

KHẢO SÁT HOẠT TÍNH BACTERIOCIN CỦA MỘT SỐ CHỦNG VI KHUẨN LACTIC PHÂN LẬP TỪ MẮM CÁ RÒ HUẾ

Nguyễn Thị Xuân Hồng¹, Nguyễn Thị Huệ Linh¹,
Nguyễn Đức Quỳnh Anh¹, Đỗ Thị Bích Thủy², Phạm Thị Hải Yến¹,
Nguyễn Thị Đào¹, Nguyễn Nam Quang¹

¹Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế;

²Trường Công nghệ, Đại học Duy Tân.

*Tác giả liên hệ: nguyenthixuanhong@huaf.edu.vn

Nhận bài: 03/09/2024 Hoàn thành phần biên: 06/11/2024 Chấp nhận bài: 12/11/2024

TÓM TẮT

Bacteriocin đang được sử dụng rộng rãi trong công nghiệp như là tác nhân bảo quản sinh học. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát hoạt tính của bacteriocin sản sinh bởi vi khuẩn lactic (LAB) được phân lập từ mắm cá rô Huế như một hoạt chất kháng vi khuẩn *Vibrio* spp. trên cá. Khả năng kháng khuẩn của bacteriocin với 2 chủng vi khuẩn *Vibrio alginiliticus* YH18 và *Vibrio fluvialis* YH6 được thực hiện bằng phương pháp đục lỗ thạch đĩa trên môi trường MRS. Kết quả của nghiên cứu này cho thấy bacteriocin được sản sinh bởi chủng vi khuẩn R3 có khả năng kháng *V. fluvialis* YH6 và *V. alginiliticus* YH18 cao nhất với đường kính vòng kháng khuẩn lần lượt là $27,0 \pm 2,2$ mm và $20,0 \pm 1,3$ mm. Trong khi chủng R16 cho kết quả đường kính vòng kháng khuẩn thấp nhất $8,0 \pm 1,2$ mm đối với *V. alginolyticus* YH18. Kết quả của nghiên cứu này cho thấy ba chủng vi khuẩn R3, R4 và R16 có tiềm năng sản sinh bacteriocin kháng với vi khuẩn gây bệnh *V. alginolyticus* YH18 và *V. fluvialis* YH6. Cả ba chủng R3, R4 và R16 được xác định là *Lactobacillus fermentum* bằng phương pháp định danh MALDI-TOF MS.

Từ khoá: Bacteriocin, Nuôi trồng thủy sản, Vi khuẩn lactic

INVESTIGATION OF BACTERIOCIN ACTIVITY OF LACTIC ACID BACTERIAL STRAINS ISOLATED FROM THE FERMENTED PINSPOTTED SPINEFOOT FISH SAUCE OF HUE

Nguyen Thi Xuan Hong¹, Nguyen Thi Hue Linh¹,
Nguyen Duc Quynh Anh¹, Do Thi Bích Thủy², Phạm Thị Hải Yến¹,
Nguyễn Thị Đào¹, Nguyễn Nam Quang¹

¹University of Agriculture and Forestry, Hue University;

²School of Engineering and Technology, Duy Tan University.

*Corresponding author: nguyenthixuanhong@huaf.edu.vn

Received: September 3, 2024 Revised: November 6, 2024 Accepted: November 12, 2024

ABSTRACT

Bacteriocin has been used widely in industry as a bio-preservative and an antimicrobial agent. The objective of the present study was to investigate the activity of bacteriocin produced by lactic acid bacteria (LAB) isolated from the fermented pinstotted spinefoot fish sauce of Hue as an antimicrobial of *Vibrio* infection in fish. The antimicrobial activity of bacteriocin against *Vibrio alginiliticus* YH18 and *V. fluvialis* YH6 were carried out by agar well diffusion method on MRS medium. Results of this study showed that bacteriocins produced by the bacterial isolate R3 indicated the highest bacteriocin activity against *V. fluvialis* YH6 and *V. alginiliticus* YH18 at the diameter inhibition zone of $27,0 \pm 2,2$ mm and $20,0 \pm 1,3$ mm, respectively. While isolate R16 indicated the lowest diameter inhibition zone of $8,0 \pm 1,2$ mm with *V. alginolyticus* YH18. Results of this study showed that bacterial isolates R3, R4 and R16 have the potential to produce bacteriocins that inhibit the pathogen bacteria *V. alginolyticus* YH18 and *V. fluvialis* YH6. The bacterial isolates R3, R4 và R16 were indicated as *Lactobacillus fermentum* by MALDI-TOF MS identification method.

