

**VIỆN NGHIÊN CỨU
NUÔI TRỒNG THỦY SẢN II**

Giấy phép xuất bản
số 47/GP-BTTTT
cấp ngày 8/2/2013
Xuất bản hàng quý

HỘI ĐỒNG BIÊN TẬP:

Tổng biên tập:

TS. NGUYỄN VĂN SÁNG

Phó tổng biên tập:

TS. PHAN THANH LÂM

Thư ký tòa soạn:

ThS. HOÀNG THỊ THỦY TIÊN

CÁC ỦY VIÊN:

- * PGS. TS. NGUYỄN QUANG HUY
- * PGS. TS. VÕ NAM SƠN
- * TS. NGUYỄN THANH TÙNG
- * TS. LÊ HỒNG PHƯỚC
- * TS. NGUYỄN THỊ NGỌC TĨNH
- * TS. LA XUÂN THẢO
- * TS. NGUYỄN VĂN NGUYỄN
- * TS. VŨ ANH TUẤN
- * TS. NGUYỄN NHỨT

Trình bày:

ThS. Hoàng Thị Thủy Tiên

Tòa Soạn:

Viện Nghiên Cứu Nuôi Trồng
Thủy Sản II
116 Nguyễn Đình Chiểu,
Q.1, TP.HCM
ĐT: 028 3829 9592
Fax: 028 3822 6807
Email: ria2@mard.gov.vn

In tại: Công ty In Liên Tường
240/59-61-63 Nguyễn Văn Luông
Quận 6, TP. HCM

MỤC LỤC

	Trang
Sử dụng tảo cô đặc <i>Thalassiosira</i> sp. trong ương ấu trùng nghêu Bến Tre (<i>Meretrix lyrata</i> Sowerby, 1851).	3-13
<i>The use of concentrated microalgae Thalassiosira sp. to feed larvae of clam (Meretrix lyrata, Sowerby, 1851).</i>	
HỒ HỒNG NHUNG, LẠI THỊ MINH LÊ, TRẦN VĂN NHIÊN, NGUYỄN HỮU THANH	
Hiệu quả ứng dụng công nghệ micro-nano bubble oxygen trong ao ương cá tra từ bột đến hương.	14-25
<i>Application efficiency of micro-nano bubble oxygen technology in the striped catfish nursing pond from fry to juvenile stage.</i>	
PHÙNG THỊ HỒNG GẤM, NGUYỄN TRỌNG HUY, CHÂU HỮU TRI, THỜI NGỌC BẢO, ĐỖ VĂN HOÀNG, PHAN THANH LÂM	
Hiệu quả phòng bệnh hoại tử gan tụy cấp trên tôm thẻ (<i>Penaeus vannamei</i>) của cao chiết khổ sâm (<i>Croton tonkinensis</i>) ở quy mô trang trại.	26-41
<i>Protection effect of acute hepatopancreatic necrosis disease in white-leg shrimp (Penaeus vannamei) of Croton tonkinensis extract on the farm scale.</i>	
TRƯƠNG HỒNG VIỆT, ĐỖ THỊ CẨM HỒNG, TRẦN BÙI TRÚC QUÂN, VŨ THIÊN AN, NGUYỄN CÔNG THÀNH, THÁI THANH TRUNG, PHẠM BÁ VŨ TÙNG	
Đặc tính đối kháng của chủng <i>Lactobacillus</i> L756 với vi khuẩn <i>Vibrio parahaemolyticus</i> gây bệnh hoại tử gan tụy cấp trên tôm thẻ chân trắng (<i>Litopenaeus vannamei</i>).	42-52
<i>Antibacterial properties of Lactobacillus plantarum (L756) against Vibrio parahaemolyticus causing acute hepatopancreatic necrosis disease in white leg shrimp (Litopenaeus vannamei).</i>	
VŨ HỒNG PHƯỢNG, LÊ HOÀNG NHƯ, LÊ THỊ THÙY TRANG, TRẦN MINH TRUNG, NGUYỄN THỊ MINH HIỂN, ĐẶNG NGỌC THÙY, VŨ BÍCH XOÀN	

- | | | | |
|--|-------|---|-------|
| <p>Đặc điểm thành phần acid béo của một số nguyên liệu giàu chất béo và phi lê cá tra (<i>Pangasianodon hypophthalmus</i>) ở các giai đoạn phát triển.</p> <p><i>Characteristics of fatty acid composition of several lipid ingredients and tra catfish (<i>Pangasianodon hypophthalmus</i>) at different developmental stages.</i></p> <p>LÊ HOÀNG, TRẦN THỊ LỆ TRINH,
LÝ HỮU TOÀN, VÕ THỊ QUỲNH NHƯ,
NGUYỄN VĂN NGUYỆN</p> | 53-63 | <p>Ảnh hưởng của các yếu tố đầu vào đến chỉ tiêu sinh sản trong sản xuất cá tra bột ở Đồng bằng sông Cửu Long, Việt Nam.</p> <p><i>Effects of production inputs to fry quality of striped catfish in Mekong delta, Vietnam .</i></p> <p>ĐẶNG MINH PHƯƠNG, NGUYỄN VĂN SÁNG</p> | 74-83 |
| <p>Nâng cao giá trị dinh dưỡng bã sữa đậu nành bằng thủy phân và lên men kết hợp enzyme cellulase và vi khuẩn <i>Bacillus subtilis</i> B3.</p> <p><i>Improving nutritional value of soybean milk residue using Bacillus subtilis B3 and cellulase.</i></p> <p>TRẦN VĂN KHANH, NGUYỄN VĂN NGUYỆN,
LÊ HOÀNG, NGUYỄN XUÂN HAI,
NGUYỄN THÀNH TRUNG, TRẦN THỊ LỆ TRINH,
NGUYỄN THỊ NGỌC TÍNH</p> | 64-73 | <p>Điều tra, thu thập và định danh các loài cá tỳ bà bướm (<i>Sewellia spp.</i>) tại một số tỉnh miền Trung.</p> <p><i>Investigation, collection and identification some species belong to sewellia spp. at the central provinces of Vietnam.</i></p> <p>NGUYỄN THỊ KIM LIÊN,
TRƯƠNG THỊ THÚY HÀNG, NGÔ KHÁNH DUY</p> | 84-96 |

SỬ DỤNG TẢO CÔ ĐẶC *Thalassiosira* sp. TRONG ƯƠNG ẤU TRÙNG NGHÊU BẾN TRE (*Meretrix lyrata* Sowerby, 1851)

Hồ Hồng Nhung^{1*}, Lại Thị Minh Lê¹, Trần Văn Nhiên¹, Nguyễn Hữu Thanh¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của việc sử dụng bổ sung sản phẩm tảo cô đặc *Thalassiosira* sp. thay thế vi tảo tươi *Thalassiosira* sp. và *Chaetoceros* sp. lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu Bến Tre (*Meretrix lyrata*) giai đoạn trôi nổi. Ấu trùng được ương trong các bể composite hình trụ, dung tích 150 lít. Thức ăn mỗi nghiệm thức là hỗn hợp của ba loài vi tảo *Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana* kết hợp với *Chaetoceros* sp. hoặc *Thalassiosira* sp. Vi tảo *Thalassiosira* sp. cô đặc ở dạng nhão hoặc lỏng đậm đặc là sản phẩm khoa học của đề tài. Hai thông số kích thước và tỷ lệ sống được sử dụng để đánh giá ảnh hưởng của thức ăn lên sự phát triển của ấu trùng. Kích thước trung bình của ấu trùng nghêu sau 10 ngày tuổi khi cho ăn bằng tảo tươi *Thalassiosira* sp. ($194,67 \pm 9,51 \mu\text{m}$) và *Chaetoceros* sp. ($195,70 \pm 11,15 \mu\text{m}$) khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Tuy nhiên, kích thước trung bình ở nghiệm thức tảo *Thalassiosira* sp. dạng lỏng ($214,58 \pm 11,18 \mu\text{m}$) và dạng nhão ($201,54 \pm 10,01 \mu\text{m}$) cao khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với tảo tươi *Thalassiosira* sp. và *Chaetoceros* sp. Ở nghiệm thức tảo tươi *Chaetoceros* sp. ($52,4 \pm 2,91\%$) đạt tỷ lệ sống cao nhất và khác biệt không có ý nghĩa so với nghiệm thức tảo *Thalassiosira* sp. dạng nhão ($50,7 \pm 2,05\%$) và dạng lỏng ($47,8 \pm 2,28\%$). Tảo cô đặc *Thalassiosira* sp. có thể làm thức ăn bổ sung thay thế vi tảo tươi tương ứng trong ương ấu trùng nghêu giai đoạn trôi nổi.

Từ khóa: *Meretrix lyrata*, sinh trưởng, tảo cô đặc, *Thalassiosira* sp., tỷ lệ sống

I. GIỚI THIỆU

Nghêu Bến Tre (*Meretrix lyrata*) là loài nhuyễn thể có giá trị kinh tế cao, thị trường xuất khẩu lớn được Hội đồng quản lý biển quốc tế (*Marine Steward Council*) cấp chứng nhận đạt tiêu chí MSC. Tuy nhiên, vấn đề sản xuất giống nhân tạo và ương nuôi loài nghêu này vẫn còn nhiều khó khăn. Vì tỷ lệ sống còn thấp, phụ thuộc nhiều vào thức ăn tự nhiên.

Vi tảo là thức ăn chủ yếu được sử dụng cho tất cả các giai đoạn tăng trưởng của động vật thân mềm hai mảnh. Kích thước tảo tối đa ấu trùng lọc được liên quan đến kích thước cơ thể ấu trùng (Lora Vilchis & Maeda-Martinez, 1977). Theo Helm và ctv., (2004), chế độ ăn thích hợp cho việc ương ấu trùng chữ D - veliger và giai đoạn đầu (chiều dài vỏ <math> < 125 \mu\text{m}</math>) của các loài nhuyễn thể hai mảnh vỏ là kết hợp một trong các loài tảo silic: *Chaetoceros calcitrans*,

Thalassiosira sp. (cho ấu trùng > $55 \mu\text{m}$) hoặc *Chaetoceros muelleri* (cho ấu trùng > $90 \mu\text{m}$) với *Isochrysis galbana* hoặc *Pavlova lutheri* với tỷ lệ bằng nhau theo số lượng tế bào.

Theo Laing, Lees và ctv., (2004), có 5 loài tảo silic (*C. calcitrans*, *C. muelleri*, *C. ceratosporum*, *Thalassiosira* sp. và *Skeletonema costatum*) đều chứa hàm lượng PUFA cao phù hợp với ấu trùng nhuyễn thể. Hai loài có giá trị dinh dưỡng cao nhất là *C. calcitrans* và *Thalassiosira* sp. He và Wei (1984) nghiên cứu thức ăn và tập tính ăn của ấu trùng nghêu Nhật hay còn gọi là Nghêu Manila (*Venerupis philippinarum*, *Ruditapes philippinarum*) cho thấy chúng thích ăn tảo silic đơn bào sống đáy. Chế độ ăn có sự phối trộn hỗn hợp các loại tảo có lợi, hai hoặc ba loài có giá trị dinh dưỡng cao, trong đó có một loài tảo silic có kích thước phù hợp góp phần

¹ Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II.

* Email: nhungho1625@gmail.com

cải thiện tốc độ tăng trưởng và phát triển của ấu trùng so với chế độ cho ăn một loài.

Thalassiosira sp. là loài tảo khuê đơn bào, có giá trị dinh dưỡng rất cao, đặc biệt là các acid béo không no đa nối đôi với hàm lượng DHA và EPA đạt 7,2 mg/ml (Li, 1979 & Pratoomyot, 2005). Trong điều kiện nuôi nhân tạo, *Thalassiosira* sp. có tốc độ sinh trưởng nhanh, thích ứng tốt với sự thay đổi của môi trường như: pH, ánh sáng, nhiệt độ (Brown, 1996). Việc nuôi sinh khối loài vi tảo này để đa dạng nguồn thức ăn tự nhiên cho sản xuất giống thủy sản là rất cần thiết.

Theo Coutteu và Sorgeloos (1992), sản xuất sinh khối vi tảo cho động vật nuôi trồng thủy sản rất tốn kém, có thể chiếm 20 – 50% tổng chi phí sản xuất của trại giống. Hiện nay, các trại sản xuất giống nhuyễn thể ở nước ta, chủ yếu nuôi tảo theo các phương pháp truyền thống không đảm bảo số lượng và chất lượng thức ăn cho ấu trùng vì phụ thuộc nhiều vào thời tiết, trang thiết bị, diện tích trại và trình độ kỹ thuật. Hiện tượng tảo tàn lụi đồng loạt vẫn thường xuyên xảy ra mà chưa có biện pháp khắc phục hiệu quả. Việc có thể thay thế tảo tươi bằng sản phẩm tảo cô đặc trong ương ấu trùng nhuyễn thể có ý nghĩa quan trọng, đáp ứng kịp thời nhu cầu thức ăn, nâng cao chất lượng và tỷ lệ sống trong ương nuôi ấu trùng nhuyễn thể và đặc biệt là loài nghêu Bến Tre (*Meretrix lyrata*).

Vì vậy, đã có nhiều công trình nghiên cứu thử nghiệm các sản phẩm thay thế. Các sản phẩm được thử nghiệm như nấm men, vi khuẩn, thức ăn viên, tảo khô, tảo cô đặc... cho nhiều kết quả khác nhau tùy thuộc vào nhu cầu dinh dưỡng và giai đoạn phát triển của các đối tượng nuôi (Robert và Trintignac 1997; Sen và ctv., 2005; Knauer và Southgae 1999). Nhìn chung, khi sử dụng các sản phẩm này thay thế hoàn toàn vi tảo tươi thì không phù hợp cho nhu cầu dinh dưỡng của ấu trùng và hậu ấu trùng, ngoại trừ tảo cô đặc được bảo quản lạnh. Sản phẩm tảo cô đặc phải đạt yêu cầu không gây độc cho đối tượng nuôi (D'souza và ctv., 2002), dễ dàng phân tách trở lại thành từng tế bào và số lượng tế bào hồng

<10% (Heasman và ctv., 2000). Hơn nữa, không có sự khác biệt đáng kể về giá trị dinh dưỡng giữa bảo quản sản phẩm tảo (cô đặc hoặc sấy khô) và vi tảo tươi. Aji (2011) cho rằng tảo cô đặc thích hợp để thay thế tảo tươi hơn tảo khô. Bảo quản vi tảo tươi trong thời gian dài sẽ ảnh hưởng đến giá trị dinh dưỡng của chúng. Thời gian tối đa có thể bảo quản tảo mà vẫn giữ được giá trị dinh dưỡng tương đương với tảo tươi từ khoảng 1 – 4 tuần và tùy thuộc vào loài tảo.

D'Souza và ctv., (2000;2002) cũng sử dụng tảo cô đặc thay thế tảo tươi trong ương nuôi ấu trùng hai mảnh vỏ và ấu trùng tôm. Ponis, Robert và ctv., (2003) đã thay thế hoàn toàn tảo tươi *Pavlova lutheri*, *Isochrysis galbana* và *Chaetoceros calcitrans* bằng sản phẩm cô đặc thu hoạch theo phương pháp kết bông của Knuckey (1998) trong thành phần thức ăn của hàu Hàu Thái bình dương *Crassostrea gigas*. Kết quả là sản phẩm cô đặc kết hợp của cả 3 loài, sau thời gian bảo quản 7 – 14 ngày, cho tốc độ phát triển ấu trùng tốt hơn khi so sánh với ấu trùng sử dụng tảo tươi tương ứng. Nhưng khi thử nghiệm sản phẩm trên sau thời gian bảo quản 4 tuần trên hậu ấu trùng thì cho tốc độ phát triển chậm hơn so với tảo tươi tương ứng. Knuckey, Brown và ctv., (2006) đã sử dụng sản phẩm cô đặc loài *T. pseudonana* trên hậu ấu trùng hàu *Crassostrea gigas* nhằm khẳng định sự ưu việt của các sản phẩm cô đặc của các loài tảo thuộc lớp Cryptophyceae, Bacillariophyceae và Prasinophyceae thu hoạch bằng phương pháp kết bông bởi pH có thể thay thế tảo tươi tương ứng làm thức ăn cho ấu trùng nhiều loài động vật nuôi thủy sản. Sản phẩm tảo cô đặc đã được sử dụng thành công để thay thế chế độ ăn hỗn hợp cho loài hai mảnh vỏ (Ponis, Robert và ctv., 2003). Giá trị dinh dưỡng của sản phẩm tảo cô đặc ở dạng lỏng hoặc dạng nhão của các loài tảo khác nhau đã được đánh giá thông qua ấu trùng và hậu ấu trùng hàu trong các nghiên cứu của nhiều tác giả (Donaldson, 1991; Nell và O'Connor, 1991; Knuckey và Brown, 1998; McCauland, 1999; Heasman và ctv., 2000; Robert và ctv., 2001) với kết quả đầy hứa hẹn.

Mục tiêu của nghiên cứu nhằm so sánh việc sử dụng sản phẩm vi tảo *Thalassiosira* sp. cô đặc (bằng phương pháp ly tâm) so với tảo tươi *Chaetoceros* sp. và loài *Thalassiosira* sp. tương ứng trong ương ấu trùng nghêu (*Meretrix lyrata* Sowerby, 1851) để đánh giá chất lượng sản phẩm của đề tài cũng như khả năng ứng dụng sản phẩm vào thực tiễn sản xuất giống nhuyễn thể hai mảnh vỏ, cụ thể là giống nghêu.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Nghêu bố mẹ Bến Tre (*Meretrix lyrata*) có nguồn gốc từ Bình Đại, Bến Tre được kích thích cho đẻ để thu ấu trùng giai đoạn veliger (ấu trùng chữ “D”).

Thức ăn là các loài vi tảo tươi *Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros* sp., *Thalassiosira* sp. và sản phẩm vi tảo *Thalassiosira* sp. cô đặc dạng lỏng (32×10^6 tb/ml), dạng nhão (320×10^6 tb/ml) của đề tài.

Thí nghiệm được tiến hành tại Trung tâm Quốc Gia Giống hải sản Nam Bộ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được thực hiện trong 12 bể composite, gồm 4 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần. Bố trí thí nghiệm được tiến hành ngẫu nhiên, NT1 bao gồm các bể 1, 5, 9; NT2 bao gồm các bể 2, 6, 10; NT3 bao gồm các bể 3, 7, 11; NT4 bao gồm các bể 4, 8, 12.

- Nghiệm thức 1: sử dụng tảo tươi: *N. oculata*, *I. galbana*, *Chaetoceros* sp.

- Nghiệm thức 2: sử dụng tảo tươi: *N. oculata*, *I. galbana*, *Thalassiosira* sp.

- Nghiệm thức 3: sử dụng tảo tươi *N.*

oculata, *I. galbana*, sản phẩm tảo cô đặc dạng lỏng *Thalassiosira* sp.

- Nghiệm thức 4: sử dụng tảo tươi *N. oculata*, *I. galbana*, sản phẩm tảo cô đặc dạng nhão *Thalassiosira* sp.

2.2.2. Phương pháp ương

Điều kiện môi trường: Độ mặn 23‰, nhiệt độ 27 – 31°C, pH: 7,4 – 8,2. Theo dõi các yếu tố môi trường như ammonia, nitric, pH, nhiệt độ, duy trì sục khí liên tục trong suốt quá trình ương.

Bể ương: Bể composite hình trụ, màu trắng, dung tích 500 lít, thể tích thí nghiệm là 150 lít. Mật độ ương nuôi ban đầu là 5 – 7 ấu trùng/ml.

Chăm sóc: Bể được sục khí liên tục, thay nước định kỳ 2 ngày/lần. Từ ngày thứ 2 bắt đầu thay 50% và ngày thứ 4, 6, 8 thay 80%.

Thức ăn và cho ăn: Tảo tươi *N. oculata*, *I. galbana*, *Chaetoceros* sp., và *Thalassiosira* sp. ở cuối pha tăng trưởng. Tảo cô đặc *Thalassiosira* sp. dạng lỏng (32×10^6 tb/ml) và dạng nhão (320×10^6 tb/ml) được thu hoạch bằng phương pháp ly tâm, bảo quản ở nhiệt độ 2 – 4°C, bảo quản sau 1 tuần được sử dụng làm thức ăn cho thí nghiệm, giá trị dinh dưỡng của sản phẩm được đảm bảo như tảo tươi, thành phần dinh dưỡng của sản phẩm sau thời gian bảo quản được trình bày ở (Bảng 2).

Mật độ hỗn hợp tảo cho ăn phụ theo từng giai đoạn phát triển của ấu trùng nghêu, duy trì với mật độ ban đầu là 30.000 tb/ml và tăng lên đến cao nhất là 100.000 tb/ml, tần suất cho ăn 4 lần/ngày. Thành phần các loài tảo cho ăn được tính toán bổ sung theo tỷ lệ phần trăm, phù hợp với nhu cầu dinh dưỡng của ấu trùng theo từng giai đoạn và kích thước của tế bào tảo (Bảng 2). Xác định mật độ trước khi sử dụng bằng buồng đếm Neubauer, đếm dưới KHV có độ phóng đại 400 lần.

Thể tích tảo sử dụng được tính theo công thức:

$$\text{"Thể tích (lít)" = } \frac{\text{"Mật độ tảo duy trì trong bể nuôi x Thể tích nước nuôi (lít)"}}{\text{"Mật độ tảo sử dụng"}}$$

Bảng 1. Tỷ lệ (%) thành phần các loài vi tảo cho ăn theo các ngày ương

Giai đoạn (Ngày)	0 – 1	2 - 3	4 – 5	6 - 10
MĐ tảo cho ăn	30.000 tb/ml	50.000 tb/ml	70.000 tb/ml	100.000 tb/ml
NT 1	100% <i>Nanno</i>	70% <i>Nanno</i> 30% <i>Iso</i>	10% <i>Nanno</i> 50% <i>Iso</i> 40% <i>Chaeto</i>	10% <i>Nanno</i> 20% <i>Iso</i> 70% <i>Chaeto</i>
NT 2	100% <i>Nanno</i>	70% <i>Nanno</i> 30% <i>Iso</i>	10% <i>Nanno</i> 50% <i>Iso</i> 40% <i>Thalass tươi</i>	10% <i>Nanno</i> 20% <i>Iso</i> 70% <i>Thalass tươi</i>
NT 3	100% <i>Nanno</i>	70% <i>Nanno</i> 30% <i>Iso</i>	10% <i>Nanno</i> 50% <i>Iso</i> 40% <i>Thalass lỏng</i>	10% <i>Nanno</i> 20% <i>Iso</i> 70% <i>Thalass lỏng</i>
NT 4	100% <i>Nanno</i>	70% <i>Nanno</i> 30% <i>Iso</i>	10% <i>Nanno</i> 50% <i>Iso</i> 40% <i>Thalass nhão</i>	10% <i>Nanno</i> 20% <i>Iso</i> 70% <i>Thalass nhão</i>

Ghi chú: *Nanno* – *N.oculata*, *Iso* – *I.galbana*, *Chaeto* – *Chaetoceros muelleri*, *Thalass* – *Thalassiosira* sp.

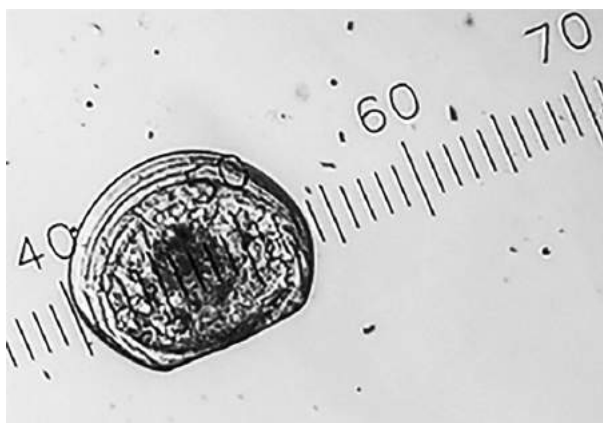
Bảng 2. Thành phần dinh dưỡng (%) của sản phẩm tảo cô đặc *Thalassiosira* sp. theo thời gian bảo quản.

	Dạng lỏng			Dạng nhão	
	0	4 tuần	8 tuần	0	4 tuần
Protein thô (%)	0,66	0,89	0,73	3,85	3,98
Độ ẩm (%)	94,80	94,54	95,12	87,48	87,66
Tro (%)	3,00	3,04	2,53	4,44	4,05
Xơ thô	0,22	0,18	0,21	0,32	0,36
Lipid thô (%)	1,25	1,31	1,33	3,83	3,9
Carbohydrate(%)	0,07	0,04	0,08	0,08	0,05

2.2.3. Phương pháp thu thập và xử lý số liệu

Số liệu môi trường: các bể thí nghiệm được xác định các yếu tố môi trường hàng ngày bằng các phương pháp sau: nhiệt độ đo bằng nhiệt kế rượu, độ mặn đo bằng khúc xạ kế, hàm lượng oxy hòa tan (DO) được đo bằng máy HANNA, pH đo bằng máy HANNA.

Xác định tăng trưởng của ấu trùng nghêu: Thu mẫu định kỳ 2 ngày/ lần (trùng với thời gian lọc và vệ sinh bể) số lượng 30 ấu trùng/ thí nghiệm thức, cố định bằng formol 10%. Chiều dài (μm) của nghêu được xác định bằng kính hiển vi thị kính dưới KHV Olympus CH30 (Nhật Bản).



Hình 1. Đo kích thước chiều dài ấu trùng chữ D

Xác định tỷ lệ sống: tỷ lệ sống của nghêu được tính sau 10 ngày. Dùng cốc đong và pipet 1ml để thu mẫu. Mẫu được đếm trong 1ml

bình đếm động vật nổi (Sedgewick Rafter, Wildco). Mỗi bể đếm 3 lần.

$$\text{"TLS (%)"} = \frac{\text{"Tổng số ấu trùng nghêu đáp đáy"}}{\text{"Tổng số ấu trùng ban đầu bố trí"}} \times 100$$

Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2013 và SPSS 19.0. Sử dụng phân tích One-Way ANOVA và phép thử Duncan (SPSS version 19.0) để phân tích số liệu về tăng trưởng kích thước và tỷ lệ sống. Số liệu về tỷ lệ sống được chuyển sang giá trị arcsin trước khi phân tích thống kê.

– 8,2, ammonia tổng số duy trì < 0,5ppm, nitric < 0,5ppm. Các thông số môi trường nằm trong khoảng tối ưu cho ương ấu trùng nghêu (Bảng 3).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Điều kiện môi trường trong quá trình thí nghiệm

Trong suốt quá trình ương, độ mặn được duy trì trong khoảng 20 - 23‰; nhiệt độ trung bình dao động từ 26,8°C đến 28,2°C, pH 7,5

Nghêu *Meretrix lyrata* là loài thân mềm nhiệt đới, chúng có thể phát triển trong điều kiện có sự biến động mạnh về các điều kiện môi trường như độ mặn dao động trong khoảng 10 – 30‰, nhiệt độ nước từ 22 – 31°C. (Chu Chí Thiết và Martin S. Kumar, 2008). Theo Nguyễn Đình Hùng (2003), điều kiện nhiệt độ thích hợp nhất cho sinh trưởng và phát triển của ấu trùng nghêu là nhiệt độ trong khoảng 27 – 30°C, độ mặn 18 - 25‰.

Bảng 3. Biến động một số yếu tố môi trường trong các bể ương nuôi.

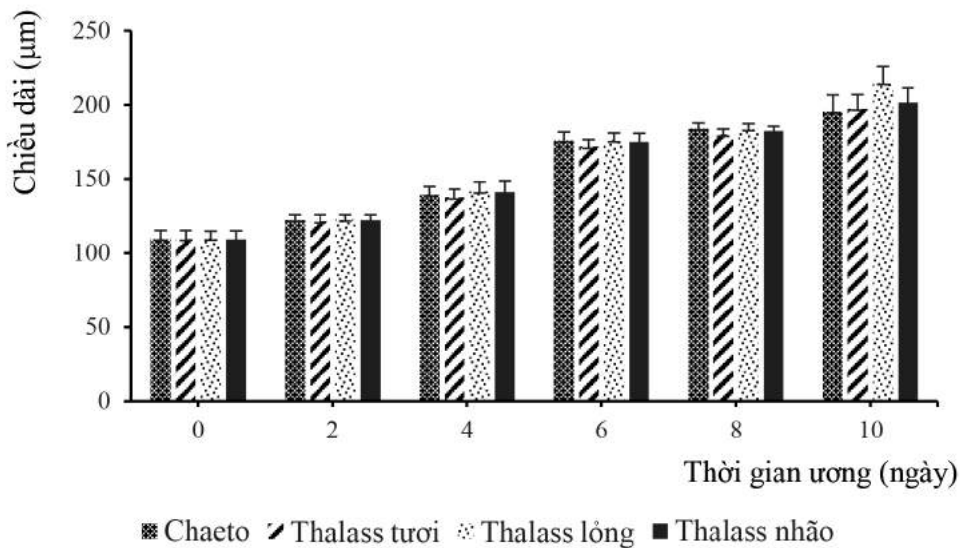
STT	Các chỉ tiêu theo dõi	Khoảng dao động
1	Nhiệt độ (°C)	26,8 ÷ 28,2
2	Độ mặn (‰)	20 ÷ 23
3	DO (mg/l)	4,4 ÷ 5,5
4	pH	7,5 ÷ 8,2
5	Nitrite NO ²⁻ (µg/l)	< 0,01
6	Amoni NH ₄ ⁺ (µg/l)	< 0,05

3.2. Ấu trùng

3.2.1. Tăng trưởng về kích thước

Kết quả tăng trưởng ở (Hình 2) và (Bảng 4) cho thấy, từ ngày nuôi thứ 4 - 6 nghiệm thức cho ăn sản phẩm tảo cô đặc *Thalassiosira* sp.

(dạng lỏng, nhão) cao khác biệt có ý nghĩa so với tảo tươi *Thalassiosira* sp., và không khác biệt có ý nghĩa so với nghiệm thức cho ăn tảo tươi *Chaetoceros* sp. từ ngày nuôi thứ 4 – 8.



Hình 2. Kích thước tăng trưởng (µm) của ấu trùng ngẫu nhiên khi sử dụng các nghiệm thức tảo khác nhau.

Ở ngày nuôi thứ 10, khi ấu trùng chuyển sang giai đoạn xuất hiện chân bò (ấu trùng dạng spat, xuống đáy) thì chiều dài tăng trưởng ở nghiệm thức *Thalassiosira* sp. dạng lỏng (214,58±11,18 µm) và dạng nhão (201,54±10,01 µm) cao khác biệt có ý nghĩa (p<0,05) so với tảo tươi *Thalassiosira* sp. (194,67±9,51 µm) và

Chaetoceros sp. (195,70±11,15 µm). Kết quả tăng trưởng kích thước dao động từ 195,70 – 214,58 µm phù hợp với kết quả ương ngẫu nhiên trong nghiên cứu dùng thức ăn là tảo tươi kết hợp 3 loài tảo *N. oculata*, *I. galbana* và *Chaetoceros* sp. cho kích thước ấu trùng trong khoảng 180 – 200µm (Chu Chí Thiết và ctv., 2008).

Bảng 4. Kích thước (μm) của ấu trùng nghêu theo ngày tuổi khi cho ăn các nghiệm thức tảo khác nhau.

Nghiệm thức	Ngày tuổi					
	0	2	4	6	8	10
“Chaeto tươi”	109,52±5,73 ^a	122,23±3,56 ^a	139,15±5,49 ^{ab}	175,79±5,85 ^a	183,86±3,62 ^a	195,70±11,15 ^a
“Thalass tươi”	109,52±5,73 ^a	121,54±4,19 ^a	137,33±5,63 ^a	172,01±4,80 ^b	181,11±3,85 ^b	194,67±09,51 ^a
“Thalass lỏng”	109,87±4,94 ^a	122,57±3,14 ^a	141,35±6,70 ^b	175,96±4,89 ^a	183,34±3,73 ^a	214,58±11,18 ^b
“Thalass nhão”	109,18±5,80 ^a	122,23±3,56 ^a	140,90±7,89 ^b	174,93±5,66 ^a	182,14±3,17 ^{ab}	201,54±10,01 ^a

*Số liệu trong bảng là giá trị $TB \pm SD$ ($n=30$). Giá trị có cùng chữ cái viết lên trên trong cùng một cột thể hiện sự sai khác không có nghĩa ($p>0,05$).

3.2.2. Tỷ lệ sống

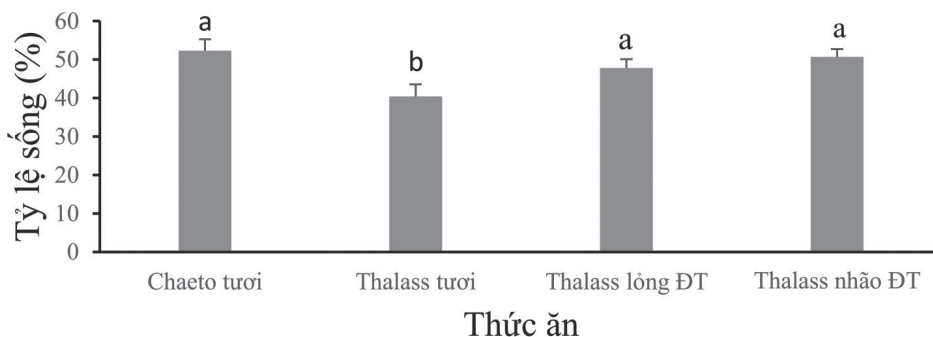
Từ kết quả (Hình 3) và (Bảng 6) cho thấy tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu ở nghiệm thức cho ăn “Thalass lỏng và “Thalass nhão” cao khác biệt có ý nghĩa ($p<0,05$) so với nghiệm thức “Thalass

tươi”. Tỷ lệ sống ở nghiệm thức “Thalass nhão” ($50,7 \pm 2,05\%$) và “Thalass lỏng” ($47,8 \pm 2,28\%$) cao khác biệt không có ý nghĩa ($p>0,05$) so với nghiệm thức cho ăn “Chaeto tươi”.

Bảng 5. Tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu khi cho ăn các nghiệm thức tảo khác nhau.

Nghiệm thức	Tỷ lệ sống (%)
“Chaeto”	52,4 ± 2,91 ^a
“Thalass tươi”	40,5 ± 3,10 ^b
“Thalass lỏng”	47,8 ± 2,28 ^a
“Thalass nhão”	50,7 ± 2,05 ^a

*Số liệu trong bảng là giá trị $TB \pm SD$ ($n=3$). Giá trị có cùng chữ cái viết lên trên trong cùng một cột thể hiện sự khác nhau không có ý nghĩa ($p>0,05$).



Hình 3. Tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu khi sử dụng các dạng thức ăn khác nhau sau 10 ngày tuổi.

Sản phẩm *Thalassiosira* sp. dạng lỏng hay dạng nhão của đề tài phù hợp cho ương ấu trùng nghêu giai đoạn trôi nổi đến bám đáy.

Chất lượng sản phẩm sau thời gian bảo quản 4 tuần đạt tỷ lệ sống ($77 \pm 2\%$), mùi bình thường, không nhiễm khuẩn hay ở mật độ rất thấp (và

khuẩn lạc), mức độ kết dính tế bào <10%, thành phần dinh dưỡng trình bày như ở (Bảng 2).

Kết quả nghiên cứu của Chu Chí Thiết (2011), khi cho ăn hỗn hợp 3 loài tảo tươi (*Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana* và *Chaetoceros muelleri*), với tỷ lệ 1:1:1, ấu trùng nghêu ở giai đoạn D-veliger có tỷ lệ sống cao nhất ở mật độ ương 5 con/ml (62,18%) và 10 con/ml không khác biệt.

Đặng Tố Vân Cẩm và Võ Minh Sơn (2015) cũng đã nghiên cứu sản xuất và ứng dụng sản phẩm tảo cô đặc *Isochrysis galbana* (dạng lỏng và nhão) để thử nghiệm ương ấu trùng nghêu *Meretrix lyrata*, cho kết quả kích thước tăng trưởng cao hơn so với tảo tươi, tỷ lệ sống không khác biệt so với tảo tươi *Isochrysis galbana*.

Knuckey và ctv., (2006), khi thử nghiệm sản phẩm tảo cô đặc loài *Thalassiosira pseudonana* trên hậu ấu trùng hào Thái Bình Dương (*Crassostrea gigas*) hay kết quả ương ấu trùng khi sử dụng tảo cô đặc đạt gần bằng so với tươi như Heasman và ctv (2000) đã sử dụng kết hợp sản phẩm cô đặc của 2 loài *P. lutheri* và *C. calcitrans* hoặc *S. costatum*, sau thời gian bảo quản 7–8 tuần cho tốc độ phát triển của ấu trùng tôm đạt 85–90% so với tảo tươi tương ứng. Tác giả đã kết luận sản phẩm tảo cô đặc khi thu hoạch, xử lý và bảo quản thích hợp có khả năng thay thế tảo tươi cho ương nuôi ấu trùng và hậu ấu trùng hai mảnh vỏ.

