và 10 tháng đầu năm 2019.
- Hồng Mộng Huyền, V.T. Huy, T.T.T. Hoa**, 2018a. Hoạt tính kháng khuẩn của một số cao chiết thảo dược kháng vi khuẩn gây bệnh trên tôm nuôi. *Tạp chí Khoa học - Trường Đại học Cần Thơ, số chuyên đề Thủy sản* (2): 1143-150.
- Hồng Mộng Huyền, H.T. Giang, T.T.T. Hoa**, 2018b. Đáp ứng miễn dịch và sức đề kháng với *Vibrio harveyi* của tôm sú (*Penaeus monodon*) ăn thức ăn có bổ sung chất chiết từ rong mơ (*Sargassum microcystum*). *Tạp chí Khoa học - Trường Đại học Cần Thơ, số chuyên đề Thủy sản* (2): 158-167.
- Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn Trà Vinh**, 2019. Báo cáo sơ kết tình hình thực hiện nhiệm vụ 9 tháng đầu năm và kế hoạch 3 tháng cuối năm 2019.
- Tổng cục Thủy sản**, 2017. **Địa chỉ**: <https://tongcucthuysan.gov.vn/vi-vn/tang-cuong-phong-chong-nguy-co-bung-phat-benh-dom-trang-va-hoai-tu-gan-tuy-cap>, ngày truy cập: 20/3/2017.
- Trần Vinh Phương, Hoàng Thị Ngọc Hân, Đặng Thanh Long, Phạm Thị Hải Yến, Nguyễn Quang Linh**, 2019. Hoạt tính kháng khuẩn của dịch chiết từ cây chó đẻ thân xanh (*Phyllanthus amarus*) đối với vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* và *Vibrio sp.* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp trên tôm chân trắng (*Litopenaeus vannamei*). *Tạp chí Khoa học Đại học Huế*: 99-106.
- Võ Thị Diệu**, 2016. *Nghiên cứu chiết tách, xác định thành phần hóa học trong một số dịch chiết của lá và hạt cây chùm ngây*. Luận văn cao học. Trường Đại học Đà Nẵng.
- Barrow, G.I and R.K.A. Feltham**, 1993. *Cowan and Steel's manual for the identification of medical bacteria*. Cambridge university press: 331 pages.
- Brilhante, R.S.N, J.A. Sales, C.M. de Souza Sampaio, F.G. Barbosa, M. de A.N. Paiva, G.M.de Melo Guedes, L.P. de Alencar, T. de Jesus P.G. Bandeira, J.L.B.Moreira, Y.B. de Ponte, D. de S.C.M. Castelo-Branco, W. de A. Pereira-Neto, R.de A. Cordeiro, J.J.C. Sidrim, M. F.G. Rocha**, 2015. *Vibrio spp.* from *Macrobrachium amazonicum* prawn farming are inhibited by *Moringa oleifera* extracts. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 8(11): 919-922.
- Brilhante, R.S.N, J.A. Sales, V.S. Pereira1, D. de S. C. M. Castelo-Branco, R. de A. Cordeiro1, C. M. de S. Sampaio, M. de A. N. Paiva, J. B. F. dos Santos, J.J.C. Sidrim, M. F. G. Rocha**, 2017. Research advances on the multiple uses of *Moringa oleifera*: A sustainable alternative for socially neglected population. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*: 621-630.
- Cannillac and Mourey**, 2001. Antibacterial activity of the essential oil of *Picea excelsa* on *Listeria*, *Staphylococcus aureus* and coliform bacteria. *Food Microbiology*, Volume 18, Issue 3: 261-268.
- Dalukdeniya D.A.C.K., K.L.S.R. De Silva and R.M.U.S.K. Rathnayaka**, 2016. Antimicrobial activity of different extracts of leaves bark and roots of *Moringa oleifera* (Lam). *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 5(7): 687-691.
- Doughari, JH., M.S Pukuma, N. De**, 2007. Antibacterial effects of *Balanites aegyptiaca* L. Drel. and *Moringa oleifera* Lam. on *Salmonella Typhi*. *Afr J Biotechnol* 6 (19): 2212-2215.
- Dotta, G., J.I Alves de Andrade, E.L. Tavares-Gonçalves, A.J.J. Brum, A.A. Mattos, M. Maraschin, M. Laterça-Martins**, 2014. Leukocyte phagocytosis and lysozyme activity in Nile tilapia fed supplemented diet with natural extracts of propolis and *Aloe barbadensis*. *Fish Shellfish Immunol*, 39: 280-284.
- Fahey, J.W**, 2005. *Moringa oleifera*: A Review of the Medical Evidence for Its Nutritional, Therapeutic, and Prophylactic Properties. Part 1.
- Kaleoa, I.V, Q. Gaoc, B. Liua, C. Sunb, Q. Zhou, H. Zhanga, F. Shana, Z. Xionga, L.Boa, C. Song**, 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 and Shellfish Immunology*, 89: 603-613.
- Lightner, D.V, R. M. Redman, C. R. Pantoja, B. L. Noble, T. Loc**, 2012. Early mortality syndrome affects shrimp in Asia. *Global aquaculture advocate*, 2012: 40.
- Loc Tran, L. Nunan, R. M. Redman, L. L. Mohny, C. R. Pantoja, K. Fitzsimmons, D. V. Lightner**, 2013. Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp. *Diseases of aquatic organisms*, 105: 45-55.
- Mensah JK, B. Ikhajiagbe, N.E Edema, J. Emokhor**, 2012. Phytochemical, nutritional and antibacterial properties of dried leaf powder of *Moringa oleifera* (Lam.) from Edo Central Province, Nigeria. *J Nat Prod Plant Resour*, 2(1): 107-112.
- Peixoto J.R.O, G.C. Silva1, R. A. Costa, J.L.D.S. Fontenelle, G.H.F. Vieira, A.A. F.Filho, R.H.S.Fernandes Vieira**, 2011. *In vitro* antibacterial effect of aqueous and ethanolic *Moringa* leaf extracts. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*: 201-204.
- Prabua, D.L, S. Chandrasekara, K. Ambashankarb, J. Syama Dayalb, Sanal Ebenezara, K. Ramachandranb**

