

DOI:10.22144/ctu.jsi.2020.015

KHẢO SÁT HOẠT TÍNH KHÁNG NẤM CỦA MỘT SỐ CHẤT CHIẾT THẢO ĐƯỢC LÊN VI NẤM GÂY BỆNH TRÊN CÁ LÓC

Đặng Thụy Mai Thy*, Bùi Thị Bích Hằng và Trần Thị Tuyết Hoa

Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Đặng Thụy Mai Thy (email: dtmthy@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 21/10/2019

Ngày nhận bài sửa: 02/12/2019

Ngày duyệt đăng: 23/04/2020

Title:

Antifungal activity of extracted herbs on snakehead pathogenic fungal

Từ khóa:

Achlya, chất chiết thảo dược, MIC, MFC, Saprolegnia

Keywords:

Achlya, herbal extracts, MIC, MFC, Saprolegnia

ABSTRACT

This study was carried out to determine the effects of extracted herbs as anti-fungal agents on *Achlya* sp. and *Saprolegnia* sp. The antifungal activity, minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration (MFC) of five herbs including *Chromolaena odorata*, *Achyranthes aspera*, *Carica papaya*, *Perilla frutescens* and *Muntingia calabura* were examined for snakehead pathogenic *Achlya* sp. and *Saprolegnia* sp. The result indicated that extract of *Perilla frutescens* showed antifungal activity higher than those of the remaining herbs. MIC and MFC of *Perilla frutescens* showed the most effective against to both fungal hyphae and zoospore of *Achlya* sp. and *Saprolegnia* sp. in 1.6 mg/mL at 24 h exposure. *Chromolaena odorata* and *Achyranthes aspera* exhibited antifungal activity to hyphae and zoospores at concentrations of 3.2 mg/mL. The hyphae of *Achlya* sp. and *Saprolegnia* sp. were grown when they were exposed to 100, 50, 25, 12.5 and 6.4 mg/mL of *Carica papaya* solution.

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm khảo sát ảnh hưởng của chất chiết thảo dược đến vi nấm *Achlya* sp. và *Saprolegnia* sp. Hoạt tính kháng nấm, nồng độ ức chế tối thiểu (MIC), nồng độ kháng nấm tối thiểu (MFC) của năm chất chiết thảo dược gồm cỏ lào (*Chromolaena odorata*), cỏ xước (*Achyranthes aspera*), đu đủ (*Carica papaya*), tía tô (*Perilla frutescens*) và trứng cá (*Muntingia calabura*) được thực hiện với vi nấm *Achlya* sp. và *Saprolegnia* sp. gây bệnh trên cá lóc. Kết quả cho thấy chất chiết tía tô có hiệu quả kháng nấm tốt hơn so với các chất chiết thảo dược còn lại. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) và nồng độ kháng nấm tối thiểu (MFC) của tía tô có hiệu quả tốt nhất đối với sợi nấm và bào tử *Achlya* sp. và *Saprolegnia* sp. ở nồng độ 1,6 mg/mL sau 24 giờ. Chất chiết cỏ lào và cỏ xước có khả năng kháng sợi nấm và bào tử ở nồng độ 3,2 mg/mL. Sợi nấm *Achlya* sp. và *Saprolegnia* sp. vẫn phát triển khi ngâm trong chất chiết đu đủ ở các nồng độ 100, 50, 25, 12,5 and 6,4 mg/mL.

Trích dẫn: Đặng Thụy Mai Thy, Bùi Thị Bích Hằng và Trần Thị Tuyết Hoa, 2020. Khảo sát hoạt tính kháng nấm của một số chất chiết thảo dược lên vi nấm gây bệnh trên cá lóc. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 56(Số chuyên đề: Thủy sản)(1): 129-136.

1 GIỚI THIỆU

Vi nấm thuộc họ Saprolegniaceae là nguyên nhân gây bệnh chủ yếu trên nhiều loài động vật thủy sản và ở các giai đoạn khác nhau (Hussein *et al.*, 2002). Vi nấm nhiễm trên động vật thủy sản thông thường là bệnh mãn tính, tuy nhiên cũng gây thiệt hại kinh tế cho nghề nuôi thủy sản. *Saprolegnia* là tác nhân cơ hội gây bệnh trên cá chép (*Cyprinus carpio*), cá *Odonthetes bonariensis* và cá lóc (*Chanos chanos*) ở Nhật Bản (Kitancharoen *et al.*, 1995). Vi nấm *Achlya bisexualis* được tìm thấy trên cá rô phi vằn ở Thái Lan (Panchai *et al.*, 2007). Các loài *Saprolegnia* đã được định danh từ nước, trứng và cá tại các trang trại nuôi cá hồi (*Salmo salar*) ở Na Uy (Thoen *et al.*, 2015). Ở Việt Nam, *A. bisexualis* phân lập trên cá lóc ở giai đoạn giống (Phạm Minh Đức và *ctv.*, 2011). Ngoài ra, khảo sát mầm bệnh trên cá lóc nuôi thâm canh trong ao đã phân lập được 4 giống vi nấm, đặc biệt *Achlya* sp. chỉ xuất hiện ở tháng nuôi thứ nhất và thứ ba (Phạm Minh Đức và *ctv.*, 2012). *Achlya* sp. và *Saprolegnia* sp. cũng được tìm thấy trên cá tra giống (Đặng Thụy Mai Thy và *ctv.*, 2016). Bên cạnh đó, kết quả khảo sát thành phần vi nấm nhiễm trên cá lóc bệnh đã phát hiện vi nấm *Achlya bisexualis*, *Protoachlya* sp. và *Saprolegnia* sp. (Đặng Thụy Mai Thy, 2017).