Keywords: Aquaculture, Bacteriocin, Lactic acid bacteria

1. MỞ ĐẦU

Nuôi trồng thủy sản (NTTS) đóng vai trò quan trọng trong ngành sản xuất protein động vật làm thức ăn cho con người. Đến năm 2030, NTTS dự kiến sẽ chịu trách nhiệm sản xuất khoảng 109 triệu tấn cho mục đích tiêu dùng của con người so với mức dự đoán là 74 triệu tấn từ đánh bắt thủy sản. Tuy nhiên, thách thức lớn nhất cho sự phát triển bền vững của ngành NTTS trên toàn thế giới là dịch bệnh. Trong đó, vi khuẩn được cho là tác nhân gây bệnh chính trên các đối tượng nuôi thủy sản (Senthamarai và cs., 2023).

Mắm cá rô là đặc sản và là sản phẩm lên men truyền thống của Huế được sử dụng phổ biến trong ẩm thực Huế. Nguyên liệu làm mắm là cá Kình (*Siganus fuscescens*) nhỏ được thu vớt từ vùng đầm phá và cửa sông.

Vi khuẩn lactic phân bố rộng rãi trong nhiều môi trường khác nhau, trong đó phổ biến nhất là các sản phẩm lên men. Chúng được ứng dụng nhiều trong chế biến thức ăn gia súc, chế biến sữa, lên men thực phẩm, dược phẩm và trong bảo quản thực phẩm nhờ vào khả năng tạo ra acid lactic, hydrogen peroxide, diacetyl và bacteriocin (Hertzberger và cs., 2014; Anijana và Tiwari, 2022).

Bacteriocin là các peptide kháng khuẩn hoạt động như hợp chất kháng khuẩn chống lại các tác nhân gây bệnh là vi khuẩn (Anijana và Tiwari, 2022). Theo Hernández-González và cs. (2021), bacteriocin có khả năng kháng khuẩn phổ rộng đối với cả hai loại vi khuẩn Gram dương và Gram âm như *Salmonella* sp., *Pseudomonas* sp., *Aeromonas* sp. và *Vibrio* sp., là các tác nhân gây bệnh phổ biến trên các đối tượng nuôi trồng thủy sản.

Ưu điểm của bacteriocin là không gây độc, chịu nhiệt tốt, có thể duy trì hoạt động trong môi trường acid và thậm chí có thể ảnh hưởng đến cấu trúc kháng thuốc tự nhiên như màng sinh học của vi khuẩn, mang lại tiềm năng sử dụng như các tác nhân kháng khuẩn thay thế cho việc sử dụng kháng sinh trong NTTS (Lv và cs., 2017, Feliatra và cs., 2018, Pereiravà cs., 2022).

Kháng sinh là hoá chất đang được sử dụng phổ biến nhất trong NTTS nhằm phòng hoặc trị bệnh nhiễm khuẩn. Cùng với Trung Quốc, Việt Nam đang dẫn đầu khu vực châu Á về việc sử dụng kháng sinh trong NTTS. Nhiều nghiên cứu đã cho thấy rủi ro môi trường và sức khoẻ có liên quan trực tiếp đến việc sử dụng kháng sinh như an toàn thực phẩm, dư lượng kháng sinh tồn dư trong môi trường nước và trong các sản phẩm nuôi trồng thủy sản, tạo ra các chủng vi khuẩn kháng kháng sinh... (Lulijwa và cs., 2020). Các giải pháp thay thế việc sử dụng kháng sinh, thân thiện với môi trường và an toàn với người tiêu dùng đang là những hướng tiếp cận mới đang được nhiều nhà khoa học quan tâm hiện nay.

Mặc dù bacteriocin đang được ứng dụng nhiều trong nông nghiệp, thực phẩm và y học nhưng các nghiên cứu và ứng dụng của bacteriocin trong NTTS vẫn còn nhiều hạn chế (Chen và cs., 2024). Nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát hoạt tính kháng *Vibrio* spp. bởi bacteriocin được sản sinh từ các chủng vi khuẩn lactic phân lập được từ mắm cá rô Huế. Đây cũng là nghiên cứu đầu tiên khảo sát hoạt tính bacteriocin của vi khuẩn lactic phân lập từ mắm cá rô Huế.

2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguồn gốc và phương pháp phân lập vi khuẩn lactic

Nguyên liệu và phương pháp phân lập vi khuẩn lactic

Mắm cá rô Huế được sử dụng để phân lập vi khuẩn lactic là sản phẩm lên men truyền thống được sản xuất ở quy mô nông hộ và mẫu được mua ngẫu nhiên tại hộ bà Mừng ở huyện Phú Vang, tỉnh Thừa Thiên Huế.