Robert và ctv., (2001) đã chứng tỏ có thể sử dụng *Tetraselmis suecica* tươi hoặc sản phẩm cô đặc, bảo quản ở nhiệt độ thấp, trong thành phần thức ăn của ấu trùng Hào Thái bình dương (*Crassostrea gigas*). Brown và Robert (2002) thu hoạch 5 loài tảo *Chaetoceros calcitrans*, *C. calcitrans*, *Chaetoceros* sp., *Skeletonema costatum*, *Isochrysis galbana* bằng phương pháp kết bông bởi pH, tác giả đã cho thấy các sản phẩm này đặc biệt *C. calcitrans*, *Chaetoceros* sp. dùng làm thức ăn cho ấu trùng hào cho kết quả không khác biệt so với tảo tươi. Tuy nhiên, tác giả chỉ thay thế 80% tảo tươi bằng sản phẩm cô đặc. Phòng thí nghiệm nhuyễn thể của Đại học Auburn (AUSL) đã sử dụng sản

phẩm thương mại tảo cô đặc (Reed Mariculture Inc.'s Shellfish Diet 1800®) kết hợp 4 loài vi tảo: *Isochrysis* sp., *Pavlova* so., *Thalassiosira weissflogii* và *Tetraselmis* sp. để nuôi ấu trùng hào (*Crassostrea virginica*) trong 10 năm và hiện đang nghiên cứu để phát triển, sử dụng trong trại giống.

Ngoài ra, việc sử dụng tảo cô đặc còn đảm bảo chế độ dinh dưỡng đầy đủ, hỗ trợ sự phát triển của ấu trùng, không làm ảnh hưởng chất lượng nước mà nguyên nhân là sự phân hủy của thức ăn dư thừa (Loosanoff và Davis, 1963; Doroudi và ctv., 1999). Cần có sự hiểu biết về tương tác giữa lượng cho ăn và mật độ ấu trùng để giảm thiểu thức ăn dư thừa, nâng cao hiệu quả ương nuôi. Nhiều nhà nghiên cứu nhuyễn thể hai mảnh vỏ (Walne, 1965; Schulte, 1975; Gerdes, 1983) đã chỉ ra rằng mật độ thức ăn khi vượt quá mức tối hạn, tốc độ lọc của ấu trùng giảm. Nó đã được chứng minh là có mối quan hệ tỷ lệ nghịch giữ tốc độ lọc và mật độ tảo cho ăn. Do đó, số lượng tế bào được lọc trong một thời gian nhất định không có sự thay đổi. So với tảo khô thì tảo cô đặc là sự lựa chọn tốt hơn, dễ hòa tan vào nước và chi phí cũng rẻ hơn. Sản phẩm thương mại tảo cô đặc đang được sản xuất và sử dụng rộng rãi.

Sự phát triển của sản phẩm tảo cô đặc góp phần giảm thiểu vốn và chi phí hoạt động sản xuất tảo, đảm bảo kịp thời nhu cầu thức ăn cho các trại sản xuất giống động vật thủy hải sản, đặc biệt là nhuyễn thể. Giải quyết vấn đề then chốt trong sản xuất giống là nâng cao tỷ lệ sống và chất lượng ấu trùng.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

4.1. Kết luận

Tăng trưởng về kích thước của ấu trùng nghêu khi cho ăn bằng tảo *Thalassiosira* sp. dạng lỏng (214,58 ±11,18 μm) và dạng nhão (201,54 ±10,01 μm) cao khác biệt so với tảo tươi *Thalassiosira* sp. (197,42 ±9,51 μm) và *Chaetoceros* sp. (195,70 ±11,15 μm) đối chứng.

Tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu khi cho ăn tảo *Thalassiosira* sp. lỏng (46,9 ±1,26%), nhão

(50,7±2,05%) cao khác biệt có ý nghĩa so với khi cho ăn bằng tảo tươi tương ứng (40,5 ±3,10%), và tỷ lệ sống ở nghiệm thức *Thalassiosira* sp. nhão khác biệt không có ý nghĩa so với tảo tươi *Chaetoceros* sp. (52,4 2,91%).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tiếng Việt

Chu Chí Thiết, 2011. “Ảnh hưởng của mật độ ương và cấu trúc nền đáy đến sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng nghêu *Meretrix lyrata* từ giai đoạn bơi tự do đến giai đoạn sau ấu trùng biến thái”, Bản tin Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản I, Số 4, Quý IV:10-12

Chu Chí Thiết, Martin S. Kumar, 2008. Tài liệu về kỹ thuật sản xuất giống ngao Bến Tre (*Meretrix lyrata* Sowerby, 1851), Chương trình hợp tác phát triển nông nghiệp nông thôn (CARD), Dự án 027/05 VIE.

Đặng Tô Văn Cầm và Võ Minh Sơn, 2015. Sử dụng tảo *Isochrysis galbana* làm thức ăn cho ấu trùng nghêu *Meretrix lyrata*, Tạp chí Nghề Cá Sông Cửu Long. Số 5, 29-37.

Nguyễn Đình Hùng, Huỳnh Thị Hồng Châu, Nguyễn Văn Hào, Trình Trung Phi, Võ Minh Sơn., 2002. Nghiên cứu sản xuất giống nghêu (*Meretrix lyrata* Sowerby, 1851). Tuyển tập báo cáo khoa học hội thảo động vật thân mềm toàn quốc lần thứ ba, NXB Nông Nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh: 100 – 114.

Tài liệu tiếng Anh

Lora-Vichis MC, Maeda-Martine AN, 1977. “Ingestion and digestion index of catarina scallop *Aropecten ventricosus-circularis*, Sowerby II, 1842, veliger larvae with ten microalgae species”, *Aquaculture Research* 28: 905 – 910.

Helm, M.M., Bourne, N. & Lovatelli, A., 2004. “Hatchery culture of bivalves. A practical manual”, *FAO Fisheries Technical Paper*. No. 471, pp. 177, FAO, Rome.

Laing, I., D.N. Lees, D.J. Page and K. Henshilwood, 2004. “Research on shellfish cultivation: A synopsis of research funded by the Department for Environment, Food and Rural Affairs (DEFRA) between 1990 AND 2003”, *Science Series Technical Report Number 122*; pp. 45-52; *Centre For Environment, Fisheries and Aquaculture Science*

4.2. Đề xuất.

Tiếp tục thử nghiệm đánh giá chất lượng sản phẩm ở qui mô trại giống.

Tiếp tục nghiên cứu sử dụng sản phẩm trong ương nghêu và hậu giai đoạn ương giống.

Li, W. K. W., 1979. “Cellular composition and physiological characteristic of the diatom *Thalassiosira weissflogii* adapted to cadmium stress”, *Mar. Biol.*, 55: 171 – 180. 15.

Pratoomyot J., Srivilas P., Noiraksar, T., 2005. “Fatty acids composition of 10 microalgal species”, *Songklanakrin. J. Sci. Technol.*, 27 (6): 1179 – 1187.

Brown, R. M., A. G. Dunstan, S. A. Norwood, A. K. Miller, 1996. “Effects of harvest stage and light on the biochemical composition of the diatom *Thalassiosira pseudonana*, *J. Phycol.* 32: 64 – 73.

He J.J. and X.M. Wei, 1984. “A study on food and feeding habit of the clam spat.” *Journal of Fisheries of China*, 8:2, 99-106, 7 ref.

Coutteau, P., Sorgeloos, P., 1992. “The use of algal substitutes and the requirement for live algae in the hatchery and nursery rearing of bivalve molluscs: an international survey”, *J. Shellfish Res.* 11, 267–476.

Robert, R., Trintignac, P., 1997. “Substitutes for live microalgae in mariculture: a review”, *Aquat. Living Resour.* 10: 315-327.

Sen, B., Alp, M.T., Kocer, M.A.T., 2005a. “Studies on growth of marine microalgae in batch cultures: II. *Isochrysis galbana* (Haptophyta)”, *Asian J. Plant Sci.* 6: 639-641.

Knauer, J., Southgate, P.C., 1999. “A review of the nutritional requirements of bivalves and the development of alternative and artificial diets for bivalve aquaculture”, *Rev. Fish. Sci.* 7: 241-280.

D’Souza, F.M.L., Knuckey, R.M., Hohmann, S. and Pendrey, R.C., 2002. “Flocculated microalgae concentrates as diets for larvae of the tiger prawn *Penaeus monodon* Fabricius”, *Aquacult. Nutr.* 8: 113–120

Heasman, M., Diemar, J., O’Connor, W., Sushames, T., Foulkes, L., 2000. “Development of extended shelf-life micro-algae concentrate diets harvested by centrifugation for bivalve mollusks—a summary”, *Aquacult. Res.* 31: 637–659.

- Aji, Ludi P., 2011. "The use of algae concentrates, dried algae and algal substitutes to feed bivalves", *Makara, Sains* 15(1): 1-8.
- D'Souza, F.M.L. and Kelly, G.J. 2000. "Effects of a diet of a nitrogen limited alga (*Tetraselmis suecica*) on growth, survival and biochemical composition of tiger prawn (*Penaeus semisulcatus*) larvae", *Aquaculture* 181: 311-329
- Ponis, E., et al., 2003. "Nutritional value of fresh and concentrated algal diets for larval and juvenile Pacific oysters (*Crassostrea gigas*)", *Aquaculture* 221(1-4): 491-505.
- Donaldson J., 1991. "Commercial production of microalgae at Coast Oyster. Proceedings of US- Asia Workshop on Rotifer and Microalgae Culture, Honolulu, Hawaii", *The Oceanic Institute*, HI, USA, pp. 229-236.
- Nell, J.A., O'Connor, W.A., 1991. The evaluation of fresh algae and stored algal concentrates as a food source for Sydney rock oyster, *Saccostrea commercialis* (Iredale and Roughley), *Aquaculture* 99: 277-284.
- Knuckey, M., Brown, M.R., 1998. Microalgal concentrates as aquaculture feeds, *Proceedings of Aquaculture* 98, Las Vegas, NV, USA, 15-19 Feb. 1998, p. 301. *J. Shellfish Res.* 17: 329-330.
- McCausland, M.A., Brown, M.R., Barrett, S.M., Diemar, J.A., Heasman, M.P., 1999. Evaluation of live and pasted microalgae as supplementary food for juvenile Pacific oysters (*Crassostrea gigas*), *Aquacult. Res.* 174: 323-342.
- Robert R., Parisi G., Rodolfi L., Poli B.M. and Tredici, M.R., 2001. Use of fresh and preserved *Tetraselmis suecica* for feeding *Crassostrea gigas* larvae, *Aquaculture* 192, 333-346.
- Knuckey, R.M., Brown, M.R., Robert R., Frampton D.M.F., 2006. Production of microalgal concentrates by flocculation and their assessment as aquaculture feeds, *Aquacult. Eng.* 35: 300-313.
- Brown, M., Robert, R., 2002. Preparation and assessment of microalgal concentrates as feeds for larval and juvenile Pacific oyster (*Crassostrea gigas*), *Aquaculture* 207: 289-309.
- Loosanoff, V.L. and H.C.Davis, 1963. Rearing of bivalve molluscs, *Adv. Mar.Bio.*, 1, 1-136.
- M. Doroudi, P.C. Southgate, R. Mayer, 1999. Growth and survival of blacklip pearl oyster larvae fed different densities of microalgae, *Aquacult. Int.*, 7 (1999), pp. 179-187.
- Aji, L. P., 2011. The use of algae concentrates, dried algae and algal substitutes to feed bivalves, *Makara, Sains* 15(1): 1-8.
- I.Laing, D. N. Lees, D. J. Page and Henshilwood, 2004. Research on selffish cultivation: A synopsis of research funded by the Department for Environment, Food and Rural Affairs (DEFRA) between 1990 AND 2003, *Science Series Technical Report Number 122*: 45 - 52.
- Knuckey, R. M., M. R. Brown, R. Robert and D. M. F. Frampton, 2006. Production of microalgal concentrates by flocculation and their assessment as aquaculture feeds, *Aquacultural Engineering* 35(3): 300-313.
- Ponis, E., R. Robert and G. Parisi, 2003. Nutritional value of fresh and concentrated algal diets for larval and juvenile Pacific oysters (*Crassostrea gigas*), *Aquaculture* 221 (1-4): 491-505.
- Walne, P.R., 1965. Observations on the influence of food supply and temperature on the feeding and growth of the larvae of *Ostrea edulis* L., *Fish. Invest.*, London, Ser.2, 24: 1-45.
- D.Gerdes, 1983. The Pacific oyster *Crassostrea gigas*: Part I. Feeding behaviour of larvae and adults, *Aquaculture* 31 (2-4): 195-219.
- Schelutue, E.H., 1975. Influence of algal concentration and temperature on the filtration rate of *Mytilus edulis*, *Mar.Biol.*, 30:331-341

THE USE OF CONCENTRATED MICROALGAE *Thalassiosira* sp. TO FEED LARVAE OF CLAM (*Meretrix lyrata*, Sowerby, 1851)

Ho Hong Nhung^{1*}, Lai Thi Minh Le¹, Tran Van Nhien¹, Nguyen Huu Thanh¹

ABSTRACT

This study was conducted to test the effective of modifying concentrated *Thalassiosira* sp. in replacing of fresh *Thalassiosira* sp. and *Chaetoceros* sp. on growth rate and survival of larval clams *Meretrix lyrata*. Larvae were reared in compostie cylinder tanks, volume of 150 litres. Mix of microalgae *Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros* sp. or *Thalassiosira* sp. were fed to the larvae. The size and survival rate were used for evaluating of feeding on larval development. Ten day old larvae used live microalage *Thalassiosira* sp. as feed had average size ($214.6 \pm 11.18 \mu\text{m}$) and significantly higher than that of concentrated *Thalassiosira* sp., live *Thalassiosira* sp. and *Chaetoceros* sp. ($p < 0.05$). The survival in paste form ($50.7 \pm 2.05\%$) and concentrated form ($47.8 \pm 2.28\%$) was not significant different ($p > 0.05$) comparing to use of live *Chaetoceros* sp. ($52.4 \pm 20.91\%$). In conclusion, concentrated *Thalassiosira* sp. product can be used in replacement of fresh microalge in feeding bivalves.

Keywords: *concentrated microalgae, growth, Meretrix lyrata, survival, Thalassiosira* sp.

Người phản biện: TS. Nguyễn Thị Ngọc Tĩnh

Ngày nhận bài: 03/9/2019

Ngày thông qua phản biện: 23/09/2019

Ngày duyệt đăng: 27/10/2019

Người phản biện: TS. Trần Sương Ngọc

Ngày nhận bài: 03/9/2019

Ngày thông qua phản biện: 23/09/2019

Ngày duyệt đăng: 27/10/2019

¹ Research Institute for Aquaculture No.2

* Email: nhungho1625@gmail.com

HIỆU QUẢ ỨNG DỤNG CÔNG NGHỆ MICRO-NANO BUBBLE OXYGEN TRONG AO ƯƠNG CÁ TRA TỪ BỘT ĐẾN HƯƠNG

Phùng Thị Hồng Gấm^{1*}, Nguyễn Trọng Huy¹, Châu Hữu Trí², Thới Ngọc Bảo³,
Đỗ Văn Hoàng³, Phan Thanh Lâm³

TÓM TẮT

Ứng dụng công nghệ Micro-nano Bubble Oxygen (MNO) trong ao ương cá tra giai đoạn cá bột lên cá hương với mục tiêu nhằm nâng cao hiệu quả sản xuất giống cá tra. Nghiên cứu này được thực hiện tại Trại nuôi thủy sản Thạnh Phú thuộc Công ty TNHH Đầu tư Thủy sản Huy Thuận từ tháng 7/2018 đến tháng 2/2019. Các thí nghiệm được bố trí trong ao đất diện tích 2.000m² với mật độ ương 500 và 750 con/m², mỗi nghiệm thức có 03 ao thí nghiệm ứng dụng công nghệ MNO và 01 ao đối chứng. Kết quả nghiên cứu cho thấy hàm lượng oxy hòa tan trong các ao có sử dụng máy MNO dao động 7,42 – 8,74 mg/L cao hơn ao đối chứng (5,32-6,85 mg/L). Sau 29 ngày ương nuôi, tỷ lệ sống của cá hương ở 02 thí nghiệm loại ao mật độ 500con/m² và 750con/m² đạt lần lượt 31,23 – 32,32% cao hơn ao đối chứng (21,36-22,99%). Tương tự, hệ số chuyển đổi thức ăn FCR của cá ở các ao thí nghiệm từ 0,56 -0,62 thấp hơn ao đối chứng (0,71- 0,76). So sánh kết quả giữa 02 mật độ ương cho thấy ao thí nghiệm với mật độ 750 con/m² đạt năng suất trung bình là 285,65 kg/1.000m² cao hơn các ao thí nghiệm ở mật độ 500 con/m² là 193,35kg/1.000m² và có hiệu quả kinh tế cao hơn so với ao đối chứng (P<0,05). Ứng dụng công nghệ MNO đã đảm bảo cung cấp tốt hơn hàm lượng oxy hòa tan cho ao nuôi, và cũng góp phần giảm tiêu thụ điện trong vận hành hệ thống cung cấp oxy cho ao nuôi từ 5,0-16,14% so với ao đối chứng. Việc ứng dụng công nghệ MNO trong ao ương cá tra giai đoạn từ cá bột đến cá hương đã cho thấy những kết quả tích cực. Cần tiếp tục thực hiện ứng dụng công nghệ MNO trong ao ương cá tra giai đoạn bột đến hương trong mùa khô từ tháng 1 - 6.

Từ khóa: *Micro-nano bubble oxygen, cá tra, DO, hiệu quả sản xuất.*

I. GIỚI THIỆU

Các nghiên cứu về tác dụng của các bọt khí có kích thước nhỏ hoặc siêu nhỏ đang được quan tâm nhiều trong những năm gần đây, đặc biệt là ở Nhật Bản (Tsuge, 2014). Công nghệ Micro-Nano bubble lần đầu tiên được nghiên cứu thử nghiệm trong nuôi trồng thủy sản tại Nhật Bản tại các mô hình nuôi hàu và điệp quạt (Nakayama, 2006). Theo đó, tốc độ tăng trưởng của các đối tượng nuôi được cải thiện do đảm bảo hàm lượng oxy hòa tan luôn ở mức tối ưu trong suốt quá trình nuôi. Ohnari (2007) đã chế tạo thiết bị tạo bọt khí cỡ micro và đem áp dụng vào nuôi hàu ở Hiroshima, điệp quạt ở Hokkaido và trai ngọc tại Mie Prefecture; và kết quả cho thấy tốc độ tăng trưởng của các đối tượng này

được cải thiện. Ở Việt Nam, nghiên cứu ứng dụng công nghệ Micro-nano trong nuôi tôm được Công ty TNHH Công nghệ HTC bắt đầu thực hiện năm 2014. Đến nay, Công ty TNHH Công nghệ HTC đã nghiên cứu và chế tạo thành công thiết bị tạo bọt khí cỡ nhỏ và siêu nhỏ bằng nhựa gọi là Micro-Nano bubble Oxygen (MNO) và đã được ứng dụng nuôi thử nghiệm tại nhiều cơ sở ở một số vùng nuôi và cũng đã thu được các kết quả ban đầu rất khả quan (Hoàng Tùng, 2016). Từ đầu năm 2016, Công ty TNHH Công nghệ HTC hợp tác với Công ty TNHH Đầu tư Thủy sản Huy Thuận ở Bến Tre để sản xuất và giới thiệu sản phẩm này. Khi thử nghiệm ở ao nuôi tôm 5.000 m², sử dụng 3 máy tạo MNO cho kết quả tốt, hàm lượng oxy hòa tan tối thiểu vào buổi sáng sớm ở mức trên 6 mg/L so với mức

¹ Công ty TNHH Đầu tư Thủy sản Huy Thuận, Bến Tre

² Trung tâm Khuyến Nông Bến Tre, Bến Tre

³ Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II

* Email: honggam27@gmail.com

yêu cầu 4 mg/L. Việc luôn đảm bảo hàm lượng oxy hòa tan giúp đối tượng nuôi không bị stress, khỏe mạnh và có tốc độ tăng trưởng tốt. Cùng đó, khi ứng sử dụng thiết bị MNO thì pH ổn định, màu nước ao khá bền trong suốt vụ nuôi. Trong thực tiễn, bọt khí cỡ nano có thể giúp tách các chất ô nhiễm ra khỏi môi trường nước, đặc biệt là chất béo và được cho là ảnh hưởng rất nhiều đến độ pH của nước. Theo Marui (2013) khi các bọt khí cỡ micro hoặc nano khi bị teo nhỏ lại rồi vỡ ra sẽ phóng thích nhiều gốc tự do, có khả năng diệt khuẩn, khử mùi hôi. Hơn nữa, theo Công ty TNHH Công nghệ HTC thì công nghệ MNO khi được ứng dụng vào nuôi thủy sản sẽ mang lại một số lợi ích sau: i) tạo ra rất nhiều oxy là nhân tố hủy diệt các loại vi khuẩn và các loại nấm gây các bệnh nguy hiểm vật nuôi; ii) tạo dư oxy làm kết lắng các loại phèn trong nước như phèn sắt, phèn nhôm và các kim loại nặng; iii) trung hòa amoniac và các loại khí độc khác (phản ứng hóa học hoặc sinh hóa với sự tham gia của các vi khuẩn hiếu khí); iv) giúp phát triển và kéo dài chu kỳ sinh trưởng của các loại tảo có lợi; và v) giúp các loại vi khuẩn hiếu khí có lợi phát triển tốt. Như vậy, máy MNO có nhiều tính ưu việt có thể hỗ trợ và ứng dụng tốt cho việc nuôi thủy sản nhằm nâng cao hiệu quả sản xuất. Công nghệ bọt khí MNO có thể xem là một trong các giải pháp tối ưu giúp người nuôi trồng thủy sản thành công.

Với nghề cá tra thì hiện nay có khoảng trên 100 trại sản xuất giống, và trên 1.721 hộ ương dưỡng cá giống với diện tích khoảng 1.512 ha (Tổng cục Thủy sản, 2017ab). Theo đánh giá từ Dự án cá tra 3 cấp thì năm 2017 sản lượng cá bột sản xuất đạt khoảng 14,77 tỷ con nhưng thực tế ương lên cá giống chỉ đạt 1,52 tỷ con, đạt tỷ lệ sống <10% (Nguyễn Thanh Tùng, 2019), và tập trung tại các địa phương trọng điểm về sản xuất giống như Đồng Tháp, An Giang, Cần Thơ và Vĩnh Long (Phan & ctv., 2009). Trong những năm gần đây một số nghiên cứu nhằm tăng tỷ lệ sống cho ương cá giống ở Đồng bằng sông Cửu Long đã được thực hiện và đạt kết quả khá khả quan. Theo Đinh Thị Thủy (2016), ứng dụng hệ thống thổi khí trong ao ương và giải pháp quản

lý tổng hợp đã góp phần nâng cao tỷ lệ sống giai đoạn cá bột – cá hương đạt 30-35%. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu đề tài vẫn còn thiếu lần lặp lại và mới thử nghiệm trên qui mô trang trại lớn. Việc ương nuôi cá tra bột - cá hương trên bề xi măng, sau 27 ngày nuôi có thể đạt tỷ lệ sống 49,6% (Nguyễn Văn Sáng & ctv., 2018). Hiện nay, nhu cầu cá tra giống cho nuôi thương phẩm của ĐBSCL có thể cần khoảng 3 tỷ cá giống, trong khi tỷ lệ sống thấp vào cuối giai đoạn ương (Nguyễn Văn Ngô, 2009, Bui & ctv., 2010; Le & Le, 2010, Belton & ctv., 2008, 2009; Phan, 2014, Nguyễn Thanh Phương & Nguyễn Anh Tuấn 2016). Theo nghiên cứu của Nguyễn Văn Sáng & ctv., (2011) thì tỷ lệ sống ương từ cá bột lên cá hương năm 2008 chỉ đạt 22,6%. Gần đây, kết quả điều tra của Lê Đức Liêm & ctv., (2017) tỷ lệ sống cá ương trong ao đất đạt 31,5-31,8% cá hương 24 ngày tuổi. Việc tỷ lệ sống ương cá tra từ bột lên giống còn thấp do tác động của quá nhiều yếu tố kỹ thuật, và chúng cần phải được kiểm soát và hoàn thiện (Bush & ctv., 2010; Nguyễn Văn Sáng & ctv., 2011; Nguyen & ctv., 2011; Nguyễn Văn Sáng & ctv., 2011; De Silva & Nguyen, 2011). Do đó, việc nghiên cứu cải tiến quy trình sản xuất giống và ương cá giống là cần thiết nhằm cung cấp đủ cá tra giống có chất lượng cho nuôi thương phẩm. Việc sử dụng máy MNO để bố trí cải thiện hệ thống ương sẽ được xem như một giải pháp tốt cho việc hoàn thiện quy trình ương cá bột đến cá hương.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Cá tra bột được cung cấp bởi Trung tâm Quốc gia Giống thủy sản nước ngọt Nam Bộ thuộc Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II.

Máy Micro-Nano Bubble Oxygen công nghệ Nhật Bản được cung cấp bởi Công ty TNHH Đầu tư Thủy sản Huy Thuận.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm ương cá tra bột đến cá hương ứng dụng công nghệ Micro-Nano Bubble Oxygen theo mật độ ương. Sử dụng máy MNO (4HP; 3phase; Công suất: 70

m³/giờ) với khả năng cung cấp 20,5kg Oxy/ngày trong ao đất diện tích 2.000 m², cụ thể:

- o Mật độ 500 con/m²: gồm 3 ao nuôi thí nghiệm công nghệ Micro-nano Bubble Oxygen và 1 ao nuôi đối chứng.

- o Mật độ 750 con/m²: gồm 3 ao nuôi thí nghiệm công nghệ Micro-nano Bubble Oxygen và 1 ao nuôi đối chứng.

Thời gian thực hiện: tháng 7/2018-2/2019 tại Trang trại nuôi thủy sản Thạnh Phú – Công ty TNHH Đầu tư Thủy sản Huy Thuận.

Kỹ thuật áp dụng giai đoạn ương từ cá bột đến cá hương: Các bước thực hiện quy trình công nghệ ương cá bột lên cá hương, gồm:

- o Cải tạo và chuẩn bị ao ương: Thực hiện quy trình cải tạo, xử lý đáy ao, chuẩn bị nước ao trước khi thả giống, chuẩn bị vật tư tiến hành vụ nuôi. Tiến hành nạo vét để loại bỏ hết chất thải (bùn đen) ở đáy ao, tiến hành diệt tạp và khử trùng đáy ao với vôi CaO và Chlorine. Lắp hệ thống cung cấp oxy hòa tan cho mỗi ao thí nghiệm (2.000m²), lắp 01 dàn quạt 15 cánh (2 typ, moto 3HP) và 1 máy MNO (4HP, 3 phase, 70m³/giờ); ao đối chứng (2.000m²) lắp 01 dàn quạt 15 cánh (2 typ, moto 3HP).

- o Chuẩn bị nước trước khi thả giống: Nước được lấy vào ao nuôi bằng máy MNO qua túi lọc 2 lớp vải kate trước lúc thả giống 4 ngày, mực nước cấp đạt 1,2 -1,4m. Các yếu tố môi trường cần đạt trước khi thả giống (pH 7,5-8,5; độ trong 30-50cm; độ kiềm $\geq 85\text{mgCaCO}_3/\text{L}$).

- o Chăm sóc và quản lý: Sử dụng hỗn hợp thức ăn tự chế, trứng vịt tươi (chỉ lấy lòng đỏ luộc, xay nhuyễn), S-pak 2/5, S-pak 8/5, Tomking 1s, thức ăn cá giống cỡ 0,4 li 40% protein trở lên. Cách cho cá bột ăn: Tính theo 1 triệu cá tra bột/ngày, cho ăn bằng tay, sử dụng hỗn hợp ủ tạt đều. Từ 01-04 ngày tuổi, cho ăn 01 lần/ngày vào lúc 9-10 giờ sáng và từ 05-30 ngày tuổi cho ăn 02 lần/ngày vào 7-8 giờ sáng và chiều 15-16 giờ.

- o Thời gian chạy quạt và máy MNO: từ 10-30 ngày tuổi bắt đầu vận hành hệ thống cung cấp oxy cho cá ương. Thời gian chạy từ 3-7 giờ

sáng và chiều từ 14-15 giờ. Tùy theo tuổi cá, tình hình thời tiết, mật độ thả, sức khỏe cá mà điều chỉnh số giàn quạt, giờ chạy quạt hợp lý, tránh để hàm lượng oxy <4 mg/L. Bên cạnh đó các yếu tố môi trường ao nuôi luôn được duy trì: pH 7,5-8,5; độ kiềm $\geq 85\text{mgCaCO}_3/\text{L}$; ammonia tổng nhỏ hơn 0,3mg/L; Nitrite $\leq 0,3\text{mg/L}$ và H₂S $\leq 0,03\text{ mg/L}$.

- o Quản lý nước ao: Thường xuyên quan trắc và kịp thời bổ sung bù lượng nước mất đi (mức nước tối thiểu đảm bảo đạt 1,2m). Định kỳ sử dụng men vi sinh Pro W từ 1 - 30 ngày tuổi thì sử dụng vào ngày thứ 5, 10, 15, 20, 25 với liều lượng sử dụng 30g/1000 m³. Ngày tuổi 12, 13, 14, 15, 16 sử dụng liều lượng 100g/1000 m³ kết hợp Bicacbonat + Dolomite để tăng kiềm trên 100 KH, và duy trì đến ngày thứ 30. Bên cạnh đó, sử dụng định kỳ mật ri đường + EM từ 13 - 30 ngày tuổi, sử dụng vào ngày 13, 18, 23, 28 với liều lượng 10 lít/1000 m² và sử dụng lúc 20 - 21 giờ.

Quan trắc môi trường nước và sức khỏe cá nuôi: Theo dõi các yếu tố hiện trường pH, nhiệt độ, hàm lượng oxy hòa tan do cán bộ kỹ thuật đo hàng ngày vào lúc sáng sớm và chiều bằng phương pháp truyền thống (testkit pH: testkit SERA; và Nhiệt độ: Nhiệt kế rượu 0-50°C) và DO đo bằng máy cầm tay. Bên cạnh đó, để hỗ trợ cho việc quản lý chăm sóc ao nuôi trong suốt vụ nuôi, tiến hành thu mẫu môi trường và mẫu cá với tần suất thu mẫu 1 tuần/lần, gồm các chỉ tiêu: N-NH₃; N-NO₂; N-NO₃ (phương pháp: 4500-NH3 F-APHA); Độ kiềm (phương pháp: TCVN 6636-1-2000); *Aeromonas* tổng số (phương pháp: Trại đĩa trên RS), *Edwardsiella ictaluri* (phương pháp: Trại đĩa BA, tăng sinh dịch lỏng và chạy PCR) và *Salmonella sp.* (phương pháp: Trại đĩa trên *Salmonella chrome agar*). Tất cả các mẫu này được thu mẫu chuyển về Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II để phân tích.

2.3. Thu thập và xử lý số liệu

Quản lý số liệu và cơ sở dữ liệu: Các số liệu đo môi trường nước (pH, nhiệt độ, DO) được lưu trữ bằng sổ nhật ký của trang trại nuôi. Các

số liệu kiểm tra về sức khỏe cá nuôi và yếu tố môi trường khác $\text{NH}_3\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$, Độ kiềm được thu định kỳ 1 tuần/lần để hỗ trợ cho việc chăm sóc cá nuôi. Các thông tin về sử dụng nguyên, nhiên liệu, thu hoạch cũng được lưu trữ bằng sổ nhật ký của trang trại nuôi. Tất cả các số liệu liên quan trong sổ nhật ký từng ao nuôi (6 ao thí nghiệm, 2 ao đối chứng) đều được lưu trữ trong sổ nhật ký, được nhập vào cơ sở dữ liệu trên MS. Excel 2010 để phục vụ cho việc phân tích đánh giá tổng kết mô hình.

Phân tích số liệu: Sử dụng phần mềm MS. Excel 2010 và SPSS 20 để nhập và xử lý số liệu. Áp dụng một số phương pháp phân tích số liệu cơ bản sau:

- Phương pháp phân tích thống kê: Sử dụng các chỉ tiêu số trung bình, độ lệch chuẩn, phân tích One-way Anova nhằm đánh giá và so sánh các chỉ tiêu kinh tế-kỹ thuật và môi trường giữa các ao thí nghiệm và ao đối chứng.

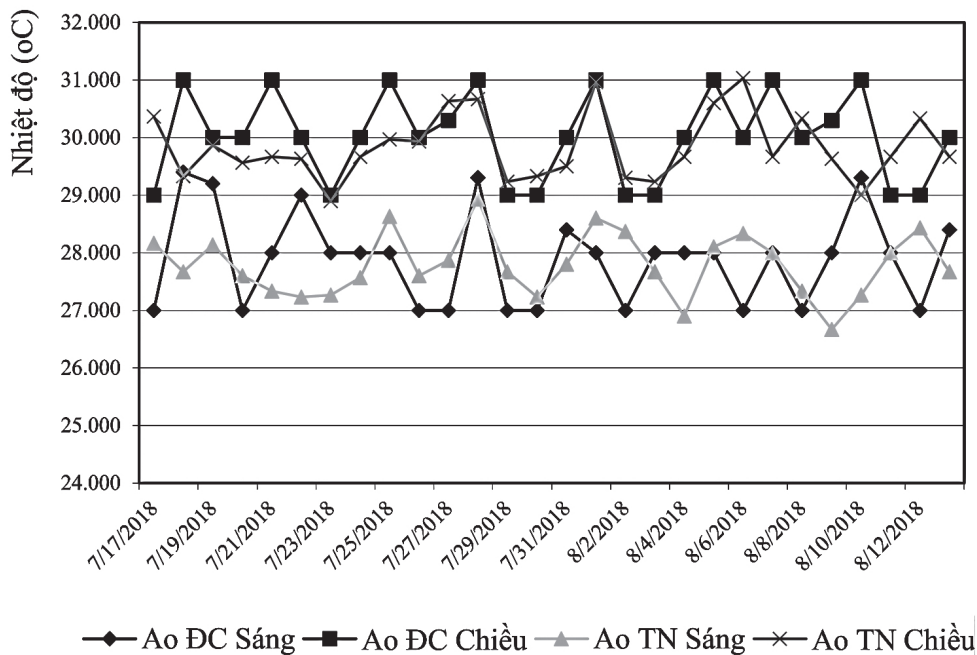
- Phương pháp phân tích kinh tế: Sử dụng phân tích các chỉ tiêu doanh thu, chi phí, lợi nhuận và tỷ suất lợi nhuận để so sánh hiệu quả kinh tế giữa các ao thí nghiệm và ao đối chứng.

III. KẾT QUẢ

3.1. Kết quả ứng dụng công nghệ MNO trong ương cá tra bột-hương ở mật độ 500 con/m²

3.1.1. Đánh giá diễn biến một số chỉ tiêu môi trường

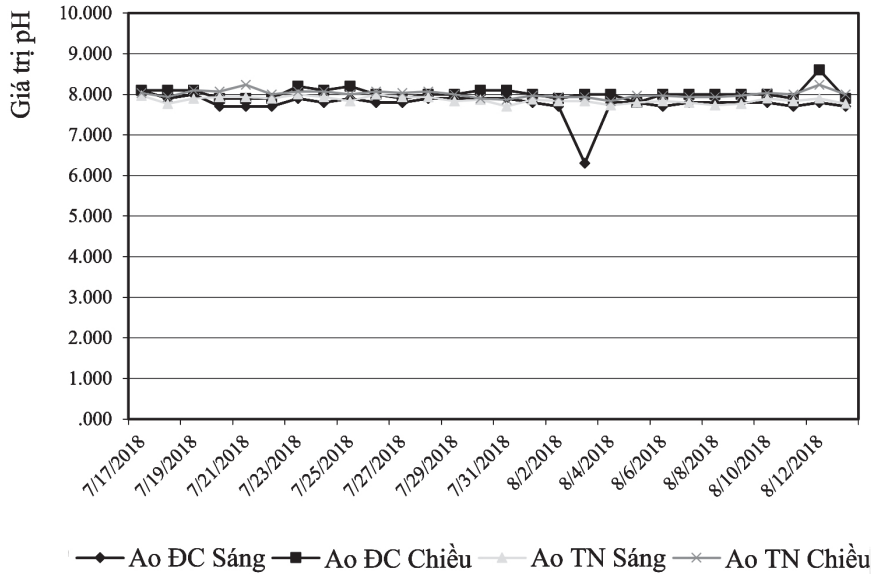
Diễn biến nhiệt độ nước: Nhiệt độ nước dao động trong khoảng 26,67-28,93°C vào buổi sáng và 28,93-31,03°C vào buổi chiều (Hình 1), nhưng vẫn phù hợp cho phát triển của cá tra trong quá trình ương nuôi. Theo QCVN 02-20:2014/BNNPTNT thì nhiệt độ thích hợp cho nuôi cá tra là 25-32°C. Không có sự chênh lệch lớn về nhiệt độ giữa ao đối chứng ao thí nghiệm.