Trong nuôi trồng thủy sản, các sản phẩm có nguồn gốc từ thảo dược ngày càng được quan tâm để thay thế hoá chất khử trùng, diệt mầm bệnh, diệt tạp và thuốc kháng sinh. Sử dụng thảo dược và chất chiết thảo dược là phương pháp phòng trị bệnh do tác nhân vi nấm gây ra được đánh giá như liệu pháp hiệu quả mới (Abad *et al.*, 2007). Thử nghiệm khả năng kháng nấm của các chất chiết từ cỏ mực cho thấy alkaloids, flavonoid và saponins có khả năng kháng *Fusarium solani* (Hussain *et al.*, 2011). Nghiên cứu đánh giá hoạt tính kháng nấm của 40 chất chiết thảo dược cho thấy các loại thảo dược như cây giần sàng (*Cnidium monnieri*), cây hậu phác (*Magnolia officinalis*) và cây vân mộc hương (*Aucklandia lappa*) có khả năng ức chế sự phát triển của vi nấm *Saprolegnia* sp. và *Achlya klebsiana* ở nồng độ 62,5 mg/mL (Abdel-Tawwab *et al.*, 2010). Vi nấm *Saprolegnia* sp. bị ức chế sự phát triển bởi chiết xuất từ rễ cây vân hương (*Ruta graveolens*) (Karoui *et al.*, 2012). Tinh dầu từ rễ cây *Laureliopsis philippiana* có khả năng ức chế sự phát triển của *S. parasitica* và *S. australis* ở MIC 30 µg/mL và MFC 50 µg/mL (Madrid *et al.*, 2015). Các loài *Achlya* được phân lập từ cá rô phi ở Thái Lan bị ảnh hưởng bởi các loại chiết xuất từ cây thạch lựu (*Punica granatum*), cây họ đào (*Syzygium gratum*),

cây chùm ruột núi (*Phyllanthus emblica*) và cây chiều liêu hồng (*Terminalia chebula*) (Panchai *et al.*, 2015). Ở Việt Nam, nghiên cứu của Đặng Thụy Mai Thy (2017) cho thấy cây cỏ mực (*Eclipta alba*) và cây diệp hạ châu (*Phyllanthus amarus*) có khả năng ức chế sự phát triển của sợi nấm *A. bisexualis* ở các nồng độ lần lượt là 10 g/L và 20 g/L trong 48 giờ. Vi nấm *Saprolegnia* sp. bị diệt ở nồng độ 15.000 ppm và 13.000 ppm với thời gian ngâm sau 6 và 24 giờ trong nước ép lá họ (*Allium tuberosum*) (Trương Thị Mỹ Hạnh và *ctv.*, 2018). Nhìn chung, thảo dược và chất chiết thảo dược đã và đang được sử dụng phổ biến hơn trong nuôi trồng thủy sản tuy nhiên nghiên cứu về tác dụng kháng nấm của thảo dược vẫn còn hạn chế. Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định ảnh hưởng của một số chiết xuất thảo dược lên vi nấm *Achlya* và *Saprolegnia* gây bệnh trên cá lóc từ đó bổ sung thêm thông tin khoa học về phòng và trị bệnh do vi nấm trên động vật thủy sản.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Nguồn vi nấm

Các chủng vi nấm được lưu trữ tại Bộ môn Bệnh học thủy sản, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ. Vi nấm *Achlya* sp. A1801, *Achlya* sp. A1803, *Saprolegnia* sp. S1701 và *Saprolegnia* sp. S1801 được phục hồi trên môi trường Glucose Yeast-extract Agar – GYA (1% glucose, 0,25% Yeast-extract và 1,5% agar) (Hatai and Egusa, 1979) ở 28°C trong 5 - 7 ngày để sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo (Bảng 1).

2.2 Nguồn thảo dược

Các cây thảo dược được thu ở các tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long bao gồm: cỏ lào *Chromolaena odorata*, cỏ xước *Achyranthes aspera*, đu đủ *Carica papaya*, tía tô *Perilla frutescens* và trứng cá *Muntingia calabura*. Cây thảo dược sau khi thu về loại bỏ phần sâu bệnh, rửa sạch và sấy khô ở nhiệt độ từ 40-45°C. Mẫu sau khi khô được xay nhuyễn thành mẫu bột nguyên liệu. Bột nguyên liệu được cho vào túi vải và ngâm trong dung môi methanol. Mẫu được ngâm năm lần, mỗi lần ngâm khoảng 24 giờ, dịch chiết từ các lần ngâm được gom lại, cô quay đuổi dung môi thu được cao tổng thực vật (Nguyễn Kim Phi Phụng, 2007).