Vi khuẩn lactic được phân lập theo phương pháp của Cho và Do (2006) với một số thay đổi, cụ thể rửa qua mẫu với nước muối sinh lý vô trùng sau đó mẫu được đồng nhất bằng cối chày sứ vô trùng. Sử dụng nước muối sinh lý để làm loãng mẫu, tiếp theo cấy trang 50 μL dịch mẫu trên đĩa thạch deMan-Rogosa-Sharp (MRS), Himedia, Ấn Độ, ủ ở 28°C trong 24 và 48 giờ. Các chủng vi khuẩn được chọn lọc để làm các thí nghiệm là những chủng vi khuẩn có tế bào hình que hoặc cầu, Gram dương, không có khả năng di động, có khả năng làm tan CaCO_3 , phản ứng oxydase và catalase âm tính.

Nguồn gốc vi khuẩn kiểm định

Hai chủng vi khuẩn kiểm định sử dụng trong nghiên cứu này là *V. alginolyticus* YH18 và *V. fluvialis* YH6 được phân lập từ cá Hồng mỹ bị bệnh lở loét và lưu giữ tại phòng thí nghiệm Bộ môn Bệnh học thủy sản, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế.

2.2. Khảo sát hoạt tính kháng *Vibrio spp.* bởi bacteriocin của các chủng vi khuẩn lactic phân lập được

Các chủng vi khuẩn lactic phân lập được nuôi tăng sinh khối trong các ống falcon vô trùng có chứa 10mL môi trường MRS, ủ ở 30°C trong 24 giờ. Dịch nổi thu được sau khi ly tâm huyền phù vi khuẩn ở

8.000 vòng trong 15 phút ở 4°C sẽ được điều chỉnh pH bằng NaOH 1 N để đạt giá trị pH = 6,5.

Hoạt tính bacteriocin của các chủng vi khuẩn lactic được kiểm tra bằng phương pháp đục lỗ thạch đĩa. Hai chủng vi khuẩn *V. alginolyticus* YH18 và *V. fluvialis* YH6 được nuôi tăng sinh trong ống falcon vô trùng chứa 10mL môi trường TSB ở 30°C trong 24 giờ. 100 μL huyền phù vi khuẩn ở mật độ 10^6 cfu/mL của mỗi chủng được trải đều trên đĩa thạch TSA, để khô đĩa ở nhiệt độ phòng rồi sau đó đục lỗ có đường kính 6 mm bằng ống inox vô trùng.

Hút 20 μL dịch nổi của các chủng vi khuẩn lactic phân lập được vào các lỗ khác nhau trên đĩa thạch. Giữ đĩa thạch ở 4°C trong 3-5 giờ, sau đó ủ ở 30°C trong 24 giờ. Kiểm tra đường kính vòng kháng khuẩn sau 24 giờ. Mức độ kháng vi sinh vật kiểm định của các chủng vi khuẩn lactic được đánh giá theo phương pháp của Faikoh và cs. (2014). Mỗi nghiệm thức thí nghiệm được lặp lại bốn lần.

2.3. Định danh vi khuẩn lactic bằng phương pháp MALDI-TOF MS

Các mẫu vi khuẩn được gửi định danh tại Lab vi sinh, Khoa kỹ thuật sinh học, Trường Đại học Ghent, Vương quốc Bỉ.

Chuẩn bị mẫu: Ly tâm dịch nuôi cấy tế bào vi khuẩn lactic qua đêm ở 8.000 vòng/phút trong 15 phút ở 4°C, tế bào thu được được rửa lần lượt với 300 μL Q water và 900 μL cồn tuyệt đối. Tái huyền phù tế bào thu được trong 50 μL acid formic 70% và 50 μL acetonitrile. Sau đó, ly tâm 13.000 vòng/phút ở 4 °C trong 3 phút để thu dịch nổi protein. Hút 1 μL dịch nổi protein của các chủng vi khuẩn lactic vào các điểm trên đĩa MALDI (AB Sciex, Netherlands). Để khô đĩa ở nhiệt độ phòng rồi hút 1 μL dung dịch acid α -cyano-4-hydroxycinnamic (α -CHCA) 0,5% vào các điểm trên đĩa và tiếp

tục để khô ở nhiệt độ phòng. Mỗi nghiệm thức thí nghiệm được lặp lại ít nhất hai lần.

Phân tích mẫu bằng hệ thống MALDI TOF/TOF™ Analyzer (Applied Biosystems, Framingham, MA, USA). Số liệu thu được sau đó được xử lý bằng phần mềm Data Explorer (Applied Biosystem) và hệ thống Bionumerics (Doan và cs., 2012).

