

ẢNH HƯỞNG CỦA INDOLE-3-ACETIC ACID LÊN ĐỘC LỰC CỦA VI KHUẨN *Vibrio alginolyticus* TRÊN CÁ HỒNG MỸ *Sciaenops ocellatus* (Linnaeus, 1766)

Nguyễn Đức Quỳnh Anh*, Nguyễn Nam Quang, Nguyễn Thị Huế Linh,
Nguyễn Thị Xuân Hồng, Nguyễn Ngọc Phước

Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

*Tác giả liên hệ: nguyenducquynhanh@hueuni.edu.vn

Nhận bài: 18/08/2025 Hoàn thành phản biện: 02/10/2025 Chấp nhận bài: 15/10/2025

TÓM TẮT

Vibrio alginolyticus là tác nhân gây bệnh đáng lo ngại trên nhiều đối tượng cá biển có giá trị kinh tế. Mặc dù vi khuẩn này có thể gây ra nhiều tác hại nghiêm trọng đối với cả cá tự nhiên và cá nuôi, những nghiên cứu về độc lực và cơ chế gây bệnh vẫn còn nhiều hạn chế. Nghiên cứu này nhằm đánh giá tác động của dẫn xuất indole là indole-3-acetic acid (IAA) lên độc lực của vi khuẩn *V. alginolyticus* trên cá hồng mỹ. Kết quả nghiên cứu cho thấy, bổ sung IAA ở các nồng độ 50, 100, 200 và 400 μM làm ức chế khả năng hình thành màng sinh học (biofilm), khả năng di động, và làm giảm hoạt tính thủy phân của enzyme lipase, phospholipase, caseinase và haemolysin của vi khuẩn *V. alginolyticus*. Thí nghiệm gây bệnh thực nghiệm sử dụng vi khuẩn *V. alginolyticus* nuôi cấy trong môi trường bổ sung IAA 200 μM làm giảm khả năng gây bệnh, tăng tỷ lệ sống của cá hồng mỹ so với nghiệm thức đối chứng.

Từ khóa: Biofilm, Di động, Hoạt tính enzyme, Indole-3-acetic acid, *Vibrio alginolyticus*

IMPACT OF INDOLE-3-ACETIC ACID ON VIRULENCE FACTORS OF *Vibrio alginolyticus* IN RED DRUM *Sciaenops ocellatus* (Linnaeus, 1766)

Nguyen Duc Quynh Anh*, Nguyen Nam Quang, Nguyen Thi Hue Linh,
Nguyen Thi Xuan Hong, Nguyen Ngoc Phuoc

University of Agriculture and Forestry, Hue University

*Corresponding author: nguyenducquynhanh@hueuni.edu.vn

Received: 18/08/2025

Revised: 02/10/2025

Accepted: 15/10/2025

ABSTRACT

Vibrio alginolyticus is recognised as a significant pathogenic agent, isolated from various economically valuable marine fish species, including red drum. Although this bacterium can cause severe detrimental effects in both wild and cultured fish populations, research on its virulence and pathogenic mechanisms remains limited. The objective of this study was to assess the impact of the indole derivative indole-3-acetic acid (IAA) on the virulence of *V. alginolyticus* in red drum. The results demonstrated that the supplement of IAA at concentrations of 50, 100, 200, and 400 μM inhibited biofilm formation, swimming motility, and reduced the enzymatic activities including lipase, phospholipase, caseinase, and haemolysin in *V. alginolyticus*. The challenge experiment in red drum confirmed that pre-treated *V. alginolyticus* with IAA 200 μM significantly improved fish survival rates compared to untreated bacteria and control treatments.

Keywords: Biofilm, Swimming motility, Enzymatic activity, Indole-3-acetic acid, *Vibrio alginolyticus*

1. MỞ ĐẦU

Nuôi trồng thủy sản là một trong những ngành sản xuất thực phẩm có tốc độ phát triển nhanh nhất trên thế giới. Theo FAO (2024), sản lượng nuôi trồng thủy sản toàn cầu lần đầu tiên vượt qua sản lượng khai thác vào năm 2022, đạt mức kỷ lục 130,9 triệu tấn. Tuy nhiên, để đáp ứng nhu cầu tiêu thụ sản phẩm thủy sản ngày càng gia tăng của dân số thế giới, ngành này cần tiếp tục duy trì và đẩy mạnh tốc độ tăng trưởng trong thời gian tới. Hiện nay dịch bệnh được xem là một trong những thách thức lớn của nghề nuôi trồng thủy sản, đặc biệt là trong các hệ thống nuôi thâm canh và siêu thâm canh. Sự bùng phát dịch bệnh có thể ảnh hưởng nghiêm trọng đến sản lượng, dẫn đến thiệt hại kinh tế và làm giảm tính bền vững của ngành (Defoirdt, 2023).

Vi khuẩn *Vibrio* có thể gây bệnh trên nhiều đối tượng khác nhau bao gồm giáp xác, cá và nhuyễn thể với tỷ lệ chết có thể lên đến 100% động vật nuôi (Chandrakala & Priya, 2017). Trong đó, *Vibrio alginolyticus* là tác nhân gây bệnh nguy hiểm, được phân lập trên nhiều loài cá biển có giá trị kinh tế như cá hồng mỹ (*Sciaenops ocellatus*), cá bóp (*Rachycentron canadum*), cá tráp bạc (*Pagrus auratus*), cá mú (*Epinephelus chlorostigma*), cá chẽm (*Lates calcarifer*) (Ahangarzadeh và cs., 2022; Yen và cs., 2021). Khả năng gây bệnh của vi khuẩn này được báo cáo có liên quan đến các yếu tố độc lực bao gồm khả năng sản sinh độc tố, khả năng bám dính, di động và hình thành màng sinh học, hệ thống hấp thụ sắt và các yếu tố khác (Sheikh và cs., 2024; Yi và cs., 2022).