2.3 Phương pháp xác định ảnh hưởng của chất chiết thảo dược đến sợi nấm

Cắt mẫu agar có nấm thuần (5x5 mm) cho vào các ống nghiệm có chứa 1 mL chất chiết thảo dược ở các nồng độ 100; 50; 25; 12,5 và 6,4 mg/mL. Dung dịch 10% DMSO được sử dụng làm đối chứng và

mỗi nghiệm thức được lặp lại ba lần. Các ống nghiệm được ủ trong tủ ấm ở 28°C và đọc kết quả sau hai ngày. Trong trường hợp không có sợi nấm phát triển, khối nấm được cấy trên môi trường GYA và đọc kết quả sau ba ngày. So sánh sự phát triển của sợi nấm ở các ống nghiệm ngâm chất chiết thảo dược và đối chứng để xác định ảnh hưởng của chiết xuất thảo dược lên sự phát triển của sợi nấm (Borisutpeth *et al.*, 2009 có điều chỉnh).

2.4 Phương pháp xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC)

Chất chiết thảo dược có hoạt tính kháng nấm được chọn để xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC). Nồng độ ức chế tối thiểu được thực hiện bằng phương pháp pha loãng với tỉ lệ 1:1; 1:2; 1:4; 1:8; 1:16; 1:32; 1:64;... Mỗi nồng độ chất chiết thảo dược được lặp lại ba lần. MIC được xác định là nồng độ thấp nhất của chất chiết thảo dược không có vi nấm phát triển (Panchai *et al.*, 2015).

2.5 Phương pháp xác định nồng độ diệt nấm tối thiểu (MFC)

Các nồng độ ức chế tối thiểu sự phát triển của sợi nấm được sử dụng để xác định nồng độ diệt nấm tối thiểu (MFC). Dùng ống cấy nấm số hai cấy mẫu agar có nấm thuần cho vào ống nghiệm ở các nồng độ chất chiết thảo dược khác nhau trong 1, 2, 6 và 24 giờ. Sau đó, khối agar có vi nấm này được rửa sạch bằng nước cất tiệt trùng và cấy vào môi trường GYA. Mỗi nghiệm thức được lặp lại ba lần. MFC được xác định là nồng độ thấp nhất của chiết xuất thảo dược không có vi nấm phát triển (Panchai *et al.*, 2015).

2.6 Phương pháp xác định ảnh hưởng của chất chiết thảo dược đến sự phát triển của bào tử vi nấm

Chọn hai chất chiết thảo dược có hoạt tính kháng nấm nhạy để thực hiện xác định ảnh hưởng của chất chiết thảo dược đến sự phát triển của bào tử vi nấm.

Các chủng vi nấm được nuôi cấy trên môi trường có 20 mL môi trường GY lỏng ủ ở 28°C trong vòng hai ngày. Thu các sợi nấm và rửa sạch sợi nấm với nước vô trùng và cho sợi nấm vào 25 mL môi trường nước vô trùng tiếp tục ủ 28°C. Sau 24 giờ thu bào tử nấm và xác định mật độ bào tử bằng buồng đếm hồng cầu. Cho 100 µL chất chiết thảo dược ở các nồng độ 64, 32, 16 và 8 mg/mL vào 900 µL dung dịch bào tử vi nấm với mật độ 1×10^3 bào tử/mL. Nghiệm thức đối chứng gồm 100 µL dung dịch 10% DMSO và 900 µL dung dịch bào tử vi nấm. Hỗn hợp được ủ trong tủ ấm ở 28°C trong 1, 2, 6 và 24 giờ. Sau đó cho 100 µL hỗn hợp sang đĩa petri có môi trường GYA, tán đều và tiếp tục ủ ở 28°C. Quan sát sự nảy mầm của bào tử sau 24-48 giờ. Thí nghiệm được lặp lại ba lần. (Borisutpeth *et al.*, 2009 có điều chỉnh).

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Kết quả thí nghiệm

3.1.1 Ảnh hưởng của chất chiết thảo dược đến sự phát triển của sợi nấm

Kết quả thí nghiệm cho thấy nấm chất chiết thảo dược ảnh hưởng đến sự phát triển của các chủng vi nấm *Achlya* sp. A1801, *Achlya* sp. A1803, *Saprolegnia* sp. S1701 và *Saprolegnia* sp. S1801 (Bảng 1). Cụ thể, chất chiết cỏ lào, cỏ xước ức chế hoàn toàn hai chủng *Saprolegnia* sp. S1701 và S1801. Ngoài ra chất chiết cỏ lào, cỏ xước và trứng cá ở nồng độ 6,4 mg/mL còn ức chế một phần sự phát triển của vi nấm *Achlya* sp. A1801 và *Achlya* sp. A1803. Vi nấm *Achlya* sp. (A1801 và A1803) và *Saprolegnia* sp. (S1701 và S1801) không phát triển ở các nồng độ 100; 50; 25 và 12,5 mg/mL của cỏ lào, cỏ xước và trứng cá. Tuy nhiên, chất chiết đu đủ ở các nồng độ 25; 12,5 và 6,4 mg/mL không tác động lên sự phát triển của các chủng *Achlya* sp. và *Saprolegnia* sp., riêng nồng độ 100 mg/mL cho thấy vi nấm bị ức chế hoàn toàn. Ngược lại, tía tô có khả năng ức chế bốn chủng vi nấm *Achlya* sp. và *Saprolegnia* sp. ở tất cả nồng độ thí nghiệm.