Hình 1. Diễn biến nhiệt độ nước các ao ương cá tra với mật độ 500 con/m²

Diễn biến độ pH nước: Độ pH của các ao ương biến động trong phạm vi 7,70 – 8,23 trong suốt quá trình ương, riêng ao đối chứng chỉ xuất hiện 01 giá trị pH 6,3 vào buổi sáng nhưng với các giải pháp kỹ thuật đã nâng và ổn định pH trong các ao ương (Hình 2). Chỉ số pH ở

các ao thí nghiệm và ao đối chứng không dao động lớn và nằm trong ngưỡng cho phép cá tra sinh trưởng và phát triển, giá trị cho phép theo QCVN 02-20:2014/BNNPTNT với chỉ tiêu pH là 7-9.



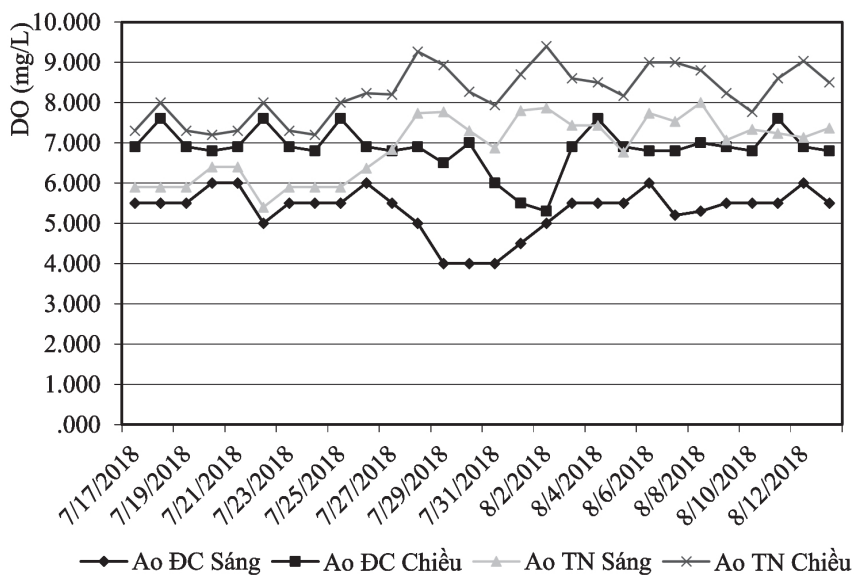
Hình 2. Diễn biến pH nước các ao ương cá tra với mật độ 500con/m²

Diễn biến độ hàm lượng oxy hòa tan (DO):
 Ở các ao đối chứng, hàm lượng oxy hòa tan trong các ao ương biến động trong phạm vi 4-7,6 mg/L (theo ngày) hơi thấp hơn so với các ao thí nghiệm nhưng chưa ảnh hưởng đến cá ương (Hình 3).

Hàm lượng oxy hòa tan ở ao đối chứng buổi sáng trung bình là 5,32mg/L thấp hơn có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) so với trung bình các ao thí nghiệm có sử dụng thiết bị MNO là 7,36-7,48mg/L. Tương tự, hàm lượng oxy

hòa tan buổi chiều của các ao đối chứng trung bình là 6,85mg/L thấp hơn có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) so với trung bình các ao sử dụng thiết bị MNO từ 8,54-8,63mg/L.

Kết quả thực nghiệm cũng cho thấy, để vận hành quạt nước cho ao nuôi đối chứng đã sử dụng 285kWh cao hơn các ao thí nghiệm ứng dụng MNO từ 11,58-16,74%. Điều này cho thấy tính tối ưu của thiết bị MNO trong tiết kiệm năng lượng và cung cấp hàm lượng oxy hòa tan cho các ao ương từ cá bột lên cá hương.



Hình 3. Diễn biến DO nước các ao ương cá tra với mật độ 500 con/m²

3.1.2. Đánh giá thông số kinh tế-kỹ thuật chính

Sau 28 ngày ương, tỷ lệ sống của cá ở ao đối chứng là 22,99% thấp hơn so với trung bình của các ao thí nghiệm là 31,23%. Hệ số FCR của ao đối chứng là 0,71 cao hơn so với trung bình

các ao thí nghiệm là 0,57 (giảm so đối chứng 19,07%). Bên cạnh đó, một số chỉ số kinh tế (lợi nhuận, tỷ suất lợi nhuận của vốn đầu tư) cũng cho thấy hiệu quả sản xuất của ao thí nghiệm cao hơn so với ao đối chứng (Bảng 1).

Bảng 1. Thông số kinh tế - kỹ thuật chính của ao ương cá tra với mật độ 500 con/m²

Loại ao	Hệ số FCR	Tỷ lệ sống (%)	Năng suất (kg/1.000m ²)	Lợi nhuận (triệu đ/ao)	Tỷ suất lợi nhuận (lần)
Ao đối chứng	0,71	22,99	134,30	6,90	0,18
Ao thí nghiệm					
Ao A3	0,60	32,15	193,45	24,33	0,61
Ao A4	0,55	31,05	196,50	25,56	0,64
Ao A5	0,57	30,49	190,10	24,40	0,62
TB ao TN	0,57±0,02	31,23±0,69	193,35±2,61	24,76±0,57	0,62±0,01

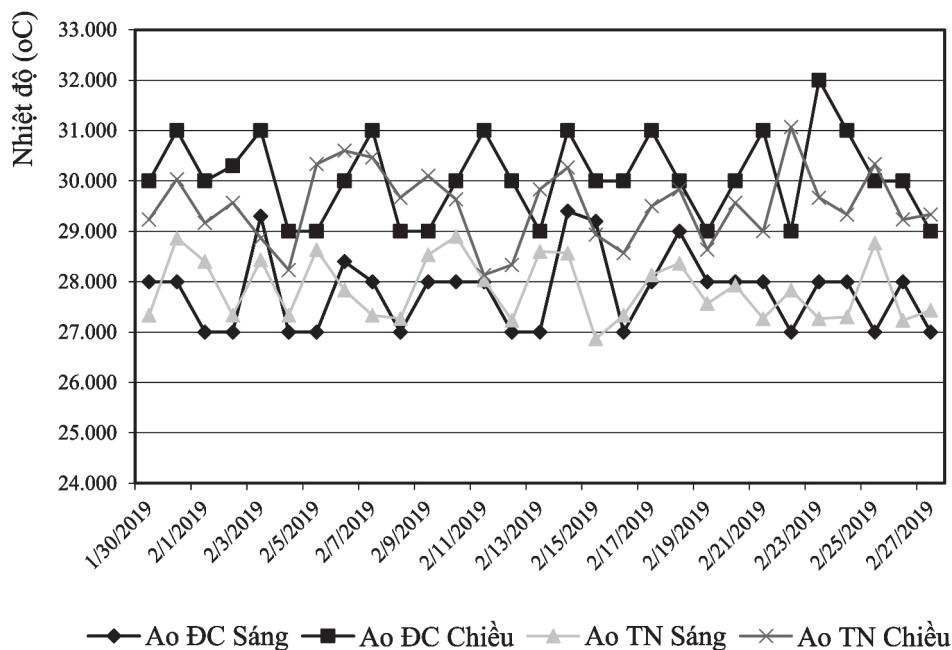
Ghi chú: TB: Trung bình; TN: Thí nghiệm

3.2. Kết quả ứng dụng công nghệ MNO trong ương cá tra bột-hương ở mật độ 750 con/m²

3.2.1. Đánh giá diễn biến một số chỉ tiêu môi trường

Diễn biến nhiệt độ nước: Nhiệt độ nước dao

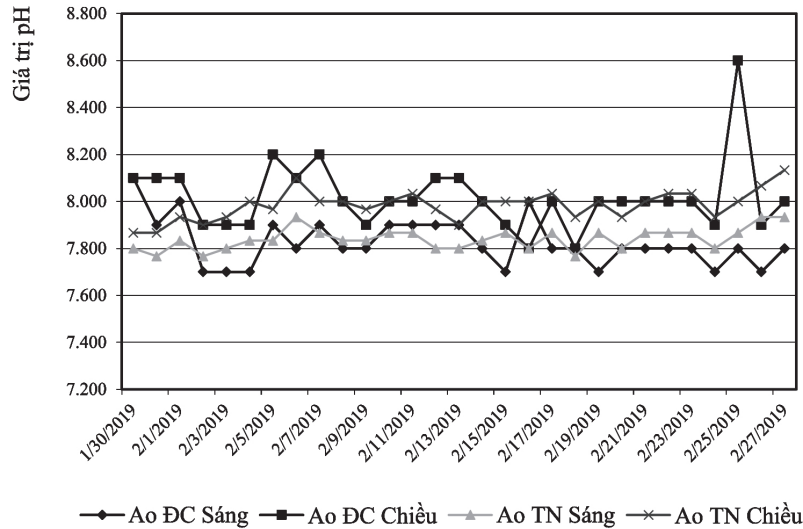
động trong khoảng 26,7 – 32°C (Hình 4), với khoảng biến động nhiệt độ như hiện nay cũng phù hợp với giá trị cho phép trong QCVN 02-20:2014/BNNPTNT để cá tra sinh trưởng và phát triển.



Hình 4. Diễn biến nhiệt độ nước các ao ương cá tra với mật độ 750con/m²

Diễn biến độ pH nước: Mức biến động giá trị pH của các ao ương trong khoảng 7,77-8,13 trong suốt quá trình ương (Hình 5). Chỉ số pH ở các ao ương của thí nghiệm này cũng biến động

không lớn so với ao ương với mật độ 500 con/m², giá trị pH vẫn nằm trong ngưỡng cho phép của QCVN 02-20:2014/BNNPTNT để cá tra sinh trưởng và phát triển.

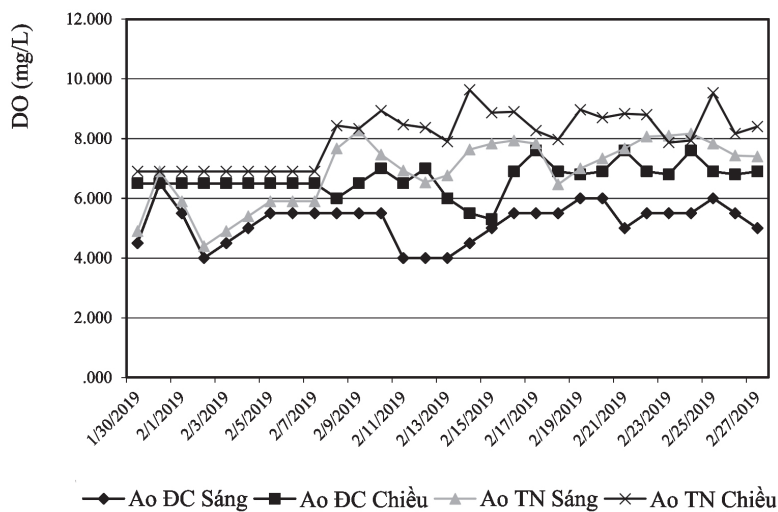


Hình 5. Diễn biến pH nước các ao ương cá tra với mật độ 750con/m²

Diễn biến độ hàm lượng oxy hòa tan (DO): Hàm lượng oxy hòa tan của ao đối chứng vào buổi sáng có những thời điểm xuống mức 4mg/L và chỉ số này khá thấp so với các ao thí nghiệm, đạt từ 5,9-6mg/L (Hình 6). Trung bình hàm lượng oxy hòa tan ở ao đối chứng là 5,2 mg/L thấp hơn so với các ao thí nghiệm là 7,42-7,54mg/L ($P < 0,05$). Tương tự, hàm lượng oxy hòa tan vào buổi chiều của ao đối chứng trung bình là 6,63mg/L cũng thấp hơn so với các ao thí

nghiệm trung bình là 8,45-8,74mg/L ($P < 0,05$).

Giống như ao ương với mật độ 500 con/m² thì ở thí nghiệm này việc tiêu thụ điện cho vận hành quạt nước của ao nuôi đối chứng là 303 kWh cao hơn các ao sử dụng thiết bị MNO từ 5,0-16,14%. Việc ứng dụng công nghệ MNO đã cung cấp tốt hơn hàm lượng oxy cho ao ương, và lượng điện năng tiêu thụ cho việc vận hành thiết bị cũng ít hơn so với ao đối chứng.



Hình 6. Diễn biến DO nước các ao ương cá tra với mật độ 750con/m²

3.2.2. Đánh giá thông số kinh tế-kỹ thuật chính

Phân tích một số chỉ số kỹ thuật chính cho thấy sau 29 ngày ương thì tỷ lệ sống của ao đối chứng là 21,36% thấp hơn so với trung bình của các ao thí nghiệm là 32,32%. Hệ số FCR của ao

đối chứng là 0,76 cao hơn trung bình các các ao thí nghiệm là 0,62 (18,42%). Hiệu quả sản xuất của ao thí nghiệm cũng cho thấy năng suất, lợi nhuận, tỷ suất lợi nhuận của vốn đầu tư cũng cao hơn so với ao đối chứng (Bảng 2).

Bảng 2. Thông số kinh tế - kỹ thuật chính của ao ương cá tra với mật độ 750 con/m²

Loại ao	Hệ số FCR	Tỷ lệ sống (%)	Năng suất (kg/1.000m ²)	Lợi nhuận (triệu đ/ao)	Tỷ suất lợi nhuận (lần)
Ao đối chứng	0,76	21,36	178,00	18,28	0,40
Ao thí nghiệm					
Ao B19	0,59	32,99	292,50	51,52	1,09
Ao B21	0,65	31,91	271,95	48,09	1,01
Ao B23	0,61	32,06	292,50	48,56	1,02
TB ao TN	0,62±0,03	32,32±0,48	285,65±9,69	49,39±1,52	1,04±0,03

Ghi chú: TB: Trung bình; TN: Thí nghiệm

3.3. So sánh kết quả về ứng dụng công nghệ MNO trong ương cá tra bột đến cá hương giữa 2 mật độ ương

So sánh các chỉ tiêu kỹ thuật chính như hệ số FCR và tỷ lệ sống đã cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các ao thí nghiệm và ao đối chứng ($P < 0,05$), tuy nhiên khi so sánh từng loại ao riêng lẻ với nhau thì sự khác biệt giữa ao ương ứng dụng MNO với mật độ 500 con/m² và ao ương ứng dụng MNO với mật độ 750 con/m² là không có ý nghĩa thống kê về chỉ số FCR và tỷ lệ sống ($P > 0,05$).

Kết quả thí nghiệm cũng cho thấy các chỉ số chính về hiệu quả sản xuất như năng suất, lợi nhuận và tỷ suất lợi nhuận có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các ao thí nghiệm và ao đối chứng ($P < 0,05$), ao thí nghiệm ứng dụng MNO với mật độ ương 750 con/m² cho các thông số tốt hơn hai loại ao còn lại (Bảng 3). Khi so sánh từng loại ao riêng lẻ với nhau thì kết quả cũng cho thấy đều có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các loại ao thí nghiệm với nhau và giữa ao thí nghiệm với ao đối chứng ($P < 0,05$).

Bảng 3. So sánh một số chỉ tiêu kinh tế - kỹ thuật các ao ương cá tra bột đến hương

Loại ao	Hệ số FCR	Tỷ lệ sống (%)	Năng suất (kg/1.000m ²)	Lợi nhuận (triệu đ/ao)	Tỷ suất lợi nhuận (lần)
Ao đối chứng	0,73±0,03 ^a	0,22±0,01 ^a	156,15±21,85 ^a	12,59±5,69 ^a	0,29±0,11 ^a
Ao TN -500 con/m ²	0,57±0,02 ^b	0,31±0,01 ^b	193,35±2,6 ^b	24,76±0,57 ^b	0,62±0,02 ^b
Ao TN -750 con/m ²	0,62±0,03 ^b	0,32±0,01 ^b	285,65±9,69 ^c	49,39±1,52 ^c	1,04±0,03 ^c

Các giá trị trong cùng một cột có các chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha = 0,05$.

IV. THẢO LUẬN

Hàm lượng oxy hòa tan trong các ao ương đối chứng biến động trong phạm vi 4,01-7,60

mg/L thấp hơn so với các ao thí nghiệm 7,36-8,74mg/L ($P < 0,05$) nhưng chưa ảnh hưởng đến cá ương nuôi và vẫn còn vượt xa so với giá trị cho phép là ≥ 2 mg/L của QCVN 02-20:2014/

BNNPTNT. Theo nghiên cứu của Nguyễn Văn Sáng & ctv., (2018) thì ương cá tra trên bề xi măng được lắp ống khí nano dọc chính giữa bề ương và sục khí đã luôn đảm bảo hàm lượng oxy trong mức 4-6mg/L, trong khi nghiên cứu sử dụng hệ thống thổi khí của Đinh Thị Thủy (2016) thì hàm lượng DO ở mức 4,0-6,7 mg/L. Những kết quả nghiên cứu của các tác giả cũng khá tương đồng với kết quả nghiên cứu này như ao đối chứng, nhưng thấp hơn ao thí nghiệm ứng dụng MNO. Khả năng cung cấp oxy của máy MNO (4HP; 3phase; Công suất: 70 m³/giờ) trong 01 ngày là 14.400 lít (20,5 kg Oxy), và lượng oxy cung cấp cho ao nuôi đảm bảo 6 ppm/m³/ngày là 0,006 kg. Ao diện tích với 2.000m² (độ sâu ≥1,2m) yêu cầu hàm lượng oxy hòa tan là khoảng 18 kg/ngày (tương đương 01 máy MNO), như vậy máy MNO của ao thí nghiệm đã cung cấp hàm lượng oxy hòa tan cao hơn so với các nghiên cứu trước đây.

Những điều tra phỏng vấn cơ sở sản xuất giống gần đây cũng cho thấy tỷ lệ sống cá bột – cá hương dao động từ 20,25-42,4% (Phan & ctv., 2009; Nguyễn Văn Ngô, 2009; Bui & ctv., 2010; Nguyễn Văn Sáng & ctv., 2011; Phan, 2014; Lê Đức Liêm & ctv., 2017), trong khi những nghiên cứu thực nghiệm thì tỷ lệ này đạt trên 30% với ao ương có sử dụng hệ thống thổi khí (Đinh Thị Thủy, 2016) và đạt khoảng 49,6% khi ương nuôi cá tra bột - cá hương trên bề xi măng (Nguyễn Văn Sáng & ctv., 2018). Với nghiên cứu này, sau 28-29 ngày ương tỷ lệ sống của ao đối chứng là 22,18% thấp hơn so với ao thí nghiệm là 31,782%. Tỷ lệ sống của cá không có sự khác biệt giữa ao thí nghiệm ứng dụng MNO với mật độ 500 và 750 con/m², như vậy cần cân nhắc lựa chọn loại mật độ phù hợp. Theo Nguyễn Văn Sáng & ctv., (2018) trong nghiên cứu về ương nuôi cá trên bề xi măng thì cá bột ương ở mật độ 1.335 con/m² không khác biệt có ý nghĩa với mật độ 2.000 con/m², tỷ lệ sống lần lượt là 56,19% và 42,99%.

Kết quả thí nghiệm cũng cho thấy các chỉ số chính về hiệu quả sản xuất như năng suất, lợi nhuận và tỷ suất lợi nhuận đã có sự khác

biệt có ý nghĩa thống kê giữa các ao thí nghiệm và ao đối chứng ($P < 0,05$), ao thí nghiệm ứng dụng MNO với mật độ ương 750 con/m² cho các thông số tốt hơn hai loại ao còn lại. Khi so sánh từng loại ao riêng lẻ với nhau thì kết quả cũng cho thấy đều có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các loại ao thí nghiệm với nhau và giữa ao thí nghiệm với ao đối chứng ($P < 0,05$). Mặc dù, tỷ lệ sống của cá bột không có sự khác biệt giữa hai loại mật độ thí nghiệm, nhưng xem xét các yếu tố khác về kinh tế thì mật độ ương 750 con/m² cho các thông số tốt hơn. Tuy nhiên, theo Nguyễn Văn Sáng & ctv., (2018) thì người sản xuất có thể lựa chọn ương mật độ cao để có sản lượng cá hương nhiều hơn, nhưng với mật độ dày thì sẽ ảnh hưởng đến tăng trưởng của cá, và liệu tăng trưởng chậm ở giai đoạn cá hương có ảnh hưởng đến tăng trưởng và phát triển của cá ở giai đoạn sau thì cần phải có nghiên cứu tiếp theo. Quy trình công nghệ nuôi ương cá tra bột lên cá hương khi ứng dụng công nghệ MNO sẽ có thể tăng tỷ lệ sống (tăng >43% so với ao không ứng dụng MNO), con giống sạch bệnh và không nhiễm kháng sinh. Như vậy, lợi nhuận của người sản xuất giống và người nuôi cá sẽ tăng lên. Bên cạnh đó, khi ứng dụng công nghệ MNO vào nuôi thủy sản, các chất cặn bẩn được đẩy lên trên bề mặt ao nuôi giúp dễ dàng loại bỏ, tăng độ trong của nước. Cùng đó, tảo khuê phát triển tốt, làm nguồn thức ăn tự nhiên cho vật nuôi. Việc áp dụng công nghệ này cũng góp phần giảm đáng kể việc thay nước cho ao nuôi, và gián tiếp giảm ô nhiễm môi trường và bảo vệ môi trường nước vùng nước xung quanh (Hoàng Tùng, 2016).

V. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

5.1. Kết luận

Việc ứng dụng công nghệ Micro-Nano Bubble Oxygen trong ao ương cá tra giai đoạn từ cá bột đến cá hương đã cho thấy những kết quả tích cực. Thiết bị MNO đã cung cấp và đảm bảo hàm lượng oxy hòa tan ở mức khá cao khoảng 7,42-8,74 mg/L và góp phần nâng cao tỷ lệ sống của cá trong các ao ứng dụng MNO so với ao không ứng dụng. Sau thời gian 28-29

ngày ương nuôi, hiệu quả sản xuất của việc ứng dụng MNO đã cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê rõ ràng giữa ao đối chứng và ao thí nghiệm. Ao ương ứng dụng MNO thả với mật độ 750 con/m² đạt được các chỉ số FCR, tỷ lệ sống, năng suất, lợi nhuận và tỷ suất lợi nhuận cao hơn các ao còn lại; với lần lượt là 0,62, 0,32, 285,65, 49,39 và 1,04. Bên cạnh cung cấp tốt hơn hàm lượng oxy cho ao nuôi, thì việc ứng

dụng công nghệ MNO cũng góp phần giảm tiêu thụ điện trong vận hành hệ thống cung cấp oxy cho ao nuôi từ 5,0-16,14% so với ao đối chứng.

5.2. Đề xuất

Cần tiếp tục thực hiện ứng dụng công nghệ MNO trong ương cá tra giai đoạn bột đến hương trong mùa khô từ tháng 1-tháng 6 và thực hiện mô hình tại vùng sản xuất giống trọng điểm tại Đồng Tháp, An Giang và Long An.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tiếng Việt

- Đinh Thị Thủy, 2016. Báo cáo tổng kết đề tài “Nghiên cứu các giải pháp kỹ thuật nâng cao tỷ lệ sống và chất lượng cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) từ bột lên giống ở vùng ĐBSCL, giai đoạn 2014 – 2016”. Báo cáo khoa học, Viện Nghiên cứu nuôi trồng Thủy sản II, Hồ Chí Minh.
- Hoàng Tùng, 2016. Công nghệ Micro Nano Bubble: giải pháp cho nghề nuôi tôm. Mekongshrimp.com.
- Lê Đức Liêm, Bùi Đức Hồng, Phan Thị Thu, Nguyễn Phương Thảo, Huỳnh Kim Anh, 2018. Báo cáo tổng kết nhiệm vụ “kiểm tra chất lượng đàn cá tra bố mẹ chọn giống”. Bộ NN&PTNT, Hà Nội.
- Nguyễn Thanh Phương & Nguyễn Anh Tuấn, 2016. Nuôi cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) ở Đồng bằng sông Cửu Long: Thành công và Thách thức trong phát triển bền vững. Nhà xuất bản Đại học Cần Thơ, Cần Thơ.
- Nguyễn Thanh Tùng, 2019. Liên kết sản xuất giống cá tra 3 cấp chất lượng cao bước thay đổi lớn về chất lượng cá tra vùng đồng bằng sông Cửu Long. Tạp Chí Khoa học Trường Đại học An Giang (đã được chấp nhận đăng trên *Tạp chí Khoa học Trường Đại học An Giang*, số tháng 10/2019).
- Nguyễn Văn Ngô, 2009. Phân tích ngành hàng cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) ở tỉnh Đồng Tháp. Luận văn Cao học, chuyên ngành NTTS, Đại học Cần Thơ, Cần Thơ.
- Nguyễn Văn Sáng, Nguyễn Văn Hào, Phạm Đình Khôi, Trịnh Quốc Trọng, Ngô Hồng Ngân, Nguyễn Thế Vương, Nguyễn Thị Đàng, Nguyễn Quyết Tâm, Trịnh Quang Sơn, 2011. Chuyển giao công nghệ sản xuất giống cá tra có chất lượng di truyền cao về tình trạng tăng trưởng

cho các tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long. Báo cáo khoa học tổng kết dự án, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II, Hồ Chí Minh.

Nguyễn Văn Sáng, Trần Hữu Phúc, Hà Thị Ngọc Nga, Nguyễn Thị Hồng Nhung, Nguyễn Huỳnh Duy, Nguyễn Thế Vương, Đặng Văn Trường, 2018. Tăng trưởng và tỷ lệ sống cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) ương trên bề xi măng từ cá bột đến cá hương 27 ngày tuổi. Tạp chí Nghề cá sông Cửu Long, số 12 – tháng 12/2018, 3-12.

Tổng cục Thủy sản, 2017a. Tổng quan nghề nuôi cá tra giai đoạn 2010-2017, định hướng và giải pháp phát triển bền vững. Tài liệu phục vụ Hội nghị Phát triển chuỗi sản xuất cá tra bền vững. Bộ NN&PTNT, Hà Nội.

Tổng cục Thủy sản, 2017b. Báo cáo hiện trạng sản xuất giống cá tra. Bộ NN&PTNT, Hà Nội.

Tài liệu tiếng Anh

- Belton, B., Le, S.X., Little, D.C., 2008. The Development and Status of Catfish Seed Production Systems in Vietnam. PMI2 project report. (p. 49). Institute of Aquaculture, The University of Stirling, Stirling.
- Belton, B., Little, D.C., Sinh, L.X., 2009. User and producer perceptions of *Pangasius* seed quality in Vietnam. Master thesis, in writing, p.12.
- Bui, T.M., Phan, T.L., Ingram, B.A., Nguyen, T.T.T., Gooley, G.J., Nguyen, H.V., De Silva, S.S., 2010. Seed production practices of striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* in the Mekong Delta region, Vietnam. *Aquaculture* 306 (1-4), 92–100.
- Bush, S. R., Khiem, N. T., & Chau, N. M., 2010. Is there a business case for small-holders in Vietnamese *Pangasius*? *Aquaculture Asia Magazine*, XV(4), 18–23

- De Silva, S. S., & Nguyen, P. T., 2011. Striped catfish farming in the Mekong Delta, Vietnam: a tumultuous path to a global success. *Reviews in Aquaculture*, 3(2), 45–73.
- Le, S.X., Le, H.L., 2010. Supply and use of catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) seed in the Mekong Delta of Vietnam. *Aquaculture Asia Magazine XV*(1), 26–33.
- Nguyen, P.T., Hao, N.V, Tam, B.M., Lam, P.T., Son, V.M., Nhut, N., De Silva, S.S., 2011. Better Management Practices for Striped Catfish Farming in the Mekong Delta-Viet Nam. Collaboration for Agriculture and Rural Development (CARD) project (001/07VIE). *Aquaculture* (p. 92). Bangkok. Retrieved from http://library.enaca.org/inland/catfishbmps/catfish_bmp_version3_final.pdf.
- Phan, T. L., Bui, T. M., Nguyen, T. T. T., Gooley, G. J., Ingram, B. A., Nguyen, H. V., De Silva, S. S., 2009. Current status of farming practices of striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* in the Mekong Delta, Vietnam. *Aquaculture*, 296(3-4), 227–236
- Phan, T.L., 2014. Sustainable development of export-orientated farmed seafood in Mekong Delta, Vietnam. PhD thesis, The University of Stirling, Stirling.
- Hideki Tsuge, 2014. *Micro- and Nanobubbles: Fundamentals and Applications*. 1st Edition. Jenny Stanford Publishing, Singapore.
- Ohnari, H., 2007. Micro bubble technology, its Characteristics and Possibilities, *Journal of MMIJ* Vol. 123 (2007), No.3 pp.89-96
- Nakayama, T., 2006. Improvement of Oyster Cultivation by Micro-Bubbles, session-14, 5th Conference on Symbiotic Environmental Systems Engineering of Yamaguchi University (2006)
- Marui, T., 2013. *An Introduction to Micro/nano-Bubbles and their Applications*. Systemics, cybernetics and informatics volume 11-number 4 – year 2013, ISSN: 1690-4524.

APPLICATION EFFICIENCY OF MICRO-NANO BUBBLE OXYGEN TECHNOLOGY IN THE STRIPED CATFISH NURSING POND FROM FRY TO JUVENILE STAGE

Phung Thi Hong Gam^{1*}, Nguyen Trong Huy¹, Chau Huu Tri²,
Thoi Ngoc Bao³, Do Van Hoang³, Phan Thanh Lam³

ABSTRACT

Application of Micro-nano Bubble Oxygen (MNO) technology in striped catfish nursing pond from fry to juvenile stage is to improve the production efficiency of striped catfish seed sector. This study was conducted at Thanh Phu Farm of the Huy Thuan Aquaculture Investment Ltd. from July 2018 to February 2019. The experiments were implemented in the 2,000m² of earth pond with a density of 500 and 750 fry/m², each treatment had 03 experimental ponds using MNO technology and 01 control pond. The study results showed that the concentration of dissolved oxygen in the experimental ponds using the MNO machine ranged from 7.42 to 8.74mg/L higher than that of the control pond (5.32-6.85 mg/L). After 29 days of nursing stage, the survival rate in both experiments using MNO machine with the density of 500 fry/m² and 750 fry/m² reached 31.23-32.32% higher than that of the control pond (21.36-22.99%). Similarly, FCR of the experimental ponds ranged from 0.56 to 0.62 lower than that of the control pond (0.71- 0.76). A comparison between two stocking densities, experiments using MNO machine with the density of 750 fry/m² reached an average yield of 285.65 kg/1,000 m², which is higher than that of the ponds at the density of 500 fry/m² (193.35 kg/1,000 m²), and it also had higher economic efficiency than that of the control pond ($P < 0.05$). Application of MNO technology has ensured better supply of oxygen content into the pond, and also contributes to reducing electricity consumption in operating the oxygen supply system for ponds from 5.0 to 16.14% compared to the control pond. Application of MNO technology in striped catfish ponds from fry to juvenile stage has shown positive results. It is necessary to be continued applying MNO technology in the raising of striped catfish nursing stages in the dry season from January to June.

Keywords: *Micro-nano bubble oxygen, striped-catfish, DO, production efficiency.*

Người phản biện: TS. Nguyễn Thanh Tùng

Ngày nhận bài: 19/9/2019

Ngày thông qua phản biện: 10/10/2019

Ngày duyệt đăng: 27/10/2019

Người phản biện: TS. Thái Thanh Bình

Ngày nhận bài: 19/9/2019

Ngày thông qua phản biện: 10/10/2019

Ngày duyệt đăng: 27/10/2019

¹ Huy Thuan Aquaculture Investment Ltd., Ben Tre

² Center for Agriculture Extension of Ben Tre, Ben Tre

³ Research Institute for Aquaculture No. 2

* Email: honggam27@gmail.com

HIỆU QUẢ PHÒNG BỆNH HOẠI TỬ GAN TUY CẤP TRÊN TÔM THẺ (*Penaeus vannamei*) CỦA CAO CHIẾT KHỔ SÂM (*Croton tonkinensis*) Ở QUY MÔ TRANG TRẠI

Trương Hồng Việt^{1*}, Đỗ Thị Cẩm Hồng¹, Trần Bùi Trúc Quân², Vũ Thiên Ân¹,
Nguyễn Công Thành³, Thái Thanh Trung³, Phạm Bá Vũ Tùng⁴

TÓM TẮT

Các chế phẩm thảo dược có vai trò quan trọng trong kiểm soát dịch bệnh vì chúng có chứa các thành phần hoạt tính bao gồm chất chống oxy hoá, chống vi khuẩn, chống stress, kích thích tăng trưởng, kích thích sự thèm ăn và tăng cường miễn dịch ở cá và tôm. Các tính chất này liên quan đến các hợp chất trong thực vật như alkaloids, flavonoid, polyphenol, terpenoid, và steroid. Dịch chiết từ cây khổ sâm (*Croton tonkinensis*) được cho là có chứa các lớp chất chủ yếu là các hợp chất hữu cơ như flavonoid, alkaloid, polyphenol... Trong hầu hết các trường hợp, các hoạt chất như là polyphenol, polysaccharides, proteoglycans và flavonoids đóng một vai trò chính trong việc ngăn ngừa hoặc kiểm soát các vi khuẩn lây nhiễm. Mục tiêu của nghiên cứu này là đánh giá hiệu quả ứng dụng của cao chiết khổ sâm trong việc phòng bệnh hoại tử gan tụy cấp - AHPND trên tôm nuôi ở quy mô trang trại. Thí nghiệm phòng bệnh trên 4 ao nuôi ở Bạc Liêu (tổng diện tích nuôi là 1 ha) và 6 ao nuôi ở Sóc Trăng (tổng diện tích nuôi là 0,9 ha) với liều trộn vào thức ăn là 20 g/kg thức ăn/ngày và tôm được cho ăn liên tục suốt tuần, bao gồm các tuần 3, 5, 7 và 9 sau khi thả nuôi. Kết quả thử nghiệm ở thử nghiệm ở Sóc Trăng, tất cả 5 ao nuôi thử nghiệm và 1 ao nuôi đối chứng đều thành công, với năng suất thu hoạch từ 9,8-12,5 tấn/ha và tỷ lệ sống từ 80,6-88,4%. Do bệnh không xảy ra trong vụ nuôi nên chưa có cơ sở để đánh giá hiệu quả ứng dụng khổ sâm ở Sóc Trăng. Đối với thử nghiệm ở Bạc Liêu cho thấy các ao nuôi thử nghiệm đã được ứng dụng thành công, hiệu quả phòng bệnh đạt 100% ở 3 ao nuôi thử nghiệm sử dụng khổ sâm, với năng suất thu hoạch từ 9,5-11 tấn/ha và tỷ lệ sống khá cao từ 89,4-91,3%. Trong khi ở ao nuôi đối chứng, tôm bị bệnh AHPND sau 28 ngày thả nuôi. Từ các kết quả trên, nghiên cứu này kết luận cao chiết khổ sâm có khả năng phòng AHPND ở tôm thẻ chân trắng ở quy mô trang trại với liều 2% (20 g/kg) trộn vào thức ăn, với phương pháp cho tôm ăn liên tục và cách tuần.

Từ khoá: AHPND, cao chiết, *croton tonkinensis*, khổ sâm, tôm thẻ chân trắng.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nước ta có đường biển dài hơn 3.260 km nên rất thuận lợi cho phát triển hoạt động nuôi trồng thủy sản. Mức độ nuôi tôm nước lợ vùng Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) không ngừng gia tăng cả về diện tích và sản lượng, chủ yếu là nuôi tôm thâm canh và bán thâm canh, cụ thể là nuôi tôm thẻ chân trắng. Từ năm 2010, bệnh hoại tử gan tụy cấp (AHPND) đã xuất hiện ở Việt Nam. Ban đầu chỉ xảy ra tại một số vùng, sau đó lan ra các tỉnh vùng ĐBSCL với tỷ lệ tôm

chết đến 90%. AHPND đã gây thiệt hại với tổng diện tích ao nuôi tôm là 98.000 ha ở các tỉnh như Tiền Giang, Bến Tre, Sóc Trăng, Bạc Liêu, Cà Mau và Kiên Giang. Trong đó, Bạc Liêu có tổng diện tích ao tôm bị chết là 11.000 ha và Trà Vinh là 6.200 ha với tổng số 330 triệu tôm đã chết làm thiệt hại hơn 12 tỷ đồng (Mooney, 2012). Theo báo cáo của Tổng cục Thủy sản, sản lượng nuôi trồng thủy sản năm 2017 cả nước đạt 3.858 ngàn tấn, tăng 5,5% so với năm 2016. Diện tích nuôi tôm nước lợ cả nước đạt

¹ Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II.

² Đại học Quốc tế, Đại học Quốc gia Tp. Hồ Chí Minh.

³ Trung tâm Tập huấn và Chuyên gia Công nghệ Nông nghiệp vùng Đồng bằng sông Cửu Long

⁴ Trang trại nuôi tôm thuộc công ty Kim Hawaii.

