

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN *BACILLUS* VÀ VI KHUẨN AXIT LACTIC CÓ TIỀM NĂNG ĐỐI KHÁNG VI KHUẨN GÂY BỆNH XUẤT HUYẾT (*Aeromonas veronii*) TRÊN LƯƠN ĐỒNG (*Monopterus albus*)

Nguyễn Văn Tỷ Lợi^{1*}, Nguyễn Văn Thành¹, Lê Minh Khôi²,
Nguyễn Bảo Trung², Từ Thanh Dung^{2*}

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm tuyển chọn các chủng vi khuẩn *Bacillus* spp. và vi khuẩn axit lactic có khả năng đối kháng *Aeromonas veronii* CT07 gây bệnh xuất huyết trên lươn đồng (*Monopterus albus*). Tổng cộng đã phân lập được 30 chủng *Bacillus* spp. và 20 chủng vi khuẩn axit lactic từ lươn khỏe nuôi công nghiệp trên bể ở các tỉnh An Giang, Cần Thơ và Hậu Giang. Kết quả sàng lọc được 6 chủng *Bacillus* spp. và 20 chủng vi khuẩn axit lactic có khả năng kháng vi khuẩn *A. veronii* CT07 bằng phương pháp nhỏ giọt. Trong đó, chủng *Bacillus* B13 và vi khuẩn axit lactic L1 cho kết quả vòng kháng khuẩn lớn nhất. Hơn nữa, qua khảo sát khả năng kháng khuẩn của bacteriocin từ các chủng *Bacillus* spp. và vi khuẩn axit lactic cho thấy có 1/30 chủng *Bacillus* spp. kháng *A. veronii* CT07, trong khi đó 20 chủng vi khuẩn axit lactic không có khả năng ức chế *A. veronii* CT07. Hai chủng vi khuẩn *Bacillus* sp. B13 và vi khuẩn axit lactic L1 được lựa chọn từ kết quả khảo sát thông qua các giá trị kháng khuẩn với *A. veronii* CT07 và tiến hành định danh giải trình tự gen 16s rRNA. Kết quả lần lượt cho thấy *Bacillus* sp. B13 và vi khuẩn axit lactic L1 là hai loài *Bacillus amyloliquefaciens* và *Lactobacillus plantarum*.

Từ khóa: *Aeromonas veronii*, *Bacillus* spp., lươn đồng, vi khuẩn axit lactic

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, nghề nuôi lươn thâm canh hoá dẫn đến xuất hiện nhiều dịch bệnh nghiêm trọng. Một số nghiên cứu tại Trung Quốc đã từng ghi nhận các bệnh xuất huyết/nhiễm trùng huyết do vi khuẩn liên quan đến lươn nuôi bao gồm *Aeromonas veronii*, *Aeromonas hydrophila*, *Micrococcus luteus* và *Edwardsiella tarda* (Gao *et al.*, 2016; Shao *et al.*, 2016; Xia *et al.*, 2019). Trong đó, bệnh xuất huyết trên lươn do nhóm vi khuẩn *Aeromonas* spp. đã gây ra nhiều thiệt hại lớn cho người nuôi. Từ nghiên cứu của Xia và cộng tác viên (2019) cho thấy rằng, lươn nuôi có tỉ lệ chết (40 - 80%) sau 2 - 3 ngày kể từ khi cảm nhiễm với vi khuẩn *A. veronii*. Ngoài ra, nghiên cứu của Shen và cộng tác viên (2001) đã chỉ ra vi khuẩn *A. hydrophila* gây bệnh xuất huyết trên lươn từ giai đoạn giống cho đến thương phẩm. Tại Việt Nam, nghiên cứu của Đặng Thị Hoàng Oanh và Nguyễn Đức Hiền (2012) đã phân lập, định danh được 6 chủng *A. hydrophila* trên lươn đồng gây bệnh xuất huyết. Những nghiên cứu trên chỉ dừng lại ở mức độ xác định tác nhân gây bệnh, cần thêm những nghiên cứu về các giải pháp kiểm soát dịch bệnh. Hiện nay, các men vi sinh được xem là

một biện pháp hữu ích để phòng ngừa các bệnh do vi khuẩn trên vật nuôi.