Bảng 1: Ảnh hưởng của chất chiết thảo dược đến sợi nấm

Chất chiết thảo dược	Chủng vi nấm	Nồng độ mg/mL									
		100		50		25		12,5		6,4	
		PT	SS	PT	SS	PT	SS	PT	SS	PT	SS
Cỏ lào	A1801	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	A1803	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	S1701	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	S1801	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Cỏ xước	A1801	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	A1803	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	S1701	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	S1801	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Đu đủ	A1801	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	A1803	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	S1701	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	S1801	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Tía tô	A1801	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	A1803	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	S1701	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	S1801	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Trứng cá	A1801	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	A1803	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
	S1701	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	S1801	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+

(Ghi chú: PT: sợi nấm phát triển sau 2 ngày; SS: trong trường hợp không có sợi nấm phát triển, khối nấm được cấy trên môi trường GYA và đọc kết quả sau 3 ngày; (+): sợi nấm phát triển; (-): sợi nấm không phát triển)

3.1.2 Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của chất chiết thảo dược đối với vi nấm

Vi nấm *Achlya* sp.

Kết quả xác định nồng độ ức chế tối thiểu MIC của chất chiết thảo dược đến vi nấm *Achlya* sp. cho thấy hoạt tính kháng nấm của tía tô tốt nhất ở nồng độ 1,6 mg/mL. Các chất chiết cỏ lào, cỏ xước và trứng cá đều có nồng độ ức chế tối thiểu là 3,2 mg/mL. Đu đủ là chất chiết thảo dược không ảnh hưởng đến sự phát triển của sợi nấm *Achlya* sp. ở

các nồng độ 0,8; 1,6 và 3,2 mg/mL. Đường kính khuẩn lạc của hai chủng *Achlya* sp. (A1801 và A1803) từ 27 – 31 mm ở các nồng độ chất chiết thảo dược khác nhau và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Đường kính khuẩn lạc của vi nấm *Achlya* sp. càng giảm khi nồng độ của chất chiết thảo dược càng tăng và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Ở nghiệm thức đối chứng không ngâm chất chiết thảo dược, đường kính khuẩn lạc của chủng *Achlya* sp. A1801 từ 34 – 36,6 mm và chủng *Achlya* sp. A180 từ 35,4 – 43,6 mm (Bảng 2, Hình 1 A và B).

Bảng 2: Nồng độ ức chế tối thiểu MIC của chất chiết thảo dược với vi nấm *Achlya* sp

Chất chiết thảo dược	Chủng nấm	Nồng độ mg/mL				
		ĐC	0,8	1,6	3,2	6,4
Cỏ lào	A1801	35,3 ± 0,3 ^a	29,3 ± 0,3 ^b	27,7 ± 0,3 ^c	-	-
	A1803	36,7 ± 0,3 ^a	29,3 ± 0,3 ^b	24,3 ± 0,3 ^c	-	-
Cỏ xước	A1801	36,3 ± 0,3 ^a	31,3 ± 1,3 ^b	27,7 ± 0,3 ^c	-	-
	A1803	42,3 ± 1,3 ^a	32,7 ± 0,3 ^b	23,3 ± 0,3 ^c	-	-
Đu đủ	A1801	35,3 ± 0,3 ^a	30,7 ± 0,3 ^b	28,3 ± 0,3 ^c	27,7 ± 0,3 ^c	-
	A1803	40,7 ± 0,3 ^a	30,3 ± 1,3 ^b	29,7 ± 1,3 ^b	27,7 ± 0,3 ^c	-
Tía tô	A1801	34,3 ± 0,3 ^a	26,3 ± 0,3 ^b	-	-	-
	A1803	37,7 ± 0,3 ^a	25,3 ± 0,3 ^b	-	-	-
Trứng cá	A1801	36,3 ± 0,3 ^a	27,7 ± 0,3 ^b	24,7 ± 0,3 ^c	-	-
	A1803	35,7 ± 0,3 ^a	29,7 ± 2,3 ^b	25,3 ± 0,3 ^c	-	-

(*: Đường kính khuẩn lạc (mm) sau 3 ngày; (-) : nấm không phát triển; các chữ cái giống nhau trong cùng một hàng thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$))

Vi nấm *Saprolegnia* sp.