Để hạn chế bệnh do vi khuẩn, thuốc kháng sinh ngày càng được sử dụng phổ biến trong nuôi trồng thủy sản, tuy nhiên việc sử dụng kháng sinh thường xuyên đã dẫn đến hậu quả đáng báo động về tình trạng kháng thuốc của vi khuẩn, ảnh hưởng

đến sức khỏe đối tượng nuôi, con người và môi trường (Cabello và cs., 2016). Do vậy nhằm hướng tới phát triển nuôi trồng thủy sản bền vững, việc tìm các giải pháp mới để thay thế sử dụng kháng sinh đang là vấn đề cấp thiết hiện nay. Indole và dẫn xuất indole-3- acetic acid (IAA) được xem là các chất ức chế độc lực của nhiều loại vi khuẩn, làm giảm khả năng gây bệnh hoặc giảm mức độ nghiêm trọng của bệnh. Nhiều nghiên cứu đã cho thấy indole hoặc IAA có khả năng ức chế sự hình thành màng sinh học biofilm và khả năng di động của nhiều vi khuẩn Gram (+) và Gram (-) như: *Pseudomonas aeruginosa* (Jayaraman và cs., 2023), *V. parahaemolyticus*, *V. harveyi* và *V. campbellii* (Yang và cs., 2017; Zhang và cs., 2022a; Zhang và cs., 2022b). Mặc dù vậy, hiện nay vẫn chưa có báo cáo xem xét ảnh hưởng của IAA đến độc lực của vi khuẩn *V. alginolyticus*. Chính vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện để tìm hiểu tác động của IAA đến khả năng gây bệnh của vi khuẩn này ở cá hồng mỹ.

2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung nghiên cứu

Nghiên cứu này thực hiện với 3 nội dung chính: (1) Ảnh hưởng của IAA lên khả năng di động và sự hình thành màng sinh học biofilm của vi khuẩn *V. alginolyticus*; (2) Ảnh hưởng của IAA lên hoạt tính một số enzyme của vi khuẩn *V. alginolyticus*; và (3) Ảnh hưởng của IAA lên tỷ lệ sống của cá hồng mỹ cảm nhiễm với vi khuẩn *V. alginolyticus* được nuôi trong môi trường có hoặc không bổ sung IAA

2.2. Vật liệu nghiên cứu

2.2.1. Vi khuẩn và điều kiện nuôi cấy

Nghiên cứu sử dụng một chủng vi khuẩn *V. alginolyticus* được phân lập từ cá hồng mỹ mắc bệnh xuất huyết tại thành phố Huế trong tất cả các thí nghiệm. Vi khuẩn

được định danh bằng kỹ thuật MALDI- ToF (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization – Time of Flight) tại trường Đại học Sydney, Úc (Nguyễn Nam Quang và cs., 2025). Vi khuẩn được bảo quản trong dung dịch glycerol 20% ở nhiệt độ -20°C , sau đó được phục hồi bằng cách nuôi cấy ở 28°C trong 24 giờ trên môi trường Tryptic Soy Agar bổ sung 2% NaCl (TSA+, Himedia, Ấn Độ). Các khuẩn lạc thu được tiếp tục được nuôi tăng sinh trong môi trường Tryptic Soya Broth bổ sung 2% NaCl (TSB+, Himedia, Ấn Độ) ở 28°C , với tốc độ lắc 140 vòng/phút. Mật độ vi khuẩn sau nuôi cấy được đo mật độ tế bào ở bước sóng 600 nm (optical density - OD), sử dụng máy quang phổ UV-VIS (U2900, Hitachi, Nhật Bản), với OD = 1 tương đương mật độ $1,2 \times 10^9$ CFU/mL.

2.2.2. Indole-3-acetic acid (IAA)

IAA (Duchefa Biochemie, Hà Lan) được hòa tan trong ethanol 95% để tạo thành dung dịch gốc 50 mM. Sau đó dung dịch này được lọc bằng giấy lọc ($0,2\ \mu\text{m}$) để loại bỏ chất cặn và bảo quản ở -20°C .

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Ảnh hưởng của IAA lên khả năng di động và sự hình thành màng sinh học biofilm của vi khuẩn *V. alginolyticus*

Khả năng di động của vi khuẩn *V. alginolyticus* được đánh giá trên môi trường thạch mềm, sử dụng môi trường TSB+ bổ sung 0,3% agar đã tiệt trùng. Môi trường được để nguội đến 55°C trước khi bổ sung IAA để đạt các nồng độ cuối cùng là 50, 100, 200 và $400\ \mu\text{M}$. Trong nghiệm thức đối chứng, IAA được thay thế bằng ethanol. Sau đó, 5 μL dung dịch huyền phù vi khuẩn có giá trị $\text{OD}_{600} = 0,5$ được nhỏ lên bề mặt thạch, và các đĩa được ủ ở 28°C . Sau 18 giờ, đường kính vòng di động xung quanh khuẩn lạc được đo để đánh giá khả năng di chuyển của vi khuẩn. Mỗi nồng độ IAA thí nghiệm được thực hiện lặp lại 6 lần.

Khả năng tạo thành màng sinh học của vi khuẩn được thực hiện bằng phương pháp nhuộm màu tím cristal violet theo Yang và cs. (2014). Cụ thể, *V. alginolyticus* được nuôi qua đêm và pha loãng đến mật độ $\text{OD}_{600} = 0,1$ trong môi trường TSB+, sau đó bổ sung ethanol 95% (đối chứng) hoặc IAA để tạo các nồng độ 50, 100, 200 và $400\ \mu\text{M}$. Tiếp theo, hút chính xác 200 μL dung dịch vi khuẩn ở các nghiệm thức vào đĩa nhựa 96 giếng đáy phẳng, với 6 lần lặp lại cho mỗi nghiệm thức. Đĩa nhựa được ủ tĩnh (không lắc) ở nhiệt độ 28°C trong 48 giờ. Sau thời gian ủ, môi trường nuôi cấy được loại bỏ và chỉ giữ lại các vi khuẩn đã bám dính và được rửa 3 lần với 300 μL nước muối sinh lý vô trùng. Phần vi khuẩn bám trên giếng được cố định bằng cách bổ sung 150 μL methanol 99% trong 20 phút. Methanol sau đó được loại bỏ và đĩa được để khô tự nhiên, và tiếp tục nhuộm với 150 μL dung dịch crystal violet 1% trong 15 phút. Thuốc nhuộm được rửa nhẹ dưới vòi nước chảy đến khi hết màu tím. Sau khi để khô hoàn toàn, 150 μL ethanol 95% được thêm vào mỗi giếng. Mật độ quang được đo bằng máy đo OD ở bước sóng 570 nm.