2.3. Xử lý số liệu

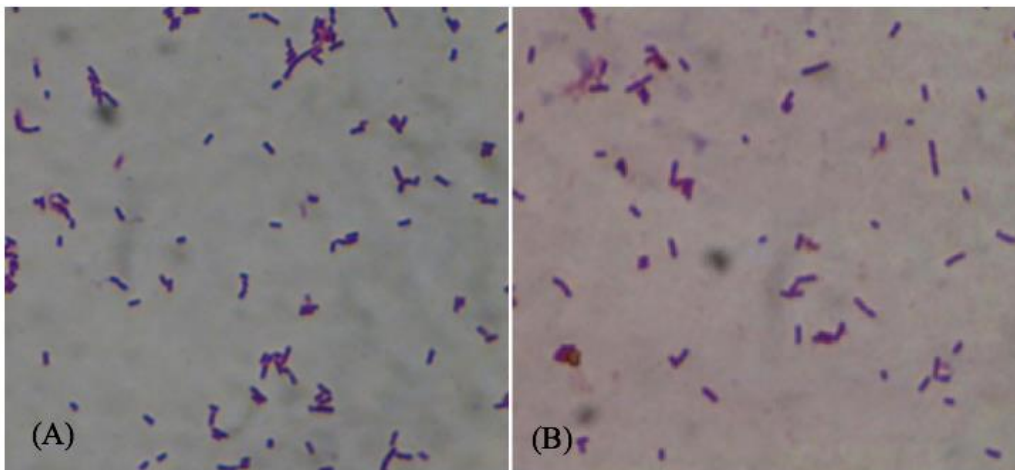
Đường kính vòng kháng khuẩn của các chủng vi khuẩn lactic được xử lý thống kê theo phương pháp phân tích phương sai một nhân tố one-way ANOVA, sử dụng

kiểm định Tukey, với độ tin cậy 95% bằng phần mềm SPSS 20.0.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.3. Kết quả phân lập vi khuẩn

Chúng tôi phân lập được 6 chủng vi khuẩn lactic từ mẫu mắm cá rô và được ký hiệu là R1, R2, R3, R4, R5 và R16 (Hình 1). Khuẩn lạc của các chủng vi khuẩn này có dạng hình tròn, màu trắng hoặc trắng đục. Tế bào có dạng hình que (5/6 chủng) và hình cầu (chỉ 1 chủng R5), tất cả 6 chủng vi khuẩn phân lập được đều là vi khuẩn Gram dương và có khả năng làm tan CaCO₃ (Bảng 1).



Hình 1. Đặc điểm tế bào (X40) của chủng vi khuẩn R1 (A) và R3 (B)

Bảng 1. Các chỉ tiêu hình thái, sinh lý và sinh hoá của các chủng vi khuẩn phân lập được

Chủng vi khuẩn	Hình dạng	Hình thái		Chỉ tiêu sinh lý		Chỉ tiêu sinh hoá	
		Kích thước (mm)	Khả năng làm tan CaCO ₃	Hình dạng vi khuẩn	Nhuộm Gram	Oxidase	Catalase
R1	Tròn lồi trắng	1,0-1,5	+	Hình que	+	-	-
R2	Tròn lồi trắng đục	1,5-2,0	+	Hình que	+	-	-
R3	Tròn lồi trắng đục	1,5-2,0	+	Hình que	+	-	-
R4	Tròn lồi trắng	1,5-2,5	+	Hình que	+	-	-
R5	Tròn lồi trắng đục	1,0-1,5	+	Hình cầu	+	-	-
R16	Tròn lồi trắng đục	1,7-2,0	+	Hình que	+	-	-

(+): dương tính
(-): âm tính

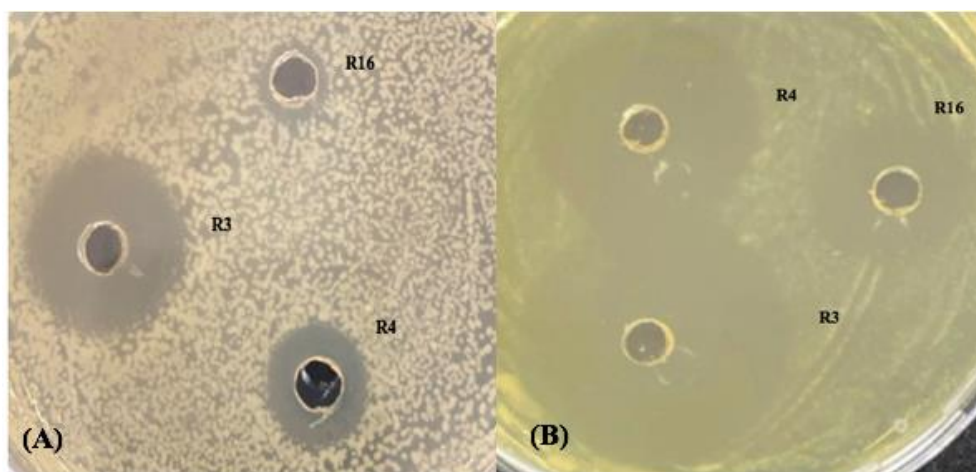
Kết quả của nghiên cứu này cho thấy 5/6 dòng vi khuẩn phân lập được có tế bào hình que, chỉ một chủng R5 có tế bào hình cầu, cả 6 chủng vi khuẩn đều có tế bào bắt màu tím (Gram dương), không có khả năng tạo bào tử, phản ứng oxydase, catalase âm tính và không có khả năng di động. Kết quả về hình thái tế bào và đặc điểm sinh lý, sinh hoá của 6 chủng vi khuẩn phân lập được trong nghiên cứu này đều mang những đặc điểm đặc trưng điển hình của vi khuẩn lactic và phù hợp với mô tả của Ponce và cs. (2008), Chi và cs. (2021), Hồng và cs. (2022) khi nghiên cứu và phân lập vi khuẩn lactic từ thực phẩm lên men và rau xanh. Kết quả của các nghiên cứu này cho thấy vi khuẩn lactic là các chủng vi khuẩn có tế bào hình que hoặc hình cầu, Gram dương, không có khả năng di động và tạo bào tử, âm tính với phản ứng oxydase và catalase.