Nhiều loại chế phẩm sinh học hay probiotics đã được sử dụng trong nuôi trồng thủy sản, vi khuẩn nhóm *Bacillus* và nhóm vi khuẩn axit lactic (LAB) là một trong những loại phổ biến nhất, và được ứng dụng một cách đơn lẻ hoặc phối hợp với nhau. Hai nhóm vi khuẩn này sở hữu nhiều ưu điểm như có khả năng ức chế hoạt động của các chủng vi khuẩn gây bệnh, hỗ trợ tiêu hoá thức ăn, tăng cường miễn dịch, giúp cân bằng hệ vi sinh vật đường ruột, sản xuất exoenzyme và sản xuất các hợp chất kháng khuẩn như bacteriocins (Dey, 2018).

Mục tiêu nghiên cứu nhằm phân lập, tuyển chọn, định danh vi khuẩn *Bacillus* và vi khuẩn axit lactic có khả năng ức chế vi khuẩn gây bệnh xuất huyết (*Aeromonas veronii*) trên lươn đồng *Monopterus albus* (zuiew, 1793) sử dụng cho sản xuất chế phẩm sinh học.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Các chủng *Bacillus* spp. và vi khuẩn axit lactic được phân lập ở ruột từ mẫu lươn khỏe nuôi công

¹ Học viên cao học khóa 27, Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

² Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

* Tác giả liên hệ, e-mail: nguyenvantyl95@gmail.com; ttdung@ctu.edu.vn

nghiệp trên bề ở các tỉnh An Giang, Cần Thơ và Hậu Giang, trong suốt thời gian từ 6/2021 - 12/2021.

Chủng vi khuẩn *Aeromonas veronii* CT07 trong nhóm tác nhân gây bệnh xuất huyết trên lươn đồng đã được giải trình tự gen 16S rRNA, được nhận từ Bộ môn Bệnh học thủy sản thuộc Khoa Thủy sản, trường Đại học Cần Thơ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phân lập và nhận diện các chủng vi khuẩn phân lập được thuộc vi khuẩn *Bacillus* và vi khuẩn axit lactic

Các mẫu lươn nuôi thu thập ở các tỉnh An Giang, Cần Thơ và Hậu Giang được vận chuyển về Khoa Thủy sản, Đại học Cần Thơ, sau đó tiến hành giải phẫu và phân lập *Bacillus* spp. và vi khuẩn axit lactic.

Định danh vi khuẩn *Bacillus* spp. bằng phương pháp mô tả hình dạng khuẩn lạc, tế bào vi khuẩn và cách xác định các chỉ tiêu sinh lý, sinh hóa theo (Zhang *et al.*, 2020) và vi khuẩn axit lactic theo (Ngô Thị Phương Dung và *ctv.*, 2011).

2.2.2. Tuyển chọn chủng vi khuẩn *Bacillus* sp. và vi khuẩn axit lactic có tính đối kháng với vi khuẩn *A. veronii* CT07

Các chủng vi khuẩn phân lập được đánh giá khả năng kháng khuẩn bằng phương pháp nhỏ giọt. Vi khuẩn axit lactic thực hiện theo phương pháp của (Ngô Thị Phương Dung và *ctv.*, 2011). Vi khuẩn *Bacillus* spp. thực hiện theo phương pháp của Ahire và cộng tác viên (2011).

Các chủng vi khuẩn phân lập được đánh giá khả năng kháng khuẩn bằng phương pháp giếng thạch. Chuẩn bị bacteriocin thô được mô tả bởi Yang và cộng tác viên (2012) từ các chủng vi khuẩn *Bacillus* spp. và vi khuẩn axit lactic phân lập được. Dịch bacteriocin thô từ các chủng vi khuẩn được sử dụng cho thí nghiệm, chọn lọc chủng có khả năng đối kháng tốt với vi khuẩn *A. veronii* CT07 bằng phương pháp khuếch tán giếng thạch được thực hiện theo Athanassiadis và cộng tác viên (2009).

Chỉ tiêu theo dõi: Đường kính vòng kháng khuẩn (mm) được tính như sau: $DK = Di - dw$ (Trong đó: *Di* là đường kính vòng ức chế vi khuẩn bao gồm đường kính lỗ (mm) và *dw* là đường kính lỗ (mm)). Tính kháng khuẩn được biểu hiện khi đường kính vòng kháng khuẩn rộng từ 1 mm trở lên.

2.2.3. Định danh vi khuẩn *Bacillus* sp. và vi khuẩn axit lactic bằng phương pháp giải trình tự 16S rRNA

Chủng vi khuẩn vi khuẩn *Bacillus* sp. và vi khuẩn axit lactic có khả năng đối kháng mạnh với vi khuẩn *A. veronii* CT07 được chọn để ly trích DNA và khuếch đại vùng gen 16S rRNA bằng cặp mồi được thiết kế theo Lane (1991) với trình tự sau 27F: 5' AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG 3' và 1492R: 5' GGT TAC CTT GTT ACG ACT T 3'.