2.3.2. Ảnh hưởng của IAA lên hoạt tính một số enzyme do *V. alginolyticus* sản sinh

Ảnh hưởng của IAA lên hoạt tính enzyme của vi khuẩn *V. alginolyticus* được thực hiện theo mô tả của Yang và cs. (2014). Môi trường TSA+ đã được vô trùng và để nguội tới 55°C được trộn với các cơ chất và IAA để tạo thành các đĩa thạch có nồng độ 50, 100, 200 và $400\ \mu\text{M}$. Ở nghiệm thức đối chứng IAA được thay thế bằng ethanol 95%. Hoạt tính thủy phân của enzyme lipase được thực hiện bằng cách nhỏ 5 μL huyền phù vi khuẩn ($\text{OD}=0,5$) trên đĩa thạch có chứa IAA và 1% Tween 80 (Xilong, Trung Quốc) và đĩa thạch được ủ trong 48 giờ ở 28°C . Hoạt tính thủy phân của enzyme được tính dựa vào tỷ lệ giữa đường kính

vòng thủy phân xung quanh khuẩn lạc và đường kính khuẩn lạc (OZ/CD) (Yang và cs., 2014). Tương tự, hoạt tính của enzyme phospholipase, caseinase và haemolysin được thực hiện như trên bằng cách thay thế 1% Tween 80 bằng 1% nhũ tương lòng đỏ trứng (Sigma-Aldrich), hoặc 4% bột sữa tách béo (Woolworths, Úc) hoặc 5% máu cừu (Nam Khoa, Việt Nam). Thử nghiệm được thực hiện với 6 lần lặp lại cho mỗi hoạt tính enzyme và nồng độ IAA sử dụng.

2.3.3. Ảnh hưởng của IAA lên tỷ lệ sống của cá hồng mỹ cảm nhiễm vi khuẩn *V. alginolyticus* trong môi trường nuôi có hoặc không bổ sung IAA

Cá thí nghiệm: Cá hồng mỹ giống có khối lượng 6 - 8g được vận chuyển từ Công ty giống thủy sản Trường Phát (Khánh Hòa) và được nuôi thuần 14 ngày ở trong bể nhựa tròn 1000 L tại Phòng thí nghiệm Khoa Thủy sản, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế. Sau đó, cá được đưa vào trong các bể nhựa 80L đã được khử trùng và cấp 50L nước mặn 20 - 25‰ và duy trì sục khí liên tục với mật độ 10 con/bể. Cá được cho ăn ở mức 3% khối lượng thân vào lúc 8 giờ sáng và 3 giờ chiều sử dụng thức ăn De Heus mã số 9200. Xi phông và thay nước 10-20% được thực hiện hàng ngày. Trước khi bố trí thí nghiệm, bắt ngẫu nhiên 5 cá và cấy trực tiếp mẫu thận lên môi trường đặc trung Thiosulfate bile salts sucrose (TCBS) và đĩa thạch được giữ ở 28°C trong 24 giờ để xác nhận cá không nhiễm vi khuẩn *Vibrio* (không có khuẩn lạc trên môi trường).

Chuẩn bị vi khuẩn: Vi khuẩn được nuôi tăng sinh trong 24 giờ ở 28°C trong môi trường TSB+, có hoặc không bổ sung IAA. Nồng độ IAA sử dụng trong thí nghiệm (200 µM) được lựa chọn dựa trên kết quả thử nghiệm độc lực *in vitro*. Sau 24 giờ, sinh khối vi khuẩn được thu nhận và rửa hai lần bằng dung dịch NaCl 0,85%. Mật độ vi khuẩn sử dụng trong thí nghiệm

cảm nhiễm được xác định dựa trên liều gây chết 50% (LD₅₀), tương ứng với 10⁵ CFU/mL.

Thí nghiệm cảm nhiễm: Cá được cảm nhiễm bằng phương pháp tiêm vào xoang bụng với liều lượng 0,1 mL dung dịch vi khuẩn. Trong đó nghiệm thức đối chứng dương sử dụng vi khuẩn được nuôi trong môi trường TSB+ (*V. alginolyticus*), nghiệm thức thí nghiệm sử dụng vi khuẩn nuôi tăng sinh trong TSB+ có bổ sung IAA 200 µM (*V. alginolyticus* + IAA 200 µM) và nghiệm thức đối chứng âm (cá được tiêm 0,1 mL nước muối sinh lý). Thí nghiệm được lặp lại 3 lần cho mỗi nghiệm thức. Cá sau khi cảm nhiễm được cho ăn và chăm sóc như trong thời gian nuôi thuần. Số lượng cá chết được theo dõi hàng ngày và xác định trong 14 ngày. Tỷ lệ sống (TLS) được xác định bằng công thức:

$$TLS = \frac{\text{Số cá sống sau thí nghiệm}}{\text{tổng số cá thí nghiệm}} \times 100$$

2.3.4. Phương pháp xử lý số liệu

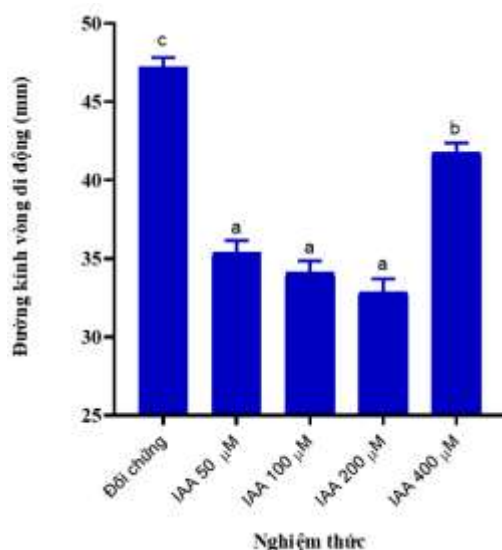
Dữ liệu thu thập được xử lý thống kê bằng phần mềm IBM SPSS phiên bản 23.0. Sự khác biệt về giá trị trung bình giữa các nhóm được xác định bằng phân tích phương sai một nhân tố (One-way ANOVA). Khi giả định về phương sai đồng nhất giữa các nhóm được thỏa mãn, phép thử Tukey post hoc test được sử dụng ở mức ý nghĩa $p < 0,05$. Ngược lại, nếu giả định phương sai đồng nhất bị vi phạm (Levene's test $p < 0,05$), phép thử Dunnett T3 được thực hiện trực tiếp với mức ý nghĩa 0,05. Phân tích tỷ lệ sống được thực hiện bằng phương pháp Kaplan-Meier và biểu đồ được xây dựng bằng phần mềm GraphPad Prism phiên bản 9.0.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của IAA lên khả năng di động của vi khuẩn *V. alginolyticus*