* Email: truonghongviet@yahoo.com

721,1 nghìn ha; tăng 3,8% so với năm 2016, trong đó diện tích nuôi tôm sú là 622,4 nghìn ha; tăng 3,7% và diện tích nuôi tôm chân trắng là 98,7 nghìn ha; tăng 4,7% so với năm 2016. Trong 6 tháng đầu năm 2018, tình hình bệnh và thiệt hại trên tôm đã xảy ra tại 157 xã, 25 huyện, 5 tỉnh nuôi tôm trọng điểm của vùng ĐBSCL bao gồm: Cà Mau, Bạc Liêu, Kiên Giang, Sóc Trăng và Trà Vinh với tổng diện tích thiệt hại là gần 12.410 ha (cao hơn gần 26% so với cùng kỳ năm 2017). Ở Bạc Liêu, theo Chi Cục Thủy sản, trong 9 tháng đầu năm 2018, tình hình thiệt hại đối với tôm nuôi thâm canh, bán thâm canh chiếm khoảng 39,9% diện tích thả nuôi. Ở Sóc Trăng, diện tích nuôi tôm bị thiệt hại 11.569 ha, chiếm 21,1% diện tích thả nuôi (Báo cáo 9 tháng năm 2018 của Chi Cục Thủy sản tỉnh Sóc Trăng).

Trong những năm qua, việc sử dụng kháng sinh và hoá chất để phòng trị bệnh nhiễm khuẩn đã gây ra tình trạng bất lợi trong nuôi trồng thủy sản. Điều này có thể làm xuất hiện nhiều chủng vi khuẩn có khả năng kháng kháng sinh. Ngoài ra, dư lượng của nó không những làm hại môi trường nuôi thủy sản mà còn ảnh hưởng không tốt đến sức khỏe của con người (Syahidah, 2014). Vì vậy, dịch chiết thảo dược được sử dụng để kiểm soát bệnh nhiễm khuẩn được xem như là chiến lược thay thế kháng sinh. Nó đã được áp dụng thành công ở một số nước như Mexico, Ấn Độ, Thái Lan và Nhật Bản (Yin và ctv., 2008). Nhiều báo cáo trước đây đã kết luận các dịch chiết có nguồn gốc từ thực vật có hoạt tính sinh học và tính kháng khuẩn (Turker & Usta, 2006; Oonmetta-areea & ctv., 2006; Tachakittirungrod & Chowwanapoonpohn, 2007; Vuddhakul & ctv., 2007; Latha & ctv., 2009; Chaweepack & ctv., 2015a và 2015b). Các loại thảo mộc và cây thuốc hứa hẹn sẽ trở thành nguồn cung cấp các liệu pháp chữa bệnh cho nuôi tôm, cá. Bởi vì các sản phẩm này cung cấp với giá rẻ cho việc điều trị bệnh và đặc biệt là không gây độc (Madhuri & ctv., 2012). Các chế phẩm thảo dược có vai trò quan trọng trong kiểm soát dịch bệnh vì chúng có chứa các thành phần hoạt tính bao gồm chất chống oxy hoá,

chống vi khuẩn, chống stress, kích thích tăng trưởng, kích thích sự thèm ăn, và tăng cường miễn dịch ở cá và tôm (Citarasu & ctv., 2001). Theo Lee & Gao (2012), các loại thảo dược hoạt động như là một hương vị nên nó có khả năng ảnh hưởng đến sự thèm ăn của vật nuôi như tiết dịch tiêu hóa và tăng lượng thức ăn ăn vào, đồng thời cũng là một trong những yếu tố góp phần làm giảm hệ số chuyển hoá thức ăn (Venketramalingam & ctv., 2007). Theo Đỗ Tất Lợi (2004) trong trong rễ, thân và lá của cây khổ sâm (*Croton tonkinensis*) có chứa các lớp chất chủ yếu là các hợp chất diterpenoid như là flavonoid, alcaloid, polyphenol... Nó thuộc nhóm cây thuốc và vị thuốc được dùng làm thuốc bổ, thuốc bồi dưỡng và có tác dụng tốt với tiêu hóa và bệnh đau dạ dày. Trong hầu hết các trường hợp, các hoạt chất như là polyphenol, polysaccharides, proteoglycans và flavonoids đóng một vai trò chính trong việc ngăn ngừa hoặc kiểm soát các vi khuẩn lây nhiễm (Citarasu & ctv., 2003). Hiện nay, nhiều phương pháp phòng và trị bệnh hoại tử gan tụy cấp - AHPND đã được nghiên cứu và áp dụng trong quy trình nuôi tôm. Các giải pháp đã được triển khai bao gồm ương giống trước khi thả nuôi, diệt vi khuẩn trong nước ao nuôi theo định kỳ, sử dụng kháng sinh trộn vào thức ăn theo định kỳ, sử dụng mô hình nuôi biofloc, mô hình nuôi kết hợp với cá rô phi hoặc mô hình nuôi hạn chế sự phát triển của *Vibrio* spp. và *Vibrio parahaemolyticus* mang gen độc *PirA* và *PirB* có trong môi trường đất, nước và trong tôm nuôi... Vì vậy, việc phòng bệnh AHPND bằng dịch chiết thực vật có tính kháng khuẩn và kích thích hệ miễn dịch của tôm cũng được xem như là một trong những giải pháp phòng bệnh vi khuẩn hiệu quả trong quá trình nuôi tôm. Mục tiêu của nghiên cứu này là ứng dụng kết quả nghiên cứu “Hiệu quả các dịch chiết khổ sâm (*Croton tonkinensis*) và đơn châu chấu (*Aralia armata*) trong phòng trị bệnh hoại tử gan tụy cấp trên tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vannamei*) ở điều kiện phòng thí nghiệm” của cùng tác giả Trương Hồng Việt & ctv., (2017) để đánh giá hiệu quả ứng

dụng của cao chiết khổ sâm trong việc phòng bệnh hoại tử gan tụy cấp trên tôm nuôi ở quy mô trang trại.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

+ Cao chiết thô khổ sâm được cung cấp bởi Viện hoá học và các hợp chất thiên nhiên. Dịch thô được tách chiết bằng cồn tuyệt đối, cô đặc và được bảo quản ở nhiệt độ phòng.

+ Tôm thẻ PL12 (*Penaeus vannamei*) được cung cấp bởi công ty Kim Hawaii và Trung Tâm Tập huấn và Chuyển giao Công nghệ Nông nghiệp vùng ĐBSCL. PL12 được kiểm tra sạch mầm bệnh bởi nhà cung cấp trước khi thả nuôi.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thời gian và địa điểm thí nghiệm

+ Thời gian: Từ tháng 5/2018 đến tháng 10/2018

+ Địa điểm: Thí nghiệm được thực hiện ở 2 địa điểm:

(1) Trang trại nuôi tôm của công ty Kim Hawaii, Ấp Giồng Nhân A, xã Nhà Mát, tỉnh Bạc Liêu.

(2) Trung tâm Tập huấn và Chuyển giao Công nghệ Nông nghiệp vùng ĐBSCL, ấp Nopol, xã Vĩnh Tân, thị xã Vĩnh Châu, tỉnh Sóc Trăng.

2.2.2. Bố trí thí nghiệm

Quy trình nuôi và kỹ thuật quản lý ao nuôi đối với ao đối chứng và các ao nuôi thử nghiệm là hoàn toàn giống nhau. Tuy nhiên, liệu trình phòng bệnh khác nhau giữa ao đối chứng (tôm được cho ăn chất tăng cường miễn dịch β -glucan) và các ao nuôi thử nghiệm (tôm được cho ăn cao chiết khổ sâm). Việc bố trí ao nuôi tôm thử nghiệm được trình bày ở Bảng 1 và quy trình thử nghiệm phòng trị AHPND bằng cao chiết khổ sâm được trình bày ở Bảng 2.

Bảng 1. Bố trí các ao nuôi thử nghiệm tại Bạc Liêu và Sóc Trăng

Địa điểm	Diện tích thả nuôi	Số ao nuôi	Mật độ thả nuôi	Cỡ giống thả nuôi	Ghi chú
Bạc Liêu	10.000 m ²	4	80 con/m ²	PL12	1 ao đối chứng (2.500 m ²) và 3 ao thử nghiệm (2.500 m ² /ao)
Sóc Trăng	9.000 m ²	6	80 con/m ²	PL12	1 ao đối chứng (1.000 m ²) và 5 ao thử nghiệm, trong đó 3 ao (1.000 m ² /ao) và 2 ao (2.500 m ² /ao)

Bảng 2. Quy trình thử nghiệm phòng bệnh bằng cao khổ sâm tại Bạc Liêu và Sóc Trăng

Thử nghiệm	Ao đối chứng	Ao thử nghiệm
Phòng bệnh	Tôm được cho ăn chất tăng cường miễn dịch β -glucan	Tôm được cho ăn cao chiết khổ sâm liên tục suốt tuần
Liều lượng	5 g/kg thức ăn/ngày (Theo hướng dẫn của nhà sản xuất)	20 g/kg thức ăn/ngày (Theo báo cáo trước của cùng tác giả Trương Hồng Việt & ctv., 2017)
Thời gian	Cho ăn 2 lần/ngày, bắt đầu từ tuần thứ 3 đến hết vụ nuôi.	Cho ăn ở các tuần thứ 3, 5, 7, và 9 sau khi thả nuôi.

2.2.3. Quy trình nuôi tôm thâm canh

Trước mỗi vụ nuôi cần phải tiến hành chuẩn bị ao nuôi từ 30-45 ngày. Gia cố bờ ao, tháo

cạn nước, sên vét lớp bùn đáy ao, bơm nước rửa đáy ao. Thời gian phơi ao kéo dài 10-15 ngày. Tiến hành rào lưới (2a ≤ 0,1 mm) ngăn cua còng

quanh ao, với chiều cao lưới hơn mặt đất từ 0,6-1 m. Khử trùng ao bằng vôi đá CaO rải đều khắp đáy ao và bờ với liều lượng 1 tấn/ha. Chọn thời điểm con nước thủy triều cao nhất lấy vào ao lắng, sau đó bơm qua ao nuôi, nước được lấy vào ao thông qua túi lọc. Mức nước từ 1,5-1,7 m. Sau 5-7 ngày, sử dụng hóa chất Glutadine để diệt khuẩn với liều lượng 1 ppm. Thời gian xử lý là chiều mát. Sau 5-7 ngày, tiến hành bón phân gây màu. Bón liên tục 2-3 ngày đến khi độ trong đạt 30-40 cm. Thời gian bón lúc trời nắng từ 9-11 giờ. Tiến hành thu mẫu nước kiểm tra các thông số môi trường (độ mặn, pH, oxy hoà tan, độ kiềm) và vi khuẩn trong nước và bùn đáy ao (tổng số *Vibrio* spp. và *Vibrio parahaemolyticus*). Trước khi thả giống 2-3 ngày, sử dụng vi sinh EMC tạt đều khắp ao. Thời gian tạt lúc trời nắng 9-11 giờ với liều lượng sử dụng 2 lít/ao/2.500 m². Tùy theo tốc độ tăng trưởng của tôm và điều kiện thời tiết, khẩu phần thức ăn được điều chỉnh hàng ngày thông qua sàng ăn để phù hợp thực tế. Ở thời điểm mưa nhiều, tôm chuẩn bị lột xác hoặc đang trong giai đoạn lột xác giảm bớt 10-30% lượng thức ăn theo kế hoạch. Trường hợp tôm ăn hết 100% lượng thức ăn trong sàng, thì cử sau tăng 5% lượng thức ăn theo kế hoạch. Trường hợp tôm ăn còn dư 5% lượng thức ăn trong sàng, thì cử sau giữ nguyên lượng thức ăn theo kế hoạch. Trường hợp tôm ăn còn dư > 5% có thể giảm thức ăn cử sau từ 10-30%. Khi thời tiết mưa nắng bất thường thì bổ sung thêm vitamin C vào thức ăn (3 g/1 kg thức ăn).

2.2.4. Phương pháp phân tích vi khuẩn tổng số *Vibrio* spp. và *Vibrio parahaemolyticus* trong nước ao nuôi tôm

Định kỳ hàng tuần (bắt đầu từ ngày thứ 14 sau khi thả nuôi), mẫu nước được thu (chứa 2/3 trong bình nhựa 1 lít) ở các ao nuôi, bảo quản lạnh rồi gửi về phòng thí nghiệm để phân tích vi khuẩn. Để xác định tổng số *Vibrio* spp. hiện diện trong nước ao nuôi, mẫu nước từ các bình được trải và đếm khuẩn lạc mọc trên đĩa thạch TCBS (Himedia, Ấn Độ), ủ 30°C trong

vòng 24 giờ, đếm các khuẩn lạc có màu vàng và xanh để tính ra mật độ CFU/ml nước.

Để xác định tổng số *V. parahaemolyticus* trong nước ao nuôi, mẫu nước từ các bình được trải và đếm khuẩn lạc mọc trên đĩa thạch CHROMagar™ *Vibrio* (CHROMagar, Pháp), ủ 30°C trong vòng 24 giờ, đếm các khuẩn lạc có màu tím hoa cà để tính ra mật độ CFU/ml nước.

Phương pháp phân tích vi khuẩn được thực hiện dựa theo quy trình của phòng thí nghiệm vi sinh của Trung tâm Quan trắc Môi trường và Bệnh Thủy sản Nam Bộ.

2.2.5. Phương pháp phân tích mô bệnh học mẫu tôm nuôi

Định kỳ hàng tuần (bắt đầu từ ngày thứ 14 sau khi thả nuôi) mẫu gan tụy của 10 tôm được cố định trong dung dịch Davidson rồi gửi về phòng thí nghiệm để phân tích mô bệnh học. Quy trình được dựa theo phương pháp của Bell & Lightner (1998). Tôm được cố định trong 24 giờ bằng dung dịch Davidson (cồn 95%: 330 ml; formalin 100%: 220 ml; axit acetic 115 ml; và nước cất: 335 ml), rồi chuyển qua cồn 70% để bảo quản lâu hơn. Mô tôm được khử nước, đúc vào khối paraffin, được cắt thành miếng mỏng 5 µm, và được nhuộm với hematoxylin và eosin.

III. KẾT QUẢ

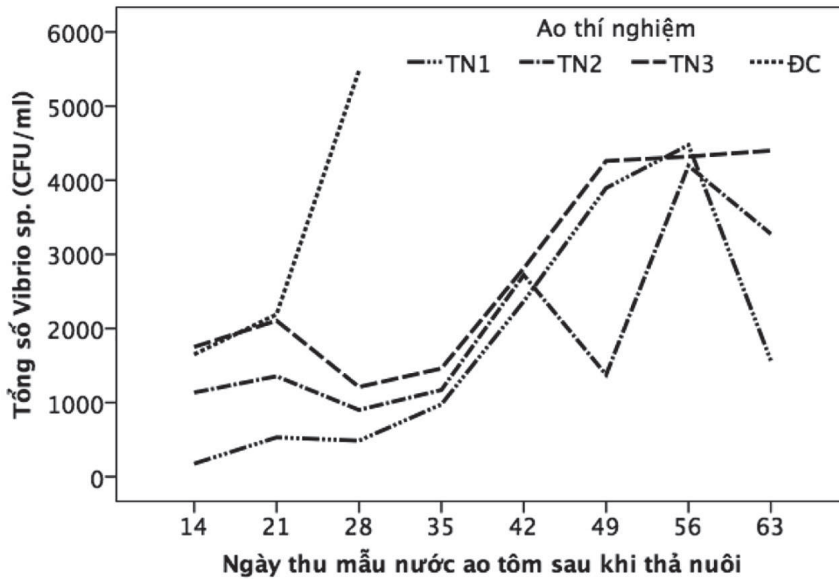
3.1. Thử nghiệm ở Bạc Liêu

3.1.1. Biến động của *Vibrio* trong các ao nuôi ở Bạc Liêu

Vibrio spp. là vi khuẩn hiện diện trong môi trường nước lợ và được cho là có thể gây bệnh cơ hội đối với tôm nuôi. Vì vậy, nghiên cứu này đã giám sát định kỳ hàng tuần (bắt đầu từ ngày thả nuôi thứ 14) sự biến động của *Vibrio* trong nước ao nuôi để có biện pháp kiểm soát sự ảnh hưởng của chúng trong suốt quá trình nuôi. Kết quả phân tích tổng số *Vibrio* spp. của 24 mẫu nước (trong 8 tuần thu mẫu kiểm tra định kỳ) ở 3 ao nuôi thử nghiệm thảo dược (TN1, TN2, và TN3) và của 3 mẫu nước (trong 3 tuần thu mẫu kiểm tra định kỳ) ở 1 ao nuôi đối chứng (ĐC) được trình bày ở Hình 1 cho thấy ở ngày 14 sau thả nuôi tổng số *Vibrio* spp. trong nước

có mật độ 10^3 CFU/ml ở 3 ao của TN2, TN3, và ĐC, ngoại trừ ao TN1 có mật độ $< 10^3$ CFU/ml. Sau đó, tổng số *Vibrio* spp. dao động ở các tuần nuôi tiếp theo. Tuy nhiên sự dao động này vẫn nằm trong khoảng 10^3 CFU/ml, điều này có thể do có sự can thiệp trong quá trình nuôi như là diệt khuẩn định kỳ và chế phẩm vi sinh. Ở ngày 28 sau khi thả nuôi, tổng số *Vibrio* spp. của ao ĐC tăng mạnh > 5.000 CFU/ml và sự biến động

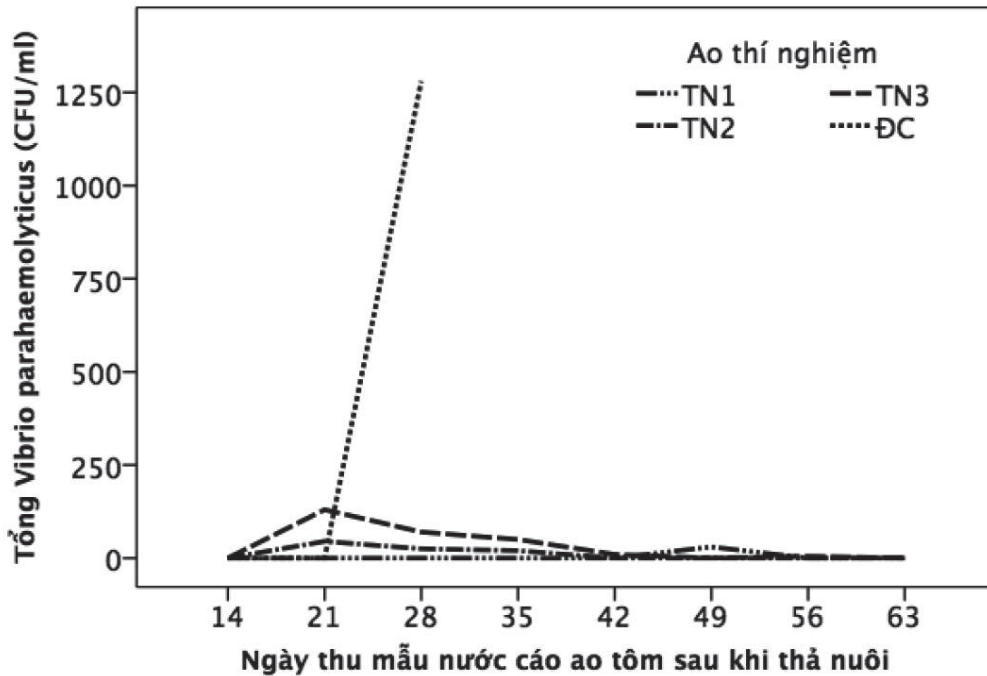
này xảy ra là do tôm của ao đối chứng bị chết vào ngày thứ 22 sau khi thả nuôi. Ở các ao thử nghiệm, tổng số *Vibrio* spp. dao động lần lượt là 175-4.471 CFU/ml, 900-4.195 CFU/ml, và 1.210-4.400 CFU/ml trong suốt thời gian theo dõi đến 2 tháng thả nuôi. Kết quả cho thấy tổng số *Vibrio* spp. dao động trong khoảng 10^3 CFU/ml không ảnh hưởng đến kết quả nuôi ở các ao thử nghiệm.



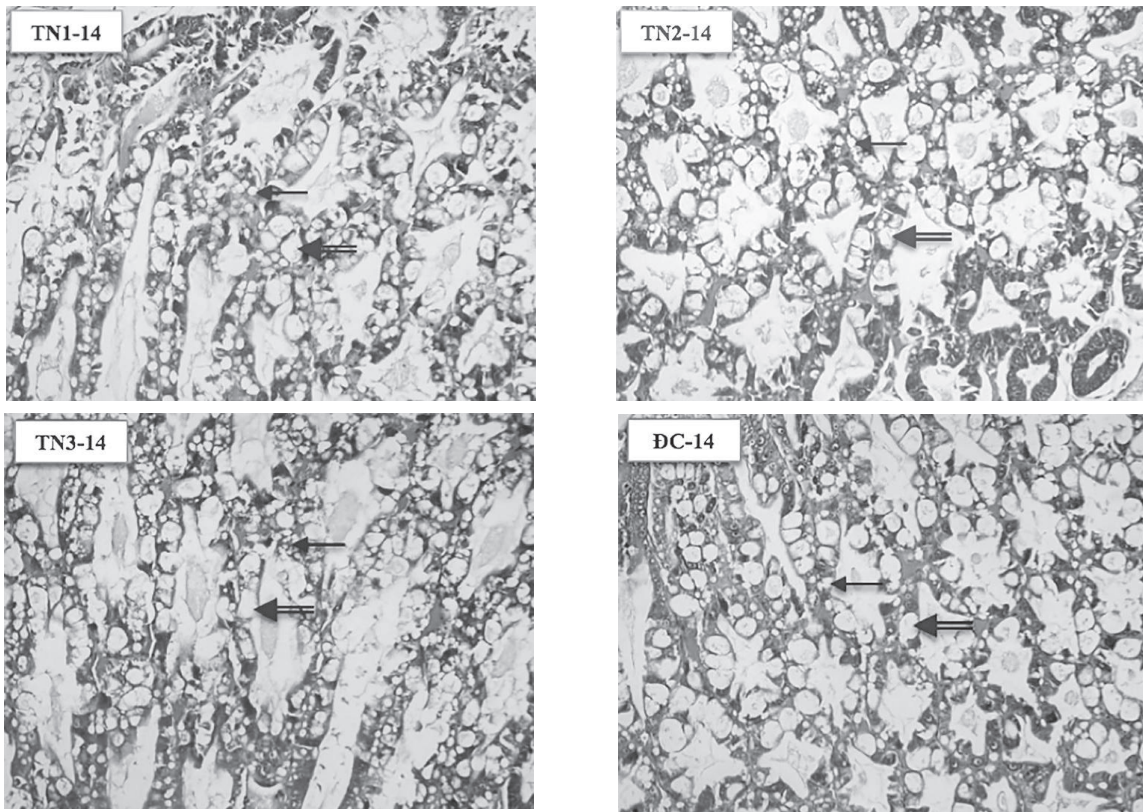
Hình 1. Kết quả phân tích tổng số *Vibrio* spp. các mẫu nước được thu định kỳ của 3 ao thử nghiệm (TN1, TN2, và TN3) và 1 ao đối chứng (ĐC) trong quá trình nuôi.

Vibrio parahaemolyticus là vi khuẩn gây bệnh hoại tử gan tụy cấp trên tôm nuôi. Vì vậy, *V. parahaemolyticus* cũng được giám sát định kỳ hàng tuần trong quá trình nuôi. Kết quả định lượng tổng số *V. parahaemolyticus* trong nước của các ao nuôi được thể hiện ở Hình 2. Ở ngày nuôi thứ 14, tất cả các ao nuôi đều không có sự hiện diện của *V. parahaemolyticus*. Ở ngày nuôi thứ 21, chỉ có 2 ao TN2 và TN3 có sự xuất hiện của *V. parahaemolyticus* với mật độ lần lượt là 45 và 130 CFU/ml. Đến ngày 28 sau thả nuôi, *V. parahaemolyticus* của 2 ao này đã giảm xuống gần 50% với mật độ lần lượt là 25 và 70 CFU/ml. Sự giảm này có thể là do có sự can thiệp xử lý nước ao trong quá trình nuôi. Trong khi đó, *V. parahaemolyticus* đã xuất hiện nhiều ở ao ĐC với mật độ 1.280 CFU/ml ở ngày thứ 28. Mặc dù ở ngày thứ 21, mật

độ *V. parahaemolyticus* là 0 CFU/ml, nhưng ở ngày 22 tôm bị chết do hoại tử gan tụy cấp. Kết quả này cho thấy rằng bệnh hoại tử gan tụy ở tôm vẫn xảy ra dù trước đó không phát hiện *V. parahaemolyticus* trong nước ao nuôi. Điều này có thể giả định rằng vi khuẩn này đã tồn tại trong cơ thể tôm hay là nhiễm trực tiếp từ bùn đáy ao vẫn còn nghi vấn (mẫu bùn và mẫu nước đã kiểm tra âm tính trước khi thả nuôi). Trong khi ở các ao TN1, TN2, và TN3, có sự hiện diện *V. parahaemolyticus* trong nước ao nhưng tôm không bị bệnh. Mật độ *V. parahaemolyticus* ở 3 ao này dao động ở mức độ thấp trong suốt quá trình nuôi lần lượt là 0-30 CFU/ml, 0-45 CFU/ml, và 0-130 CFU/ml. Kết quả này cho thấy, *V. parahaemolyticus* hiện diện trong nước ao ở mật độ 10^2 CFU/ml không ảnh hưởng đến kết quả nuôi của 3 ao thử nghiệm.



Hình 2. Kết quả phân tích tổng *Vibrio parahaemolyticus* các mẫu nước được thu định kỳ của 3 ao thử nghiệm (TN1, TN2, và TN3) và 1 ao đối chứng (ĐC) trong quá trình nuôi.



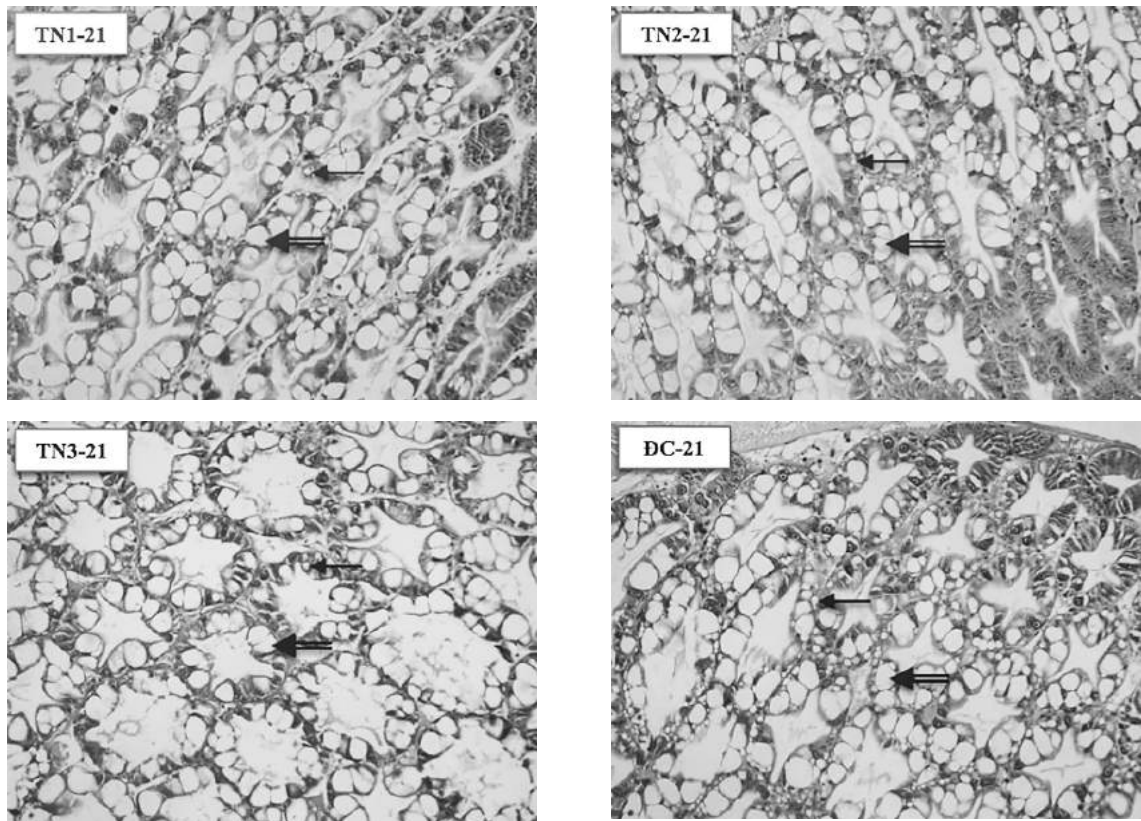
Hình 3. Cấu trúc mô học của gan tụy bình thường của tôm 14 ngày tuổi. Gan tụy tôm hiện diện nhiều tế bào R và B. (TN1-14) Gan tụy tôm ở ao thử nghiệm số 1, (TN2-14) Gan tụy tôm ở ao thử nghiệm số 2, (TN3-14) Gan tụy tôm ở ao thử nghiệm số 3. (ĐC-14) Gan tụy tôm ở ao đối chứng. Mũi tên đơn: tế bào R có chứa một hoặc nhiều không bào nhỏ Mũi tên đôi: tế bào B có chứa một không bào lớn. (X200)

3.1.2. Kết quả phân tích mẫu mô bệnh học của tôm nuôi ở Bạc Liêu

Định kỳ hàng tuần, tôm nuôi được thu mẫu cố định trong dung dịch Davidson cho kiểm tra mô bệnh học gan tụy tôm để tầm soát tình hình bệnh hoại tử gan tụy cấp và kiểm soát những biến đổi bất thường của mô gan tụy. Kết quả phân tích mô học cho thấy tôm ở cả 3 ao nuôi thử nghiệm và 1 ao đối chứng được thu định kỳ 7 ngày, bắt đầu thu mẫu tôm ở ngày tuổi 14, ở thời điểm này tôm chưa được cho ăn thảo dược. Kết quả phân tích được trình bày ở Hình 3 cho thấy gan tụy tôm của 3 ao thử nghiệm và 1 ao đối chứng đều giống nhau, có cấu trúc bình thường bao gồm có nhiều tế bào dự trữ hay tế bào R (các tế bào có chứa một hoặc nhiều không bào nhỏ trong tế bào chất) và nhiều tế bào tiết hay tế bào B (các tế bào có chứa một không bào lớn trong tế bào chất). Cấu trúc này giống

như được thấy ở các loài tôm (Bell và Lightner, 1988; Caceci và ctv., 1988; Lightner và ctv., 1996; Bhavan và Geraldine, 2000).

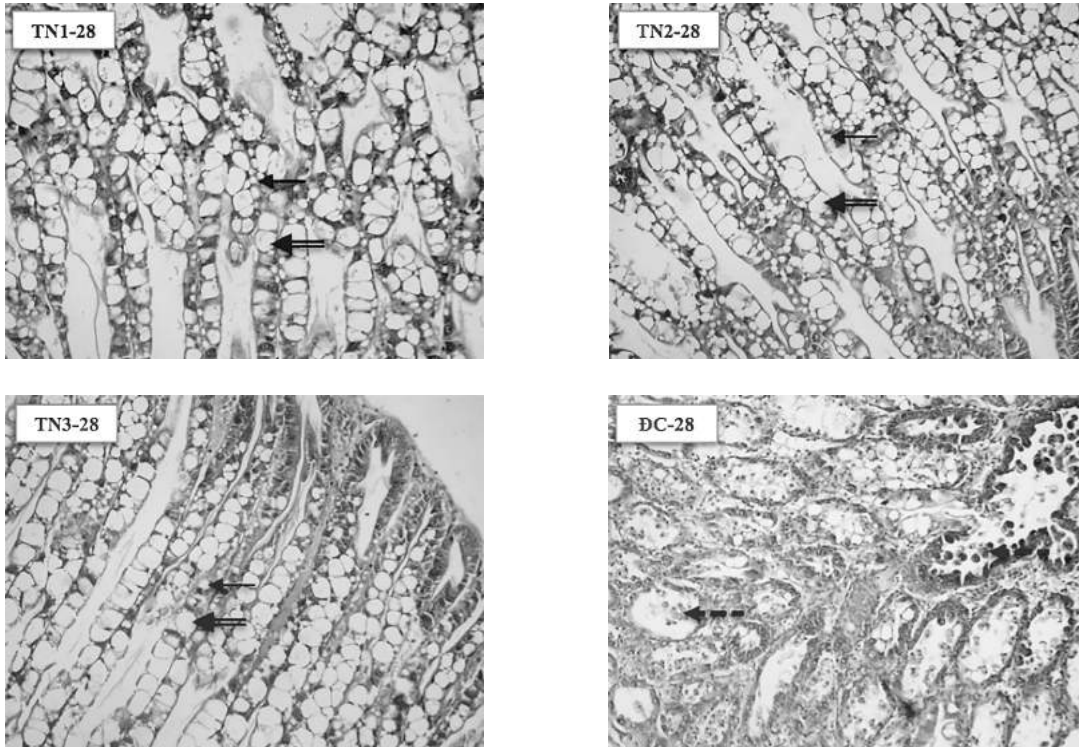
Sau khi tôm được cho ăn thảo dược liên tục trong 1 tuần (từ ngày nuôi thứ 15 đến 21), tôm được thu mẫu kiểm tra cấu trúc gan tụy. Kết quả mô học được trình bày ở Hình 4 cho thấy gan tụy tôm của ao đối chứng (ĐC, không ăn dịch chiết) có cấu trúc bình thường với sự hiện diện nhiều tế bào B và R. Trong khi ở 3 ao thử nghiệm (TN1, TN2, và TN3) ăn dịch chiết, cấu trúc gan tụy cũng bình thường, tuy nhiên ống gan tụy xuất hiện nhiều tế bào B và giảm số lượng tế bào R. Kết quả này phù hợp với kết quả mô học của nghiên cứu phòng AHPND bằng dịch chiết protein thô từ tảo đỏ với kết quả tế bào B xuất hiện nhiều ở gan tôm của các nghiệm thức được cho ăn dịch chiết (Boonsri & ctv., 2016).



Hình 4. Cấu trúc mô học của gan tụy bình thường của tôm 21 ngày tuổi. Các ao thử nghiệm tăng hiện diện tế bào B và giảm tế bào R. (TN1-21) Gan tụy tôm ở ao thử nghiệm số 1. (TN2-21) Gan tụy tôm ở ao thử nghiệm số 2. (TN3-21) Gan tụy tôm ở ao thử nghiệm số 3. (ĐC-21) Gan tụy tôm ở ao đối chứng. Mũi tên đơn: tế bào R có chứa một hoặc nhiều không bào nhỏ Mũi tên đôi: tế bào B có chứa một không bào lớn. (X200)

Kết quả kiểm tra mô bệnh học tôm ở 28 ngày tuổi (sau khi tôm đã ngưng cho ăn dịch chiết thảo dược 1 tuần) được trình bày ở Hình 5 cho thấy gan tụy của tôm ở các ao thử nghiệm có cấu trúc bình thường với sự hiện diện nhiều tế bào B và R. Điều này cho thấy tôm được ngưng cho ăn dịch chiết thảo dược 1 tuần thì tế bào R (đây là tế bào có chức năng dự trữ chất dinh dưỡng) đã xuất hiện nhiều trở lại. Trong

khi ở ao đối chứng, tôm bắt đầu chết từ ngày tuổi 22, đến ngày 28, tôm chết gần như 100%. Gan tụy của các tôm thu từ ao này cho thấy các tế bào biểu mô bị bong tróc và rơi vào bên trong ống gan, đây là biểu hiện bong tróc các tế bào biểu mô phù hợp với đặc tính của bệnh AHPND (Tran & ctv., 2013; Joshi & ctv., 2014; Thitamadee & ctv., 2016).



Hình 5. Cấu trúc mô bệnh học của gan tụy của tôm 28 ngày tuổi. Các ao thử nghiệm tăng hiện diện tế bào B và tế bào R. (TN1-28) Gan tụy tôm ở ao thử nghiệm số 1. (TN2-28) Gan tụy tôm ở ao thử nghiệm số 2. (TN3-28) Gan tụy tôm ở ao thử nghiệm số 3. (ĐC-28) Gan tụy tôm ở ao đối chứng. Mũi tên đơn: tế bào R có chứa một hoặc nhiều không bào nhỏ. Mũi tên đôi: tế bào B có chứa một không bào lớn. Mũi tên đứt đoạn: tế bào biểu mô bị bong tróc và rơi vào bên trong ống gan (X200).