- M. Kavithaa, P. Vijayagopala, 2018. Effect of dietary *Syzygium cumini* leaf powder on growth and non-specific immunity of *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) and defense against virulent strain of *Vibrio parahaemolyticus*. *Aquaculture* 489: 9-0.
- Rahman, M.M., M.M.I. Sheikh, S.A. Sharmin, M.S. Islam, M.A. Rahman, M.M. Rahman, M.F. Alam, 2009. Antibacterial activity of leaf juice and extracts of *Moringa oleifera* Lam. against some human pathogenic bacteria. *CMU J. Nat. Sci.* 8: 219-227.
- Sirikharin, R., S. Taengchaiyaphum, K. Sritunyalucksana, S. Thitamadee, T.W. Flegel, R. Mavichak, P. Proespraiwong, 2014. A new and improved PCR method for detection of AHPND bacteria. *Network of Aquaculture Centres in Asia-Pacific* (NACA).
- Singh, BN, B.R. Singh, R.L. Singh, D. Prakash, R. Dhakarey, G. Upadhyay, 2009. Oxidative DNA damage protective activity, antioxidant and anti-quorum sensing potentials of *Moringa oleifera*. *Food Chem Toxicol*, 47(6): 1109-1116.
- Snoussi, M., A. Dehmani, E. Noumi, G. Flamini, A. Papetti, 2016. Chemical composition and antibiofilm activity of *Petroselinum crispum* and *Ocimum basilicum* essential oils against *Vibrio spp.* Strains. *Microbial Pathogenesis*, 90: 13- 21.

Effects of moringa leaf extracts on the survival rate and the resistant ability to acute hepatopancreatic necrosis disease on white leg shrimp

Nguyen Thi Hong Nhi, Nguyen Thi Truc Linh, Phan Thi Thanh Truc

Abstract

The study was carried to evaluate the survival rate and the resistance of moringa leaf extracts to *Vibrio parahaemolyticus* causing acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*). The experiments were conducted with 5 treatments arranged in glass tank system, each contains 30 L of 15‰ seawater, 30 shrimps with the size of 1g/shrimp for each glass tank. The results showed that the extracts of moringa leaves resisted *Vibrio parahaemolyticus* with the inhibition zone from 15-16 mm, minimum inhibitory concentration (MIC = 20,000 mg/L), minimum bactericidal concentration (MBC = 40,000 mg/L). In addition, the experiment of resistance to *Vibrio parahaemolyticus* of moringa leaf extracts showed that the treatments supplemented with 1MIC and 2MIC had the survival rate of shrimp as 65.6% and 66.7%, respectively and was higher than the treatment (positive control) without supplementation of moringa leaf extracts (32.2 %). However, the treatments of 3MIC supplement to shrimp feed, the survival rate of shrimp was only 43.3%. The results suggested that feeding 1MIC and 2MIC concentrations increased the survival rate of shrimp under AHPND-infected conditions.

Keywords: White leg shrimp, *Vibrio parahaemolyticus*, acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND), moringa leaf extracts

Ngày nhận bài: 25/02/2020
Ngày phản biện: 06/3/2020

Người phản biện: PGS. TS. Châu Tài Tảo
Ngày duyệt đăng: 23/3/2020