Kết quả giải trình tự vùng gen 16S rRNA của vi khuẩn được so sánh với các trình tự trong ngân hàng dữ liệu NCBI bằng công cụ BLAST. Tỷ lệ tương đồng với các trình tự trên cơ sở dữ liệu là cơ sở để định danh vi khuẩn đối kháng.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện trong khoảng thời gian từ tháng 6 năm 2021 đến tháng 02 năm 2022 tại Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học và Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập và nhận diện các chủng vi khuẩn phân lập được thuộc vi khuẩn *Bacillus* và vi khuẩn axit lactic

Trong suốt quá trình thu mẫu đã phân lập được 30 chủng *Bacillus* spp. và 20 chủng vi khuẩn axit lactic. Qua kết quả kiểm tra một số đặc tính hình thái các chủng vi khuẩn trên môi trường Tryptone Soya Agar (TSA) các chủng này được chia thành 6 nhóm lớn (Bảng 2). Bên cạnh đó, từ kết quả kiểm tra sinh hóa cho thấy các chủng vi khuẩn đều ghi nhận được là vi khuẩn Gram dương, có khả năng di động, phản ứng catalase dương tính và sinh bào tử. Ngoài ra, hai chỉ tiêu về hình dạng vi khuẩn (que ngắn hoặc dài) và oxidase (âm hoặc dương) biến động tùy theo loài. Những đặc tính này phù hợp với mô tả của (Zhang *et al.*, 2020; Ebneterab *et al.*, 2020).

Từ kết quả kiểm tra một số đặc tính hình thái các chủng vi khuẩn trên môi trường De Man, Rogosa Sharpe Agar (MRS) các chủng này được chia thành 3 nhóm lớn (Bảng 2). Bên cạnh đó, từ kết quả kiểm tra sinh hóa sinh hóa cho thấy các chủng này có khả năng phân giải CaCO_3 , catalase âm tính, oxidase âm tính, Gram dương, không sinh bào tử và không có khả năng di động. Những đặc tính này phù hợp với mô tả của (Ngô Thị Phương Dung và *ctv.*, 2011; Ghanbari *et al.*, 2009).

Bảng 1. Nguồn gốc *Bacillus* sp. và vi khuẩn axit lactic phân lập

Địa điểm và thời gian thu mẫu	Số bể	Số lượng mẫu (con)	Tổng số phân lập (chủng)	
			Vi khuẩn <i>Bacillus</i>	Vi khuẩn axit lactic
An Giang - 6/2021-12/2021	18	25	8	6
Cần Thơ - 6/2021-12/2021	21	29	11	6
Hậu Giang - 6/2021-12/2021	20	27	11	8
Tổng	59	81	30	20

Bảng 2. Đặc điểm các chủng *Bacillus* spp. phân lập trên môi trường (TSA) và vi khuẩn axit lactic trên môi trường (MRS)

Vi khuẩn	Nhóm	Đặc điểm khuẩn lạc	Tỉ lệ (%)
<i>Bacillus</i>	1	Không đều, trắng ngà, bề mặt nhẵn, bìa nguyên, độ nổi mô	13,3
	2	Không đều, trắng đục, bề mặt láng, bìa nguyên, độ nổi lồi	10
	3	Không đều, trắng đục, bề mặt nhẵn, bìa răng cưa, độ nổi mô	6,7
	4	Tròn, trắng ngà, bề mặt nhẵn, bìa răng cưa, độ nổi mô	26,7
	5	Tròn, trắng đục, bề mặt nhẵn, bìa nguyên, độ nổi mô	13,3
	6	Tròn, trắng đục, bề mặt nhẵn, bìa răng cưa, độ nổi mô	30
Lactic	1	Tròn, trắng sữa, bề mặt láng, bìa nguyên, độ nổi mô	65
	2	Tròn, trắng ngà, bề mặt láng, bìa nguyên, độ nổi mô	25
	3	Tròn, trắng sữa, bề mặt láng, bìa nguyên, độ nổi lồi	10