3.1.3. Kết quả thử nghiệm cao chiết khô sâm trên tôm nuôi ở Bạc Liêu

Thí nghiệm được thực hiện với 3 ao thử nghiệm (ký hiệu TN1, TN2, và TN3) và 1 ao đối chứng (ký hiệu ĐC). Hiệu quả thử nghiệm và lợi nhuận được trình bày ở Bảng 3. Số liệu cho thấy, ở ao ĐC tôm bị bệnh hoại tử gan tụy cấp lúc 22 ngày tuổi, tôm chết gần 100% sau 6 ngày. Ở 3 ao thử nghiệm, sản lượng thu hoạch

từ 2,3 tấn đến 2,7 tấn, với năng suất từ 9,5-11 tấn/ha. Cỡ tôm thu hoạch từ 65-77 con/kg sau thời gian nuôi 75 đến 80 ngày với tỷ lệ sống khá cao từ 89,4 đến 91,3%. Hệ số chuyển hoá thức ăn (FCR) từ 1,22 đến 1,24; giá trị này nằm trong khoảng tiêu chuẩn FCR của tôm thẻ là từ 1,1 đến 1,3. Điều này cho thấy cách cho ăn hợp lý và có hiệu quả trong phòng bệnh của cao chiết khô sâm.

Bảng 3. Kết quả thử nghiệm ở các ao nuôi tại Bạc Liêu

Ký hiệu ao	Tuổi thu hoạch (ngày)	Sản lượng thu hoạch (tấn)	Năng suất thu hoạch (tấn/ha)	Cỡ tôm thu (con/kg)	Tỷ lệ sống (%)	Tổng lượng thức ăn (tấn)	FCR
TN1	75	2,371	9,5	77	91,3	2,95	1,24
TN2	80	2,752	11,0	65	89,4	3,35	1,22
TN3	79	2,645	10,6	68	89,9	3,25	1,23
ĐC*	-	-	-	-	-	-	-

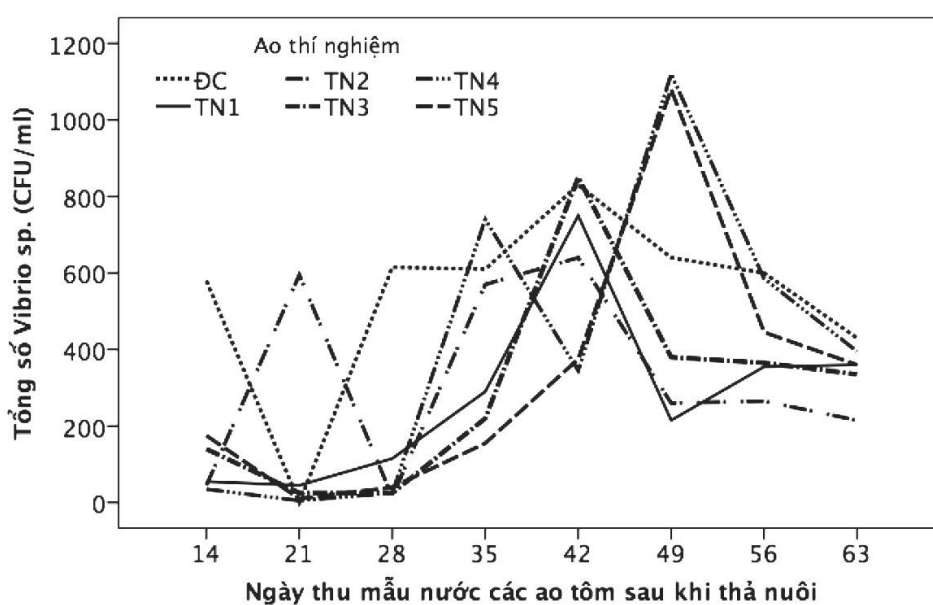
FCR: hệ số chuyển hoá thức ăn; (*) ao đối chứng: tôm bị bệnh hoại tử lúc 22 ngày tuổi

3.2. Thử nghiệm cao chiết khổ sâm trên tôm nuôi ở Sóc Trăng

3.2.1. Biến động của *Vibrio* trong các ao nuôi ở Sóc Trăng

Tương tự như các ao nuôi ở Bạc Liêu, các ao nuôi ở Sóc Trăng cũng được giám sát định kỳ hàng tuần (bắt đầu từ ngày thả nuôi thứ 14) sự biến động của chúng trong nước ao nuôi để có biện pháp kiểm soát sự ảnh hưởng của chúng trong suốt quá trình nuôi. Kết quả phân tích tổng số *Vibrio* spp. của 48 mẫu nước (trong 8 tuần thu mẫu kiểm tra định kỳ) ở 5 ao nuôi thử nghiệm thảo dược (TN1, TN2, TN3, TN4, và TN5) và 1 ao nuôi đối chứng (ĐC) được trình

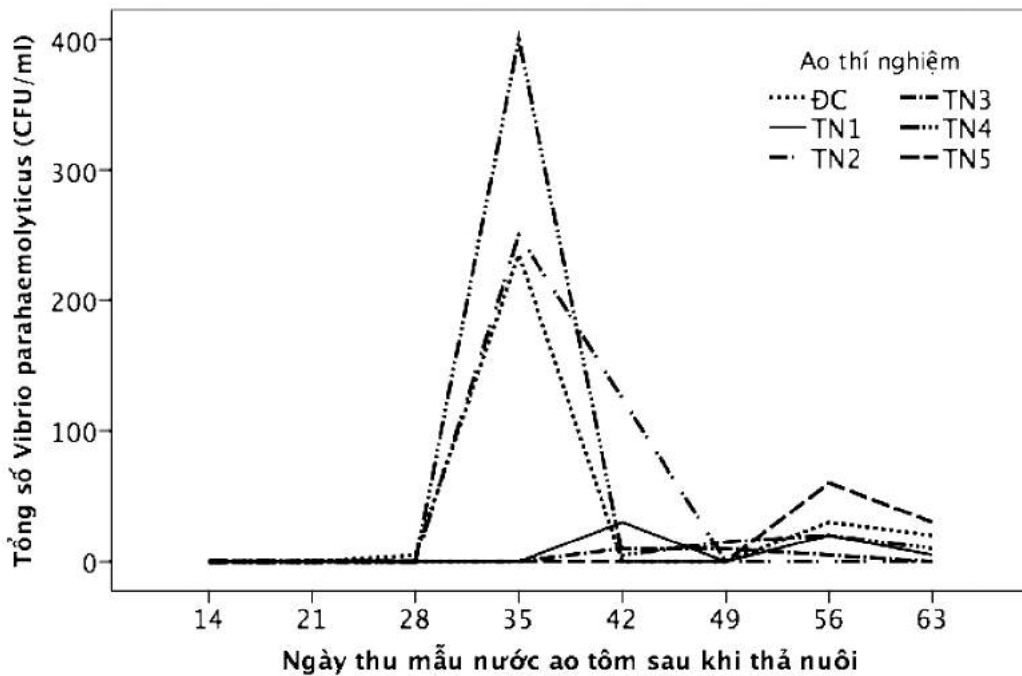
bày ở Hình 6. Từ ngày 14 đến ngày 42 sau thả nuôi, tất cả các ao nuôi có tổng số *Vibrio* spp. dao động 10^3 CFU/ml. Đến ngày 49 sau khi thả nuôi, tổng số *Vibrio* spp. của 2 ao TN4 và TN5 tăng mạnh >math>10^3</math> CFU/ml. Trong khi các ao còn lại *Vibrio* spp. vẫn dao động 10^3 CFU/ml. Ở 2 tuần tiếp theo (56 và 63 ngày tuổi), *Vibrio* spp. ở tất cả các ao đồng loạt giảm xuống 500 CFU/ml, ngoại trừ *Vibrio* spp. của ao TN1 đang tăng nhẹ nhưng mật độ vẫn 400 CFU/ml. Kết quả này cho thấy mật độ tổng số *Vibrio* spp. trong ao nuôi dao động trong khoảng



Hình 6. Kết quả phân tích tổng số *Vibrio* spp. các mẫu nước được thu định kỳ 5 ao thử nghiệm (A10, A11, A14, B5, và B6) và ao đối chứng (ĐC) trong quá trình nuôi.

Kết quả định lượng *Vibrio parahaemolyticus* trong nước của các ao nuôi được thể hiện ở Hình 7 cho thấy ở ngày nuôi thứ 35, *V. parahaemolyticus* xuất hiện ở 3 ao, gồm ao đối chứng (ĐC) và 2 ao thử nghiệm (TN2 và TN4). Trong đó mật độ *V. parahaemolyticus* ở ao TN4 cao nhất 400 CFU/ml, kế đến là ao TN2 có mật độ *V. parahaemolyticus* là 250 CFU/ml và thấp nhất là ao ĐC có mật độ là 235 CFU/ml. Ở ngày tuổi 42, *V. parahaemolyticus* ở các ao đồng loạt giảm xuống <50 CFU/ml, ngoại trừ ao TN2 có mật độ 125 CFU/ml. Sự giảm này là do có sự can thiệp các biện pháp quản lý môi trường

như là diệt khuẩn. Mặc dù có sử dụng chất diệt khuẩn trong nước định kỳ ở các tuần tiếp theo, nhưng đến ngày nuôi thứ 56 tất cả các ao đều xuất hiện *V. parahaemolyticus* với mật độ từ 5-60 CFU/ml, ngoại trừ ao TN2 không phát hiện *V. parahaemolyticus*. Đến ngày nuôi thứ 63, ba ao thử nghiệm (TN1, TN4, và TN5) và ao đối chứng (ĐC) có hiện diện *V. parahaemolyticus* với mật độ từ 5-30 CFU/ml. Trong khi 2 ao TN2 và TN3 không phát hiện *V. parahaemolyticus* trong nước nuôi. Kết quả này cho thấy rằng mật độ *V. parahaemolyticus* trong ao hiện diện với mật độ 10^2 CFU/ml không gây bệnh AHPND.



Hình 7. Kết quả phân tích *Vibrio parahaemolyticus* các mẫu nước được thu định kỳ 5 ao thử nghiệm (TN1, TN2, TN3, TN4, và TN5) và ao đối chứng (ĐC) trong quá trình nuôi.

3.2.2. Hiệu quả thử nghiệm trên các ao nuôi ở Sóc Trăng

Thí nghiệm được thực hiện với 5 ao thử nghiệm (ký hiệu TN1, TN2, TN3, TN4 và TN5) và 1 ao đối chứng (ký hiệu ĐC). Hiệu quả thử nghiệm được trình bày ở Bảng 4. Ở 5 ao thử nghiệm, tôm được thu hoạch với sản lượng từ 0,9 đến 3,1 tấn với tỷ lệ sống từ 80,6 đến 88,4%. Cỡ tôm thu hoạch từ 52-70 con/kg trong thời

gian nuôi từ 79-91 ngày tuổi, với năng suất thu hoạch đạt từ 9,8 đến 12,5 tấn/ha. Hệ số chuyển hoá thức ăn (FCR) từ 1,13 đến 1,31; giá trị này nằm trong khoảng tiêu chuẩn FCR của tôm thẻ là từ 1,1 đến 1,3. Ở đợt thả nuôi này, ao đối chứng ĐC (phòng bệnh bằng β -glucan) cũng được nuôi thành công và thu hoạch sau 93 ngày thả nuôi với sản lượng 1,2 tấn với tỷ lệ sống 83,9%.

Bảng 4. Kết quả thử nghiệm ở các ao nuôi tại Sóc Trăng

Ký hiệu ao	Diện tích (m ²)	Tuổi thu hoạch (ngày)	Sản lượng thu hoạch (tấn)	Năng suất thu hoạch (tấn/ha)	Cỡ tôm thu (con/kg)	Tỷ lệ sống (%)	Tổng lượng thức ăn (tấn)	FCR
ĐC	1.000	93	1,198	12,0	56	83,9	1,436	1,20
TN1	1.000	91	1,205	12,1	58	87,4	1,421	1,18
TN2	1.000	79	1,123	11,2	63	88,4	1,415	1,26
TN3	1.000	81	0,975	9,8	70	85,3	1,104	1,13
TN4	2.500	91	2,880	11,5	56	80,6	3,550	1,23
TN5	2.500	91	3,118	12,5	52	81,1	4,079	1,31

* FCR: hệ số chuyển hoá thức ăn

IV. THẢO LUẬN

Các sản phẩm có nguồn gốc từ tự nhiên không những là nguồn vô giá để khám phá thuốc (Newman & Cragg 2016; Rodrigues & ctv., 2016), nó còn là động lực thúc đẩy các nhà nghiên cứu tìm ra các sản phẩm thân thiện và an toàn đối với môi trường để thay thế kháng sinh trong phòng trị bệnh vi khuẩn trên động vật thủy sản. Các chế phẩm thảo dược có vai trò quan trọng trong việc kiểm soát dịch bệnh vì chúng chứa các thành phần có hoạt tính sinh học bao gồm chống oxy hoá, chống vi khuẩn, chống stress, kích thích tăng trưởng, kích thích sự thèm ăn, và tăng cường miễn dịch ở cá và tôm (Citarasu & ctv., 2001). Các tính chất này liên quan đến các hợp chất trong thực vật như alkaloids, flavonoid, sắc tố, polyphenol, terpenoid, steroid và tinh dầu.

Dịch chiết từ cây khổ sâm (*Croton tonkinensis*) có chứa các lớp chất chủ yếu là các hợp chất hữu cơ như là flavonoid, alkaloid, polyphenol. Cây khổ sâm thuộc nhóm cây thuốc và vị thuốc được dùng làm thuốc bổ, thuốc bồi dưỡng, và có tác dụng tốt với tiêu hóa và trị bệnh đau dạ dày (Đỗ Tất Lợi, 2004). Theo Võ Văn Chí (1997) dịch chiết từ cây khổ sâm còn được áp dụng để chữa trị bệnh mề đay, bệnh phong, bệnh vẩy nến, viêm nhiễm cơ quan sinh dục do *trichomonas*. Ngoài ra, các lớp chất có trong dịch chiết khổ sâm bao gồm các nhóm

chất quercetin, naucleal và diterpenoid. Trong đó, diterpenoids là các hợp chất tự nhiên quan trọng và phân bố rộng rãi ở nhiều thực vật khác nhau, có các tác dụng sinh học khác nhau, bao gồm chống ung thư, chống viêm, và điều hòa miễn dịch (Zhang & ctv., 2005; Wang & ctv., 2011; Ding & ctv., 2016; Lin & ctv., 2016). Theo Citarasu T., (2010) báo cáo rằng một số hợp chất như là phenolics, polyphenols, alkaloids, quinones, terpenoids, lectines và polypeptides có khả năng thay thế hiệu quả cho kháng sinh trong phòng bệnh nhiễm khuẩn. Từ các cơ sở trên và kế thừa kết quả nghiên cứu «Hiệu quả các dịch chiết khổ sâm (*Croton tonkinensis*) và đơn châu chấu (*Aralia armata*) trong phòng trị bệnh hoại tử gan tụy cấp trên tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vannamei*) ở điều kiện phòng thí nghiệm» của cùng tác giả Trương Hồng Việt & ctv., (2017), nghiên cứu này đã chọn cao chiết khổ sâm để thử nghiệm hiệu quả phòng bệnh AHPND trên tôm thẻ nuôi ở quy mô trang trại.

Các nghiên cứu trước đây khẳng định rằng bệnh hoại tử gan tụy cấp (AHPND) nhiễm trên tôm thẻ chân trắng bị gây ra bởi *Vibrio parahaemolyticus* (Tran & ctv., 2013). AHPND có thể gây chết tôm với tỷ lệ chết lên đến 100% (De Schryver và ctv., 2014). Tôm bị bệnh AHPND có các dấu hiệu chung như là vỏ tôm bị mềm, gan tụy bị nhạt màu do màng bao mô liên kết bị mất sắc tố, gan tụy bị teo hoặc bị chai (NACA, 2012). Theo (Thitamadee & ctv.,

(2016), AHPND có thể được chẩn đoán bằng phương pháp mô học với đặc tính chuyên biệt của nó là sự bong tróc hàng loạt các tế bào biểu mô của ống gan, mà bắt đầu từ trung tâm của cơ quan gan tuy sau đó lan ra ngoài đến vùng ngoại biên thuộc vùng tế bào mầm hay còn gọi là tế bào E. Sự bong tróc này làm giảm sự biệt hoá các tế bào biểu mô có chức năng như tế bào tiết (tế bào B), tế bào sợi (tế bào F) và tế bào dự trữ (tế bào R). Ngoài ra, trong quá trình hoại tử không xuất hiện bất kỳ tác nhân gây bệnh nào trong gan tuy kể cả vi khuẩn. Đến giai đoạn cuối, cơ quan gan tuy bị nhiễm trùng máu rồi mới bị xâm nhập bởi vi khuẩn và được gọi là sự nhiễm khuẩn thứ cấp. Vì vậy trong nghiên cứu này chúng tôi đã chọn phương pháp mô bệnh học để tầm soát bệnh AHPND trong suốt thời gian nuôi thử nghiệm.

Nghiên cứu này sử dụng liệu phòng bệnh AHPND trộn vào thức ăn 20 g/kg/ngày (dựa theo báo cáo trước của cùng tác giả Trương Hồng Việt, & ctv., 2017) ở quy mô trang trại. Sau khi tôm được cho ăn thảo dược liên tục trong 1 tuần, tôm được thu mẫu kiểm tra cấu trúc gan tuy. Kết quả mô học cho thấy gan tuy tôm của ao đối chứng (ĐC, không ăn dịch chiết) có cấu trúc bình thường với sự hiện diện nhiều tế bào B và R. Trong khi ở 3 ao thử nghiệm (TN1, TN2, và TN3) ăn dịch chiết, cấu trúc gan tuy cũng bình thường, tuy nhiên ống gan tuy xuất hiện nhiều tế bào B và giảm số lượng tế bào R. Kết quả này phù hợp với kết quả mô học của nghiên cứu phòng AHPND bằng dịch chiết Protein thô từ tảo đỏ với kết quả tế bào B xuất hiện nhiều ở gan tôm của các nghiệm thức được cho ăn dịch chiết (Boonsri & ctv., 2016). Chức năng tế bào B có liên quan đến sự hấp thu chất lỏng và các phân tử nhỏ bên trong ống gan, đây là một đặc tính của tế bào B ở loài giáp xác (Lyon và Simkiss, 1984; Al-Mohanna và Nott, 1986; Vogt, 1993). Ngoài ra, tế bào B còn là nguồn enzyme giúp cho quá trình tiêu hoá ngoại bào (Loizzi, 1971; Gibson và Barker, 1979; Caceci và ctv., 1988). Sự gia tăng của tế bào B giúp thuận lợi trong việc tổng hợp và bài tiết các enzyme tiêu hoá. Điều này cũng giúp cho tôm hấp thụ nhiều năng

lượng từ thực phẩm ăn vào và làm tăng mức độ trao đổi chất để giữ chức năng cơ thể trở nên bình thường (Li và ctv., 2008).

Kết quả thử nghiệm 1ha ở Bạc Liêu cho thấy cả 3 ao thử nghiệm đều không xảy ra bệnh AHPND, trong khi ao đối chứng tôm bị bệnh hoại tử gan tuy cấp lúc 22 ngày tuổi, và tôm chết 100% sau 6 ngày. Theo báo cáo 9 tháng đầu năm 2018 của Chi Cục Thú Y tỉnh Bạc Liêu, diện tích thiệt hại lũy kế là 3.314 ha chiếm 47,1%, trong đó diện tích thiệt hại >70% là 2.902 ha chiếm 41,3% (tôm sú thâm canh và bán thâm canh 1.787 ha chiếm 25,4%; tôm chân trắng thâm canh 1.021 ha chiếm 14,5%). Ở 3 ao thử nghiệm, năng suất thu hoạch từ 9,5-11 tấn/ha. Cỡ tôm thu hoạch từ 65-77 con/kg sau thời gian nuôi 75-80 ngày với tỷ lệ sống khá cao từ 89,4-91,3%. Hệ số chuyển hoá thức ăn (FCR) từ 1,22-1,24; giá trị này nằm trong khoảng tiêu chuẩn FCR của tôm thẻ là từ 1,1-1,3. Điều này cho thấy cao chiết khổ sâm có hiệu quả trong phòng bệnh AHPND khi được thử nghiệm với diện tích 1 ha ở Bạc Liêu. Đối với thử nghiệm 0,9 ha ở Sóc Trăng, 5 ao thử nghiệm đạt năng suất thu hoạch từ 9,8-12,5 tấn/ha. Cỡ tôm thu hoạch từ 52-70 con/kg trong thời gian nuôi từ 79-91 ngày tuổi, với tỷ lệ sống từ 80,6-88,4%. Hệ số chuyển hoá thức ăn (FCR) từ 1,13-1,31; giá trị này nằm trong khoảng tiêu chuẩn FCR của tôm thẻ là từ 1,1-1,3. Theo báo cáo của Chi Cục Thú Y tỉnh Sóc Trăng, vụ nuôi tôm nước lợ được thả nuôi từ giữa tháng 1 và kết thúc vào cuối tháng 9 năm 2018, tổng diện tích thả nuôi 54.738 ha. Tổng diện tích nuôi tôm bị thiệt hại 11.569 ha, chiếm 21,1%; trong đó, thị xã Vĩnh Châu là nơi có diện tích thiệt hại lớn nhất. Điều này cho thấy các ao thử nghiệm ở Thị xã Vĩnh Châu, tỉnh Sóc Trăng không bị thiệt hại trong thời điểm xảy ra dịch bệnh. Việc thử nghiệm phòng trị bệnh trên tôm nuôi ở Sóc Trăng chưa thể khẳng định được tính hiệu quả của cao chiết khổ sâm. Bởi vì, tất cả 5 ao nuôi thử nghiệm và 1 ao đối chứng được nuôi ở Trung tâm Tập huấn và Chuyển giao Công nghệ Nông nghiệp vùng Đồng bằng sông Cửu Long, ở thị xã Vĩnh Châu, Tỉnh Sóc Trăng đều thành công. Điều này có thể

giải thích rằng quy trình quản lý và kỹ thuật nuôi tốt nên không bị lây nhiễm mầm bệnh. Ngoài ra, trang trại ở vị trí độc lập và cách ly với các nông hộ nuôi xung quanh nên không bị thiệt hại trong thời điểm xảy ra dịch bệnh tại địa phương. Một lý do khác nhưng không kém phần quan trọng, các ao nuôi thí nghiệm vừa được cải tạo lại sau thời gian bỏ hoang nên việc ngăn chặn nhiễm mầm bệnh có thể được kiểm soát tốt hơn.

V. KẾT LUẬN

Bước đầu ứng dụng cao chiết khổ sâm ở quy mô trang trại đã được thử nghiệm hiệu

quả và thành công. Năng suất thu hoạch từ 9,8-12,5 tấn/ha (ở Sóc Trăng) và 9,5-11 tấn/ha (ở Bạc Liêu). Vì vậy, nghiên cứu này kết luận cao chiết khổ sâm có khả năng phòng bệnh hoại tử gan tụy cấp trong suốt quá trình nuôi với liều trộn vào thức ăn là 20 g/kg thức ăn, bằng phương pháp cho tôm ăn liên tục và cách tuần cho đến khi tôm được 60 ngày tuổi.

LỜI CẢM ƠN

Đề tài này được thực hiện từ kinh phí của hợp đồng đề tài nhánh số 02/HĐ-TS với Viện Hoá học và các Hợp chất thiên nhiên.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tiếng Việt

Đỗ Tất Lợi, 2004. Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. Nhà xuất bản Y học.

Trương Hồng Việt, Đỗ Thị Cẩm Hồng, Vũ Thiên Ân, Trần Bảo Ngọc, Nguyễn Trần Gia Bảo, Trần Minh Trung, 2017. Hiệu quả các dịch chiết khổ sâm (*Croton tonkinensis*) và đơn châu chấu (*Aralia armata*) trong phòng trị bệnh hoại tử gan tụy cấp trên tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vannamei*) ở điều kiện phòng thí nghiệm. Tạp chí Nghề cá sông Cửu Long. số 10 - Tháng 12/2017. Trang 23-41.

Võ Văn Chí, 1997. Từ điển cây thuốc Việt Nam. Nhà xuất bản Y dược: Thành phố Hồ Chí Minh. Trang 622-623.

Tài liệu tiếng Anh

Al-Mohann, S.Y. and Nott, J.A., 1986. B-cells and digestion in the hepatopancreas of *Penaeus semisulcatus* (Crustacea, Decapoda). J. Mar. Biol. Assoc. U. K, 66, 403-414.

Bell, T.A. and Lightner, D.V., 1988. "A Handbook of Normal *Penaeid* Shrimp Histology. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA.

Bhavan, P.S. and Geraldine, P., 2000. Histopathology of the hepatopancreas and gills of the prawn *Macrobrachium malcolmsonii* exposed to endosulfan. Aquat. Toxicol, 50, 331-339.

Boonsri, N., Rudtanatip, T., Withyachumnarnkul, B., and Wongprasert, K., 2016. Protein extract from red seaweed *Gracilaria fisheri* prevents acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) infection in shrimp. J Appl Phycol. DOI 10.1007/s10811-016-0969-2.

Caceci, T., Neck, K.F., Lewis, D.H., and Sis, R.F., 1988. Ultrastructure of the hepatopancreas of the Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda). J. Mar. Biol. Assoc. U. K. 68, 323-327.

Chaweepack, T., Muenthaisong, B., Chaweepack, S., and Kamei, K., 2015a. The Potential of Galangal (*Alpinia galanga* Linn.) Extract against the Pathogens that Cause White Feces Syndrome and Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND) in Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). International Journal of Biology; Vol.7, No.3.

Chaweepack, T., Chaweepack, S., Muenthaisong, B., Ruangpan, L., Nagata, K., and Kamei, K., 2015b. Effect of galangal (*Alpinia galanga* Linn.) extract on the expression of immune-related genes and *Vibrio harveyi* resistance in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Aquacult Int., 23(1), 385-399.

Citarasu T, Babu, M.M., Punitha, S.M.J., Venketramalingam, K. and Marian, M.P., 2001. Control of pathogenic bacteria using herbal biomedicinal products in the larviculture system of *Penaeus monodon*. International Conference on Advanced Technologies in Fisheries and Marine Sciences, MS University, India.

Citarasu, T., Venketramalingam, K., Micheal babu, M., Raja jeya sekar, R. & Petermarian, M., 2003. Influence of the antibacterial herbs, *Solanum trilobatum*, *Andrographis paniculata* and *Psoralea corylifolia* on the survival, growth and bacterial load of *Penaeus monodon* post larvae. Aquaculture International 11: 583-595.

Citarasu, T., 2010. Herbal biomedicines: a new

- opportunity for aquaculture industry. *Aquaculture International*, 18, 403-414.
- De Schryver, P., Defoirdt, T., and Sorgeloos, P., 2014. Early mortality syndrome outbreaks: a microbial management issue in shrimp farming? *PLoS Pathog.* 10: e1003919.
- Ding, Y., Ding, C., Ye, N., Liu, Z., Wold, EA., Chen, H., Wild, C., Shen, Q., and Zhou, J., 2016. Discovery and development of natural product oridonin-inspired anticancer agents. *Eur J Med Chem* 122:102–117.
- Gibson, R. and Barker, P. L., 1979. The decapod hepatopancreas. *Oceanography and Marine Biology*, 17: 285-346.
- Joshi, J., Srisala, J., Truong, V. H., Chen, I-T., Nuangsaeng, B., Suthienkul, O., ... Thitamadee, S., 2014. Variation in *Vibrio parahaemolyticus* isolates from a single Thai shrimp farm experiencing an outbreak of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). *Aquaculture*, 428-429, 297–302.
- Latha, C., Shriram, V. D., Jahagirdar, S. S., Dhakephalkar P. K., and Rojatkar, S. R., 2009. Antiplasmodial activity of 1'-acetoxychavicol acetate from *Alpinia galanga* against multi-drug resistant bacteria. *Ethnopharmacology*, 123, 522-525.
- Lee, J-Y. and Gao, Y., 2012. Review of the application of garlic, *Allium sativum* in aquaculture. *World Aquaculture Society*. P447-458. V43 (4).
- Li, E., Chen, L., Zeng, C., Yu, N., Xiong, Z., Chen, X., and Qin, J.G., 2008. Comparison of digestive and antioxidant enzymes activities, haemolymph oxyhemocyanin contents and hepatopancreas histology of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at various salinities. *Aquaculture* 274 (2008) 80–86.
- Lin, LG., Ung, CO., Feng, ZL., Huang, L., and Hu, H., 2016. Naturally occurring diterpenoid dimers: source, biosynthesis, chemistry and bioactivities. *Planta Med* 82:1309–1328.
- Lightner, D.V., Hasson, K.W., White, B.L., and Redman, R.M., 1996. Chronic toxicity and histopathological studies with Benlate, a commercial grade of benomyl, in *Penaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda). *Aquat. Toxicol*, 34, 105–118.
- Loizzi, R. F., 1971. Interpretation of crayfish hepatopancreatic function based on fine structural analysis of epithelial cell lines and muscle network. *Zeitschrift fuer Zellforschung und mikroskopische Anatomie*, 113: 420-440.
- Lyon, R. and Simkiss, K., 1984. The ultrastructure and metal-containing inclusions of mature cell types in the hepatopancreas of a crayfish. *Tissue and Cell*, Volume 16, issue 5. Page 805 - 817. Available online 2005.
- Madhuri, S., Mandloi, A. K., Govind, P. and Sahni, Y.P., 2012. Antimicrobial activity of some medicinal plants against fish pathogens. *IRJP*, 3 (4). ISSN. 2230-8407.
- Mooney, A., 2012. An emerging shrimp disease in Vietnam, microsporidiosis or liver disease? Available at: [http:// aquatichealth.net/issues/38607](http://aquatichealth.net/issues/38607) (accessed 24 Feb 2012).
- NACA, 2012. Final Report Asia Pacific Emergency regional Consultation on the Emerging Shrimp Disease: Early Mortality Syndrome (EMS)/ Acute Hepatopancreatic Necrosis syndrome (AHPNS). Network of Aquaculture Centres in Asia-Pacific.
- Newman, DJ. and Cragg, G.M.. 2016. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. *J Nat Prod* 79:629–661.
- Oonmetta-aree, J., Suzuki, T., Gasaluck, P., và Eumkeb., G., 2006. Antimicrobial and action of galangal (*Alpinia galanga* Linn.) on *Staphylococcus aureus*. *Food Science and Technology*, 39, 959-965.
- Rodrigues, T., Reker, D., Schneider, P., and Schneider, G., 2016. Counting on natural products for drug design. *Nat Chem* 8:531–541.
- Syahidah, A., 2014. Status and potential of herbal applications in aquaculture. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 14, 27-44.
- Tachakittirungrod, S., and Chowwanapoonpohn, S., 2007. Comparison of Antioxidant and Antimicrobial activities of Essential Oils from *Hyptis suaveolens* and *Alpinia galangal* Growing in Northern Thailand, CMU, *J Nat Sci.*, 6, 31-42.
- Thitamadee, S., Prachumwat, A., Srisala, J., Jaroenlak, P., Salachan, P.V., and Sritunyalucksana, K., 2016. Review of current disease threats for cultivated *Penaeid* shrimp in Asia. *Aquaculture*; 452: 69–87. doi: 10.1016/j.aquaculture.2015.10.028.
- Tran, L., Nunan, L., Redman, R.M., Mohny, L.L., Pantoja, C.R., Fitzsimmons, K., and Lightner,

- D.V., 2013. Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp. *Dis Aquat Org* 105:45–55
- Turker, A., and Usta, C., 2002. Biological activity of some medicinal plants sold in Turkish Health-food stores. *Biodiversity Ecosyst.*, 34(19), 105-113.
- Venketramalingam, K., Christopher, J. G., and Citarasu, T., 2007. Zingiber officinalis an herbal appetizer in the tiger shrimp *Penaeus monodon* (Fabricius) larviculture. *Aquac Nutr*, 13(6): 439–443.
- Vogt, G., 1993. Differentiation of B-cells in the hepatopancreas of the prawn *Penaeus monodon*. *Acta Zool*, 74: 51-60.
- Vuddhakul, V., Bhoopong, P., Hayeebilan, F., and Subhadhirasakul, S., 2007. Inhibitory activity of Thai condiments on pandemic strain of *Vibrio parahaemolyticus*. *Food Microbiology*, 24, 413-418. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2006.04.010>
- Wang, L., Li, D., Wang, C., Zhang, Y., and Xu, J., 2011. Recent progress in the development of natural ent-kaurane diterpenoids with anti-tumor activity. *Mini Rev Med Chem* 11:910–919.
- Yin, G., Ardo, L., Jeney, Z., Xu, P., and Jeney, G., 2008. Chinese herbs (*Lonicera japonica* and *Ganoderma lucidum*) enhance non-specific immune response of tilapia, *Oreochromis niloticus* and protection against *Aeromonas hydrophila*. In: *Diseases in Asian Aquaculture VI*, Fish Health Section. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, 269-282.
- Zhang, Y., Liu, J., Jia, W., Zhao, AH., and Li, T., 2005. Distinct immunosuppressive effect by *Isodon serra* extracts. *Int Immunopharmacol* 5:1957–19.

PROTECTION EFFECT OF ACUTE HEPATOPANCREATIC NECROSIS DISEASE IN WHITE-LEG SHRIMP (*Penaeus vannamei*) OF *Croton tonkinensis* EXTRACT ON THE FARM SCALE

Truong Hong Viet^{1*}, Do Thi Cam Hong¹, Tran Bui Truc Quan², Vu Thien An¹,
Nguyen Cong Thanh³, Thai Thanh Trung³, Pham Ba Vu Tung⁴

ABSTRACT

Herbal preparations have an important role in disease control because they contain active ingredients including antioxidants, anti-bacteria, anti-stress, stimulating growth, stimulating appetite, and enhance immunity in fish and shrimp. These properties relate to plant compounds such as alkaloids, flavonoids, polyphenols, terpenoids, and steroids. The *Croton tonkinensis* extract is thought to contain mainly organic compounds such as flavonoids, alkaloids, polyphenols... Almost cases, bioactive substances such as polyphenols, polysaccharides, proteoglycans and flavonoids play a major role in preventing or controlling bacterial infectious disease. The objective of this study is to evaluate the application effect of *Croton* extract in preventing AHPND on whiteleg shrimp under the farm scale. Trials for AHPND prevention on 4 ponds in Bac Lieu province (culture area as 1 ha) and 6 ponds in Soc Trang province (culture area as 0.9 ha) with dose mixed with feed is 20 g/kg feed per day, and shrimp are continuously fed throughout the week, including weeks of 3, 5, 7 and 9 after stocking. Experimental results in the Soc Trang trial, all 5 experimental ponds and 1 control ponds were successful, with a yield of 9.8-12.5 tons/ha and a survival rate of 80.6-88.4%. Because AHPND does not occur in the crop, there is no basis to evaluate the effectiveness of *Croton* extract application. For the trial in Bac Lieu, the experimental ponds have been successfully applied, the prevention effect reached 100% in the three experimental ponds using *Croton* extract, with a yield of 9.5-11 tons/ha and a high survival rate of 89.4-91.3%. While in the control ponds, shrimp were infected with AHPND after 28 days of culturing. From the above results, this research conclude that *Croton tonkinensis* extract is capable of preventing AHPND in cultured whiteleg shrimp with a feeding dose of 2% (20 g/kg) mixed with shrimp feed, with a weekly interval feeding method.

Keywords: *AHPND*, *extract*, *croton tonkinensis*, *plant compound*, *white leg shrimp*.

Người phản biện: TS. Lê Hồng Phước

Ngày nhận bài: 27/5/2019

Ngày thông qua phản biện: 25/6/2019

Ngày duyệt đăng: 31/10/2019

Người phản biện: TS. Ngô Huỳnh Phương Thảo

Ngày nhận bài: 08/10/2019

Ngày thông qua phản biện: 28/10/2019

Ngày duyệt đăng: 31/10/2019

¹ Research Institute for Aquaculture No.2.

² International University, Vietnam National University, HCMC.

³ Training Center & Agricultural technology transfer, Mekong Delta, Vietnam.

⁴ Shrimp farm, Kim Hawaii Group.