Dựa vào kết quả về đặc điểm hình thái của tế bào và đặc điểm sinh hoá (Hình 1 và Bảng 1) và hướng dẫn phân loại của Axelsson (2004), các chủng vi khuẩn R1, R2, R3, R4, R5 và R16 ban đầu được xác định là vi khuẩn lactic.

3.2. Khảo sát hoạt tính bacteriocin

Vi khuẩn lactic đóng vai trò quan trọng trong quá trình lên men thực phẩm. Sản phẩm cuối cùng của quá trình lên men lactic ngoài acid lactic, H_2O_2 còn có sự có mặt của bacteriocin, một peptid kháng khuẩn hoạt động như các hợp chất kháng khuẩn chống lại vi khuẩn gây bệnh (Ahmad và cs., 2017; Chen và cs., 2024).

Kết quả đối kháng đối với *V. alginolyticus* YH18 và *V. fluvialis* YH6 bởi bacteriocin được thể hiện qua Hình 2 và Bảng 3.



Hình 2. Hoạt tính kháng khuẩn của các chủng R3, R4 và R16 đối với (A) *V. alginolyticus* YH18 và (B) *V. fluvialis* YH6

Bảng 2. Đường kính vòng kháng khuẩn của các chủng vi khuẩn lactic phân lập được đối với *V. alginolyticus* YH18 và *V. fluvialis* YH6

Chủng vi khuẩn	Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)			
	<i>V. alginolyticus</i> YH18	Mức độ kháng	<i>V. fluvialis</i> YH6	Mức độ kháng
R1	0 ^d	Không kháng	0 ^d	Không kháng
R2	0 ^d	Không kháng	0 ^d	Không kháng
R3	20,0 ± 1,3 ^a	Mạnh	27,0 ± 2,2 ^a	Mạnh
R4	12,0 ± 1,6 ^b	Trung bình	24,0 ± 1,7 ^b	Mạnh
R5	0 ^d	Không kháng	0 ^d	Không kháng
R16	8,0 ± 1,2 ^c	Trung bình	19,0 ± 1,7 ^c	Mạnh

Kết quả là giá trị trung bình của 4 lần lặp lại ± độ lệch chuẩn.

^{a,b,c,d} các kí tự khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê với độ tin cậy 95%

Kết quả thử nghiệm của 6 chủng vi khuẩn lactic phân lập được từ mắt cá rô với 2 chủng vi khuẩn *Vibrio* spp. gây bệnh trên cá Hồng mỹ cho thấy có 3 chủng vi khuẩn lactic có khả năng sinh bacteriocin là chủng R3, R4 và R16 và 3 chủng vi khuẩn không có khả năng sinh bacteriocin là R1, R2 và R5. Ba chủng vi khuẩn R3, R4 và R16 kháng với cả hai chủng *V. alginolyticus* YH18 và *V. fluvialis* YH6 và có đường kính vòng kháng khuẩn trung bình từ 8,0 - 27,0 mm. Kết quả đánh giá mức độ kháng khuẩn theo Faikoh và cs. (2014) cho thấy R3 có mức độ kháng mạnh nhất với *V. alginolyticus* YH18 với đường kính vòng kháng khuẩn là 20,0 ± 1,3 mm và 3 chủng vi khuẩn R3, R4 và R16 đều cho kết quả kháng mạnh với *V. fluvialis* YH6 với đường kính vòng kháng khuẩn lần lượt là 27,0 ± 2,2 mm; 24,0 ± 1,7 mm và 19,0 ± 1,7 mm.