Khả năng di động là một yếu tố độc lực quan trọng, giúp vi khuẩn thích ứng với môi trường, di chuyển và tiếp cận vật chủ để gây bệnh. Trên môi trường thạch mềm, *V. alginolyticus* tạo được vòng di động rộng 47 mm sau 12 giờ nuôi cấy. Tất cả các nồng độ IAA thử nghiệm đều ức chế rõ rệt khả năng di động của vi khuẩn so với đối chứng ($p < 0,05$) (Hình 1). Khi tăng nồng độ IAA từ 50 đến 200 μM , đường kính vòng di động giảm dần còn 35,4; 34,1 và 32,9 mm, tuy nhiên sự khác biệt giữa các nghiệm thức này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Đáng chú ý, ở nồng độ IAA 400 μM , hoạt động di động được cải thiện nhẹ (41,8 mm). *V. alginolyticus* di động nhờ hai loại roi (roi cực và roi bên) cùng tồn tại trên một tế bào (Atsumi và cs., 2006). Do đó, IAA có thể ảnh hưởng đến quá trình tổng hợp và/hoặc hoạt động của các roi này. Kết quả của nghiên cứu này phù hợp với các báo cáo trước đây: indole làm giảm khả năng di động ở *V. campbellii* (Yang và cs., 2017),

V. tasmaniensis LGP32 và *V. crassostreae* J2-9 (Zhang và cs., 2022c), là các loài gây bệnh trên động vật thủy sản hai mảnh vỏ. Nghiên cứu của Zhang và cs. (2022c) còn chỉ ra rằng indole làm giảm biểu hiện các gene liên quan đến cấu trúc roi và hệ thống hướng động hóa học. Cụ thể, ở *V. tasmaniensis* LGP32, indole ức chế các gene flagellin, polar flagellin B, FlaG và flaN; trong khi ở *V. crassostreae* J2-9 là flhF, flaG và flgE. Tác động tương tự cũng được ghi nhận ở *S. enterica* serovar Typhimurium (Nikaido và cs., 2012) và *V. campbellii* (Yang và cs., 2017), cho thấy mối liên hệ giữa indole và sự ức chế hình thành roi bơi. Vì vậy, có thể giả thuyết rằng IAA làm giảm khả năng di động của *V. alginolyticus* thông qua điều hòa giảm biểu hiện các gene liên quan đến roi. Tuy nhiên, ở nghiên cứu này nồng độ IAA 400 μM thể hiện sự hồi phục về khả năng di động so với các nồng độ thấp hơn, để giải thích rõ ràng sự ảnh hưởng này cần tiến hành các nghiên cứu sâu hơn về mối liên hệ giữa nồng độ IAA và hoạt động của các roi bơi thông qua khảo sát sự biểu hiện của các gene hoặc protein có liên quan.

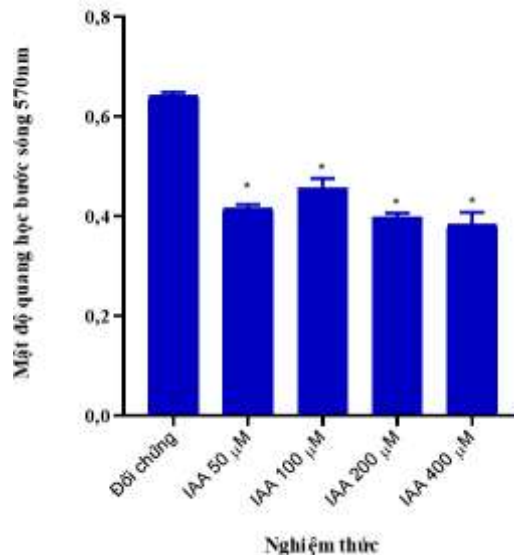


Hình 1. Ảnh hưởng của IAA lên khả năng di động của vi khuẩn *V. alginolyticus*

Dữ liệu được biểu diễn dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ sai số chuẩn (Mean $\pm$ SE). Các ký tự khác nhau (a, b, c) biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ở mức $p < 0,05$.

3.2. Ảnh hưởng của IAA lên khả năng tạo màng sinh học biofilm của vi khuẩn *V. alginolyticus*

Tất cả các nồng độ IAA thử nghiệm đều làm giảm đáng kể khả năng hình thành màng sinh học (biofilm) của *V. alginolyticus* so với nghiệm thức đối chứng ($p < 0,05$) (Hình 2).



Hình 2. Ảnh hưởng của IAA lên sự hình thành màng sinh học biofilm trên vi khuẩn *V. alginolyticus*

Dữ liệu được biểu diễn dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ sai số chuẩn (Mean $\pm$ SE).

Kí hiệu * chỉ sự khác biệt thống kê ($p < 0,05$) giữa nghiệm thức thí nghiệm và đối chứng

nhau tùy loài: indole làm tăng tạo biofilm ở *Agrobacterium tumefaciens* (Lee và cs., 2015) và *Burkholderia unamae* (Kim và cs., 2013), nhưng lại không ảnh hưởng đến *V. anguillarum* (Li và cs., 2014) và *V. tasmaniensis* LGP32 (Zhang và cs., 2022c). Theo Zhang và cs. (2022c), sự khác biệt này có thể liên quan đến đặc điểm sống riêng của từng loài vi khuẩn.

Ở hầu hết vi khuẩn, biofilm đóng vai trò quan trọng trong quá trình bám dính, xâm nhập và tồn tại trong cơ thể vật chủ (Boukerb và cs., 2021). Kết quả thử nghiệm cho thấy IAA có thể ức chế sự hình thành biofilm và góp phần làm giảm độc lực của vi khuẩn trong nghiên cứu này. Nhiều nghiên cứu cũng đã ghi nhận ảnh hưởng tương tự của indole và các dẫn xuất của nó lên sự hình thành màng sinh học biofilm trên các loài như *V. crassostreae* J2-9 (Zhang và cs., 2022c), *V. campbellii* (Yang và cs., 2017), *Acinetobacter oleivorans* (Kim và Park, 2013), *Bdellovibrio bacteriovorus* (Dwindar và cs., 2015), *P. aeruginosa* (Frei và cs., 2012), *E. coli* (Lee và cs., 2007) và *S. enterica* serovar Typhimurium (Nikaido và cs., 2012). Các nghiên cứu này cho thấy indole có thể làm giảm biểu hiện các gene liên quan đến cấu trúc và hoạt động của roi bơi – yếu tố quan trọng trong hình thành biofilm. Tuy nhiên, tác động của indole khác