* Email: truonghongviet@yahoo.com

ĐẶC TÍNH ĐỐI KHÁNG CỦA CHỦNG *Lactobacillus* L756 VỚI VI KHUẨN *Vibrio parahaemolyticus* GÂY BỆNH HOẠI TỬ GAN TỤY CẤP TRÊN TÔM THẺ CHÂN TRẮNG (*Litopenaeus vannamei*)

Võ Hồng Phượng^{1*}, Lê Hoàng Như², Lê Thị Thùy Trang³, Trần Minh Trung¹,
Nguyễn Thị Minh Hiền³, Đặng Ngọc Thùy¹, Võ Bích Xoàn¹

TÓM TẮT

Bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (AHPND) là nguyên nhân dẫn đến việc tổn thất đáng kể đối với nền công nghiệp nuôi tôm toàn cầu với tỷ lệ chết của tôm gần 100% ở các ao nhiễm nặng. Bệnh do chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* chứa plasmid pVPA3 - 1 và mang 2 gen gây độc *PirA* và *PirB* gây ra. Việc lạm dụng hóa chất cũng như kháng sinh đã không còn hiệu quả, bên cạnh đó còn làm ô nhiễm môi trường nuôi trồng thủy sản. Vì thế, sử dụng biện pháp sinh học như dùng vi khuẩn có lợi có khả năng đối kháng với vi khuẩn gây bệnh là hướng tiếp cận nhằm giảm thiểu thiệt hại do AHPND gây ra. Mục tiêu của nghiên cứu là đánh giá hiệu quả của *Lactobacillus* L756 ức chế sự phát triển của *V. parahaemolyticus* gây bệnh AHPND. Kết quả cho thấy chủng *Lactobacillus plantarum* L756 có khả năng tạo vòng đối kháng *V. parahaemolyticus* với đường kính là 14 mm bằng phương pháp giếng khếch tán và ổn định trong 24 giờ. Ngoài ra, phương pháp đồng nuôi cấy cho thấy chủng L756 với mật độ ban đầu 10^7 , 10^8 CFU/mL có thể ức chế hoàn toàn *V. parahaemolyticus* ở mật độ 10^5 , 10^6 CFU/mL. Bên cạnh đó, khi phối trộn L756 vào thức ăn với mật độ 10^8 CFU/g cho ăn liên tục 14 ngày, cho tỷ lệ bảo hộ tôm (RPS) trên 50% sau 10 ngày gây nhiễm *V. parahaemolyticus*. Hơn nữa, L756 còn có các đặc tính khác như khả năng bám dính, sinh axit lactic, nhạy cảm với kháng sinh và chịu được độ rộng muối, pH và nhiệt độ môi trường. Vì vậy L756 có tiềm năng sử dụng sản xuất probiotic bổ sung vào thức ăn nhằm hạn chế *V. parahaemolyticus* gây AHPND.

Từ khóa: AHPND, đặc tính kháng khuẩn, *Lactobacillus plantarum* (L756), vòng kháng khuẩn, RPS (%).

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (acute hepatopancreatic necrosis disease - AHPND) có khả năng xuất hiện ở tôm sú và tôm thẻ chân trắng trong khoảng 10-45 ngày sau khi thả giống với tỷ lệ chết gần như 100% ở các ao nhiễm nặng (Nunan và *ctv.*, 2014). Tác nhân gây ra AHPND được chứng minh là vi khuẩn *V. parahaemolyticus* có chứa plasmid pVPA3 - 1 và mang 2 gen gây độc *PirA* và *PirB* (Lightner, 2014). Hiện nay, có nhiều biện pháp được đề xuất để ngăn chặn sự phát triển của vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây AHPND như: dùng hóa chất diệt khuẩn, sử dụng kháng sinh, áp dụng

biện pháp sinh học. Tuy nhiên, biện pháp sử dụng hóa chất cũng như sử dụng kháng sinh thì hiệu quả không cao, dễ gây ra nguy cơ phát sinh nhiều loài vi khuẩn gây bệnh kháng kháng sinh ảnh hưởng đến sức khỏe con người thông qua việc sử dụng các sản phẩm thủy sản (Le và Munekage, 2004). Vi khuẩn lactic (LAB) được phân lập từ nhiều môi trường khác nhau, nhiều công trình nghiên cứu trong và ngoài nước chỉ ra rằng vi khuẩn lactic sản sinh ra axit hữu cơ, hydrogen peroxide, diacetyl, thành phần kháng nấm (axit béo, phenyllactic axit) và một số bacteriocin có khả năng ức chế vi khuẩn gây bệnh (Perez và *ctv.*, 2014). Vi khuẩn LAB được sử dụng rộng rãi trong các chế phẩm sinh

¹ Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II.

² Trường Đại học Quốc tế - Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.

³ Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh.

* Email: vohongphuong@yahoo.com

học sử dụng trên người và các vật nuôi nhằm kích thích hệ thống tiêu hóa và phòng trừ một số bệnh tiêu hóa do vi khuẩn gây ra (Vine và ctv., 2004) và có khả năng kích thích hệ miễn dịch tự nhiên (Balcazar và ctv., 2004). Một số loài vi khuẩn *Lactobacillus* sp. được phân lập và đánh giá khả năng ức chế, đề kháng với một số vi khuẩn gây bệnh như Trịnh Hùng Cường (2011) phân lập chủng *Lactobacillus* sp. có khả năng ức chế được *Vibrio* sp.. Nguyễn Thị Trúc Linh và ctv., (2017) đánh giá các chủng vi khuẩn lactic LAB1, LAB2, LAB5 không những phát triển và duy trì tốt trong đường ruột của tôm thẻ, các chủng này sau khi phối trộn vào thức ăn với mật độ 10^9 CFU/g thức ăn, cho ăn liên tục 7 ngày cho tỷ lệ tôm sống cao từ trên 70% sau khi gây nhiễm tôm thẻ chân trắng với *Vibrio parahaemolyticus* (VP-AHPND).

Do đó, với mục tiêu phòng bệnh AHPND và góp phần giảm thiểu ô nhiễm môi trường cũng như nâng cao chất lượng tôm xuất khẩu thì việc khảo sát khả năng của chủng *Lactobacillus* sp. kháng với vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây bệnh AHPND trên tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) để góp phần sản xuất chế phẩm probiotic là thật sự cần thiết.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

Vi khuẩn *V. parahaemolyticus* (VP) gây AHPND được phân lập từ tôm thẻ bệnh gan tụy cấp và được đánh giá kiểm chứng khả năng gây bệnh AHPND trên tôm thẻ theo định đề Koch. Vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* (L756) được phân lập từ ruột tôm thẻ nuôi trong mô hình tôm lúa tại Cà Mau từ đề tài “Nghiên cứu tạo chế phẩm vi sinh đối kháng với *Vibrio* sp. gây bệnh hoại tử gan tụy cấp trên tôm” do Phòng Vi khuẩn thuộc Trung tâm Quan trắc Môi trường và Bệnh Thủy sản Nam Bộ, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II cung cấp.

2.2. Phương pháp

2.2.1 Khảo sát khả năng đối kháng của L756 với *V. parahaemolyticus* trong điều kiện *in vitro*

Khảo sát khả năng đối kháng bằng phương pháp giếng khuếch tán.

Thực hiện theo phương pháp của Vaseeharan và Ramsamy (2003) có điều chỉnh như sau: Vi khuẩn *V. parahaemolyticus* và vi khuẩn *Lactobacillus* L756 được hoạt hóa trong môi trường Nutrient Broth có bổ sung 1,5% NaCl (NB⁺) và môi trường MRS⁺ (De Man, Rogosa and Sharpe có bổ sung 1,5% NaCl), ủ ở 30°C trong 24 giờ để đạt đến mật độ 10^8 CFU/mL. Tiến hành hút 100 µL dịch vi khuẩn *V. parahaemolyticus* cấy trải trên môi trường MHA⁺ (Mueller Hinton Agar bổ sung 1,5% NaCl). Sau đó, tiến hành đục các giếng có đường kính 6 mm trên đĩa thạch, mỗi giếng được cho vào 10 µL dịch vi khuẩn L756, sau đó các đĩa thạch được ủ ở 30°C trong 24 giờ. Khả năng đối kháng được xác định thông qua đường kính vòng kháng khuẩn (D). Kích thước đường kính vòng kháng khuẩn (D) được chia thành 4 mức độ với D = 0 mm: không ức chế; D < 5 mm: cho vùng ức chế yếu; 5 mm ≤ D ≤ 10 mm: cho vùng ức chế trung bình và D ≥ 10 mm: cho vùng ức chế tốt (Sumathi và Reetha., 2012). Mỗi lần thử nghiệm 2 lần lặp lại.

Phương pháp đồng nuôi cấy trong môi trường lỏng (co-culture)

Thành phần môi trường sử dụng trong thí nghiệm nuôi đơn và đồng nuôi cấy đối với chủng *V. parahaemolyticus* và *Lactobacillus* L756 được khảo sát như sau: 20 g/L peptone, 15 g/L cao nấm men, 0,5 g/L đường fructose, 0,5 g/L arabinose và 1,5 % NaCl.

Khảo sát khả năng đối kháng của *Lactobacillus* L756 được thực hiện trong erlen 100 mL có chứa 50 mL môi trường.

Dựa vào phương trình tương quan giữa mật độ quang OD_{550nm} và mật độ vi khuẩn L756 được khảo sát trong thí nghiệm thì 1 OD₅₅₀ tương đương 3,5 x 10⁸ tế bào/ mL. Tương tự, đối với vi khuẩn *V. parahaemolyticus* thì 1 OD_{550 nm} = 5,58 x 10⁸ tế bào/ mL. Bố trí thí nghiệm đồng nuôi cấy được thể hiện Bảng 1.

Mỗi nghiệm thức lặp lại 2 lần. Thí nghiệm khảo sát với tốc độ lắc 200 vòng/ phút, ở 30°C

trong 48 giờ. Mỗi 6 giờ thu mẫu kiểm tra sự hiện diện của *V. parahaemolyticus* bằng phương pháp pha loãng hệ số bậc 10 và trải lên môi

trường TCBS (Thiosulphate citrate bile sucrose) agar.

Bảng 1. Thí nghiệm đồng nuôi cấy của chủng L756 và *V. parahaemolyticus*

Nghiệm thức	Nồng độ L756 (CFU/mL)	Nồng độ VP (CFU/mL)
Đối chứng VP	-	10 ⁵
	-	10 ⁶
L756 10 ⁶ - VP 10 ⁵	10 ⁶	10 ⁵
L756 10 ⁶ - VP 10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
L756 10 ⁷ - VP 10 ⁵	10 ⁷	10 ⁵
L756 10 ⁷ - VP 10 ⁶	10 ⁷	10 ⁶
L756 10 ⁸ - VP 10 ⁵	10 ⁸	10 ⁵
L756 10 ⁸ - VP 10 ⁶	10 ⁸	10 ⁶

2.2.2. Khả năng phòng bệnh AHPND của *Lactobacillus* L756 trên tôm thẻ chân trắng khi phối trộn thức ăn

Khả năng phòng bệnh nhiễm khuẩn *V. parahaemolyticus* của *Lactobacillus* L756 được đánh giá thông qua phương pháp phối trộn vào thức ăn. Thí nghiệm được tiến hành trên bể chứa 30L nước biển có độ mặn 2%, sục khí liên tục trong thời gian thí nghiệm. Tôm khỏe được bố trí với kích cỡ trung bình là 2 ±0,5 g/con. Thức ăn được phối trộn với *Lactobacillus* L756 với mật độ 10⁷ CFU/g và 10⁸ CFU/g thức ăn

và cho ăn liên tục 14 ngày trước khi gây nhiễm *V. parahaemolyticus* bằng phương pháp ngâm mật độ 10⁶ CFU/mL. Thí nghiệm được bố trí như Bảng 2. Tôm cảm nhiễm sẽ được ghi nhận tỷ lệ chết hàng ngày và liên tục trong 10 ngày đến khi không còn hiện tượng chết. Sau đó đánh giá tỷ lệ bảo hộ RPS dựa theo công thức của Amend (1981): $RPS \% = 1 - (A/B) \times 100\%$, trong đó A là phần trăm tôm chết ở nhóm phối trộn thức ăn và gây nhiễm *V. parahaemolyticus*, B là phần trăm tôm chết ở nhóm đối chứng *V. parahaemolyticus*.

Bảng 2. Thí nghiệm khả năng phòng bệnh *V. parahaemolyticus* (VP) của L756 trong phối trộn thức ăn trên tôm thẻ chân trắng.

Nghiệm thức	Nồng độ (CFU/g thức ăn)	Số tôm thí nghiệm
<i>Lactobacillus</i> L756	10 ⁸	20 con x 3 lần lặp lại
	10 ⁷	20 con x 3 lần lặp lại
Đối chứng VP	-	20 con x 3 lần lặp lại
Đối chứng NB ⁺	-	20 con x 3 lần lặp lại

2.2.3. Khảo sát các đặc tính của *Lactobacillus* L756

a. Khả năng bám dính

Theo phương pháp Collado và ctv., (2008), L756 được tăng sinh trong môi trường MRS có bổ sung NaCl 1,5% trong 16-18 giờ, 1mL dung dịch nuôi cấy này được ly tâm với tốc độ 4000 vòng trong 20 phút tại 4°C và được rửa 2-3 lần. Sau đó, vi khuẩn L756 được huyền phù vào dung dịch NaCl 0,85% và điều chỉnh OD_{550nm} là khoảng 0,5. Tiếp theo, hút dung dịch huyền phù chứa vi khuẩn vào ống nghiệm mới và thêm xylene vào với thể tích 1:1, vortex hỗn hợp dung dịch trên trong 3 phút. Dung dịch được tách thành 2 pha sau khi ủ 1 giờ 30°C, pha phía trên được đo lại mật độ quang OD_{550nm}. Tỷ lệ bám dính được tính theo công thức:

$$\% \text{ bám dính} = \frac{\text{OD (t)} - \text{OD (s)}}{\text{OD (t)}} \times 100$$

Trong đó, OD (t) và OD (s) là kết quả đo độ hấp thụ tại bước sóng 550nm trước và sau khi ủ với xylene 1 giờ.

b. Khảo sát tính nhạy cảm với kháng sinh

Dịch vi khuẩn L756 sau khi nuôi cấy có mật độ tương đương 10⁶ CFU/mL. Sau đó, hút 1mL dung dịch trên phân tán đều trên bề mặt môi trường MHA có bổ sung NaCl 1,5%. Đĩa kháng sinh (Oxoid, England) được đặt lên mặt thạch và ủ ở 30°C trong 24 giờ. Độ nhạy của L756 với kháng sinh được dựa theo tiêu chuẩn của Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI (2012). Các loại kháng sinh được thử nghiệm là Gentamicin (Ge), Doxycycline (Dx), Kanamycin (Kn), Streptomycin (Sm), Ampicillin (Am), Neomycin (Ne), Tetracycline (Te), DKS Cefotaxime (Ct), Ciprofloxacin (Ci), Trimethoprim Sulfamethoxazol (Bt).

c. Khả năng chịu đựng pH và độ mặn

Khả năng chịu đựng pH:

Cấy chủng L756 vào dung dịch nuôi cấy MRS có bổ sung NaCl 1,5% đã được chuẩn bị sẵn và điều chỉnh pH bằng HCl và NaOH để đạt các giá trị 5, 6, 7, 8, 9. Nuôi cấy lactic ở 30°C, đo

OD_{550nm} sau 24 giờ và 48 giờ để xác định mật độ vi khuẩn.

Khả năng chịu đựng độ mặn:

Cấy chủng L756 vào dung dịch nuôi cấy MRS có bổ sung NaCl đã được chuẩn bị sẵn với các nồng độ muối khác nhau 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3%. Nuôi cấy lactic ở 30°C, sau đó đo giá trị OD₅₅₀ sau 24 giờ và 48 giờ để xác định mật độ vi khuẩn.

d. Khả năng sinh axit lactic

Chủng L756 được cấy vào dung dịch nuôi cấy MRS có bổ sung NaCl 1,5% trong 48 giờ. Hút 10 mL dung dịch vi khuẩn ly tâm trong 20 phút với tốc độ 4.000 vòng/ phút tại 4°C và thu phần dịch lỏng phía trên. Sau đó, thêm vào 20 mL nước cất và 1-2 giọt phenolphthalein. Chuẩn độ NaOH 0,1N cho đến khi dung dịch đổi màu sang hồng nhạt bền trong 30 giây thì dừng lại và ghi lại thể tích NaOH đã dùng (Nguyễn Thị Minh Hằng và Nguyễn Minh Thu, 2013). Độ axit được tính theo độ Therner: °T = V_{NaOH} tiêu tốn x 10. Trong đó, °T là độ Therner, 10 là số mL dịch nuôi cấy dùng để chuẩn độ.

2.2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được thu thập và tính toán giá trị trung bình, độ lệch chuẩn, so sánh sự khác biệt giữa các nghiệm thức theo phương pháp phân tích ANOVA 2 nhân tố với phép thử Duncan thông qua phần mềm SPSS với mức ý nghĩa 0,05.

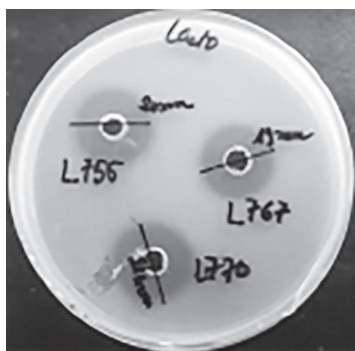
III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khảo sát khả năng đối kháng của *Lactobacillus* L756 đối với *V. parahaemolyticus* (VP)

3.1.1. Phương pháp khuếch tán đĩa thạch

Khả năng tạo vòng kháng khuẩn trên đĩa thạch của L756 đối với *V. parahaemolyticus* dao động trong khoảng 13,6-14 mm và đặc tính này ổn định sau 24 giờ khảo sát (Hình 1). Theo nghiên cứu của Nguyễn Thị Trúc Linh và ctv., (2018) thì 12 chủng LAB có khả năng kháng *V. parahaemolyticus* ở mức cao với vòng kháng khuẩn lớn hơn 16 mm, đặc biệt có năm chủng LAB có khả năng kháng *V. parahaemolyticus* mạnh nhất với vòng kháng khuẩn từ 17,5-18,5

mm. Ngoài ra, Đỗ Thị Thanh Dung và ctv., (2017) cũng phân lập và thử đặc tính kháng khuẩn của *Lactobacillus* với *V. parahaemolyticus* khi chúng tạo vòng kháng 4 mm.



Hình 1: Khả năng đối kháng của chủng L756 với *V. parahaemolyticus*

3.1.2. Phương pháp đồng nuôi cấy (co-culture)

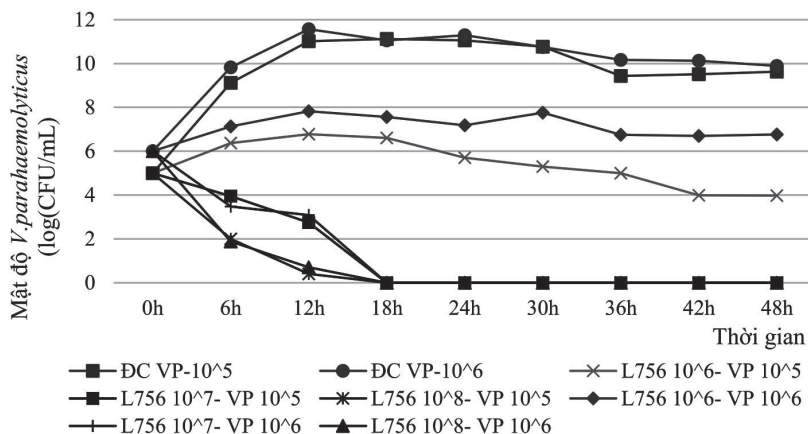
Kết quả nghiên cứu cho thấy *Lactobacillus* L756 ở mật độ 10^6 CFU/mL không có khả năng ức chế hoàn toàn *V. parahaemolyticus* ở hai nghiệm thức với *V. parahaemolyticus* được bổ sung ở mật độ 10^5 và 10^6 CFU/mL, *V. parahaemolyticus* ở hai nghiệm thức trên duy trì ổn định trong khoảng 10^5 CFU/mL đến 10^7 CFU/mL và khác biệt đáng kể so với nhóm đối chứng ($p < 0,05$) trong 48 giờ khảo sát. Trong khi đó, ở các nghiệm thức đối chứng không bổ sung L756, mật độ *V. parahaemolyticus* tăng mạnh trong 24 giờ khảo sát và đạt mật độ $(11,4 \pm 0,35) \times 10^{10}$ CFU/mL và $(19,5 \pm 0,35) \times 10^{10}$ CFU/mL theo thứ tự trên. Sau thời gian 24 giờ, *V.*

parahaemolyticus ở các nghiệm thức đối chứng cũng có xu hướng giảm nhẹ và duy trì mật độ trong khoảng 10^9 CFU/mL (Hình 2).

Ở nghiệm thức đồng nuôi cấy L756 với mật độ ban đầu 10^7 CFU/mL cho thấy *V. parahaemolyticus* có xu hướng giảm đáng kể trong 12 giờ khảo sát và mật độ VP trong nghiệm thức L756 10^7 - VP 10^5 CFU/mL và L756 10^7 - VP 10^6 CFU/mL nhỏ hơn 10^3 CFU/mL và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng với $p < 0,05$. Từ thời điểm 18 giờ đến 48 giờ *V. parahaemolyticus* trong các nghiệm thức đồng nuôi cấy bị diệt hoàn toàn và không xuất hiện vi khuẩn *V. parahaemolyticus* kháng lại L756.

Ở nghiệm thức đồng nuôi cấy L756 với mật độ ban đầu 10^8 CFU/mL, chủng L756 thể hiện khả năng ức chế cao nhất đối với *V. parahaemolyticus*. Trong 6 giờ đầu thử nghiệm, mật độ *V. parahaemolyticus* giảm mạnh đáng kể so với nhóm đối chứng 10^5 CFU/mL và 10^6 CFU/mL, mật độ *V. parahaemolyticus* nghiệm thức đồng nuôi cấy thấp hơn 10^2 CFU/mL. Từ 12 giờ trở đi thì *V. parahaemolyticus* tiếp tục giảm và không còn xuất hiện trong nghiệm thức L756 10^8 - VP 10^5 CFU/mL và L756 10^8 - VP 10^6 CFU/mL và đặc tính này ổn định đến 48 giờ khảo sát.

Ngoài ra, nghiệm thức đối chứng L756 nồng độ ban đầu 10^6 , 10^7 , 10^8 CFU/mL lần lượt đạt giá trị cực đại là $395,3 \pm 0,27 \times 10^9$ CFU/mL, $531,6 \pm 0,57 \times 10^9$ CFU/mL và $429,3 \pm 0,43 \times 10^9$ CFU/mL sau 24 giờ (Hình 2).



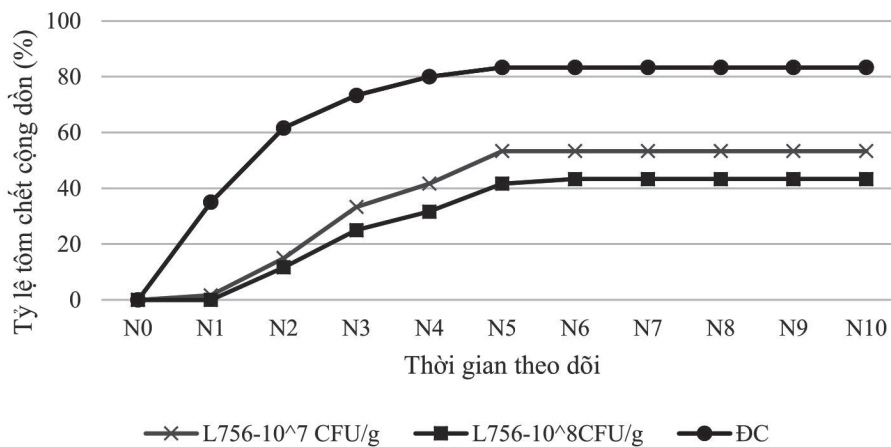
Hình 2: Khả năng đối kháng của L756 với *V. parahaemolyticus*

Nhóm vi khuẩn axit lactic (LAB) có khả năng thay đổi điều kiện môi trường sống của chúng bằng cách tiết ra axit hữu cơ như axit lactic, axit acetic, axit butyric và axit propionic (Zorriehzahra và ctv., 2016). Những axit này có thể làm giảm pH của môi trường và ảnh hưởng bất lợi đến sự phát triển hay sống sót của các vi sinh vật khác nhạy với sự biến đổi của pH (Makras và ctv., 2006). Vi khuẩn L756 là nhóm vi khuẩn lactic, do đó khả năng ức chế của L756 đối với *V. parahaemolyticus* có thể được lý giải là khả năng sinh các hợp chất ức chế tổng hợp trong quá trình trao đổi chất như tạo các enzyme hoặc các hợp chất kháng khuẩn bacteriocine (Wohlgemuth và ctv., 2010). Ngoài ra, chủng LAB phát triển trong môi trường giàu dinh dưỡng đã giúp tạo ra chuỗi axit béo, các chất peptide (kháng khuẩn), và các enzyme khác (Bierbaum và Sahl, 2009).

Nghiên cứu đánh giá khả năng ức chế của nhóm vi khuẩn LAB đối với nhóm *Vibrio* bằng phương pháp đồng nuôi cấy còn rất hạn chế. Pinoargote (2018) đã thử nghiệm một

số chủng vi khuẩn như *Lactobacillus casei* (viết tắt L), *Saccharomyces cerevisiae* (Y) và *Rhodopseudomonas palustris* (P) ức chế sự phát triển của *V. parahaemolyticus* AHPND cho thấy sau 12 giờ các nghiệm thức bao gồm các chủng vi khuẩn đơn hay kết hợp như L, L+Y, L+P, L+Y+P không thể hiện hiệu quả kháng *V. parahaemolyticus* bởi mật độ *V. parahaemolyticus* trong các nghiệm thức này tăng và đạt giá trị dao động $6 \log_{10}$ CFU/mL đến $8 \log_{10}$ CFU/mL. Tuy nhiên, sau thời điểm trên khả năng kháng *V. parahaemolyticus* của các chủng vi khuẩn hiệu quả vì thế mật độ *V. parahaemolyticus* giảm dần đến 36 giờ ở các nghiệm thức L, L+Y, L+P, L+Y+P dao động từ 10^2 CFU/mL đến 10^3 CFU/mL và đến 48 giờ mật độ *V. parahaemolyticus* ở 4 nghiệm thức này không còn phát hiện *V. parahaemolyticus*. Ngoài ra Le và Yang (2018) cũng chỉ ra rằng nhóm vi khuẩn *Lactobacillus* spp. FB011, FB081 và FB110 phân lập từ nguồn tôm muối chua có khả năng ức chế hoàn toàn 100% VP sau 32 giờ nuôi cấy.

3.2. Khả năng phòng bệnh AHPND của *Lactobacillus* L756 trên tôm thẻ chân trắng khi phối trộn vào thức ăn



Hình 3. Tỷ lệ chết cộng dồn sau 10 ngày gây nhiễm *V. parahaemolyticus*

Kết quả cho thấy tỉ lệ chết của tôm thẻ khi phối trộn L756 vào thức ăn cải thiện đáng kể so với nghiệm thức đối chứng. Tỷ lệ chết trung bình lần lượt ở các nghiệm thức L756-10⁸ CFU/g, L756-10⁷ CFU/g và đối chứng là 43,3%, 53,3% và 83,3%. Tỷ lệ bảo hộ của tôm tỷ lệ thuận với

mật độ *Lactobacillus* L756 bổ sung vào thức ăn. Nghiệm thức bổ sung L756 vào thức ăn với mật độ 10⁸ CFU/g có RPS trên 50%, cao hơn so với nghiệm thức bổ sung L756 mật độ 10⁷ CFU/g thức ăn (RPS = 43,3 %). *Lactobacillus* sp. được sử dụng rộng rãi trong nuôi trồng thủy

sản (Guerra và ctv., 2017) do nhóm vi khuẩn này sản sinh các axit lactic và hỗn hợp chất kháng khuẩn có bản chất peptit hoặc protein có khả năng ức chế và loại thải những vi khuẩn khác (Madigan và ctv., 2006). Ngoài ra, trong nghiên cứu này sử dụng liều phối trộn thức ăn từ 10^7 CFU/g đến 10^8 CFU/g, phù hợp với liều phối trộn probiotic vào thức ăn, thông thường từ 10^6 đến 10^{10} CFU/g (Newaj-Fyzul và Austin, 2015).

Đặc tính probiotic của nhóm vi khuẩn lactic đã được nghiên cứu bởi nhiều tác giả. Chủng *Lactobacillus acidophilus* 04 khi phối trộn vào thức ăn với mật độ 10^5 CFU/g trong 30 ngày trước khi gây nhiễm với vi khuẩn *V. alginolyticus* (10^5 CFU/mL) thì tỷ lệ sống của tôm đạt 80% khi so sánh với khoảng 15% tôm sống sót của nghiệm thức đối chứng (Sivakumar và ctv., 2012). Theo nghiên cứu của Nguyễn Thị Trúc Linh và ctv., (2017), các chủng vi khuẩn lactic LAB1, LAB2 và LAB5 phát triển và duy trì tốt trong đường ruột của tôm thẻ. Ngoài ra, trong thử nghiệm phối trộn thức ăn với từng chủng LAB nói trên ở liều 10^9 CFU/g và cho ăn liên tục bảy ngày trước khi gây nhiễm với *V. parahaemolyticus* (mật độ 10^6 CFU/mL) bằng phương pháp ngâm. Sau 14 ngày theo dõi, tôm ở các nghiệm thức có tỷ lệ sống lần lượt là 73,37%, 79,97% và 73,33% khi được ăn thức ăn phối trộn LAB1, LAB2 và LAB5 khi so sánh với nghiệm thức đối chứng dương 54,43%.

3.3. Các đặc tính khác của *Lactobacillus* L756

Kết quả đánh giá đặc tính ở Bảng 3 cho thấy L756 không phát triển được ở pH 9 và pH 4, phát triển ở pH tối ưu là 6. Các chỉ số này

khá tương đồng với các nghiên cứu trước. Theo Yang và ctv., (2018), pH 6,2 là điều kiện tối ưu để vi khuẩn LAB sinh bacteriocin và phát triển. *Lactobacillus plantarum* có khả năng sản sinh các hợp chất kháng khuẩn tốt nhất ở pH 6 (Lê Ngọc Thùy Trang và Phạm Minh Nhựt, 2014). Bên cạnh đó, chủng L756 phát triển khá ổn định và đồng đều ở các nồng độ muối từ 0,5-3%. Theo Vuyst và ctv., (2003), *Lactobacillus amylovorus* tạo ra lượng bacteriocin cao nhất khi thêm NaCl 1% và nồng độ NaCl tối ưu cho sự phát triển của chủng này là 0,5%. Ngoài ra, *Lactobacillus* L756 có khả năng bám dính tương đối khá với dung môi xylene là 31%. Chen và ctv., (2010) công bố khả năng bám dính với dung môi xylene của các chủng *Lactobacillus* dao động lớn (0-59,27%), với các chủng vi khuẩn bám dính với xylene cao nhất gồm *L. gasseri* (59,3%); *L. rhamnosus* (45,5%) và *L. casei* (47,6%).

Chủng L756 có khả năng sinh hàm lượng axit lactic cao (260°T), khi so sánh với kết quả axit lactic sản sinh từ các chủng vi khuẩn lactic phân lập là 50-263°T của Nguyễn Thị Lâm Đoàn và Lưu Thị Thùy Dương (2017). Bên cạnh đó, với hàm lượng axit lactic thu được trong thí nghiệm của Ao và ctv., (2012) là 63,4 - 87,63°T thì *L. plantarum* sản sinh lượng axit lactic cao nhất (>80°T). Vi khuẩn lactic giúp làm giảm pH trong đường ruột vì chúng tạo ra các axit hữu cơ như axit lactic; vi khuẩn lactic còn có khả năng ức chế và chống lại các vi khuẩn gây bệnh như *Escherichia coli*, *Salmonella* và nhóm *Vibrio* spp nhờ vào khả năng sinh hợp chất kháng khuẩn, đặc biệt là bacteriocin (Biospring, 2016).

Bảng 3. Khả năng bám dính, tạo axit lactic; khả năng chịu độ mặn và pH của chủng L756.

Các đặc tính	Giá trị
pH	5-8
Độ muối (%)	0,5 - 3,0
Bám dính (%)	31 ± 0,01
Độ axit lactic tính theo độ Therner (°T)	260 ± 10

Theo tài liệu hướng dẫn sử dụng kháng sinh của Bộ Y tế thì các kháng sinh trong Bảng 4 chủ yếu là các loại kháng sinh có phổ kháng khuẩn rộng đối với vi khuẩn Gram âm và Gram dương. Vi khuẩn L756 là vi khuẩn Gram dương và chúng đều nhạy với hầu hết kháng sinh có phổ kháng khuẩn rộng, với vòng kháng khuẩn từ 20-40 mm (Bảng 4). Một trong những tiêu chí lựa chọn một chủng vi sinh vật để làm probiotic là chủng này phải có khả năng nhạy cảm với

kháng sinh, điều đó đồng nghĩa chúng được lựa chọn sẽ an toàn về mặt sinh học vì nó không chứa yếu tố di truyền di động và khả năng tiếp hợp trao đổi plasmid hoặc các gen kháng kháng sinh nằm trên nhiễm sắc thể quy định. Điều này làm giảm tối thiểu khả năng truyền gen kháng kháng sinh sang chủng vi khuẩn gây bệnh khác trên vật chủ và cả con người (Gueimonode và ctv., 2013; Dung và ctv., 2009; Phạm Thanh Hương và ctv., 2011).

Bảng 4. Thử khả năng nhạy cảm của chủng L756 với các loại kháng sinh

Loại kháng sinh	Vòng kháng khuẩn (mm)	Kết quả	Loại kháng sinh	Vòng kháng khuẩn (mm)	Kết quả
Gentamicin (Ge)	30	Nhạy	Neomicin (Ne)	27	Nhạy
Doxycycline (Dx)	37	Nhạy	Tetracycline (Te)	30	Nhạy
Kanamycin (Kn)	30	Nhạy	DKS Cefotaxime (Ct)	37	Nhạy
Streptomycin (Sm)	20	Nhạy	Ciprofloxacin (Ci)	40	Nhạy
Ampicillin (Am)	40	Nhạy	Trimethoprim Sulfamethoxazol (Bt)	40	Nhạy

IV. KẾT LUẬN

Ngoài đặc tính bám dính tốt, khả năng nhạy với kháng sinh và khả năng sinh axit lactic, chủng *Lactobacillus* L756 còn có khả năng đối kháng với *V. parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp (AHPND) bằng phương pháp khuếch tán đĩa với đường kính vòng kháng khuẩn là 20 mm. Ngoài ra với phương pháp đồng nuôi cấy, chủng L756 ở mật độ 10^7 hoặc 10^8 CFU/ml có thể ức chế hoàn toàn sự phát triển của *V. parahaemolyticus* ở mật độ ban đầu 10^5 hoặc 10^6 CFU/mL. Bên cạnh đó, khi phối trộn chủng L756 vào thức ăn với liều lượng 10^8 CFU/g liên tục trong 14 ngày, giúp làm giảm

ti lệ chết cấp tính trên tôm khi gây nhiễm với *V. parahaemolyticus*, với tỷ lệ bảo hộ đạt trên 50% sau 10 ngày thí nghiệm.

LỜI CẢM ƠN

Tác giả xin chân thành cảm ơn Ban điều hành Chương trình công nghệ sinh học nông nghiệp thủy sản, Bộ Nông Nghiệp và Phát Triển Nông Thôn; Trung tâm quan trắc môi trường và bệnh thủy sản Nam Bộ, Viện Nghiên cứu Nuôi Trồng Thủy sản II đã tạo điều kiện tốt để chúng tôi có thể thực hiện các nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tiếng Việt

BioSpring, 2016. Đặc điểm vi sinh *Lactobacillus* trong chế phẩm sinh học. [http://biospring.com](http://biospring.com.vn/kien-thuc-chuyen-nganh/dac-diem-vi-sinh-lactobacillus-trong-che-pham-sinh-hoc.html).