Kết quả của nghiên cứu này khá tương đồng với kết quả nghiên cứu của Chi và cs. (2021) khi khảo sát khả năng kháng khuẩn của bacteriocin được sản sinh bởi các chủng vi khuẩn lactic *Pediococcus pentosaceus* và *Weissella paramesenteroides* phân lập từ nem chua đối với 4 chủng vi sinh vật chỉ thị là

Escherichia coli ATCC 25922, *Salmonella enterica* ATCC 13076, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 và *Bacillus cereus* ATCC 25924.

Rất nhiều loại bacteriocin đã được phân lập từ LAB và được mô tả trong nhiều nguồn dữ liệu khác nhau. Chúng khác nhau về mặt cấu trúc, đặc điểm, cơ chế hoạt động, tính chất hoá sinh, phổ hoạt động và thụ thể tế bào đích (Hammami và cs., 2007; Kassaa và cs., 2019). Bacteriocin được sản sinh bởi vi khuẩn Gram dương được phân thành 3 lớp: lớp 1: lantibiotics; lớp 2: non-lantibiotics và lớp 3: bacteriolysins dựa vào đặc điểm hoá sinh, di truyền hoặc sự có mặt của liên kết disulfide hoặc monosulfide, trọng lượng phân tử, khả năng chịu nhiệt, sự ổn định của enzyme thủy phân, có hoặc không của việc điều chỉnh hậu dịch mã của amino acid và hoạt tính kháng khuẩn (Ahmad và cs., 2017).

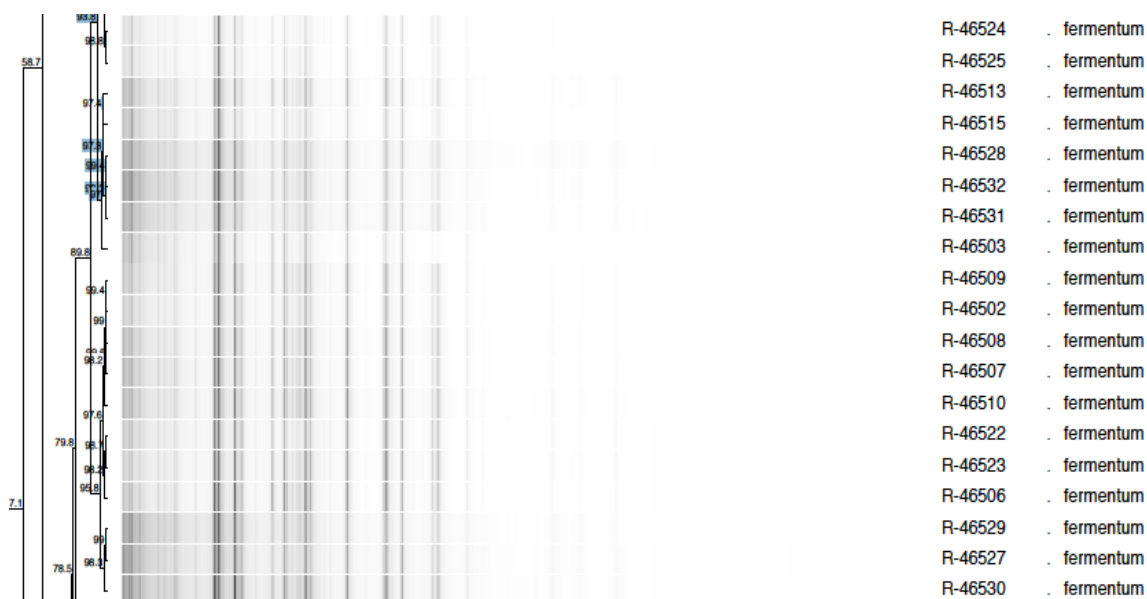
Cơ chế hoạt động của bacteriocin phụ thuộc vào cấu trúc sơ cấp của chúng. Một số có thể tác động trực tiếp lên màng tế bào, từ đó giải phóng các hợp chất quan trọng để thủy phân vi khuẩn gây bệnh, một số khác có thể xâm nhập thông qua các thụ thể đặc biệt trên màng tế bào đích và gây ảnh hưởng

đến biểu hiện gene và quá trình sinh tổng hợp protein của vi khuẩn gây bệnh. Ví dụ: bacteriocin lantibiotic (Lớp 1) có cơ chế hoạt động kép. Chúng ức chế quá trình sinh tổng hợp màng tế bào của vi khuẩn thông qua việc liên kết với lipid II, chất mang của peptidoglycan đi từ tế bào chất đến thành tế bào từ đó làm ảnh hưởng đến khả năng sống của tế bào vi khuẩn. Ngoài ra, lantibiotic có thể sử dụng lipid II như một phân tử gắn kết để bắt đầu quá trình chèn màng và hình thành lỗ trên màng tế bào để tiêu diệt vi khuẩn gây bệnh (Cotter và cs., 2013). Các cấu trúc khác nhau của bacteriocin đã tạo nên các phương thức hoạt động khác nhau của bacteriocin cũng như sự đa dạng về cơ chế tương tác giữa bacteriocin với các thụ thể tế bào đích (các chủng vi khuẩn gây bệnh) khác nhau có thể là nguyên nhân dẫn đến các kết quả kháng khuẩn khác nhau của bacteriocin đối với *V. alginolyticus* YH18 và *V. fluvialis* YH6 trong nghiên cứu này.