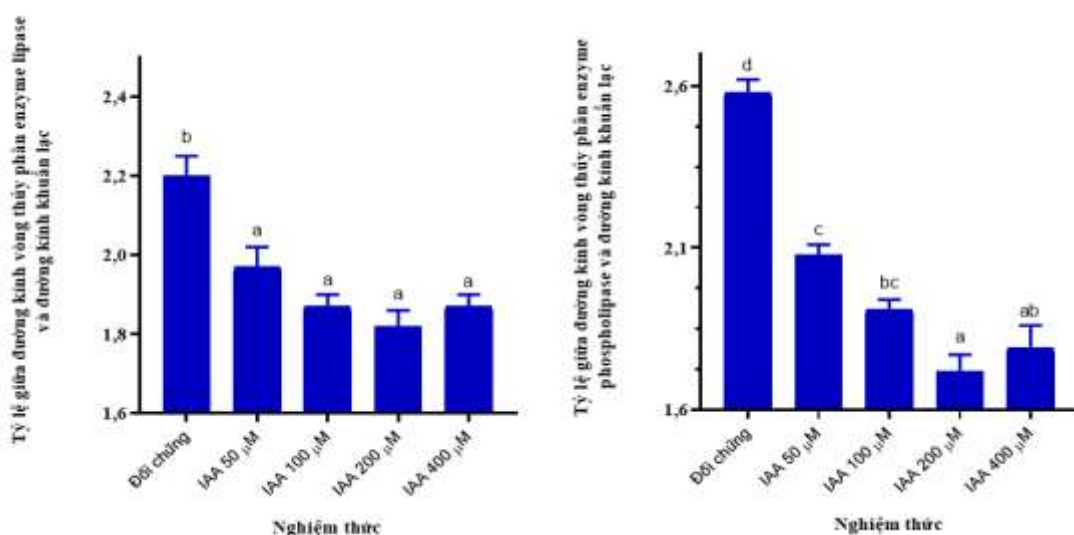
3.3. Ảnh hưởng của IAA lên hoạt tính một số enzyme của vi khuẩn *V. alginolyticus*

Hoạt tính thủy phân của các enzyme lipase, phospholipase, caseinase và haemolysin của vi khuẩn *V. alginolyticus* đều giảm đáng kể khi môi trường thử nghiệm được bổ sung IAA.

Ảnh hưởng của IAA lên hoạt tính thủy phân của enzyme lipase được thể hiện ở Hình 3. Tất cả các nồng độ IAA sử dụng 50, 100, 200 và 400 µM đều làm giảm đáng kể hoạt tính của enzyme lipase so với

nghiệm thức đối chứng ($p < 0,05$). Mặc dù ở nồng độ IAA thí nghiệm 200 μM , hoạt tính của enzyme lipase thấp nhất tuy nhiên không có sự sai khác thống kê với các nồng độ IAA khác ($p > 0,05$). Theo Defoirt (2023), enzyme lipase có vai trò trong việc phá hủy màng và mô tế bào tạo điều kiện để vi khuẩn dễ dàng xâm nhập vào vật chủ nhờ khả năng phân cắt các triacylglycerols mạch dài. Mỗi liên hệ giữa hoạt tính của enzyme lipase và độc lực vi khuẩn đã được báo cáo ở nhiều vi khuẩn khác nhau. Gần đây, Nguyễn Đức Quỳnh Anh và cs. (2024,

2025) đã báo cáo sự có mặt của các stress hormone như epinephrine và dopamine đã làm tăng hoạt tính của enzyme lipase ở vi khuẩn *V. harveyi* và *Streptococcus agalactiae* và góp phần làm tăng độc lực của các chủng vi khuẩn này trong điều kiện *in vivo* (tăng tỷ lệ chết của tôm thẻ chân trắng và cá rô phi khi cảm nhiễm các vi khuẩn này). Như vậy khác với stress hormone, sự có mặt của IAA trong nghiên cứu này làm giảm hoạt tính của lipase và do đó có thể làm giảm độc lực của vi khuẩn *V. alginolyticus*.



Hình 3. Ảnh hưởng của IAA lên hoạt tính thủy phân của enzyme lipase (trái) và phospholipase (phải) trên vi khuẩn *V. alginolyticus*

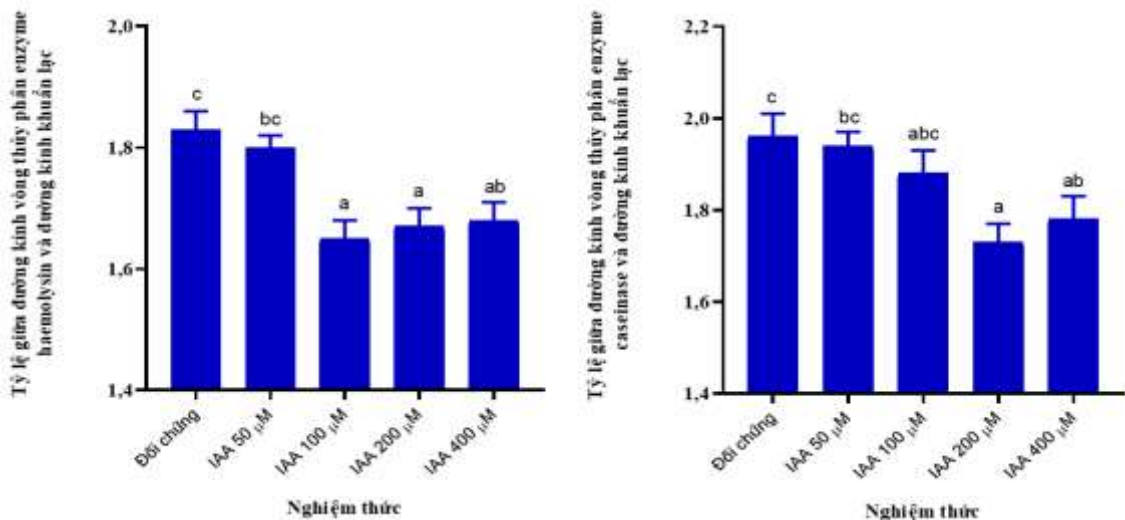
Dữ liệu được biểu diễn dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ sai số chuẩn ($\text{Mean} \pm \text{SE}$). Các ký tự khác nhau (a, b, c) biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ở mức $p < 0,05$.