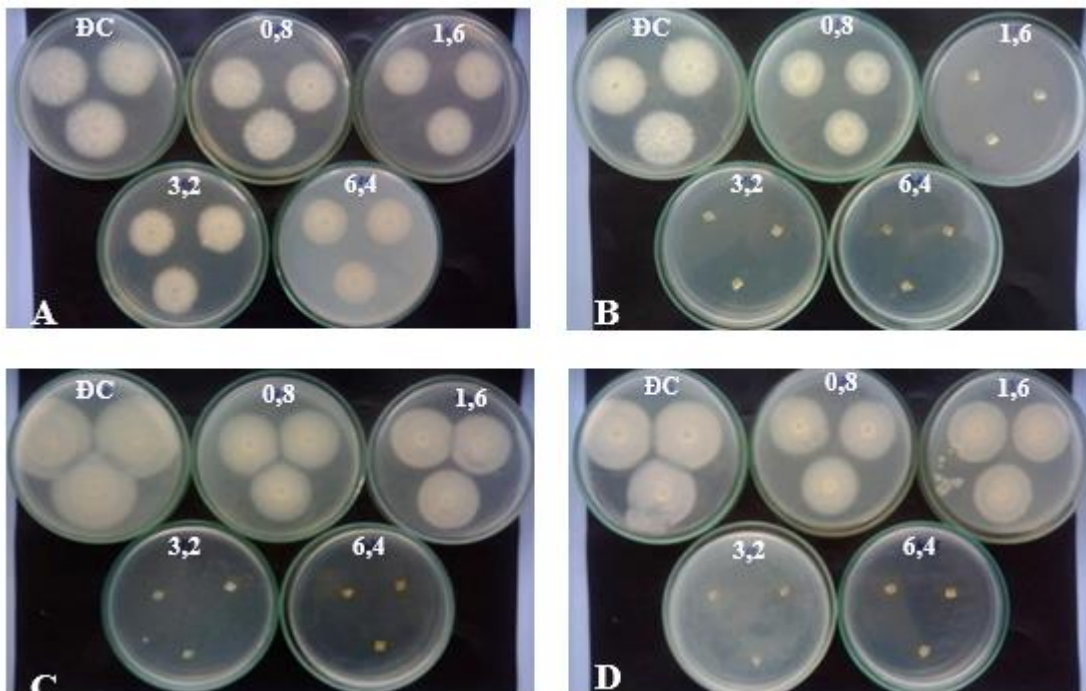
Tương tự, nồng độ ức chế tối thiểu MIC của các chất chiết trứng cá đến sợi nấm của hai chủng *Saprolegnia* sp. (S1701 và S1801) là cao nhất 6,4 mg/mL. Các chất chiết cỏ lào, cỏ xước cũng có nồng độ ức chế tối thiểu là 3,2 mg/mL. Nồng độ ức chế tối thiểu MIC của tía tô đối với *Saprolegnia* sp.

S1701 và *Saprolegnia* sp. S1801 là thấp nhất 1,6 mg/mL. Đu đủ không có hiệu quả kháng vi nấm *Saprolegnia* sp. (Bảng 4). Nồng độ chất chiết thảo dược càng giảm đường kính khuẩn lạc của *Saprolegnia* sp. càng tăng và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Đường kính khuẩn lạc của hai chủng *Saprolegnia* sp. ở nghiệm thức đối chứng từ 33 – 45,6 mm (Bảng 3, Hình 1C và D).

Bảng 3: Nồng độ ức chế tối thiểu MIC của chất chiết thảo dược với vi nấm *Saprolegnia* sp.

Chất chiết thảo dược	Chủng nấm	Nồng độ mg/mL				
		ĐC	0,8	1,6	3,2	6,4
Cỏ lào	S1701	45,3 ± 0,3 ^{*a}	36,7 ± 0,3 ^b	33,3 ± 0,3 ^c	-	-
	S1801	38,7 ± 1,3 ^a	36,7 ± 1,3 ^b	34,7 ± 1,3 ^c	-	-
Cỏ xước	S1701	37,7 ± 0,3 ^a	35,7 ± 0,3 ^b	33,3 ± 0,3 ^c	-	-
	S1801	42,7 ± 0,3 ^a	37,3 ± 0,3 ^b	34,7 ± 1,3 ^c	-	-
Đu đủ	S1701	50,7 ± 0,3 ^a	37,7 ± 0,3 ^b	36,7 ± 0,3 ^b	34,7 ± 0,3 ^c	32,0 ± 1,3 ^c
	S1801	37,7 ± 0,3 ^a	36,3 ± 1,3 ^a	34,7 ± 1,3 ^b	33,7 ± 0,3 ^b	32,3 ± 0,3 ^b
Tía tô	S1701	39,7 ± 1,3 ^a	34,3 ± 1,3 ^b	-	-	-
	S1801	40,7 ± 0,3 ^a	32,3 ± 0,3 ^b	-	-	-
Trứng cá	S1701	39,7 ± 0,3 ^a	34,7 ± 0,3 ^b	22,3 ± 0,3 ^c	18,3 ± 1,3 ^d	-
	S1801	40,3 ± 0,3 ^a	36,3 ± 0,3 ^b	22,7 ± 2,3 ^c	19,0 ± 0,3 ^d	-

(*: Đường kính khuẩn lạc (mm) sau 3 ngày; (-): vi nấm không phát triển; các chữ cái giống nhau trong cùng một hàng thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$))



Hình 1: Ảnh hưởng của chiết xuất thảo dược đến vi nấm *Achlya* sp. và *Saprolegnia* sp

A: Đu đủ - A1801; B: Tía tô – A1801; C: Cỏ lào – S1701 và D: Cỏ xước – S1701

3.1.3 Nồng độ kháng nấm tối thiểu (MFC) của chất chiết thảo dược đối với vi nấm

Kết quả ghi nhận thời gian và nồng độ chất chiết thảo dược ức chế sự phát triển của các chủng vi nấm. Nồng độ diệt nấm tối thiểu MFC của chất chiết tía tô là 1,56 mg/mL ở vi nấm *Achlya* sp. A1801 sau 24 giờ và các chủng *Achlya* sp. A1801, *Saprolegnia* sp. S1701 và S1801 sau 48 giờ. Hiệu quả diệt nấm

Achlya sp. và *Saprolegnia* sp. của các chất chiết cỏ lào và cỏ xước là 3,2 mg/mL tốt nhất sau 48 giờ. Tuy nhiên, nồng độ diệt nấm MFC của chất chiết trứng cá với *Achlya* sp. là 3,2 mg/mL sau 48 giờ thấp hơn đối với vi nấm *Saprolegnia* sp. là 6,4 mg/mL sau 24 giờ (Bảng 4). Khả năng diệt nấm của các chiết xuất thảo dược lần lượt là tía tô, cỏ lào, cỏ xước và trứng cá.