3.2. Kết quả khảo sát khả năng đối kháng với vi khuẩn *A. veronii* CT07

3.2.1. Phương pháp nhỏ giọt

Qua kết quả thí nghiệm (Bảng 3) cho thấy trong số 30 chủng *Bacillus* spp. phân lập có 6/30 chủng có khả năng đối kháng vi khuẩn gây bệnh *A. veronii* CT07. Trong đó chủng B13 tạo đường kính vòng kháng khuẩn với *A. veronii* CT07 lớn nhất là (14,33 mm), khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với đường kính vòng kháng khuẩn được tạo ra bởi các chủng còn lại. Kết quả khảo sát được tương tự với nghiên cứu của Nguyễn Hải Đăng (2017), đã phân lập và tuyển chọn được 10 chủng *Bacillus* spp. có khả năng đối kháng vi khuẩn gây bệnh *A. hydrophila* gây bệnh đốm đỏ trên cá tra bằng phương pháp nhỏ giọt với vòng kháng khuẩn lớn nhất là (15 mm).

Qua khảo sát đặc tính kháng khuẩn bằng phương pháp nhỏ giọt, kết quả cho thấy cả 20 chủng vi khuẩn axit lactic phân lập được đều có khả năng đối kháng vi khuẩn *A. veronii* CT07 (đường kính vòng kháng khuẩn từ 12,33 - 24,33 mm) (Bảng 4). Qua phân tích thống kê, chủng L1 tạo đường kính vòng kháng khuẩn lớn nhất (24,33 mm) khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các chủng còn lại ($p < 0,05$), kể đến là chủng L4 (20,33 mm) và L19 (20,33 mm). Từ kết quả nghiên cứu của Agustina và cộng tác viên (2022), cho thấy 5 chủng vi khuẩn axit lactic phân lập từ ruột cá chép có khả năng đối kháng lại chủng *A. hydrophila* với đường kính vòng kháng khuẩn (10 - 15,33 mm). Tóm lại, hầu hết các chủng vi khuẩn axit lactic phân lập được đều có khả năng đối kháng *A. veronii* CT07 bằng phương pháp nhỏ giọt.

Bảng 3. Khả năng đối kháng của các chủng vi khuẩn *Bacillus* spp. đối với *A. veronii* CT07 bằng phương pháp nhỏ giọt

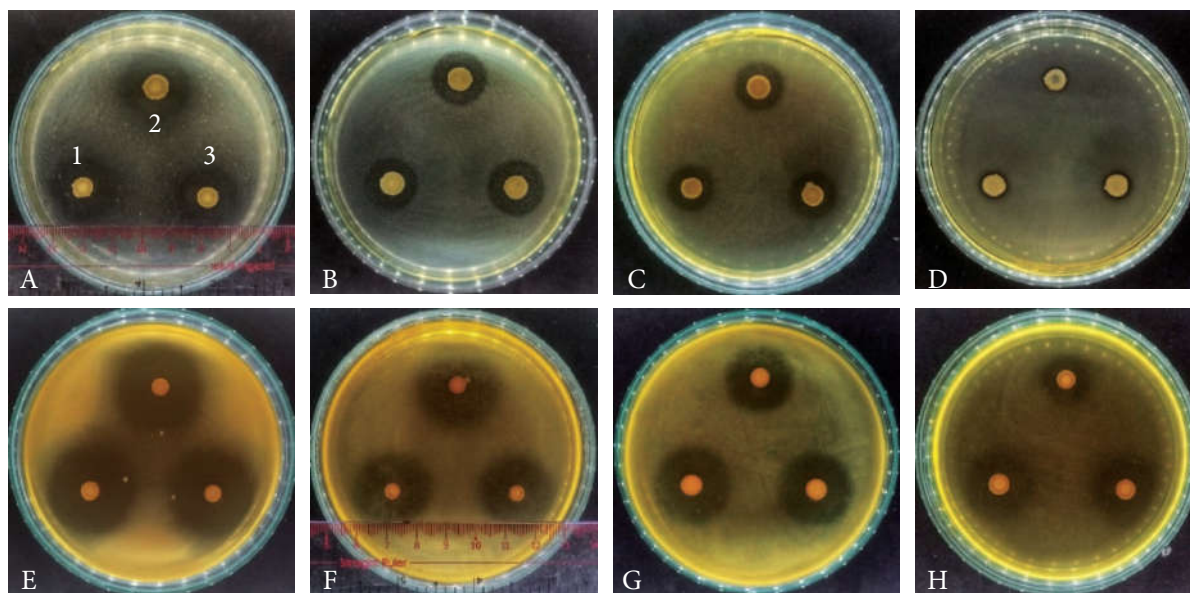
STT	Vi khuẩn <i>Bacillus</i> spp.	Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)
1	B1	2,67 ± 0,57 ^a
2	B5	11 ± 0,0 ^d
3	B12	5,67 ± 0,57 ^c
4	B13	14,33 ± 0,57 ^e
5	B15	4 ± 0,0 ^b
6	B21	2 ± 0,0 ^a

Ghi chú: Số liệu trong bảng là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Các giá trị theo sau có các mẫu tự giống nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức 5%.