Kết quả nghiên cứu của Feliatra và cs. (2018) và Chi và cs. (2021) cũng cho thấy hiệu lực kháng khuẩn của bacteriocin phụ thuộc vào chủng LAB sản sinh bacteriocin cũng như sự tương tác giữa bacteriocin với các chủng vi sinh vật chỉ thị khác nhau.

3.3. Định danh vi khuẩn lactic

Từ kết quả kháng khuẩn đối với *V. alginolyticus* YH18 và *V. fluvialis* YH6, 3 chủng vi khuẩn R3, R4 và R16 được chọn để định danh bằng phương pháp MALDI-TOF MS. Kết quả định danh cho thấy cả ba chủng R3, R4 và R16 có khối phổ protein tương đồng nhau (Hình 3). Đối chiếu kết quả thu được với ngân hàng lưu trữ dữ liệu cho kết quả ba chủng R3 (R-46513), R4 (R-46502) và R16 (R-46529) đều thuộc loài *Lactobacillus fermentum*.



Hình 3. Kết quả phổ MALDI-TOF MS của một số chủng vi khuẩn lactic phân lập được

4. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, 6 chủng vi khuẩn lactic được phân lập từ mắm cá rô Huế được kí hiệu là R1, R2, R3, R4, R5 và R16. Trong đó, 3 chủng vi khuẩn R3, R4 và R16 có khả năng sinh bacteriocin và đối kháng với hai chủng *V. alginolyticus* YH18 và *V. fluvialis* YH6. Trong đó, R3 là chủng vi khuẩn có tính đối kháng mạnh với *V. alginolyticus* YH18 và *V. fluvialis* YH6 với đường kính vòng kháng khuẩn lần lượt là $20,0 \pm 1,3$ mm và $27,0 \pm 2,2$ mm. Kết quả định danh MALDI-TOF MS cho thấy cả 3 chủng vi khuẩn R3, R4 và R16 và đều thuộc loài *L. fermentum*.

Kết quả của nghiên cứu này là khảo sát ban đầu về khả năng sinh bacteriocin của các chủng vi khuẩn lactic và hoạt tính kháng *Vibrio* spp. gây bệnh trên cá Hồng mỹ trong điều kiện *in vitro*. Cần có những nghiên cứu đầy đủ hơn và thử nghiệm *in vivo* để có thể đánh giá chính xác khả năng ứng dụng bacteriocin của 3 chủng vi khuẩn lactic R3, R4 và R16 trong NTTS.

LỜI CẢM ƠN

Kết quả của nghiên cứu này thuộc đề tài NCKH “Khảo sát hoạt tính bacteriocin của một số chủng vi khuẩn lactic phân lập từ mắm cá rô Huế”, DHL2024-TS-06 do Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế tài trợ kinh phí và sự tư vấn, tài trợ của nhóm nghiên cứu mạnh NCM.DHH.2022.005.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tài liệu tiếng Việt

1. Tài liệu tiếng Việt

Võ Ngọc Chi, Nguyen Thị Phương, Nguyen Thị Ánh Tuyết, Đinh Anh Khoa, Phan Bích Tuyền, Hoang Diễm Hằng, Lê Thị Thủy và Kha Chấn Tuyền. (2021). Khả năng sinh bacteriocin của vi khuẩn lactic phân lập trên nem chua Thủ Đức. *Tạp chí Nông nghiệp và phát triển*, 20(2), 62-68.

Nguyễn Thị Xuân Hồng, Nguyễn Ngọc Phước, Nguyễn Thị Huế Linh, Đỗ Thị Bích Thủy,

Nguyễn Thị Diễm Hương và Nguyễn Thị Thu Giang. (2022). Một số chủng vi khuẩn lactic tiềm năng phân lập từ mắm cá cơm được sử dụng làm probiotic trong nuôi trồng thủy sản. *Tạp chí khoa học Đại học Huế*, 131(3), 49-61.

2. Tài liệu tiếng nước ngoài

Ahmad, V., Khan, M. S., Jamal, Q. M. S., Alzohairy, M. A., Al Karaawi, M. A., & Siddiqui, M. U. (2017). Antimicrobial Potential of Bacteriocins: In Therapy, Agriculture and Food Preservation. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 49, 1–11.