Bảng 4: Nồng độ kháng nấm tối thiểu (MFC) của chiết xuất thảo dược đến vi nấm

Chất chiết thảo dược	<i>Achlya</i> sp.		<i>Saprolegnia</i> sp.	
	A1801	A1803	S1701	S1801
	Nồng độ (mg/L)/Thời gian (h)			
Cỏ lào	3,2 / 24 h	3,2 / 48 h	3,2 / 48 h	3,2 / 24 h
Cỏ xước	3,2 / 48 h	3,2 / 48 h	3,2 / 48 h	3,2 / 48 h
Tía tô	1,6 / 24 h	1,6 / 48 h	1,6 / 48 h	1,6 / 48 h
Trứng cá	3,2 / 48 h	3,2 / 48 h	6,4 / 24 h	6,4 / 24 h

3.1.4 Ảnh hưởng của chất chiết thảo dược đến sự phát triển của bào tử vi nấm

Chất chiết tía tô và cỏ lào có khả năng diệt bào tử của các chủng vi nấm *Achlya* sp. và *Saprolegnia* sp. ở nồng độ 3,2 mg/mL lần lượt sau 6 giờ và 24 giờ. Ngoài ra, sau 24 giờ ngâm bào tử trong chất chiết tía tô ở nồng độ 1,6 mg/mL, bào tử các chủng

vi nấm *Achlya* sp. và *Saprolegnia* sp. không nảy mầm nhưng trong chất chiết cỏ lào thì bào tử bị ức chế một phần và vẫn phát triển thành hệ sợi nấm mới. Bào tử nảy mầm và phát triển ở nồng độ 0,8 mg/mL của chất chiết tía tô và cỏ lào với tỉ lệ nảy mầm từ 26 – 66%. Nồng độ chất chiết thảo dược càng cao thì tỉ lệ nảy mầm của bào tử vi nấm càng thấp (Bảng 5).

Bảng 5: Ảnh hưởng của chất chiết thảo dược đến sự phát triển của bào tử vi nấm

Chất chiết thảo dược	Đối chứng	Cỏ lào				Tía tô			
		0,8	1,6	3,2	6,4	0,8	1,6	3,2	6,4
		Tỉ lệ nảy mầm (%) / Thời gian (h)							
<i>Achlya</i> sp. A1801	80 / 1 h	55 / 24 h	16 / 24 h	0 / 24 h	0 / 1 h	39 / 24 h	0 / 24 h	0 / 6 h	0 / 1 h
<i>Achlya</i> sp. A1803	83 / 1 h	53 / 24 h	14 / 24 h	0 / 24 h	0 / 1 h	40 / 24 h	0 / 24 h	0 / 6 h	0 / 1 h
<i>Saprolegnia</i> sp. S1701	78 / 1 h	60 / 24 h	32 / 24 h	2 / 24 h	0 / 1 h	35 / 24 h	0 / 24 h	0 / 6 h	0 / 1 h
<i>Saprolegnia</i> sp. S1801	80 / 1 h	66 / 24 h	38 / 24 h	1 / 24 h	0 / 1 h	26 / 24 h	0 / 24 h	0 / 6 h	0 / 1 h

3.2 Thảo luận

Các loại cây trong nghiên cứu gồm cỏ lào *Chromolaena odorata*, cỏ xước *Achyranthes aspera*, đu đủ *Carica papaya*, tía tô *Perilla frutescens* và trứng cá *Muntingia calabura* là nguồn thảo dược được sử dụng phổ biến ở vùng Đồng bằng sông Cửu Long. Tuy nhiên, sử dụng chất chiết thảo dược trong phòng và trị bệnh do vi nấm *Achlya* sp. và *Saprolegnia* sp. gây bệnh trên cá lóc vẫn còn đang được nghiên cứu. Kết quả nghiên cứu cho thấy các chất chiết thảo dược có khả năng ức chế sự phát triển của các chủng *Achlya* sp. và *Saprolegnia* sp. Hiệu quả kháng nấm của các chất chiết thảo dược lần lượt là tía tô, cỏ lào, cỏ xước và trứng cá. Chiết xuất tía tô cho thấy khả năng ức chế sự phát triển của sợi nấm và bào tử *Achlya* sp. và *Saprolegnia* sp. ở nồng độ MIC 1,6 mg/mL. Tuy nhiên, nghiên cứu của Nguyễn Văn Nam (2015) thử nghiệm chiết xuất