Phospholipase là enzyme xúc tác thủy phân phospholipid, góp phần phá hủy màng tế bào và gây tổn thương mô, qua đó đóng vai trò quan trọng trong cơ chế gây bệnh của vi khuẩn (Istivan và Coloe, 2006). Tương tự lipase, tất cả các nồng độ IAA thử nghiệm đều làm giảm hoạt tính của enzyme này. Ở nghiệm thức đối chứng, *V. alginolyticus* thể hiện hoạt tính phospholipase cao nhất với tỷ lệ OZ/CD đạt 2,6, và giá trị này giảm dần theo nồng độ IAA: 2,1 (50 μM), 1,9 (100 μM), 1,7 (200 μM) và tăng nhẹ lên 1,8 ở 400 μM (Hình 3). Mặc dù hoạt tính phospholipase đã được

nghiên cứu ở nhiều loài thuộc chi *Vibrio*, kết quả vẫn còn khác biệt đáng kể giữa các chủng và điều kiện môi trường. Ví dụ, khi khảo sát trên vi khuẩn *V. harveyi* trong điều kiện có mặt stress hormone, hoạt tính enzyme được ghi nhận có thể tăng mạnh hoặc không thay đổi tùy nghiên cứu (Nguyễn Đức Quỳnh Anh và cs., 2024; Yang và cs., 2014). Điều này cho thấy hoạt tính của phospholipase chịu ảnh hưởng đồng thời bởi yếu tố loài, điều kiện ngoại bào và cơ chế tác động cụ thể của IAA cần được tiếp tục nghiên cứu.

Haemolysin là enzyme gây tan huyết thông qua cơ chế phá vỡ và thủy phân hồng cầu, ảnh hưởng trực tiếp đến cấu trúc và chức năng của tế bào này, và được xem là yếu tố độc lực quan trọng ở nhiều vi khuẩn gây bệnh. Trong nghiên cứu này, hoạt tính của haemolysin bị ảnh hưởng bởi nồng độ IAA. Ở nghiệm thức đối chứng, enzyme cho hoạt tính thủy phân cao nhất; tuy nhiên, khi bổ sung IAA, hoạt tính này giảm đáng kể, đặc biệt ở các nồng độ 100, 200 và 400 μM ($p < 0,05$), trong khi nồng độ 50 μM không tạo ra sự khác biệt có ý nghĩa ($p > 0,05$) (Hình 4). Kết quả này khác với nghiên cứu trên *V. campbellii*, trong đó các dẫn xuất indole không ảnh hưởng đến hoạt tính

haemolysin (Zhang và cs., 2022b), nhưng lại tương đồng với nghiên cứu của Lee và cs. (2012), khi 7-fluoroindole làm giảm hoạt tính tan huyết ở *P. aeruginosa* tại nồng độ 100 mM. Điều này cho thấy tác động của indole và các dẫn xuất của nó lên haemolysin phụ thuộc vào loài vi khuẩn. Ngoài ra, nhiều nghiên cứu cũng chỉ ra rằng hoạt tính haemolysin còn chịu ảnh hưởng lớn từ môi trường nuôi cấy, chẳng hạn như chỉ biểu hiện rõ trong thạch mềm hoặc môi trường thạch máu lỏng đối với *Yersinia ruckeri* và *S. typhi* (Romalde và Toranzo, 1993; Huang và DuPont, 2005; Karavolos và cs., 2011).



Hình 4. Ảnh hưởng của IAA lên hoạt tính thủy phân của enzyme haemolysin (trái) và caseinase (phải) trên vi khuẩn *V. alginolyticus*

Dữ liệu được biểu diễn dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ sai số chuẩn (Mean $\pm$ SE). Các ký tự khác nhau (a, b, c) biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ở mức $p < 0,05$.

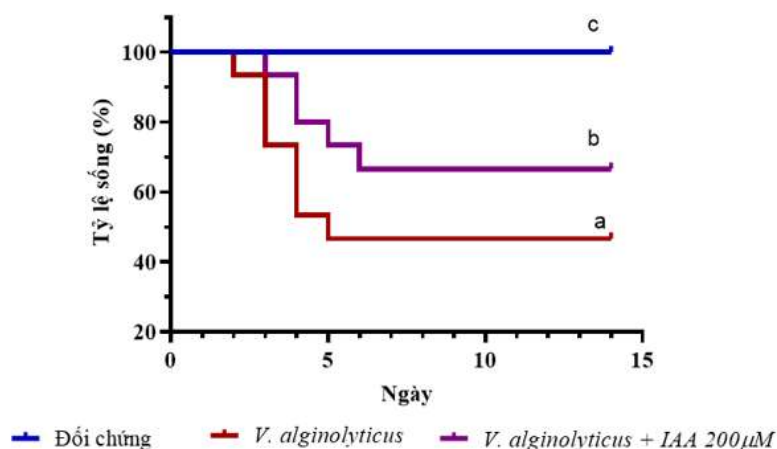
Caseinase là một protease có hoạt tính phân giải cao đối với protein, đặc biệt là casein, thông qua cơ chế xúc tác thủy phân liên kết peptide, tạo ra các sản phẩm phân tử nhỏ hơn như polypeptide và acid amin. Trong nghiên cứu này sự hiện diện của IAA ở các nồng độ khác nhau đã làm giảm hoạt tính thủy phân của enzyme caseinase so với nghiệm thức đối chứng. Tuy nhiên, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê chỉ được ghi nhận ở các nồng độ IAA cao là 200 và 400 μM (Hình 4). Tương tự với xu

hướng ghi nhận ở enzyme phospholipase, sự biến động hoạt tính của enzyme caseinase phụ thuộc vào điều kiện môi trường và đặc điểm loài vi khuẩn. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Zhang và cs. (2022b), hầu hết các dẫn xuất của indole khảo sát ở nồng độ 10 và 100 μM đều làm giảm nhẹ hoạt tính của enzyme caseinase trên vi khuẩn *V. campbellii*. Một số nghiên cứu khác cũng chỉ ra tác động ức chế tương tự: dẫn xuất indole là 6-fluoroindole làm giảm hoạt tính caseinase ở *Serratia*

marcescens tại nồng độ 500 μM (Sethupathy và cs., 2020); các dẫn xuất khác như 4-iodoindole, 7-iodoindole, 4-chloroindole và 7-chloroindole cũng được báo cáo có khả năng ức chế hoạt động thủy phân casein ở *V. parahaemolyticus* trong khoảng nồng độ từ 40 đến 600 μM (Sathiyamoorthi và cs., 2021). Tuy nhiên cơ chế ảnh hưởng của indole và dẫn xuất của indole lên hoạt tính của enzyme caeinase vẫn chưa được làm rõ và cần nghiên cứu thêm.