Bảng 4. Khả năng đối kháng của các chủng vi khuẩn axit lactic đối với *A. veronii* CT07 bằng phương pháp nhỏ giọt

STT	Vi khuẩn axit lactic	Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)	STT	Vi khuẩn axit lactic	Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)
1	L1	24,33 ± 0,57 ^g	11	L11	12,33 ± 0,57 ^a
2	L2	13,0 ± 0,0 ^{abc}	12	L12	12,67 ± 0,57 ^{ab}
3	L3	17,67 ± 0,57 ^e	13	L13	13,67 ± 0,57 ^{bcd}
4	L4	20,33 ± 0,57 ^f	14	L14	13,67 ± 0,57 ^{bcd}
5	L5	14,67 ± 0,57 ^d	15	L15	13,0 ± 0,0 ^{abc}
6	L6	13,67 ± 1,15 ^{bcd}	16	L16	14,67 ± 0,57 ^d
7	L7	12,67 ± 0,57 ^{ab}	17	L17	13,67 ± 0,57 ^{bcd}
8	L8	13,67 ± 0,57 ^{bcd}	18	L18	16,67 ± 0,57 ^e
9	L9	13,33 ± 0,57 ^{abc}	19	L19	20,33 ± 0,57 ^f
10	L10	14,67 ± 0,57 ^d	20	L20	14,0 ± 1,0 ^{cd}

Ghi chú: Số liệu trong bảng là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Các giá trị theo sau có các mẫu tự giống nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức 5%.

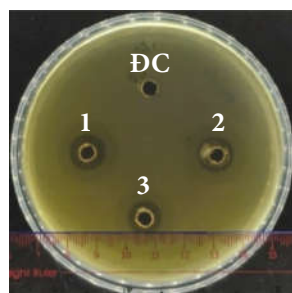


Hình 1. Khả năng đối kháng của các chủng *Bacillus* spp. B13 (A), B5 (B), B12 (C), B21 (D) và vi khuẩn axit lactic L1 (E), L19 (F), L3 (G), L11 (H) đối với *A. veronii* CT07 bằng phương pháp nhỏ giọt

3.2.2. Phương pháp khuếch tán giếng thạch

Qua kết quả thí nghiệm cho thấy trong số 30 chủng *Bacillus* spp. phân lập, chỉ có chủng B13 có khả năng sinh bacteriocin kháng lại vi khuẩn *A. veronii* CT07 khi kiểm tra bằng phương pháp giếng thạch với đường kính vòng kháng khuẩn là (5,67 mm) (Hình 2). Tuy nhiên, cũng bằng phương pháp này cả 20 chủng vi khuẩn axit lactic phân lập được không có khả năng sinh bacteriocin kháng lại vi khuẩn *A. veronii* CT07.

Như vậy, chủng *Bacillus* B13 do có đường kính vòng kháng khuẩn lớn nhất khi khảo sát khả năng kháng vi khuẩn *A. veronii* CT07 bằng phương pháp nhỏ giọt và có khả năng sinh bacteriocin, do đó chủng này được chọn để định danh tên loài. Mặt khác, chủng vi khuẩn axit lactic L1 có đường kính vòng kháng khuẩn khác biệt có ý nghĩa qua phân tích thống kê ($p < 0,05$) so với các chủng còn lại khi khảo sát khả năng kháng vi khuẩn *A. veronii* CT07 bằng phương pháp nhỏ giọt, chính vì vậy chủng này được chọn để định danh tên loài.



Hình 2. Khả năng đối kháng của chủng *Bacillus* B13 đối với *A. veronii* CT07 bằng phương pháp khuếch tán giếng thạch

3.3. Kết quả nhận diện loài bằng phương pháp giải trình tự

Từ kết quả giải trình tự vùng gen 16S rRNA so sánh với dữ liệu trong GenBank cho thấy chủng B13 thuộc chủng *Bacillus amyloliquefaciens* KKU11 với mức độ tương đồng 98,66%, chủng L1 thuộc chủng *Lactobacillus plantarum* RVG4 với mức độ tương đồng 98,56%.