[vn/kien-thuc-chuyen-nganh/dac-diem-vi-sinh-lactobacillus-trong-che-pham-sinh-hoc.html](http://biospring.com.vn/kien-thuc-chuyen-nganh/dac-diem-vi-sinh-lactobacillus-trong-che-pham-sinh-hoc.html)

Trịnh Hùng Cường, 2011. Phân lập vi khuẩn *Lactobacillus* sp. trên tôm sú nuôi công nghiệp

- có khả năng kháng vi khuẩn gây bệnh *Vibrio sp.*, Luận văn Cao học. Đại học Cần Thơ.
- Đỗ Thị Thanh Dung, Võ Đình Quang, Phan Thị Phương Trang, 2017. Phân lập và tuyển chọn *Lactobacillus spp.* kháng *Vibrio parahaemolyticus* gây hội chứng chết sớm trên tôm tại Sóc Trăng. Tạp chí phát triển KH&CN, tập 20, số T3-2017.
- Nguyễn Thị Lâm Đoàn, Lưu Thị Thùy Dương, 2017. Tuyển chọn vi khuẩn Lactic có một số hoạt tính sinh học để ứng dụng trong xử lý phế phụ phẩm nông nghiệp làm thức ăn chăn nuôi cho gia súc nhai lại. Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam 2017, 15(11): 1556-1564.
- Phạm Thanh Hương, Nguyễn Thiện Nam, Từ Thanh Dung và Nguyễn Anh Tuấn, 2011. Sự kháng kháng sinh của vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* và *Aeromonas hydrophila* gây bệnh trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) ở Đồng bằng sông Cửu Long. Kỷ yếu Hội nghị khoa học thủy sản lần 4: 250-261.
- Nguyễn Thị Trúc Linh, Nguyễn Trọng Nghĩa, Đặng Thị Hoàng Oanh và Trương Quốc Phú, 2017. Ảnh hưởng của vi khuẩn lactic bổ sung vào thức ăn lên khả năng kháng bệnh hoại tử gan tụy cấp tính trên tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ., 52b(122-130).
- Nguyễn Thị Trúc Linh, 2018. Tuyển chọn vi khuẩn lactic kháng với vi khuẩn gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (*Vibrio parahaemolyticus*) trên tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vannamei*). Luận văn tiến sĩ. Đại Học Cần Thơ.
- Lê Ngọc Thùy Trang, Phạm Minh Nhật, 2014. Phân lập và khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng sản sinh hợp chất kháng khuẩn của *Lactobacillus plantarum*. Tạp Chí Sinh Học 2014. 36(1se): 97-106.
- Tài liệu tiếng Anh**
- Balcazar, J., De Blas, I., Ruiz-Zarzuola, I., Vendrell, D. và Muzquiz, J., 2004. Probiotics: a tool for the future of fish and shellfish health management.
- Bierbaum, G., and Sahl, H. G., 2009. Lantibiotics: mode of action, biosynthesis and bioengineering. Curr Pharm Biotechnol 10, 2-18.
- Chen X., Tian F, Liu X, Zhao J, Zhang HP, Zhang H, Chen W., 2010. In vitro screening of Lactobacilli with antagonistic activity against Helicobacter pylori from traditionally fermented foods. Journal of Dairy Science
- Collado Maria Carmen, Meriluoto Jussi, Salminen Seppo, 2008. Adhesion and aggregation properties of probiotic and pathogen strains. European Food Research and Technology 226 (2008), 1065-1073.
- Dung, T.T., Haesebrouck, F., Sorgeloos, P., Tuan, N.A. and Pasmans, F., 2009. IncK plasmid mediated tetracyclin resistance in *Edwardsiella ictaluri* isolates from diseased freshwater catfish in Vietnam. Aquaculture. 295: 157-159.
- Gueimonde, M., Sanchez, B., G de Los Reyes-Gavilán, C., Margolles, A., 2013. Antibiotic resistance in probiotic bacteria. Front Microbiol. 18(4): 202.
- Guerra, P., N, Bernárdez, F., P., Méndez, J., Cachaldora, P., và Castro, L., P. 2007. Production of four potentially probiotic lactic acid bacteria and their evaluation as feed additives for weaned piglets, Animal Feed Science and Technology 134(1-2): 89-107.
- Le, T, X and Munekage, Y., 2004. Residues of selected antibiotics in water and mud from shrimp ponds in mangrove areas in Viet Nam. Mar. Pollut. Bull. 49, 922-929
- Le, B. và Yang, S. H., 2018. Probiotic potential of novel Lactobacillus strains isolated from salted-fermented shrimp as antagonists for *Vibrio parahaemolyticus*, J Microbiol, 56(2): 138-144.
- Lightner D. V., 2014. Documentation of a unique strain of *Vibrio parahaemolyticus* as the agent of Early Mortality Syndrome (EMS) or Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (ANPHD) affecting Penaeid shrimp with note on the putative toxins. Paper presented at the 9th Symposium on Diseases in Asian Aquaculture (DAA9), Ho Chi Minh city, Vietnam, 24-28 November, 2014. Book of abstract, 71pp.
- Madigan, T., M., John M Martinko, M., J; và Brock, D., T., 2006. Biology of Microorganisms, Upper Saddle River, NJ : Pearson Prentice Hall, 2006.968.
- Makras, L., Triantafyllou, V., Fayol-Messaoudi, D., Adriany, T., Zoumpopoulou, G., Tsakalidou, E., Servin, A. và De Vuyst, L., 2006. Kinetic analysis of the antibacterial activity of probiotic lactobacilli towards Salmonella enterica serovar Typhimurium reveals a role for lactic acid and other inhibitory compounds, Res Microbiol, 157(3): 241-247.

- Newaj-Fyzul, A. và Austin, B., 2015. Probiotics, immunostimulants, plant products and oral vaccines, and their role as feed supplements in the control of bacterial fish diseases, *J Fish Dis*, 38(11): 937-55
- Nunan, L., Lightner, D., Pantoja, C. và Gomez-Jimenez, S., 2014. Detection of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in Mexico, *Disease of aquatic organisms* 111(81-86).
- Perez, R. H., Zendo, T. và Sonomoto, K., 2014. Novel bacteriocins from lactic acid bacteria (LAB): various structures and applications, *Microbial cell factories*, 13 Suppl 1(Suppl 1): S3-S3.
- Vine, N. G., Leukes, W. D. và Kaiser, H., 2004. In vitro growth characteristics of five candidate aquaculture probiotics and two fish pathogens grown in fish intestinal mucus, *FEMS Microbiol Lett*, 231(1): 145-52.
- Pinoargote G và S, R., 2018. Evaluation of the Efficacy of Probiotics in vitro Against *Vibrio parahaemolyticus*, Causative Agent of Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease in Shrimp., *J Prob Health* 6(193).
- Sivakumar, N., Sundararaman, M., . và Selvakumar, G., 2012. Probiotic effect of *Lactobacillus acidophilus* against vibriosis in juvenile shrimp (*Penaeus monodon*), *African Journal of Biotechnology*, 11(99): 15811-15818.
- Sumathi V. and Reetha D., 2012. Screening of Lactic Acid Bacteria for Their Antimicrobial Activity against Pathogenic Bacteria. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*, 3(4): 802-808.
- Vaseeharan and Ramsamy Gueimonde, M., Sanchez, B., G de Los Reyes-Gavilán, C., Margolles, A., 2013. *Antibiotic resistance in probiotic bacteria*. *Front Microbiol*. 18(4): 202.
- Vuyst, L. D., Patricia Neysens, Winy Messens, 2003. Effect of sodium chloride on growth and bacteriocin production by *Lactobacillus amylovorus* DCE 471. *International Journal of Food Microbiology* 88 (2003) 29-39.
- Walker, 2018. Influence of culture media, pH and temperature on growth and bacteriocin production of bacteriocinogenic lactic acid bacteria. *AMB Express* 8:10
- Wohlgemuth, S., Loh, G. và Blaut, M., 2010. Recent developments and perspectives in the investigation of probiotic effects, *Int J Med Microbiol*, 300(1): 3-10.
- En Yang, Lihua Fan, Jinping Yan, Yueming Jiang, Craig Doucette, Sherry Fillmore and Bradley Walker, 2018. Influence of culture media, pH and temperature on growth and bacteriocin production of bacteriocinogenic lactic acid bacteria. *AMB Express* 8:1
- Zorriehzahra, M. J., Delshad, S. T., Adel, M., Tiwari, R., Karthik, K., Dhama, K., and Lazado, C. C., 2016. Probiotics as beneficial microbes in aquaculture: an update on their multiple modes of action: a review. *Vet Q* 36, 228-241.

ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF *Lactobacillus plantarum* (L756) AGAINST *Vibrio parahaemolyticus* CAUSING ACUTE HEPATOPANCREATIC NECROSIS DISEASE IN WHITE LEG SHRIMP (*Litopenaeus vannamei*)

Vo Hong Phuong^{1*}, Le Hoang Nhu², Le Thi Thuy Trang³, Tran Minh Trung¹,
Nguyen Thi Minh Hien³, Dang Ngoc Thuy¹, Vo Bich Xoan¹

ABSTRACT

Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND) is one of the main causes leading to a significant loss for the global shrimp farming industry, with almost 100% mortality in heavy infected pond. AHPND is caused by *Vibrio parahaemolyticus* containing plasmid pVPA3 – 1 and toxic genes *PirA* and *PirB*. The uses of chemicals and antibiotics did not show any good effect on treating of this disease and leading pollution. For these reasons, the most effective method is the use of biological products, in other words, the use of beneficial bacteria which are able to antagonize harmful bacteria, in order to reduce the risk of AHPND. The aim of this study is to evaluate the efficiency of a lactic acid bacteria (LAB) strain, *Lactobacillus* L756, in inhibiting the growth of *V. parahaemolyticus* causing AHPND. *Lactobacillus* L756 strain can antagonize *V. parahaemolyticus* causing AHPND with the diameter of inhibition zone being 16mm in average by spot test method, which can be stabilized in 24 hours. Moreover, the co-culture method illustrates L756 at 10^7 , 10^8 CFU/mL can able to inhibit completely *V. parahaemolyticus* at 10^5 , 10^6 CFU/mL. Furthermore, shrimps were continuously fed with L756 at a density of 10^8 CFU/g feed in 14 days showed a relative percentage survival (RPS) of higher than 50% could be achieved after 10 days of challenging *V. parahaemolyticus*. In addition, L756 also has some beneficial properties such as adhesion capacity, lactic acid and bacteriocin production, salinity and pH tolerance. Thus, L756 has a potential to be used as probiotics in shrimp culture.

Keywords: AHPND, antibacterial property, *Lactobacillus plantarum* (L756), inhibition zone, RPS (%)

Người phản biện: TS. Nguyễn Thị Ngọc Tĩnh
Ngày nhận bài: 16/9/2019
Ngày thông qua phản biện: 08/10/2019
Ngày duyệt đăng: 27/10/2019

Người phản biện: PGS. TS. Đặng Thị Hoàng Oanh
Ngày nhận bài: 16/9/2019
Ngày thông qua phản biện: 08/10/2019
Ngày duyệt đăng: 27/10/2019

¹ Research Institute for Aquaculture No.2.

² School of Biotechnology, International University – Vietnam National University in HCMC

³ Nong Lam University, HCMC.

* Email: vohongphuong@yahoo.com

ĐẶC ĐIỂM THÀNH PHẦN ACID BÉO CỦA MỘT SỐ NGUYÊN LIỆU GIÀU CHẤT BÉO VÀ PHI LÊ CÁ TRA (*Pangasianodon hypophthalmus*) Ở CÁC GIAI ĐOẠN PHÁT TRIỂN

Lê Hoàng^{1*}, Trần Thị Lệ Trinh¹, Lý Hữu Toàn¹,
Võ Thị Quỳnh Như¹, Nguyễn Văn Nguyễn¹

TÓM TẮT

Cá là nguồn thực phẩm cung cấp các acid béo thiết yếu, có giá trị cao và có ảnh hưởng tích cực đến việc ngăn chặn các bệnh về tim mạch và hỗ trợ thần kinh. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát thành phần acid béo của cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) ở các giai đoạn phát triển và một số các nguyên liệu giàu chất béo. Acid béo được phân tích và định lượng bằng phương pháp sắc ký khí (GC/FID). Kết quả nghiên cứu cho thấy rằng đối với cá tra ở các giai đoạn phát triển, hàm lượng SFA là cao nhất (42,14-45,56%), kế tiếp là MUFA (40,98-43,39%) và PUFA (12,64-16,77%). Phi lê cá tra có chứa nhiều SFA (42,0-43,39% trong tổng hàm lượng các acid béo) và chứa rất ít hàm lượng PUFA (13,64-17,65%), chứa chủ yếu là acid linoleic (44-59% trong tổng acid béo không bão hòa đa). Cá tra nuôi ở những vùng khác nhau có tổng hàm lượng PUFA n-3 trong phi lê khá thấp, chỉ từ 1,30 đến 2,23%. Có sự khác biệt rõ rệt về thành phần các acid béo giữa các nguyên liệu dầu khảo sát. Acid palmitic (C16:0; 19,41-37,4%), acid oleic (C18:1; 48,30-60,0%) và acid linoleic (C18:2; 54,01-54,7%) là những acid béo có nhiều trong các loại dầu thực vật như dầu cám, dầu cọ, dầu mè, dầu cải, dầu hướng dương và dầu đậu nành. Dầu cá hồi, dầu cá mòi và hạt lanh là những nguyên liệu chứa hàm lượng cao EPA trong khoảng từ 2,66 đến 16,93% và DHA (3,3-7,27%), trong khi hạt lanh có hàm lượng α -linolenic cao đáng kể (C18:3n-3; 21,9%). Kết quả khảo sát cho thấy các nguyên liệu giàu chất béo như dầu cá hồi, cá mòi và hạt lanh chứa thành phần các acid béo thiết yếu omega-3 là nguồn nguyên liệu phù hợp trong sản xuất thức ăn nâng cao hàm lượng các omega-3 và HUFA trong cơ thịt cá tra.

Từ khóa: acid béo thành phần, cá tra, chất béo, nguyên liệu dầu, phi lê.

I. MỞ ĐẦU

Các acid béo nhóm omega-3 rất cần thiết cho cơ thể (acid béo thiết yếu – EFA) nhưng chúng ta không tự tổng hợp được mà cần phải hấp thu thông qua thức ăn. Acid béo omega-3 động vật bao gồm EPA (Eicosa Pentaenoic Acid) và DHA (Decosa Hexaenoic Acid). Trong cơ thể, EPA được chuyển hóa thành các hợp chất sinh học như prostaglandin, leucotrien có tác dụng hỗ trợ hệ tim mạch (Brian Hallahan và Malcolm Garland, 2005). DHA đóng vai trò quan trọng trong việc tăng cường hoạt động trí não, điều hoà các đáp ứng miễn dịch và viêm thần kinh. Cá là một nguồn cung cấp acid béo omega-3 phổ biến nhất, đặc biệt là các loại cá béo như cá hồi, cá thu, cá trích, cá hồi nước

ngọt, cá mòi. Một vài loại cá và động vật giáp xác khác như là cá tuyết, cá da trơn, cá rô phi và tôm cũng chứa omega-3 nhưng hàm lượng không cao.

Trong những năm qua, cá tra đã và đang là đối tượng nuôi trồng thủy sản chủ lực, đạt sản lượng 1,42 triệu tấn với kim ngạch xuất khẩu lên đến 2,26 tỷ USD trong năm 2018 (Tổng cục Thủy sản). Đặc thù của cá tra là một giống cá có nhiều chất béo, tuy nhiên kết quả nhiều nghiên cứu khoa học cho thấy hàm lượng omega-3 (EPA và DHA) chỉ chiếm tỷ lệ rất nhỏ trong cơ thịt. Nguyễn và ctv., 2013 nghiên cứu đặc điểm lipid trong cơ thịt cá tra giống cho thấy rằng

¹ Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II

* Email: 72hoang@gmail.com

về cơ bản cá tra có hàm lượng ω -3 thấp, EPA (0,68-0,79%) và DHA (2,15-2,64%) tổng acid béo. Ho và Paul, 2009 đã phân tích thành phần acid béo của fillet cá tra, số liệu cho thấy hàm lượng EPA (0,31 %) và DHA (4,74 %). Kết quả này cũng tương đồng với nghiên cứu của Men và ctv., 2005 với EPA từ 0,8 – 1 % và Hemung và ctv., 2010 với EPA (0,2 %), DHA (0,43 %).

Không giống như thực vật, các loài cá nước ngọt có khả năng tự tổng hợp các acid béo từ những acid béo có mạch các bon ngắn hơn. Do có hệ thống enzyme hoạt động hiệu quả, cá nước ngọt có khả năng tự tổng hợp các acid béo có mạch các bon dài hoặc tổng hợp nên các acid béo không no có nhiều nối đôi như EPA, DHA nhằm đáp ứng nhu cầu kiến tạo thành tế bào và các tổ chức cơ thể. Theo Blaxter, 1989 hệ số chuyển đổi nguồn chất béo thức ăn sang chất béo cơ thể khoảng 96%, do đó mục tiêu tăng hàm lượng chất béo cơ thể cá có hiệu quả cao nhất đi từ nguồn nguyên liệu giàu chất béo. Nhiều nghiên cứu trên các loại cá khác nhau (Castell và ctv., 1972a; Hardy và ctv., 1987; Santha & Gatlin 1991; Kalogeropoulos và ctv., 1992; Kennish và ctv., 1992; Ruyter và ctv., 2000a) đã chỉ ra rằng khi cá được cho ăn một loại thức ăn trong một thời gian dài thì acid béo thành phần của lipid trong cơ thể cá được sao chép giống như acid béo thành phần trong lipid của thức ăn.

Do xuất khẩu thủy sản là chiến lược và là thế mạnh của Đồng bằng sông Cửu Long nên việc nghiên cứu nâng cao hiệu quả kinh tế của cá tra cần được quan tâm. Việc khảo sát thành phần acid béo của các loại nguyên liệu cung cấp chất béo sử dụng trong sản xuất thức ăn thủy sản cũng như thành phần acid béo của cá tra ở những giai đoạn phát triển khác nhau đóng vai trò quan trọng trong việc lựa chọn nguyên liệu và thiết lập công thức thức ăn tối ưu để nâng cao hàm lượng HUFA trong cơ thể cá tra góp phần nâng cao giá trị kinh tế và xuất khẩu mặt hàng này.

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Các loại nguyên liệu cung cấp chất béo bao gồm dầu cá hồi, dầu cá mè, dầu cò, dầu

cám, cám gạo và hạt lanh được thu nhận từ các nhà máy và công ty cung cấp nguyên liệu thức ăn thủy sản. Dầu thực vật do Công ty cổ phần dầu thực vật Tường An sản xuất gồm các loại dầu hạt cải, dầu mè, dầu đậu nành, dầu hướng dương, dầu đậu phộng còn trong hạn sử dụng được mua từ siêu thị Co.opmart.

- Theo báo cáo của Tổng cục thủy sản về tình hình sản xuất cá tra năm 2018, tổng diện tích nuôi trồng đạt 5.400 ha, trong đó diện tích thả nuôi tại Đồng Tháp chiếm 2.450 ha (45%) và An Giang 1.200 ha (26%). Do đó nghiên cứu tập trung thu mẫu cá tra tại hai tỉnh An Giang và Đồng Tháp, sử dụng để phân tích khảo sát thành phần acid béo ở các giai đoạn cụ thể như sau:

Cá thu tại An Giang bao gồm 5 cỡ cá: 20g, 100g, 600g, 800g và 1.000g.

Cá thu tại Đồng Tháp bao gồm 5 cỡ cá: 20g, 200g, 600g, 800g và 1.000g.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp thu và xử lý mẫu

- Các mẫu nguyên liệu cung cấp chất béo được bảo quản kín, tránh tiếp xúc trực tiếp với không khí, ánh sáng và môi trường ẩm ướt và được tiến hành phân tích acid béo thành phần ngay sau khi thu mẫu để giảm thiểu tối đa sai số cho kết quả do hiện tượng chất béo bị oxy hóa gây ra.

- Sau khi bỏ đói 1 ngày, 3kg cá Tra của mỗi cỡ cá từ 600g trở xuống được thu nguyên con tại ao, cho vào bao đóng miệng rồi ướp đá chuyển về phòng thí nghiệm. Mẫu sau đó được hấp thanh trùng tại 121^oC ở áp suất 1amt trong 10 phút. Dem xay nhuyễn rồi bảo quản trong tủ đông đến khi phân tích acid béo thành phần.

- Những mẫu cá có cỡ 800g và 1.000g chỉ lấy phi lê (3kg/mẫu) cho vào bao đóng miệng (zip), ướp lạnh rồi chuyển về phòng thí nghiệm. Mẫu phi lê sau đó được xay nhuyễn và bảo quản trong tủ đông đến khi phân tích acid béo thành phần.

2.2.2. Phương pháp phân tích mẫu

Thành phần acid béo được phân tích theo phương pháp sắc ký khí bằng đầu dò Flam Ionisation Detector (FID). Khoảng 0,05-0,1g dầu

thực vật hoặc chất béo được chiết ra từ mẫu hạt và mẫu cá được methyl hóa thành dạng methyl este của các acid béo (FAMES). Dung dịch FAMES sau đó được tiêm vào máy sắc ký khí để tách các acid béo thành phần riêng rẽ. Kết quả thu được bởi đầu dò FID ở dạng các mũi nhọn đại diện cho mỗi một acid béo. Kết quả acid béo thành phần được tính dựa theo tỷ lệ diện tích peak của từng chất với so với tổng acid béo thành phần. Diện tích này được tính theo thiết lập phương pháp của phần mềm dành cho máy GC.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thành phần acid béo các nguyên liệu giàu chất béo có nguồn gốc động, thực vật

Có tất cả 11 loại mẫu dầu và nguyên liệu dầu được phân tích bằng phương pháp sắc ký khí (GC-FID). Giữa các loại dầu và nguyên liệu giàu chất béo, dầu cọ có hàm lượng acid béo no cao nhất (42,95%), so sánh với hàm lượng tổng acid béo no của các loại dầu khác như dầu cám gạo (23,63%), dầu đậu phộng (18,39%), dầu đậu nành (15,38%), dầu mè (13,72%), dầu hướng dương (11,45%) và dầu cá mè (34,37%). Giữa các acid béo chưa no một và nhiều nối đôi, acid oleic (C18:1) và linoleic (C18:2) chiếm tỷ lệ cao nhất. Dầu cá hồi và dầu cá mè chứa hàm lượng cao HUFA (5,96% và 24,2%), trong khi đó không phát hiện được các nhóm acid béo này ở các loại dầu thực vật.

Kết quả xác định hàm lượng acid béo trong mẫu hạt lanh và cám gạo được trình bày ở Bảng 1 cho thấy acid oleic C18:1 là acid béo không no có một nối đôi chiếm chủ yếu trong hạt lanh và cám gạo có giá trị 9,33 % và 7,9% so với tổng số các acid béo. Trong cám gạo acid béo không no nhiều nối đôi chỉ chiếm 6,38%, ngược lại, hàm lượng PUFA trong hạt lanh lên đến 28,61%. Acid α -linolenic là thành phần chính trong acid béo hạt lanh, chiếm tỷ lệ lớn hơn acid linoleic (21,9% và 6,76%). Phân tích số liệu từ Bảng 1 cho thấy các acid béo chưa no chiếm 86,97% tổng số acid béo trong dầu mè. Trong đó, hai acid béo không no oleic và linoleic có hàm lượng nhiều hơn so với các acid béo khác, chiếm khoảng hơn 80%. Đây là hai acid béo chưa bão hòa có vai trò chính và quan trọng trong dầu mè, là tiêu chuẩn để đánh giá

giá trị sinh học của chất béo trong hạt mè (Das và ctv., 1998). Hàm lượng acid béo linolenic (ω -3) tương đối thấp chỉ khoảng 2,49%. Trong dầu đậu nành phân tích được 13 acid béo, trong đó tổng hàm lượng các PUFA nhiều nhất (60,64%), chủ yếu là acid linoleic C18:2n-6 (54,7%) và acid α -linolenic C18:3n-3 (5,85%). Dầu đậu nành chứa một lượng đáng kể các acid béo ω -6 (54,7%) và acid béo ω -3 (5,85%). Dầu cám gạo và dầu đậu phộng có thành phần gần tương đồng nhau, hàm lượng các acid béo không no nhiều nối đôi chủ yếu là C18:2n-6 (32,5 và 31,1%), C18:3n-3 có hàm lượng không đáng kể (1,46 và 2,68%). Hàm lượng α -linoleic trong dầu hạt cải lên đến 8,11%, trong khi linoleic chỉ chiếm 21,3% tổng acid béo. Ngược lại, trong dầu hướng dương chủ yếu là acid linoleic C18:2n-6 (54,7%), acid α -linoleic chiếm tỷ lệ không đáng kể (0,91%). Thành phần acid béo không no trong dầu cọ nhỏ hơn 60%, trong đó chủ yếu là acid oleic 44,3% và acid linoleic 11,7%. Trong dầu cá hồi và cá mè có chứa đến 23 acid béo, hàm lượng acid béo omega-3 và omega-6 chiếm đến 31,23% và 33,66 so với tổng số acid béo có trong thành phần acid béo tự do. Dầu cá mè chứa lượng cao các acid béo mạch dài chưa no nhiều nối đôi (LCPUFA) như EPA (C20:5; 16,93%) và DHA (C22:6; 7,27%), trong khi 2 acid béo này có hàm lượng thấp hơn ở dầu cá hồi (2,66 và 3,3%). Thành phần acid béo của dầu cá mè có tỷ lệ n-3/n-6 là 4,61; 16,93% của tổng acid béo là acid α -linolenic (C18: 3n-3), tỷ lệ này ở dầu cá hồi chỉ khoảng 0,66. Dầu cá hồi có chứa nhiều acid béo n-6 hơn dầu cá mè, tỷ lệ n-6/n-3 là 1,52; hàm lượng acid linoleic C18:2n-6 chiếm đến 16,55% tổng acid béo.

Nhìn chung, hạt lanh chứa hàm lượng cao nhất acid α -linolenic trong các nguyên liệu khảo sát, dầu hạt cải lượng omega-3 nhiều hơn hầu hết các loại dầu thực vật khác. Dầu đậu nành và dầu hướng dương là nguồn cung cấp chủ yếu acid linoleic C18:2n-6 (54,7 và 54,1%). Động vật thủy sản có khả năng tổng hợp acid béo không bão hòa đa từ các acid béo không bão hòa đơn, tuy nhiên chúng thiếu enzyme Δ -12 và Δ -15 desaturase để sản xuất acid linoleic (C18: 2n-6) và acid α -linolenic (C18: 3n-3) từ oleic acid (C18: 1n-9). Do đó, C18: 2n-6 và C18:

3n-3 là acid béo thiết yếu trong chế độ ăn của vật có xương sống và là tiền chất cho quá trình tổng hợp các acid béo ω -3, ω -6. Acid linoleic chỉ chiếm hàm lượng trung bình trong dầu mè, dầu cám và dầu đậu phộng (35,14; 32,5 và 31,1%), tỷ lệ α -linnolenic tương đối thấp (2,49; 1,46 và 2,68%). Hàm lượng C18: 2n-6 chỉ chiếm 6,07 – 11,7% tổng số acid béo trong cám gạo và dầu cọ, tỷ lệ C18: 3n-3 không đáng kể (0,31 và 0,25%). Nguồn cung cấp omega-3 EPA và DHA tốt nhất từ các loại dầu cá mỡ, cá hồi.

LS: Hạt lanh; RB: cám gạo; RO: Dầu hạt cải; RBO: Dầu cám; SO: Dầu mè; SBO: Dầu đậu nành; SFO: Dầu hướng dương; PO: Dầu cọ; GO: Dầu đậu phộng; FO-1: Dầu cá hồi; FO-2: Dầu cá mỡ.

3.2. Thành phần các acid béo của cá tra sử dụng thức ăn thương mại ở các giai đoạn phát triển và fillet ở giai đoạn 800g, 1000g

Số liệu ở Bảng 2 cho thấy có 16 loại acid béo trong cá tra ở các giai đoạn phát triển khác

Bảng 1. Thành phần acid béo (%) của nguyên liệu giàu chất béo.

		LS	RB	RBO	RO	SO	SBO	SFO	PO	GO	FO-1	FO-2
C12:0	Lauric acid							0,01			0,04	0,08
C14:0	Myristic acid	0,02	0,11	0,35	0,06	0,03	0,07	0,08	0,9	0,06	1,98	9,55
C15:0	Pentadecanoic acid										0,15	0,49
C16:0	Palmitic acid	2,8	3,62	19,41	4,42	7,81	10,5	6,92	37,4	10,1	10,82	19,27
C17:0	Heptadecanoic acid	0,03	0,01	0,04	0,04	0,04	0,08	0,03	0,08	0,06	0,18	0,49
C18:0	Stearic acid	1,89	0,34	1,91	1,88	4,84	3,91	3,21	4,04	3,26	3,4	3,58
C20:0	Arachidic acid	0,07	0,17	0,82	0,55	0,66	0,33	0,29	0,38	1,3	0,33	0,56
C22:0	Behenic acid	0,06	0,1	0,39	0,29	0,23	0,37	0,66	0,07	2,65	0,2	0,18
C24:0	Tricosanoic acid	0,05	0,18	0,71	0,11	0,11	0,15	0,25	0,08	0,99	0,07	0,17
Σ SFA		4,92	4,53	23,63	7,35	13,72	15,38	11,45	42,95	18,39	17,17	34,37
C16:1	Palmitoleic acid	0,04	0,03	0,21	0,19	0,16	0,07	0,12	0,19	0,2	2,82	9,97
C17:1	Heptadecanoic acid										0,14	0,13
C18:1	Oleic acid	9,33	7,9	41,01	60	48,32	22,1	32,66	44,3	45,4	41,54	11,14
C20:1	Arachidic acid	0,08	0,11	0,55	2,21	0,82	1,11	0,39	0,2	1,55	2,39	1,12
C22:1	Docosenoic acid										0,24	0,09
C24:1	Nervonic acid										0,21	0,25
Σ MUFA		9,45	8,04	41,77	62,4	49,30	23,24	33,17	44,73	47,10	47,34	22,70
C18:2n-6	Linoleic acid	6,76	6,07	32,5	21,3	35,14	54,7	54,01	11,7	31,1	16,55	3,24
C18:3n-3	Alpha-Linolenic acid	21,9	0,31	1,46	8,11	2,49	5,85	0,91	0,25	2,68	5,31	1,31
C20:2	Eicosadienoic acid			0,06	0,09	0,04	0,05	0,02		0,04	1,63	2,14
C20:3	Eicosatrienoic acid										0,7	0,32
C20:4	Eicosatetraenoic acid										0,4	1,83
C20:5	Eicosapentaenoic acid										2,66	16,93
C22:2	Docosadienoic acid										0,68	0,62
C22:6	Docosahexaenoic acid										3,3	7,27
Σ PUFA		28,61	6,38	34,02	29,52	37,67	60,64	54,94	11,95	33,82	31,23	33,66
Σ FA		42,98	18,95	99,42	99,22	100,69	99,26	99,56	99,63	99,31	95,74	90,73

nhau. Tổng acid béo trong cơ thể cá thay đổi tỉ lệ thuận với kích thước và tương ứng với hàm

lượng lipid thô trong cơ thể cá. Hàm lượng acid béo no dao động trong khoảng 42,14– 45,56%;

cao nhất ở cá cỡ 600g (45,56%) và thấp nhất trong cá 20g tại Đồng Tháp (42,14%). Trong thành phần SFA có 8 loại acid béo no, chủ yếu là palmitic (28,41-32,35%), stearic (8,32-10,93%) và mysteric (2,55-3,92%). Hàm lượng palmitic tăng dần theo kích cỡ cá, trong khi đó hàm lượng stearic và mysteric cao nhất giai đoạn 100-200g và giảm dần khi cá đạt kích cỡ lớn hơn. Các acid béo không no có một nối đôi (MUFA) có giá trị từ 40,98% đến 43,48% so với tổng số các acid béo, gần xấp xỉ tổng các acid béo SFA và gấp khoảng 2,5 lần các PUFA (12,64-16,77%). Acid oleic chiếm tỉ lệ chủ yếu trong số các acid béo không

no một nối đôi ở tất cả các cỡ cá từ 37,25% đến 40,78%; C16:1, C20:1 và C22:1 chỉ chiếm tỷ lệ nhỏ. Kết quả này được chứng minh tương tự trên cá Basa (*Pangasius bocourti*) và cá nheo Mỹ (*Ictalurus punctatus*). Thammapat và ctv., 2010 nghiên cứu thành phần acid béo trong nội tạng và cơ thịt của cá Basa (*Pangasius bocourti*) cho thấy rằng C16:0 và C18:1 chiếm 30% và 40% tổng số acid béo. Hàm lượng palmitic và oleic chiếm chủ yếu trong cơ thịt cá nheo Mỹ, trong đó hàm lượng oleic > palmitic với tỉ lệ lần lượt là palmitic (10 – 18 %) và oleic (30,6 - 59,5 %) (Stickney và ctv., 1972). Kết quả xác định thành phần acid béo của một số loại dầu mỡ

Bảng 2. Thành phần acid béo (% trên tổng acid béo) trong mẫu cá tra thu tại An Giang và Đồng Tháp.

Hàm lượng acid béo	C20AG	C100AG	C600AG	C20ĐT	C200ĐT	C600ĐT
Lipit	9,10	11,46	18,76	9,51	10,69	16,25
C12:0	0,23	0,10	0,05	0,00	0,00	0,06
C14:0	3,26	3,38	2,87	2,55	3,92	3,57
C16:0	28,41	29,01	30,07	28,98	31,26	32,35
C17:0	0,35	0,29	0,11	0,21	0,19	0,13
C18:0	10,13	10,93	10,17	9,87	8,32	9,01
C20:0	0,35	0,29	0,27	0,32	0,29	0,25
C22:0	0,12	0,10	0,11	0,11	0,10	0,13
C24:0	0,12	0,10	0,11	0,11	0,10	0,06
∑SFA	42,96	44,20	43,75	42,14	44,17	45,56
C16:1	1,86	1,35	1,08	1,27	1,43	1,31
C18:1	37,25	38,49	40,78	38,22	38,34	38,86
C20:1	1,75	1,64	1,57	1,49	1,63	1,56
C22:1	0,12	0,10	0,05	0,11	0,10	0,06
∑MUFA	40,98	41,59	43,48	41,08	41,49	41,80
C18:2 n-6	13,04	12,48	11,52	14,76	12,91	11,39
C18:3 n-3	1,40	0,97	0,97	1,27	1,05	0,94
C20:5	0,35	0,10	0,05	0,11	0,10	0,06
C22:6	1,28	0,68	0,22	0,64	0,29	0,25
∑PUFA	16,07	14,22	12,76	16,77	14,34	12,64
n-3	3,03	1,74	1,24	2,02	1,43	1,25
n-6	13,04	12,48	11,52	14,76	12,91	11,39
n-3/n-6	0,23	0,14	0,11	0,14	0,11	0,11

dùng trong chăn nuôi gia súc gia cầm cũng cho thấy mỡ cá tra có hàm lượng acid oleic cao hơn các loại dầu mỡ khác với tỷ lệ khoảng 41,05% và SFA chiếm 39,95% tổng acid béo (Phuong và ctv., 2015). Các acid béo không no nhiều nối đôi chỉ chiếm từ 12,64% đến 16,77% trong tổng số các acid béo, chủ yếu là linolenic (C18:2 n-6; 11,39-14,76%) và α -linoleic (C18:3n-3; 0,94-1,40%), EPA C20:5 và DHA C22:6 đều có hàm lượng thấp, dưới 1%. Tỷ lệ n-3/n-6 trong mẫu cá nguyên con 0,11 – 0,23%, giảm dần khi kích thước cá tăng. Tuy nhiên, không có sự chênh lệch nhiều ở kích thước 100-200g, 600g. Kết quả phân tích thấp hơn so với nghiên cứu của Asdari và ctv., 2011 là 0,3 – 0,7 và nghiên cứu của Nguyễn Văn Nguyễn và Nguyễn Ngọc Trâm Anh (2013) là 0,27 – 0,31. Tỷ lệ n-3/n-6 khác nhau tùy thuộc vào các loại thức ăn khác nhau và càng giảm khi tốc độ tăng trưởng của cá càng cao (Asdari và ctv., 2011).

Thành phần, hàm lượng acid béo trong chất béo chiết xuất từ fillet cá tra tại An Giang và Đồng Tháp có mặt chủ yếu là các acid béo no (42,46-43,77%), trong đó chiếm hàm lượng cao nhất là palmitic (C16:0; 29,80-30,57%) và stearic (C18:0; 9,50-10,13%) (Bảng 3). Các acid béo khác đều có hàm lượng thấp, không thấy sự hiện diện của lauric C12:0 trong tất cả các mẫu và các acid béo no mạch dài C22, C24 trong các miếng fillet thu tại Đồng Tháp. Tỷ lệ các acid béo không bão hòa đơn MUFA tương đương tổng SFA (42,59-44,41%), chủ yếu là oleic (C18:1; 39,74-41,70%), các acid khác chiếm tỷ lệ không đáng kể. Không có sự khác biệt về tổng hàm lượng PUFA trên các mẫu fillet, trong khi hàm lượng béo thô của mẫu tại An Giang (5,96-8,42%) cao gấp nhiều lần so sánh với các mẫu Đồng Tháp (2,28-2,93%). Các acid béo không no nhiều nối đôi PUFA trong các mẫu fillet đều có hàm lượng thấp 12,37-13,97% trên tổng acid béo, thành phần chính là linoleic (11,07-12,34%) và α -linolenic (0,87-1,12%). Gần như không phát hiện được EPA (C20:5) trừ mẫu fillet cá 1 kg tại Đồng Tháp (0,12%) và DHA (C22:6) có hàm lượng rất thấp (0,24-1,12%). Kết quả phân tích tương đương với nghiên cứu của Ho và Paul, 2009 (0,76mg và 10mg/100g chất béo),

Hemung và ctv., 2010 (0,2% và 0,43%) và Karl và ctv., 2010 (0,25% và 2,9%). Số liệu phân tích tỉ lệ các acid béo n-3/n-6 đối với phi lê cá tra dao động trong khoảng 0,11-0,19%. Sự khác biệt về tỉ lệ n-3 và n-6 là do tác động chủ yếu về khía cạnh dinh dưỡng thức ăn, loại thức ăn sử dụng khác nhau sẽ ảnh hưởng đến tỉ lệ của n-3 và n-6 trong cơ thể cá. Tỷ lệ này tương đương với kết quả nghiên cứu của Karl và ctv., 2010 (0,19%), thấp hơn Urban và ctv., 2008 (0,4%) và Ho và Paul, 2009 (0,72%). Khác biệt về tỉ lệ n-3 và n-6 trong cá nguyên con và phi lê là do có sự khác biệt về hàm lượng lipid trong phi lê và trong cá nguyên con, lượng lipid của cá Tra không những có mặt trong cơ thịt phi lê mà còn tồn tại dưới lớp mỡ bụng, da và các cơ quan nội tạng của cá, đồng thời có sự phân bố khác nhau về các acid béo ở các bộ phận khác nhau của cơ thể cá.