từ lá tía tô lên nấm loài nấm *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*, *Botrytis cinera* và *Colletotrichum gloeosporium* cho thấy hợp chất ly trích từ lá tía tô không kháng lại sự phát triển của sợi nấm cả năm loài nấm này. Ngoài ra, chất chiết cỏ lào có hiệu quả kháng nấm như *Microsporium gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* và *Trichophyton rubrum* với nồng độ ức chế tối thiểu từ 62,5 đến 500 µg/mL (Ngane et al., 2006). Nghiên cứu của Bassey et al. (2013) cho thấy chiết xuất của cỏ lào có khả năng ức chế sự phát triển của vi nấm *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* và *Aspergillus terreus* ở nồng độ 10%. Kết hợp hai chất chiết cỏ lào và cây dầu mè (*Jatropha curcas*) cho kết quả tốt hơn so với chiết xuất của cỏ lào đơn lẻ khi tác động lên các loài vi nấm này. Tuy nhiên, chiết xuất cỏ lào có tác dụng đáng kể đối với nấm *A. fumigatus*. Cỏ xước cũng là chất chiết thảo dược có khả năng gây ức chế sự phát

triển của sợi nấm *Achlya* sp. và *Saprolegnia* sp. Kết quả nồng độ MIC và MFC ức chế sự phát triển của sợi nấm và bào tử vi nấm là 3,2 mg/mL. Nghiên cứu của Londonkar *et al.* (2011), thử nghiệm chiết xuất từ lá khô của cây cỏ xước bằng dung môi chloroform và methanol ở 17 chủng nấm cho thấy chất chiết đều không có hoạt tính kháng nấm, ngoại trừ chiết xuất từ methanol của cỏ xước có ức chế vi nấm *Trichophyton rubrum* và *Microsporium canis* ở MIC với nồng độ 2.500 µg/mL.

Tương tự như cỏ lào và cỏ xước, chiết xuất trứng cá cũng có hoạt tính kháng nấm *Achlya* sp. nồng độ 3,2 mg/mL và *Saprolegnia* sp. nồng độ 6,4 mg/mL. Nghiên cứu chiết xuất từ rễ cây trứng cá cho thấy chất chiết này ức chế sự phát triển của vi nấm *Alternaria solani*, *Fusarium oxysporum f.sp lycopersici*, *Pythium* sp. và *Phytophthora* sp. ở nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) 10 mg/mL (Ramamamy *et al.*, 2017). Bên cạnh đó, kết quả nghiên cứu cho thấy chất chiết đu đủ không có khả năng ức chế lên sự phát triển của sợi nấm *Achlya* sp. và *Saprolegnia* sp. ở nồng độ khảo sát. Tuy nhiên, trong nghiên cứu của Pedro *et al.* (2011) ghi nhận các chất chiết từ lá, hạt chưa chín và hạt chín của cây đu đủ ảnh hưởng đến sự phát triển của sợi nấm *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium* spp. và *Rhizopus stolonifer*. Trong đó, chiết xuất từ lá cây đu đủ cho kết quả tốt nhất với MIC₅₀ là 0,625 mg/mL đối với nấm *Fusarium* spp. và 10 mg/mL ở nấm *C. gloeosporioides*. Hơn nữa, chiết xuất lá đu đủ còn có khả năng ức chế *Aspergillus niger*, *Fusarium ventricosum* và *Botryodiplodia theobromae* tốt nhất ở nồng độ 1,54 mg/mL (Afolabi *et al.*, 2018). Hiệu quả của việc sử dụng các chất chiết xuất từ thảo dược vẫn đang được nghiên cứu đặc biệt là khả năng kháng bệnh do vi nấm. Anita and Khati (2019) cho rằng sử dụng thảo dược và chiết xuất thảo dược an toàn và kinh tế. Một số chất chiết thảo dược ảnh hưởng đến vi nấm do có khả năng phá vỡ các vách tế bào nấm và làm thay đổi tính thấm của màng, từ đó ảnh hưởng đến quá trình trao đổi chất và tổng hợp protein, làm cho tế bào nấm bị chết.

4 KẾT LUẬN

Chất chiết tía tô *Perilla frutescens* có khả năng kháng nấm cao nhất đối với sợi nấm và bào tử *Achlya* sp. và *Saprolegnia* sp. so với các chất chiết cỏ lào, cỏ xước và trứng cá. Vi nấm *Achlya* sp. và *Saprolegnia* sp. không bị ức chế đối với chất chiết đu đủ. Nồng độ ức chế tối thiểu MIC và nồng độ kháng nấm tối thiểu MFC đối với vi nấm *Achlya* sp. và *Saprolegnia* sp. của tía tô là 1,6 mg/mL; cỏ lào, cỏ xước là 3,2 mg/mL sau 48 giờ. Nồng độ ức chế

tối thiểu MIC và nồng độ kháng nấm tối thiểu MFC đối với *Saprolegnia* sp. của trứng cá là 6,4 mg/mL sau 24 giờ. Bào tử vi nấm *Achlya* sp. và *Saprolegnia* sp. không nảy mầm khi bị tác động bởi tía tô ở nồng độ 1,6 mg/mL và cỏ lào là 3,2 mg/mL sau 24 giờ.