3.4. Ảnh hưởng của IAA lên tỷ lệ sống của cá hồng mỹ cảm nhiễm vi khuẩn *V. alginolyticus* nuôi trong môi trường có hoặc không bổ sung IAA

Kết quả thí nghiệm cho thấy, tỷ lệ sống của cá hồng mỹ cảm nhiễm bằng vi khuẩn *V. alginolyticus* nuôi trong môi trường có chứa IAA được cải thiện hơn (66,7%) so với nghiệm thức thí nghiệm cảm nhiễm sử dụng vi khuẩn nuôi tăng sinh trong điều kiện bình thường (không bổ sung IAA) là 46,7% (Hình 5). Ở nghiệm thức đối chứng tỷ lệ sống của cá hồng mỹ không cảm nhiễm lên đến 100%. Nghiệm thức cảm nhiễm vi khuẩn *V. alginolyticus* (không bổ sung IAA) cá chết kéo dài từ ngày thứ 2 đến hết ngày thứ 5, và chết tập trung vào ngày 3-4. Ở nghiệm thức sử dụng vi khuẩn được nuôi cấy trong môi trường có mặt IAA, cá có hiện tượng chết chậm và ít hơn, rải rác từ ngày 3 đến ngày 7.



Hình 5. Tỷ lệ sống của cá hồng mỹ cảm nhiễm với vi khuẩn *V. alginolyticus*

a, b, c biểu hiện sự khác biệt thống kê giữa các nghiệm thức theo phân tích tỷ lệ sống Kaplan-Meier

Kết quả thí nghiệm cảm nhiễm gây bệnh cho thấy IAA có khả năng cải thiện tỷ lệ sống của cá hồng mỹ giống với vi khuẩn *V. alginolyticus*. Kết quả này phù hợp với những công bố trước đây, cho thấy indole và các dẫn xuất có khả năng làm giảm độc lực của các chủng *V. campbellii*, *V. parahaemolyticus*, và *V. harveyi* đối với ấu trùng artemia (*Artemia franciscana*), cũng như của *V. anguillarum* NB10 đối với ấu trùng cá vược châu Âu (*Dicentrarchus labrax*). Gần đây, indole cũng được xác định có khả năng làm giảm độc lực và cải thiện tỷ lệ sống của ấu trùng vẹm xanh được cảm nhiễm với hai loại vi khuẩn *V. tasmaniensis* LGP32 và *V. crassostreae* J2-9

(Zhang và cs., 2022c). Do đó, dựa vào kết quả thí nghiệm cảm nhiễm và kết quả thử nghiệm *in vitro* về các hoạt tính enzyme, khả năng di động và hình thành màng sinh học biofilm trong nghiên cứu này có thể kết luận rằng IAA đã làm giảm độc lực của vi khuẩn *V. alginolyticus*, do đó đã cải thiện tỷ lệ sống của cá hồng mỹ cảm nhiễm. Do vậy, IAA có thể ứng dụng sử dụng để phòng bệnh do vi khuẩn *V. alginolyticus* gây ra trên động vật thủy sản.

4. KẾT LUẬN

Trong môi trường nuôi có bổ sung IAA (50, 100, 200 và 400 μM) làm giảm

khả năng hình thành màng sinh học, khả năng di động và hoạt tính enzyme lipase, phospholipase, haemolysin và caseinase ở vi khuẩn *V. alginolyticus*. Tỷ lệ sống của cá hồng mỹ ở thí nghiệm cảm nhiễm với vi khuẩn *V. alginolyticus* trong điều kiện nuôi tăng sinh có bổ sung IAA 200 μ M được cải thiện với tỷ lệ sống 66,7% so với nghiệm thức không bổ sung IAA là 46,7%.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm nghiên cứu xin chân thành cảm ơn sự hỗ trợ của đề tài nghiên cứu khoa học cấp cơ sở trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế năm 2025, mã số DHL2025-TS-01.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tài liệu tiếng Việt

- Nguyễn Đức Quỳnh Anh, Nguyễn Thị Huế Linh, Nguyễn Nam Quang, Huỳnh Văn Vi và Nguyễn Ngọc Phước. (2024). Ảnh hưởng của epinephrine lên độc lực vi khuẩn *Vibrio harveyi* trên tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp - Đại học Nông Lâm, Đại học Huế*, 8(1), 4015-4026.
- Nguyễn Đức Quỳnh Anh, Nguyễn Nam Quang, Nguyễn Thị Huế Linh, Nguyễn Thị Xuân Hồng và Nguyễn Ngọc Phước. (2025). Ảnh hưởng của dopamine lên độc lực vi khuẩn *Streptococcus agalactiae* trên cá rô phi (*Oreochromis* sp). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp - Đại học Nông Lâm, Đại học Huế*, 9(1), 4695-4705.
- Nguyễn Nam Quang, Nguyễn Thị Huế Linh, Nguyễn Đức Quỳnh Anh, Nguyễn Thị Xuân Hồng, Trường Thị Hoa và Nguyễn Ngọc Phước. (2025). Nghiên cứu khả năng kháng kháng sinh của vi khuẩn *Vibrio* phân lập từ cá biển nuôi lồng bị bệnh xuất huyết tại vùng ven biển thành phố Huế. *Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, 134(3B), 23-27.

2. Tài liệu tiếng nước ngoài

- Ahangarzadeh, M., Houshmand, H., Kakoolaki, S., Sepahdari, A., Ghorbanpoor, M., Ajdari, A., Nazemroaya, S., Zabayah Najafabadi, M., Torfi Mozanzadeh, M., & Sadr, A.S. (2022). Efficiency of monovalent *Vibrio alginolyticus* formaldehyde-killed vaccine on the immune responses and protection of Asian seabass (*Lates calcarifer*) juveniles