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus amyloliquefaciens strain KKU11 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus amyloliquefaciens	1982	1982	99%	0.0	98.66%	1373	MH114081.1

Bacillus amyloliquefaciens strain KKU11 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
 Sequence ID: [MH114081.1](#) Length: 1373 Number of Matches: 1

Range 1: 211 to 1327 [GenBank](#) [Graphics](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1982 bits(1073)	0.0	1105/1120(99%)	8/1120(0%)	Plus/Minus

Hình 3. Độ tương đồng của chủng B13 với chủng *Bacillus amyloliquefaciens* KKU11

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Lactobacillus plantarum strain RVG4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lactobacillus...	1960	1960	99%	0.0	98.56%	1172	MN480475.1

Lactobacillus plantarum strain RVG4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
 Sequence ID: [MN480475.1](#) Length: 1172 Number of Matches: 1

Range 1: 25 to 1131 [GenBank](#) [Graphics](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1960 bits(1061)	0.0	1097/1113(99%)	9/1113(0%)	Plus/Minus

Hình 4. Độ tương đồng của chủng L1 với chủng *Lactobacillus plantarum* RVG4

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Từ 30 chủng *Bacillus* spp. và 20 chủng vi khuẩn axit lactic phân lập được từ lươn đồng, trong nghiên cứu này đã xác định chủng *L. plantarum* L1 có khả năng đối kháng với vi khuẩn gây bệnh xuất huyết *A. veronii* CT07 mạnh nhất. Đặc biệt, chủng *B. amyloliquefaciens* B13 ngoài khả năng kháng khuẩn *A. veronii* CT07 mạnh còn có khả năng sinh bacteriocin. Do đó, đây là hai chủng vi khuẩn có tiềm năng sử dụng làm chế phẩm sinh học trong việc kiểm soát dịch bệnh trong các mô hình nuôi lươn đồng thâm canh.

4.2. Đề nghị

Tiếp tục nghiên cứu các thí nghiệm *in vivo* trên lươn đồng (*Monopterus albus*) nhằm đánh giá tiềm

năng probiotic của chủng *B. amyloliquefaciens* B13 và *L. plantarum* L1.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ngô Thị Phương Dung, Huỳnh Thị Yến Ly và Huỳnh Xuân Phong**, 2011. Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn lactic có khả năng sinh chất kháng khuẩn. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 19a: 176-184.
- Nguyễn Hải Đăng**, 2017. *Phân lập, tuyển chọn chủng vi khuẩn Bacillus sp. có khả năng ức chế vi khuẩn gây bệnh gan thận mù và đốm đỏ trên cá tra ở tỉnh Đồng Tháp*. Luận văn Thạc sĩ, Trường Đại học Cần Thơ, Thành phố Cần Thơ.
- Đặng Thị Hoàng Oanh và Nguyễn Đức Hiền**, 2012. Phân lập và xác định khả năng gây bệnh xuất huyết trên lươn đồng (*Monopterus Albus*) của vi khuẩn *Aeromonas hydrophila*. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, (22c): 173-182.