LỜI CẢM ƠN

Đề tài này được tài trợ bởi Dự án Nâng cấp Trường Đại học Cần Thơ VN14-P6 bằng nguồn vốn vay ODA từ Chính phủ Nhật Bản.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Abdel-Tawwab, M., Ahmad, M.H., Seden, M.E. and Sakr, S.F., 2010. Use of green tea, *Camellia sinensis* L. in practical diet for growth and protection of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) against *Aeromonas hydrophila* infection. Journal World Aquaculture Society. 41: 203-213.
- Afolabi, Q. O. and Kareem, K.T., 2018. Antifungal activities of *Carica papaya* and sodium bicarbonate against *Soybean* fungi. International Journal of Biological and Chemical Sciences. 12(5): 2085-2092..
- Anita and Khati, A., 2019. Biomedicines and their role in fish health management. International Journal of Fauna and Biological Studies 6(1): 10-14.
- Bassey, I.N., Ogbemudia, F.O., Harold, K.O. and Idung, K.E., 2013. Combined antifungal effects of extracts of *Jatropha curcus* and *Chromolaena odorata* on seed borne fungi of *Solanum gilo* Raddi. Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences. 2(2): 13-17.
- Borisutpeth, P., Kanbutra, P., Hanjavanit, C., Chukanhom, K., Funaki, D. and Hatai, K., 2009. Effects of Thai herbs on the control of fungal infection in tilapia eggs and the toxicity to the eggs. Aquaculture Science 57(3):475-482.
- Đặng Thụy Mai Thy, 2018. Nghiên cứu vi nấm trong nuôi cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) và cá lóc (*Channa striata*) thâm canh. Luận án Tiến sĩ, Ngành nuôi trồng thủy sản, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ. 111-113.
- Đặng Thụy Mai Thy, Phạm Minh Đức và Trần Thị Tuyết Hoa, 2016. Thành phần vi nấm kí sinh trên cá tra giống (*Pangasianodon hypophthalmus*). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 44b: 48-57.
- Hussain, J., Khan, F. U., Ullah, R. *et al.*, 2011. Nutrient evaluation and elemental analysis of four selected medicinal plants of Khyber Pakhtoon Khwa, Pakistan. Pakistan Journal Botany. 43(1): 427-434.
- Hussein, M. M. A., El-Feki, M. A., Hatai, K., Yamamoto, A., 2002. Inhibitory effects of thymoquinone from *Nigella sativa* on pathogenic

- Saprolegnia in fish. *Biocontrol Science* 7(1):31-35.
- Kitacharoen, N., Hatai, K., Ogihara R., and Aye, D.N.N., 1995. A new record of *Achlya klebsiana* from snakehead, *Channa striata*, with fugal infection in Myanmar. *Mycoscience*. 36: 235-238.
- Londonkar, R., Chinnappa, R. V. and Abhay, K. K., 2011. Potential antibacterial and antifungal activity of a *Chyranthes aspera*. *Recent Research in Science and Technology*. 3(4): 53-57.
- Ngane, A.N., Etame, R.E., Ndifor, F., Biyiti, L., Zollo, P.H.A., and Bouchet, P., 2006. Antifungal activity of *Chromolaena odorata* (L.) King & Robinson (Asteraceae) of Cameroon. *Chemotheory*. 52(2): 103-106.
- Nguyễn Kim Phi Phụng, 2007. Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ. Nhà xuất bản Đại học Quốc Gia thành phố Hồ Chí Minh. 527 trang.
- Nguyễn Văn Nam, 2015. Đánh giá ảnh hưởng của hợp chất ly trích từ thảo mộc đến sự sinh trưởng một số sợi nấm gây bệnh cây trồng. *Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam*. 188-192.
- Panchai, K., Hanjavanit, C. and Kitacharoen, N., 2007. Characteristics of *Achlya bisexualis* isolated from eggs of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *KKU reseach Journl*. 12: 195-202.
- Panchai, K., Hanjavanit, C., Rujinanont, N., Wada, S., Kurata, O. and Hatai, K., 2015. Experimental pathogenicity of *Achlya* species from cultured Nile tilapia to Nile tilapia fry in Thailand. *AACL Bioflux*. 8(1): 70-81.
- Pedro, C. Q., Tania, G. F., Inrid, R. B., and Santiago, G.T., 2011. Antifungal Activity in Ethanolic Extracts of *Carica papaya* L. cv. Maradol Leaves and Seeds. *Indian J Microbiol*. 51(1): 54–60.
- Phạm Minh Đức và Nguyễn Thị Thúy Hằng, 2011. Bước đầu nghiên cứu bệnh nấm thủy mi trên cá lóc (*Channa striata*) giống ở tỉnh Đồng Tháp. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*. 12: 35-43.
- Phạm Minh Đức, Trần Ngọc Tuấn và Trần Thị Thanh Hiền, 2012. Khảo sát mầm bệnh trên cá lóc (*Channa striata*) nuôi ao thâm canh ở An Giang và Đồng Tháp. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 21b: 124-132.
- Ramasamy, R., J. Najundan and M. Ponnunsamy, 2017. Solvent extraction and evaluation of antifungal activity of *Muntingia calabura* root against fungal phytopathogens. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 6(7): 77-83.
- Thoen, S., T. Vrålstad, E. Rolén, R. Kristensen, Ø. Evensen, I. Skaar, 2015. *Saprolegnia* species in Norwegian salmon hatcheries: field survey identifies *S. diclina* sub-clade IIIB as the dominating taxon. *Diseases of Aquatic Organisms*. 114: 189–198.
- Trương Thị Mỹ Hạnh, Nguyễn Thị Nguyên, Trương Thị Thành Vinh, Huỳnh Thị Mỹ Lệ và Phan Thị Vân, 2018. Nghiên cứu khả năng diệt một số loài vi khuẩn và nấm của lá hẹ (*Allium tuberosum*). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*. 60(7): 48-52.