- against Vibriosis. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 21(6), 1367-1382.
- Atsumi, T., Maekawa, Y., Yamada, T., Kawagishi, I., Imae, Y., & Homma, M. (1996). Effect of viscosity on swimming by the lateral and polar flagella of *Vibrio alginolyticus*. *Journal of bacteriology*, 178(16), 5024-5026.
- Boukerb, A.M., Cambronel, M., Rodrigues, S., Mesguida, O., Knowlton, R., Feuilloy, M.G., Zommiti, M., & Connil, N. (2021). Inter-kingdom signaling of stress hormones: sensing, transport and modulation of bacterial physiology. *Frontiers in microbiology*, 12, 690942.
- Chandrakala, N., & Priya, S. (2017). Vibriosis in shrimp aquaculture a review. *International Journal of Scientific Research in Science, Engineering and Technology*, 3(2), 27-33.
- Defoirdt, T. (2023). Indole signaling, a promising target to control vibriosis in aquaculture. *Aquaculture*, 574, 739692.
- Dwidar, M., Nam, D., & Mitchell, R. J. (2015). Indole negatively impacts predation by *Bdellovibrio bacteriovorus* and its release from the bdelloplast. *Environmental microbiology*, 17(4), 1009-1022.
- F. A. O. (2024). The state of world fisheries and aquaculture 2024 blue transformation in action.
- Frei, R., Breitbach, A. S., & Blackwell, H. E. (2012). 2-Aminobenzimidazole derivatives strongly inhibit and disperse *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 51(21), 5226.
- Huang, D. B., & DuPont, H. L. (2005). Problem pathogens: extra-intestinal complications of *Salmonella enterica* serotype Typhi infection. *The Lancet infectious diseases*, 5(6), 341-348.
- Istivan, T. S., & Coloe, P. J. (2006). Phospholipase A in Gram-negative bacteria and its role in pathogenesis. *Microbiology*, 152(Pt 5), 1263-1274.
- Jayaraman, S., Adhixami Kannan, M., Rajendhran, N., John, G. J., & Ramasamy, T. (2023). Indole-3-acetic acid impacts biofilm formation and virulence production of *Pseudomonas aeruginosa*. *Biofouling*, 39(8), 800-815.
- Karavolos, M. H., Bulmer, D. M., Spencer, H., Rampioni, G., Schmalen, I., Baker, S., Pickard, D., Gray, J., Fookes, M., Winzer, K., Ivens, A., Dougan, G., Williams, P., &

- Khan, C. M. (2011). *Salmonella Typhi* sense host neuroendocrine stress hormones and release the toxin haemolysin E. *EMBO Rep*, 12(3), 252-258.
- Kim, D., Sitepu, I. R., & Hashidoko, Y. (2013). Induction of biofilm formation in the betaproteobacterium *Burkholderia unamae* CK43B exposed to exogenous indole and gallic acid. *Applied and environmental microbiology*, 79(16), 4845-4852.
- Kim, J., & Park, W. (2013). Indole inhibits bacterial quorum sensing signal transmission by interfering with quorum sensing regulator folding. *Microbiology*, 159(Pt_12), 2616-2625.
- Lee, J., Jayaraman, A., & Wood, T. K. (2007). Indole is an inter-species biofilm signal mediated by SdiA. *BMC microbiology*, 7(1), 42.
- Lee, J. H., Kim, Y. G., Baek, K. H., Cho, M. H., & Lee, J. (2015). The multifaceted roles of the interspecies signalling molecule indole in *Agrobacterium tumefaciens*. *Environmental Microbiology*, 17(4), 1234-1244.
- Lee, J. H., Kim, Y. G., Cho, M. H., Kim, J. A., & Lee, J. (2012). 7-fluoroindole as an antivirulence compound against *Pseudomonas aeruginosa*. *FEMS microbiology letters*, 329(1), 36-44.
- Li, X., Yang, Q., Dierckens, K., Milton, D. L., & Defoirdt, T. (2014). RpoS and indole signaling control the virulence of *Vibrio anguillarum* towards gnotobiotic sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *PloS one*, 9(10), e111801.
- Nikaïdo, E., Giraud, E., Baucheron, S., Yamasaki, S., Wiedemann, A., Okamoto, K., Takagi, T., Yamaguchi, A., Cloeckert, A. & Nishino, K. (2012). Effects of indole on drug resistance and virulence of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium revealed by genome-wide analyses. *Gut pathogens*, 4(1), 5.
- Romalde, J. L., & Toranzo, A. E. (1993). Pathological activities of *Yersinia ruckeri*, the Enteric Redmouth (ERM) bacterium. *FEMS microbiology letters*, 112(3), 291-299.
- Sathiyamoorthi, E., Faleye, O. S., Lee, J. H., Raj, V., & Lee, J. (2021). Antibacterial and antibiofilm activities of chloroindoles against *Vibrio parahaemolyticus*. *Frontiers in Microbiology*, 12, 714371.
- Sethupathy, S., Sathiyamoorthi, E., Kim, Y. G., Lee, J. H., & Lee, J. (2020). Antibiofilm and antivirulence properties of indoles against *Serratia marcescens*. *Frontiers in microbiology*, 11, 584812.
- Sheikh, H. I., Alhamadin, N. I. I., Liew, H. J., Fadhlina, A., Wahid, M. E. A., Musa, N., & Jalal, K. C. A. (2024). Virulence factors of the zoonotic pathogen *Vibrio alginolyticus*: A review and bibliometric analysis. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 1-18.
- Yang, Q., Anh, N. D., Bossier, P., & Defoirdt, T. (2014). Norepinephrine and dopamine increase motility, biofilm formation, and virulence of *Vibrio harveyi*. *Frontiers in microbiology*, 5, 584.
- Yang, Q., Pande, G. S. J., Wang, Z., Lin, B., Rubin, R. A., Vora, G. J., & Defoirdt, T. (2017). Indole signalling and (micro) algal auxins decrease the virulence of *Vibrio campbellii*, a major pathogen of aquatic organisms. *Environmental microbiology*, 19(5), 1987-2004.
- Yen, P. T. H., Linh, N. Q., & Tram, N. D. Q. (2021). The identification and determination of toxin genes of *Vibrio* strains causing hemorrhagic disease on red drum (*Sciaenops ocellatus*) using PCR. *AMB Express*, 11(1), 4.
- Yi, X., Xu, X., Qi, X., Chen, Y., Zhu, Z., Xu, G., Li, H., Kraco, E.-K., Shen, H., Lin, M., Zheng, J., Qin, Y., & Jiang, X. (2022). Mechanisms underlying the virulence regulation of *Vibrio alginolyticus* ND-01 pstS and pstB with a transcriptomic analysis. *Microorganisms*, 10(11), 2093.
- Zhang, S., Yang, Q., & Defoirdt, T. (2022a). Indole analogues decreasing the virulence of *Vibrio campbellii* towards brine shrimp larvae. *Microbial biotechnology*, 15(12), 2917-2928.
- Zhang, S., Yang, Q., & Defoirdt, T. (2022b). Indole decreases the virulence of pathogenic vibrios belonging to the Harveyi clade. *Journal of Applied Microbiology*, 132(1), 167-176.
- Zhang, S., Yang, Q., Fu, S., Janssen, C. R., Eggermont, M., & Defoirdt, T. (2022c). Indole decreases the virulence of the bivalve model pathogens *Vibrio tasmaniensis* LGP32 and *Vibrio crassostreae* J2-9. *Scientific Reports*, 12(1), 5749.