- Ahire, J.J., Patil, K.P., Chaudhari, B.L., and Chincholkar, S.B., 2011. *Bacillus* spp. of human origin: a potential siderophoregenic probiotic bacteria. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 164 (3): 386-400.
- Agustina, A., Saptiani, G., and Hardi, E.H., 2022. Isolation and identification of potential lactic acid bacteria as probiotics from the intestines of re pang fish (*Puntiplites waandersi*). *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation*, 15 (1): 24-33.
- Athanassiadis, B., Abbott, P.V., George, N., and Walsh, L.J., 2009. An in vitro study of the antimicrobial activity of some endodontic medicaments and their bases using an agar well diffusion assay. *Australian Dental Journal*, 54 (2): 141-146.
- Dey, G., 2018. *Non-dairy Probiotic Foods: Innovations and market trends. Innovations in technologies for fermented food and beverage industries: pp.159-173.*
- Ebnetorab, S.M.A., Ahari, H., and Kakoolaki, S., 2020. Isolation, biochemical and molecular detection of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* from the digestive system of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and its inhibitory effect on *Aeromonas hydrophila*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 19 (6): 2824-2845.
- Gao, W., Fang, L., Yang, D., Ai, K., Luo, K., Tian, G., Zhou, J., and Xu, Q., 2016. Cloning and expression of Asian swamp eel (*Monopterus albus*) cxcr4 paralogues, and their modulation by pathogen infection. *Aquaculture*, 457: 50-60.
- Ghanbari, M., Rezaei, M., Jami, M., and Nazari, R.M., 2009. Isolation and characterization of *Lactobacillus* species from intestinal contents of beluga (*Huso huso*) and Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). *Iranian Journal of Veterinary Research*, 10 (2): 152-157.
- Lane, D.J., 1991. 16S/23S rRNA sequencing. *Nucleic acid techniques in bacterial systematics: p. 115-175.*
- Shao, J., Yuan, J., Shen, Y., Hu, R., and Gu, Z., 2016. First isolation and characterization of *Edwardsiella tarda* from diseased Asian swamp eel, *Monopterus albus* (Zuiew). *Aquaculture Research*, 47 (11): 3684-3688.
- Shen, J.Y., Liu, W., Qian, D., Cao, Z., Yin, W.L., Shen, Z.H., Wu, Y.L., and Zhang, N.C., 2001. Studies on the pathogens of haemorrhagic disease of *Monopterus albus*. *Journal of Zhejiang Ocean University*, 20 (2): 120-122.
- Xia, L., Han, P., Cheng, X., Li, Y., Zheng, C., Yuan, H., Zhang, W., and Xu, Q., 2019. *Aeromonas veronii* caused disease and pathological changes in Asian swamp eel *Monopterus albus*. *Aquaculture Research*, 50 (10): 2978-2985.
- Yang, E., Fan, L., Jiang, Y., Doucette, C., and Fillmore, S., 2012. Antimicrobial activity of bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from cheeses and yogurts. *Amb Express*, 2 (1): 1-12.
- Zhang, J., Bilal, M., Liu, S., Zhang, J., Lu, H., Luo, H., Ipbal, N.M.H., and Zhao, Y., 2020. Isolation, identification and antimicrobial evaluation of bactericides secreting *Bacillus subtilis* Natto as a biocontrol agent. *Processes*, 8 (3): 259.

Isolation and selection of *Bacillus* and lactic acid bacteria potential against bacteria causing hemorrhagic disease (*Aeromonas veronii*) in eels *Monopterus albus* in the Mekong Delta

Nguyen Van Ty loi, Nguyen Van Thanh, Le Minh Khoi,
Nguyen Bao Trung, Tu Thanh Dung

Abstract

The study aimed to select strains of *Bacillus* spp. and lactic acid bacteria that are resistant to *Aeromonas veronii* CT07 causing hemorrhagic disease in field eels (*Monopterus albus*). In total, 30 strains of *Bacillus* spp. and 20 strains of lactic acid bacteria from healthy eels were raised industrially in tanks in An Giang, Can Tho and Hau Giang provinces. Screening results showed that 6 strains of *Bacillus* spp. and 20 strains of lactic acid bacteria resistant to *A. veronii* CT07 by the drip method. Among them, *Bacillus* B13 and lactic acid bacteria L1 showed the largest diameter of inhibition zone. Moreover, by investigating the antibacterial ability of bacteriocin from *Bacillus* spp. and lactic acid bacteria showed that 1/30 of *Bacillus* spp. resistant to *A. veronii* CT07, while 20 strains of lactic acid bacteria were unable to inhibit *A. veronii* CT07. Two strains of *Bacillus* B13 and lactic acid bacteria L1 were selected from the survey results through antibacterial values with *A. veronii* CT07 and 16s rRNA gene sequencing. The results showed that *Bacillus* sp. B13 and lactic acid bacteria L1 are two species of *Bacillus amyloliquefaciens* and *Lactobacillus plantarum*, respectively.

Keywords: *Aeromonas veronii*, *Bacillus* spp., lactic acid bacteria, field eels

Ngày nhận bài: 31/8/2022
Ngày phản biện: 13/9/2022

Người phản biện: TS. Đinh Thị Thủy
Ngày duyệt đăng: 28/9/2022

NGHIÊN CỨU ƯƠNG GIỐNG TÔM CÀNG XANH (*Macrobrachium rosenbergii*) VỚI MẬT ĐỘ KHÁC NHAU THEO CÔNG NGHỆ BIOFLOC TẠI CÀ MAU