Anjana, A., & Tiwari, S. K. (2022). Bacteriocin-producing probiotic lactic acid bacteria in controlling dysbiosis of the gut microbiota. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12, 851140.

Axelsson, L. (2004). Lactic acid bacteria: classification and physiology. *Food Science and Technology-New York-Marcel Dekker*, 139, 1-66.

Chen, X., Liu, H., Liu, S., & Mao, J. (2024). Impact of bacteriocins on multidrug-resistant bacteria and their application in aquaculture disease prevention and control. *Reviews in Aquaculture*.

Cho, G. S., & Do, H. K. (2006). Isolation and identification of lactic acid bacteria isolated from a traditional jeotgal product in Korea. *Ocean science journal*, 41, 113-119.

Cotter, P. D., Ross, R. P., Hill, C. (2013). Bacteriocins—A Viable Alternative to Antibiotics? *Nature Review Genetics*, 11, 95–105.

Doan, N. T. L., K, Van Hoorde., Cnockaert, M., De Brandt, E., Aerts, M., Le, Thanh B., & Vandamme, P. (2012). Validation of MALDI-TOF MS for rapid classification and identification of lactic acid bacteria, with a focus on isolates from traditional fermented foods in Northern Vietnam. *Letters in Applied Microbiology*, 55, 265-273.

Faikoh, E. N., Hong, Y. H., & Hu., S. Y. (2014). Liposome-encapsulated cinnamaldehyde enhances zebrafish (*Danio rerio*) immunity and survival when challenged with *Vibrio vulnificus* and *Streptococcus agalactiae*. *Fish & Shellfish Immunology*, 38, 15-24

Feliatra, F., Muchlisin, Z. A., Teruna, H. Y., Utamy, W. R., Nursyirwani, N., & Dahliaty,

- A. (2018). Potential of Bacteriocins Produced by Probiotic Bacteria Isolated from Tiger Shrimp and Prawns as Antibacterial to *Vibrio*, *Pseudomonas*, and *Aeromonas* Species on Fish. *F1000Research*, 7, 415.
- Hammami, R., Zouhir, A., Ben Hamida, J., & Fliss, I. (2007). Bactibase: A New Web-Accessible Database for Bacteriocin Characterization. *BMC Microbiology*, 7, 1-6.
- Hernández-González, J. C., Martínez-Tapia, A., Lazcano-Hernández, G., García-Pérez, B. E., Castrejón-Jiménez, N.S. (2021). Bacteriocins from lactic acid bacteria. A powerful alternative as antimicrobials, probiotics, and immunomodulators in veterinary medicine. *Animals*, 11, 979.
- Hertzberger, R., Arents, J., Dekker, H. L., Pridmore, R. D., Gysler, C., Kleerebezem, M., de Mattos, M. J. T., (2014). H₂O₂ production in species of the *Lactobacillus acidophilus* group: a central role for a novel NADH-dependent flavin reductase. *Applied and environmental microbiology*, 80, 2229-2239.
- Kassaa, I. A., Rafei, R., Moukhtar, M., Zaylaa, M., Gharsallaoui, A., Asehraou, A., El Omari, K., Shahin, A., Hamze, M., & Chihib, N. E. (2019). LABiocin database: A new database designed specifically for Lactic Acid Bacteria bacteriocins. *International Journal of antimicrobial agents*, 54(6), 71-779.
- Lulijwa, R., Rupia, E. J., & Alfaro, A. C. (2020). Antibiotic use in aquaculture, policies and regulation, health and environmental risks: a review of the top 15 major producers. *Reviews in Aquaculture*, 12(2), 640-663.
- Lv, X., Du, J., Jie, Y., Zhang, B., Fengling, B., & Zhao, H., Li, J. (2017). Purification and Antibacterial Mechanism of Fish-Borne Bacteriocin and Its Application in Shrimp (*Penaeus vannamei*) for Inhibiting *Vibrio parahaemolyticus*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33, 156.
- Pereira, W. A., Mendonça, C. M. N., Urquiza, A. V., Marteinsson, V. P., LeBlanc, J. G., Cotter, P. D., Villalobos, E. F., Romero, J., & Oliveira, R. P. (2022). Use of probiotic bacteria and bacteriocins as an alternative to antibiotics in aquaculture. *Microorganisms*, 10, 1705.
- Ponce, A. G., Moreira, M. R., Del Valle, C. E., & Roura, S. I. (2008). Preliminary characterization of bacteriocin-like substances from lactic acid bacteria isolated from organic leafy vegetables. *LWT Food Science and Technology (Campinas)*, 41, 432-441.
- Senthamarai, M. D., Rajan, M. R., & Bharathi, P. V. (2023). Current risks of microbial infections in fish and their prevention methods: A review. *Microbiology Pathogenesis*, 185, 106400