Lý Văn Khánh¹, Nguyễn Thị Ngọc Anh¹ và Mai Xuân Hương²

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm xác định mật độ ương giống tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*) thích hợp trong hệ thống biofloc gồm 6 nghiệm thức với các mật độ 200, 400, 600, 800, 1.000 và 1.200 con/m², mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần. Tôm càng xanh giống có khối lượng 0,012 g và chiều dài 0,95 cm được bố trí trong các ao lót bạt có diện tích 1 m², độ mặn 5‰. Sử dụng ri đường để tạo biofloc với tỷ lệ C/N = 17,5. Kết quả sau 30 ngày ương cho thấy nhiệt độ, pH, TAN và NO₂⁻ của các nghiệm thức nằm trong khoảng thích hợp cho tôm sinh trưởng và phát triển. Thể tích biofloc dao động từ 0,44 ± 0,06 đến 0,98 ± 0,07 mL/L. Khối lượng, chiều dài tôm cao nhất ở nghiệm thức 200 và 400 con/m² khác biệt ý nghĩa thống kê (p < 0,05) so với các nghiệm thức còn lại. Tỷ lệ tôm sống khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p < 0,05) giữa các nghiệm thức. Ở nghiệm thức 1.200 con/m² có năng suất cao nhất. Ương tôm càng xanh ở mật độ 1.200 con/m² có thể được xem là hiệu quả nhất trên đơn vị diện tích sản xuất.

Từ khóa: Tôm càng xanh, ương giống, mật độ, biofloc

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*) là một trong những đối tượng có giá trị kinh tế cao, được nuôi phổ biến ở các tỉnh đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL). Các tỉnh nuôi tôm có diện tích lớn là như Kiên Giang, Cà Mau, Bạc Liêu và Sóc Trăng. Năm 2018, tỉnh Cà Mau có tổng diện tích nuôi tôm càng xanh là 18.315 ha, sản lượng đạt 2.700 tấn chủ yếu tập trung ở huyện Thới Bình (Chi cục Thủy sản tỉnh Cà Mau, 2018). Huyện Thới Bình có chế độ nước ngọt (0‰) vào mùa mưa và nước lợ (4 - 6‰) vào mùa khô thích hợp nuôi tôm càng xanh, và huyện đang phát triển nuôi tôm càng xanh gần 2.000 ha với mật độ thả nuôi từ 0,5 - 3 con/m², năng suất tôm nuôi bình quân đạt từ 150 - 200 kg/ha/vụ, mang lại lợi nhuận khá cao (Chi cục Thủy sản tỉnh Cà Mau, 2018). Tuy nhiên, việc chủ động nguồn giống phục vụ nuôi tôm thương phẩm cả về chất lượng và số lượng chưa đạt hiệu quả cao. Các mô hình nuôi tôm chủ yếu thả giống trực tiếp, một số ít ương trước khi thả nuôi. Các hình thức ương như ương trong ao, vèo, bể xi măng còn nhiều hạn chế như mật độ thấp, chi phí thức ăn cao, không đảm bảo an toàn sinh học nên việc ứng dụng công nghệ biofloc để ương giống tôm càng xanh phục vụ cho nuôi tôm thương phẩm là rất cần thiết.

Biofloc được nghiên cứu và ứng dụng trong nuôi trồng thủy sản trong thời gian gần đây (Conquest and Tacon, 2006, được trích dẫn bởi Nguyễn Văn Hòa, 2019). Công nghệ biofloc được ứng dụng trong nuôi

trồng thủy sản là một giải pháp hữu hiệu để cải thiện môi trường nước và là nguồn thức ăn tốt cho đối tượng nuôi (De Schryver *et al.*, 2008; Avnimelech, 2012). Trên thế giới, công nghệ biofloc đã được áp dụng trong việc sản xuất, ương giống và nuôi thương phẩm nhiều loài nước lợ hay mặn như tôm thẻ chân trắng, tôm sú, cá rô phi. Trong ương giống tôm càng xanh, mật độ nuôi ảnh hưởng lớn đến tỉ lệ sống và tăng trưởng của tôm giống (Châu Tài Tảo và *ctv.*, 2016). Nghiên cứu ương giống tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*) với mật độ khác nhau theo công nghệ biofloc tại Cà Mau nhằm tìm ra mật độ ương thích hợp cho tăng trưởng và tỷ lệ sống tối ưu.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Tôm càng xanh giống toàn đực (PL12) được mua tại Trung tâm Giống thủy sản An Giang có khối lượng 0,012 g và chiều dài 0,95 cm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên với 6 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần tương ứng với mật độ khác nhau 200, 400, 600, 800, 1.000 và 1.200 con/m². Tôm càng xanh giống toàn đực có khối lượng trung bình 0,012 g và chiều dài trung bình 0,95 cm được bố trí trong các bể lót bạt, mỗi bể có diện tích 1 m² với mực nước trong bể 0,8 m và nước được sục khí liên tục. Thời gian ương là 30 ngày.

¹ Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

² Học viên Cao học K27, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

* Tác giả liên hệ, e-mail: lvkhanh@ctu.edu.vn