Nhằm nâng cao chất lượng fillet, đặc biệt thành phần acid béo omega-3, thức ăn được xem như là một sự lựa chọn tốt nhất và cần được ưu tiên hàng đầu. Các loài cá nước ngọt có khả năng chuyển đổi các tiền chất linolenic acid (C18:3n-3) và linoleic acid (C18:2n-6) thành các acid béo PUFA tương ứng (Tocher và ctv., 1989; Tocher và Sargent, 1990). Một số nghiên cứu liên quan đến vấn đề tăng tích lũy HUFA trong cơ thịt fillet cá được thực hiện trong những năm qua. Manning và ctv., 2006, nghiên cứu sử dụng thức ăn bổ sung các chất đồng phân acid linoleic (conjugate linoleic acid-CLA) ở hàm lượng 0,5% và 1%, dầu bắp 3% và dầu cá mòi 1,5% cho cá nheo Mỹ ăn trong 6 tuần. Kết quả n-3 HUFA trong thịt fillet cao khác biệt có ý nghĩa ở nghiệm thức cho ăn dầu cá mòi so với dầu bắp hay hỗn hợp CLA và dầu bắp. Yildirim-Aksoy và ctv., 2007 sử dụng dầu cá mòi trong khẩu phần thức cho cá nheo và nhận thấy hàm lượng cao nhất acid béo n-3 trong fillet đạt được ở khẩu phần ăn chứa 9% dầu cá. Nghiên cứu mới nhất của Sivaramakrishnan và ctv., 2017 về nhu cầu lipid tối ưu của cá tra giống đối với tăng trưởng, tích lũy acid béo và hoạt tính enzyme tiêu hóa. Kết quả nghiên cứu cho thấy rằng khẩu phần ăn chứa 9% béo cho tỉ lệ ω -3, ω -6 trong cơ thịt cao hơn khẩu phần chứa 3% béo, đồng

Bảng 3. Thành phần acid béo (% trên tổng acid béo) trong mẫu fillet cá tra thu tại An Giang và Đồng Tháp đợt 1.

Hàm lượng acid béo	F800AG	F800ĐT	F1000AG	F1000ĐT
Lipit	5,96	2,28	8,42	2,93
C12:0	0,00	0,00	0,00	0,00
C14:0	2,97	2,79	2,71	3,06
C16:0	30,60	30,17	29,80	30,57
C17:0	0,12	0,00	0,12	0,00
C18:0	9,61	9,50	10,13	9,61
C20:0	0,24	0,00	0,24	0,44
C22:0	0,12	0,00	0,12	0,00
C24:0	0,12	0,00	0,12	0,00
ΣSFA	43,77	42,46	43,23	43,67
C16:1	1,19	1,12	1,06	1,31
C18:1	39,74	40,78	41,70	40,17
C20:1	1,54	1,68	1,53	1,75
C22:1	0,12	0,00	0,12	0,00
ΣMUFA	42,59	43,58	44,41	43,23
C18:2 n-6	12,34	11,73	11,07	11,35
C18:3 n-3	1,07	1,12	0,94	0,87
C20:5	0,00	0,00	0,12	0,00
C22:6	0,24	1,12	0,24	0,87
ΣPUFA	13,64	13,97	12,37	13,10
n-3	1,30	2,23	1,30	1,75
n-6	12,34	11,73	11,07	11,35
n-3/n-6	0,11	0,19	0,12	0,15

thời cũng cho kết quả tốt hơn về miễn dịch ở các chỉ số huyết học, tối ưu hóa theo hồi quy tuyến tính cho rằng 10,1% béo cho kết quả tốt nhất. Tỷ lệ n-3/n-6 là chỉ tiêu rất quan trọng cần phải xem xét khi xác định hàm lượng chất béo trong khẩu phần nhiều loại vật nuôi (Greenberg và ctv., 1950; Watanabe 1982; Henderson và Tocher, 1987; Garg và ctv., 1988). Cá nước ngọt có nhiều acid béo n-6 hơn cá biển, tỷ lệ n-6/n-3 PUFA nhiều loại cá nước ngọt nằm trong khoảng 0,5 – 3,8 (Tocher, 2003). Kết quả phân tích cho thấy cá Tra nuôi có tỷ lệ n-3/n-6 thấp (0,11 – 0,23 đối với cá nguyên con; 0,11-0,19 trên fillet), ngược lại cá nheo Mỹ sống trong tự nhiên tỷ lệ này lên đến 1,2 – 1,3 (Joyce, 2000).

Các nghiên cứu về ảnh hưởng của tỷ lệ n-3/n-6 lên tăng trưởng của động vật thủy sản thường tập trung vào việc điều chỉnh tỷ lệ hai acid béo thiết yếu LOA (n-6), LNA (n-3) hay ARA (n-6), DHA (n-3) (Yu và Sinnhuber 1979; Xu và ctv., 1993; Kanazawa 1992). Rasal và ctv., 2016 nhận thấy rằng khi cho ăn có bổ sung 5; 10; 15 và 20 g kg⁻¹ n-3 α-linolenic acid thì Δ6 FADS enzyme, thể hiện khả năng tổng hợp HUFA ở cá Tra có thể tăng lên. Nhìn chung đây là nghiên cứu mới, tập trung vào việc sử dụng các nguyên liệu giàu chất béo thiết yếu để tăng hàm lượng acid béo và tăng trưởng của cá Tra. Tuy nhiên cần có những nghiên cứu về tỷ lệ bổ sung n-3 thích hợp trong khẩu phần dựa trên tham khảo

nhu cầu linolenic acid (18:3n-3) của cá da trơn Mỹ trong khoảng 1 – 2% (Satoh và ctv., 1989). Hàm lượng acid béo n-3 quá cao gây mất cân bằng giữa tỷ lệ n-3/n-6, ảnh hưởng đến quá trình sinh tổng hợp chất béo và tăng trưởng của cá. Nguyên nhân cơ chế trong đó acid béo n-6 LOA có thể chuyển hóa thành ARA, acid béo n-3 ALA có thể chuyển hóa thành EPA và DHA và cả hai quá trình này cạnh tranh cùng một loại enzyme $\Delta 6$ -desaturase cần thiết cho quá trình chuyển hóa acid béo, đây là điểm cần chú ý khi tổ hợp công thức thức ăn cho các giai đoạn phát triển gia tăng tích lũy hàm lượng HUFA trong cơ thịt của cá Tra.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

Giữa các loại dầu và nguyên liệu giàu chất béo, dầu cò có hàm lượng acid béo no cao nhất (42,95%), Dầu cá hồi và dầu cá mè chứa hàm lượng cao HUFA (5,96% và 24,2%), trong khi đó, các loại dầu thực vật không tồn tại HUFA. Giữa các acid béo chưa no một và nhiều nối đôi, acid oleic (C18:1) và linoleic (C18:2) chiếm tỉ lệ cao nhất.

Hạt lanh và dầu hạt cải chứa nhiều acid n-3 α -linolenic, trong khi dầu đậu nành, dầu hướng dương, dầu mè, dầu cám và dầu đậu phộng nguồn cung cấp chủ yếu acid n-6 linoleic C18:2n-6. Đây là các acid béo không no thiết yếu và là tiền chất cho quá trình sinh tổng hợp các acid béo không no nhiều nối đôi ω -3, ω -6. Các loại dầu thực vật khác hàm lượng các acid béo trên thấp hoặc không đáng kể. Dầu cá hồi và dầu cá mè chứa hàm lượng cao HUFA (5,96% và 24,2%), trong khi đó không phát hiện được các nhóm acid béo này ở các loại dầu thực vật.

Tổng acid béo trong cơ thể cá thay đổi tỉ lệ thuận với kích thước và tương ứng với hàm lượng lipid trong cơ thể cá. *Hàm lượng acid béo no* cao nhất ở cá cỡ 600g (45,56%) và thấp nhất trong cá 20g tại Đồng Tháp (42,14%), chủ yếu là palmitic (28,41-32,35%). Các acid béo MUFA có giá trị từ 40,98% đến 43,48% so với tổng số acid béo, trong đó acid oleic chiếm tỉ lệ chủ yếu ở tất cả các cỡ cá từ 37,25% đến 40,78%. Acid béo PUFA chỉ chiếm từ 12,64%

đến 16,77% tổng số acid béo, EPA C20:5 và DHA C22:6 đều có hàm lượng thấp, dưới 1%.

Thành phần, hàm lượng acid béo trong chất béo chiết xuất từ phi lê cá tra tại An Giang và Đồng Tháp chủ yếu là các acid béo no (42,46-43,77%), chiếm hàm lượng cao nhất là palmitic (C16:0; 29,80-30,57%) và stearic (C18:0; 9,50-10,13%). Tỷ lệ các acid béo MUFA tương đương tổng SFA (42,59-44,41%), chủ yếu là oleic (C18:1; 39,74-41,70%). Hàm lượng acid béo PUFA trên mẫu phi lê cá Tra rất thấp, đặt biệt C20:5 và C22:6.

Tỉ lệ n-3/n-6 trong mẫu cá nguyên con từ 0,11 – 0,23%, giảm dần khi kích thước cá tăng. Tuy nhiên, không có sự chênh lệch nhiều ở kích thước 100-200g, 600g. Kết quả phân tích tỷ lệ giữa n-3:n-6 đối với fillet cá tra cũng cho kết quả tương tự, dao động trong khoảng 0,11-0,19%.

Nghiên cứu thiết lập công thức ăn cho cá tra ở các giai đoạn phát triển theo hướng bổ sung các acid béo thiết yếu từ nguồn nguyên liệu giàu n-3 α -linolenic, n-6 linoleic và ω -3 như dầu cá hồi, cá mè, hạt lanh, dầu hạt cải, dầu đậu nành, dầu cám trong sản xuất thức ăn nâng cao hàm lượng các omega-3 và HUFA trong cơ thịt cá tra. Ngoài ra cần nghiên cứu tỷ lệ tối ưu các acid béo, không gây mất cân bằng giữa tỷ lệ n-3/n-6 nhằm đạt hiệu quả tối đa trong quá trình sinh tổng hợp các acid béo omega-3.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tiếng Việt

- Trần Thị Lệ Diệu, 2002. Tìm hiểu về cá Tra và sản xuất thử nghiệm một số sản phẩm từ loài cá này. Luận văn cao học, ĐHBK Tp.HCM.
- Nguyễn Văn Nguyễn, Nguyễn Ngọc Trâm Anh, 2013. Đặc điểm lipid và acid béo của cá tra giống (*Pangasianodon hypophthalmus*). Tạp chí Khoa học và Công nghệ, Volum 51, Number 6, 2013, tr. 719 – 728.
- Lê Thanh Phương, Lưu Hữu Mạnh, Nguyễn Nhật Xuân Dung, 2015. Xác định thành phần acid béo của một số loại dầu mỡ dùng trong chăn nuôi gia súc gia cầm. Kỹ yếu Hội nghị Khoa học Chăn nuôi Thú y toàn quốc, Tháng 4/2015, tr. 224-231.

Tài liệu tiếng Anh

- Asdari R., Aliyu-Paiko M., Hashim R., Ramachandran S., 2011. Effects of different dietary lipid sources in the diet for *Pangasius hypophthalmus* (Sauvage, 1878) juvenile on growth performance, nutrient utilization, body indices and muscle and liver fatty acid composition. *Aquaculture Nutrition*, 17(1), pp. 44–53.
- Brian Hallahan and Malcolm R. Garland, 2005. Essential fatty acids and mental health. *The British Journal of Psychiatry*. Volume 186, Issue 4, pp. 275-277
- Castell J.D., Sinnhuber R.O, Wales J.H., Lee J.D., 1972. Essential fatty acids in the diet of rainbow trout (*Salmo gairdneri*): growth, feed conversion and some gross deficiency symptoms. *Journal of Nutrition* 102, pp. 77–86.
- Das A., Samanta S.K., 1998. Genetic analysis of content and fatty acids in sesame (*Sesame seed L.*). *Crop Research*, 15, pp. 199-205.
- David S., Francis, Giovanni M., Turchini, Paul L., Jones, Sena S. De Silva, 2006. Effects of dietary oil source on growth and fillet fatty acid composition of Murray cod (*Maccullochella peelii*). *Aquaculture* 253, pp. 547–556.
- Douglas R. Tocher, 2003. Metabolism and Functions of Lipids and Fatty Acids in Teleost Fish. *Fisheries Science* 11:2, pp. 107-184.
- Garg M.L., Sebokova E., Thomson A.B.R., Clandinin M.T., 1988. $\delta 6$ -desaturase activity in liver microsomes of rats fed diets enriched with cholesterol and/or $\omega 3$ fatty acids. *Biochemical Journal* 249: 351–356.
- Glencross B.D., 2009. Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. *Reviews in Aquaculture* 1, pp. 71–124.
- Greenberg D.M., Calbert C.E., Savage E.E., Deuel H.J., 1950. The effect of fat level of the diet on general nutrition. VI. The interrelation of linoleate and linolenate in supplying the essential fatty acid requirements in the rat. *Journal of Nutrition* 41: 473–486.
- Hardy R.W., Scott T.M., Harrell L.W., 1987. Replacement of herring oil with menhaden oil, soybean oil, or tallow in the diets of Atlantic salmon raised in marine net-pens. *Aquaculture* 65, pp. 267–277.
- Hemung Bung-Orn, Visetsunthorn Anutra, Pariwat Somprasong, 2010. Chemical properties and fatty acid profile of lipids extracted from freshwater fish species. *Food Innovation Asia Conference*.
- Henderson R.J., Tocher D.R., 1987. The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. *Progress in Lipid Research* 26, pp. 281–347.
- Ho, B. T., and Paul, D. R., 2009. Fatty acid profile of Tra Catfish (*Pangasius hypophthalmus*) compared to Atlantic Salmon (*Salmo solar*) and Asian Seabass (*Lates calcarifer*). *International Food Research Journal*, 16, pp. 501-506.
- Kalogeropoulos N., Alexis M.N., Henderson R.J., 1992. Effects of dietary soybean and cod-liver oil levels on growth and body composition of Gilthead Bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 104, pp. 293–308.
- Kanazawa A., 1992. Recent advances in penaeid nutrition in Japan. In: Allan G.L., Dall W. (eds). *Proceedings of the Aquaculture Nutrition Workshop*, pp. 64–71; NSW Fisheries, Brackish Water Fish Culture Research Station, Salamander Bay, Australia. NSW Fisheries.
- Karl H., Lehmann I., Rehbein H., Schubring R., 2010. Composition and quality attributes of conventionally and organically farmed *Pangasius* fillets (*Pangasius hypophthalmus*) on the German market. *Int. J. Food. Sci. Tech.*, 45, pp. 56–66.
- Kennish J.M., Sharp-Dahl J.L., Chambers K.A., Thrower F., Rice S.D., 1992. The effect of a herring diet on lipid composition, fatty acid composition, and cholesterol levels in the muscle tissue of pen-reared chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Aquaculture* 108, pp.309–322.
- Manning, B. B., Li, M. H., Robinson, E. H., and Peterson, B. C., 2006. Enrichment of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fillets with conjugated linoleic acid and omega-3 fatty acids by dietary manipulation. *Aquaculture* 261, 337-342.
- Ohlrogge J.B., Jaworski J.G., 1991. Regulation of fatty acid synthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 48, pp. 109–136.
- Orban E., Nevigato T., Gabriella Di Lena, Maurizio Masci, Irene Casini, Loretta Gambelli, Roberto Caproni, 2008. New trends in the seafood market, Sutchi catfish (*Pangasius hypophthalmus*) fillet from Vietnam, Nutritional quality and safety aspects. *Food Chemistry* 110, pp.383–389.
- O’Neal, Clifford C., 2005. Effect of dietary lipids on fatty acid composition and hematological

- parameters of channel catfish *Ictalurus punctatus* exposed to different temperature challenges. Southern Illinois University At Carbondale, pp.164.
- Phumee, P., Wei, W. Y., Ramachandran, S., & Hashim, R., 2011. Evaluation of soybean meal in the formulated diets for juvenile *Pangasianodon hypophthalmus*. *Aquaculture Nutrition* 17, pp. 214-222.
- Pornpisanu Thammapat, Patcharin Raviyan, Sirithon Siriamornpun, 2010. Proximate and fatty acids composition of the muscles and viscera of Asian catfish (*Pangasius bocourti*). *Food Chemistry* 122, pp. 223–227.
- Rasal A., Roy S., Rana R.S., Murali S., Krishna G., Gupta S., Gireesh-Babu P., 2016. Molecular cloning and nutritional regulation of putative Δ 6 desaturase mRNA from striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Aquaculture* 451, 413-420.
- Rawn J.D., 1989. *Biochemistry*. Neil Patterson Publishers, Burlington.
- Runge G., Steinhart H., Schwarz F.J., Kirchgebner M., 1987. Influence of different fats with varying addition of α -tocopherol acetate on the fatty acid composition of carp (*Cyprinus carpio L.*). *Fat Sci Technol* 89, pp. 389-393.
- Ruyter B., Rosjo C., Einen O., Thomassen M.S., 2000. Essential fatty acids in Atlantic salmon: time course of changes in fatty acid composition of liver, blood and carcass induced by a diet deficient in n-3 and n-6 fatty acids. *Aquaculture Nutrition* 6, pp. 109–118.
- Santha C.R., Gatlin D.M. III., 1991. Growth response and fatty acid composition of channel catfish fry fed practical diets supplemented with menhaden fish oil. *Progressive Fish Culturist* 53, pp. 135–140.
- Sargent J.R., Bell J.G., Bell M.V., Henderson R.J., Tocher D.R., 1993. The metabolism of phospholipids and polyunsaturated fatty acids in fish. *Coastal and Estuarine Studies*, pp. 103–124.
- Satoh S., Poe W., and Wilson R. P., 1989. Effect of Dietary n-3 Fatty Acids on Weight Gain and Liver Polar Lipid Fatty Acid Composition of Fingerling Channel Catfish. *J. Nutr.* 119, pp. 23-28.
- Sink T. D., Lochmann R. T., 2008. Effects of dietary lipid source and concentration on channel catfish (*Ictalurus punctatus*) egg biochemical composition, egg and fry production, and egg and fry quality. *Aquaculture* 283, pp. 68–76.
- Sivaramakrishnan, T., Sahu, N. P., Jain, K. K., Muralidhar, A. P., Saravanan, K., Ferosekhan, S., Praveenraj, J., and swaran, N. A., 2017. Optimum dietary lipid requirement of *Pangasianodon hypophthalmus* juveniles in relation to growth, fatty acid profile, body indices and digestive enzyme activity. *Aquaculture International* 25(2): 941-954.
- Stickney, R. R., & Andrews, J. W., 1972. Effects of Dietary Lipids on Growth, Food Conversion, Lipid and Fatty Acid Composition of Channel Catfish. *The Journal of Nutrition*, 102(2), pp. 249–257.
- Tinoco J., 1982. Dietary requirements and functions of a-linolenic acid in animals. *Progress in Lipid Research* 21, pp. 1–45.
- Tocher D.R., Carr J., Sargent J.R., 1989. Polyunsaturated fatty acid metabolism in fish cells: differential metabolism of n-3 and n-6 series fatty acids by cultured cells originating from a freshwater teleost fish and from a marine teleost fish. *Comparative Biochemistry and Physiology – Part B* 94: 367–374.
- Tocher D.R., Sargent J.R., 1990. Effect of temperature on the incorporation into phospholipid classes and metabolism via desaturation and elongation of n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids in fish cells in culture. *Lipids* 25:435–442.
- Watanabe T. 1982. Lipid nutrition in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology – Part B* 73: 3–15.
- Xu X., Ji W., Castell J.D., O’Dor R., 1993. The nutritional value of dietary n-3 and n-6 fatty acid for the Chinese prawn (*Penaeus chinensis*). *Aquaculture* 118: 277–285.
- Yildirim-Aksoy, M., Shelby, R., Lim, C., and Klesius, P. H., 2007. Growth Performance and Proximate and Fatty Acid Compositions of Channel Catfish, *Ictalurus punctatus*, Fed for Different Duration with a Commercial Diet Supplemented with Various Levels of Menhaden Fish Oil. *Journal of the World Aquaculture Society* 38(4): 461–474.
- Yu T.C., Sinnhuber R.O., 1979. Effect of dietary ω 3 and ω 6 fatty acids on growth and feed conversion efficiency of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Aquaculture* 16: 31–38.

**CHARACTERISTICS OF FATTY ACID COMPOSITION
OF SEVERAL LIPID INGREDIENTS AND TRA CATFISH
(*Pangasius hypophthalmus*)
AT DIFFERENT DEVELOPMENTAL STAGES**

Le Hoang^{1*}, Tran Thi Le Trinh¹, Ly Huu Toan¹, Vo Thi Quynh Nhu¹, Nguyen Van Nguyen¹

ABSTRACT

This study aimed to investigate the fatty acid composition of several lipid ingredients and striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) at various growth stages. Fatty acid profiles were analyzed using GC/FID. The results showed that short-chain fatty acids (SFA) were the highest content (42.14–45.56%), followed by monounsaturated fatty acids, MUFA (40.98–43.48%), and polyunsaturated fatty acids, PUFA (12.64–16.77%). Commercial -size fillets contained high SFA (42.0–43.39%) and low PUFA (13.64–17.65%) which dominantly containing linoleic acid (44–59%) in total PUFA. Total n-3 PUFA in fillets of different commercial sizes and farming regions was rather low and ranging from 1.30 to 2.23%. Remarkable differences of fatty acid profiles were characterized among the lipid ingredients. Palmitic acid (C16:0; 19.41–37.4%), oleic acid (C18:1; 48.30–60.0%) and linoleic acid (C18:2; 54.01–54.7%), respectively, were the dominant fatty acids in the certain vegetable oils such as rice bran oil, palm oil, sesame oil, rapeseed oil, sunflower oil, and soybean oil. High levels of EPA (2.66-16.93%) and DHA (3.3–7.27%) were observed in salmon oil and sardine oil, while flaxseed had a significantly higher content of alpha-linolenic acid (C18:3n-3; 21.9%). The studied results revealed that salmon oil, sardine oil, and flaxseed containing ω -3 fatty acids, are the appropriate lipid ingredients for feed manufacturing to enrich omega-3 and HUFA in striped catfish.

Keywords: *fatty acid profiles, fat-providing ingredients, fillet, lipid, tra catfish.*

Người phân biện: TS. La Xuân Thảo
Ngày nhận bài: 18/9/2019
Ngày thông qua phân biện: 13/10/2019
Ngày duyệt đăng: 27/10/2019

Người phân biện: PGS.TS Ngô Hữu Toàn
Ngày nhận bài: 25/9/2019
Ngày thông qua phân biện: 18/10/2019
Ngày duyệt đăng: 27/10/2019

NÂNG CAO GIÁ TRỊ DINH DƯỠNG BÃ SỮA ĐẬU NÀNH BẰNG THỦY PHÂN VÀ LÊN MEN KẾT HỢP ENZYME CELLULASE VÀ VI KHUẨN *Bacillus subtilis* B3

Trần Văn Khanh^{1*}, Nguyễn Văn Nguyễn¹, Lê Hoàng¹, Nguyễn Xuân Hai¹,
Nguyễn Thành Trung¹, Trần Thị Lệ Trinh¹, Nguyễn Thị Ngọc Tĩnh¹

TÓM TẮT

Nâng cao giá trị dinh dưỡng phụ phẩm từ ngành công nghiệp chế biến sữa đậu nành bằng công nghệ sinh học để sử dụng làm thức ăn chăn nuôi đang được chú trọng mạnh. Việc nghiên cứu tạo ra sản phẩm nâng cao dinh dưỡng thành dạng dễ hấp thu còn nhiều hạn chế, đặc biệt đối với nguyên liệu làm thức ăn cho thủy sản.

Thí nghiệm tiến hành thủy phân bã sữa đậu nành bằng enzyme cellulase đồng thời lên men bán rắn bã sữa đậu nành khi bổ sung vi khuẩn *Bacillus subtilis* B3. Tiến hành khảo sát các điều kiện lên men tối ưu trong thời gian từ 24 giờ đến 96 giờ, lấy mẫu và đánh giá mật độ vi khuẩn. Đánh giá chất lượng sản phẩm thông qua các chỉ tiêu thành phần hóa học, mức độ thủy phân protein bằng phương pháp Lowry và protein kháng dinh dưỡng bằng phương pháp điện di và mức độ phá vỡ vách tế bào cellulose của bã sữa dưới kính hiển vi.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, điều kiện tối ưu cho việc thủy phân và lên men bán rắn bã sữa đậu nành với enzyme cellulase và vi khuẩn *Bacillus subtilis* B3 được xác định ở nhiệt độ 37°C và pH là 6,5 và vi khuẩn đạt mật độ cao sau 48 giờ. Thành phần dinh dưỡng bã sữa đậu nành lên men được cải thiện với hàm lượng xơ giảm 12,54%, hàm lượng protein tan tăng và protein kháng dinh dưỡng đã được thủy phân hầu như hoàn toàn (< 20 KDa). Do đó, nguyên liệu sau khi lên men bán rắn bằng vi khuẩn *Bacillus subtilis* B3 kết hợp với thủy phân bằng enzyme cellulase có giá trị dinh dưỡng cao, có thể sử dụng để làm nguyên liệu cho thức ăn thủy sản.

Từ khóa: *Bacillus subtilis* B3, bã sữa đậu nành, lên men bán rắn.

I. GIỚI THIỆU

Hiện nay với nhu cầu phát triển thực phẩm từ nông nghiệp, các phụ phẩm cày dư thừa đáng kể. Trong đó, bã sữa đậu nành (BSDN) là phần còn lại của đậu nành từ công nghiệp chế biến sữa. Khoảng 1,1 kg bã sữa đậu nành tươi được sản xuất từ 1 kg đậu nành chế biến đậu hũ hoặc sữa đậu nành (Khare và ctv., 1995). Hàng năm khoảng 500 triệu lít sữa đậu nành được sản xuất, ước tính khoảng 20.000 tấn phụ phẩm từ bã sữa từ nhà máy Vinasoy (Bùi Thị Thùy Dương, 2019).

Protein của BSDN gồm hai protein chính 7S globulin và 11S globulin (Singh và ctv., 2015), hai protein này có phân mảnh chính là β -conglycinin và glycinin, đây là hai kháng protein chính trên đậu nành (Feng và ctv., 2007; Shiu và ctv., 2015). Protein của đậu nành cũng đã được chứng minh có ảnh hưởng đến tiêu hóa của

pepsin, mật và đường ruột của cá hồi và cá cam Nhật (Heikkinen và ctv., 2006; Matsunari và ctv., 2010; Nguyen Thanh Trung và ctv., 2016).

Việc sử dụng bã sữa đậu nành trong sản xuất thức ăn thủy sản vẫn còn hạn chế, do một số loài cá trong đường ruột không chứa những loại enzyme tiêu hóa chất xơ, do đó khả năng tiêu hóa chất này rất hạn chế, đặc biệt là những loài ăn động vật (Chakrabarti và ctv., 1995). Nghiên cứu sử dụng phụ phẩm từ chế biến sữa đậu nành ở mức 10% và 20% trong khẩu phần ăn của tôm thẻ chân trắng được thử nghiệm tại Hawaii năm 2010, kết quả tôm tăng trưởng kém và có độ tiêu hóa ở mức thấp 18,2% (Forster và ctv., 2010). Vì vậy để cải thiện khả năng tiêu hóa thức ăn có chứa tỷ lệ chất xơ cao, việc bổ sung enzyme tiêu hóa chất xơ và lên men nguyên liệu bằng vi khuẩn trước khi làm thức ăn cần được quan tâm.

Các nghiên cứu nhằm nâng cao khả năng

¹ Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II

* Email: tvkhanh76@yahoo.com

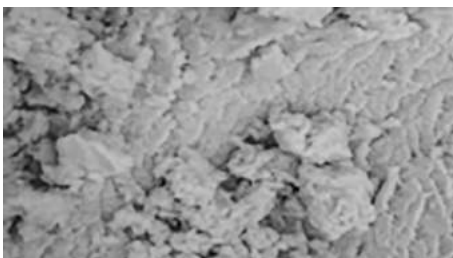
tiêu hóa và hấp thụ các chất dinh dưỡng trong phụ phẩm từ chế biến sữa đậu nành đã được nghiên cứu trước đây (Kasai và ctv., 2004), đã tiến hành thí nghiệm tiêu hóa vách tế bào phụ phẩm từ chế biến sữa đậu nành, enzyme cellulase thủy phân vách cellulose sơ cấp, ở vách tế bào thứ cấp gồm galacturonic acid, đường và protein, nghiên cứu này sử dụng pectinase để thủy phân vách tế bào thứ cấp. Kết quả cho thấy hỗn hợp enzyme đã tiêu hóa được 83-85% tế bào phụ phẩm từ chế biến sữa đậu nành thô. Ngoài việc thủy phân bằng enzyme, việc lên men bằng vi khuẩn trên bã sữa đậu nành cũng được nghiên cứu trước đây, như chống oxy hóa từ *Bacillus natto* (Yokota và ctv., 1996; Hu và ctv., 2010; Mateos-Aparicio và ctv., 2010) tạo nattokinase từ *Bacillus subtilis*, tăng hàm lượng peptide (Oh và ctv., 2006; Sanjukta và Rai, 2016).

Chủng vi sinh *Bacillus subtilis* B3 là sản phẩm của đề tài “Hoàn thiện và sản xuất thử nghiệm chế phẩm vi sinh BioShrimp-RIA2 phòng bệnh do *Vibrio* spp. gây ra trên tôm nuôi” có khả năng sinh enzyme ngoại bào như protease, caseinase, amylase và cellulase có hoạt tính mạnh, được phân lập từ hệ tiêu hóa của tôm thẻ. Sử dụng vi khuẩn này nhằm mục đích gia tăng giá trị cho BSN thông qua giải pháp kết hợp thủy phân và lên men bán rắn tạo nguồn nguyên liệu mới để hấp thụ, dinh dưỡng cao, loại bỏ vách cellulose trong tế bào và giúp cải thiện hệ tiêu hóa.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

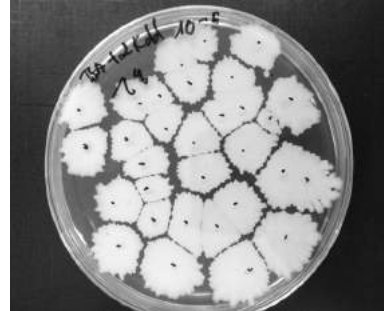
2.1. Vật liệu thí nghiệm

Bã sữa đậu nành có nguồn gốc từ nhà máy chế biến sữa Vinasoy, Bình Dương.



Hình 1. Bã sữa đậu nành từ nhà máy chế biến sữa Vinasoy

Vi khuẩn *Bacillus subtilis* B3 là chủng được phân lập từ hệ tiêu hóa của tôm, được sử dụng để lên men bán rắn với mật độ vi khuẩn đạt khoảng 10^7 CFU/gam được pha loãng 100 lần từ môi trường gốc $\sim 10^9$ CFU/gam.



Hình 2. Vi khuẩn *Bacillus subtilis* B3 sử dụng trong thí nghiệm lên men bán rắn.

Enzyme cellulase thương mại từ Công ty Rừng Biển, hoạt độ tối ưu 7.000 U/gam tại nhiệt độ 37°C và pH 6,5.

2.2. Phương pháp thí nghiệm

2.2.1. Xác định hoạt độ cellulase thích hợp cho quá trình lên men

Vi khuẩn *Bacillus subtilis* B3 đã được khảo sát có hoạt tính cellulase, dịch lên men từ vi khuẩn tại 24 giờ và 48 giờ được xác định hoạt độ cellulase thông qua hàm lượng đường khử theo phương pháp (Miller, 1959). Phương pháp này dựa trên cơ sở phản ứng tạo màu giữa đường khử với thuốc thử Acid Dinitrosalicylic - DNS. Cường độ màu của hỗn hợp phản ứng tỷ lệ thuận với nồng độ đường khử tại bước sóng 530 nm.

Dựa trên hàm lượng đường khử, xác định độ thủy phân tối ưu của cellulase thương mại khi phá vỡ vách tế bào sơ cấp của cơ chất của 200g bã sữa đậu nành tại nhiệt độ 37°C trong 24 giờ ở các hoạt độ của enzyme từ 12 U/g, 24 U/g, 35 U/g và 54 U/g, sau đó lựa chọn hoạt độ thích hợp để thực hiện việc lên men (khoảng 50U/g theo Kasai và ctv., (2004)).

2.2.2. Lên men kết hợp thủy phân

Lên men bán rắn ở khay chứa 7 kg, lặp lại 3 lần, đặt trong tủ lên men 100 lít, quá trình lên men tối ưu được thanh trùng sau đó thủy phân bằng vi khuẩn *Bacillus subtilis* B3 kết hợp với enzyme cellulase, có bổ sung môi trường khoáng cho quá trình lên men bán rắn 2 g/L KH_2PO_4 , 5

g/L NaCl và dextrose 5 g/L. Sản phẩm sau khi lên men đánh giá sự thủy phân vách cellulose, protein tan và phân đoạn protein. Xác định mật độ vi khuẩn *Bacillus subtilis* B3 theo phương pháp tiêu chuẩn (BS EN 15784, 2009).

a. Ảnh hưởng của thời gian lên men

Ảnh hưởng của thời gian lên men được khảo sát ở điều kiện nhiệt độ 37°C, pH 6,5, độ dày nguyên liệu 3 cm, thời gian khảo sát 96 giờ. Mẫu được lấy ra theo thời gian 24 giờ/lần để xác định mật độ vi khuẩn.

b. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên men

Ảnh hưởng của nhiệt độ lên men bán rắn kết hợp với thủy phân bằng enzyme cellulase được khảo sát ở điều kiện nhiệt độ 30, 37 và 40°C, pH 6,5, độ dày nguyên liệu 3 cm, mẫu được thu để xác định mật độ vi khuẩn.

c. Ảnh hưởng của giá trị pH

Đo mật độ vi khuẩn của thí nghiệm xác định ảnh hưởng của pH của môi trường lên men được ở điều kiện pH 6,0; 6,5 và 7, có độ dày nguyên liệu 3 cm, thời gian và nhiệt độ từ các kết quả khảo sát thí nghiệm trên.

2.3. Đánh giá chất lượng sản phẩm

Từ kết quả xác định xử lý phụ phẩm bã sữa đậu nành bằng vi khuẩn *B. subtilis* B3 và kết hợp thủy phân bằng enzyme, sản phẩm được tiến hành phân tích và đánh giá hàm lượng dinh dưỡng gồm hàm lượng ẩm (%) được xác định theo phương pháp TCVN 4326:2001, protein thô (%) theo TCVN 4328-1:2007, lipid thô (%)

theo AOAC 920.39, tro (%) theo TCVN 4327-2007, xơ (%) theo TCVN 4329:2007, protein tan và acid amin tự do theo phương pháp Lowry.

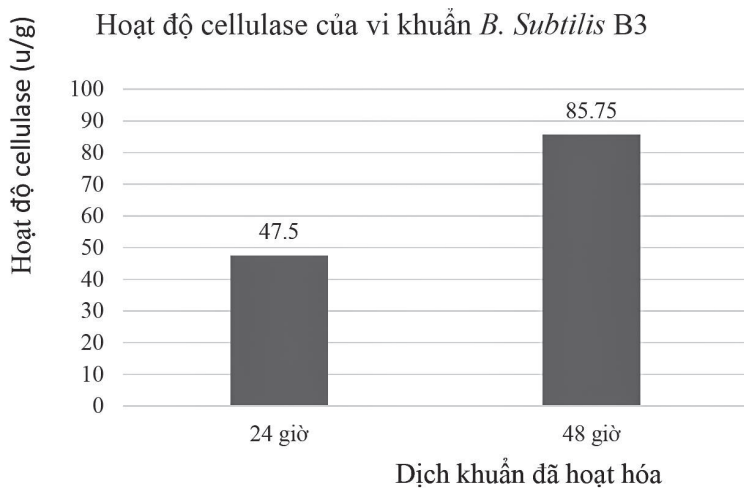
Vách tế bào sơ cấp và thứ cấp cellulose của bã sữa bằng phương pháp nhuộm Hematoxylin & Eosin và đọc kết quả trên kính hiển vi JVC (TK-C1380E).

Phân đoạn protein bằng phương pháp điện di SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) để nhận diện sự có mặt của protein kháng dinh dưỡng ở nhóm conglycinin gồm: α'-conglycinin (72 kDa), α-conglycinin (68 kDa) và β-conglycinin (52 kDa) và ở nhóm glycinin gồm acidic (37 kDa) và basic (20 Kda).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định hoạt độ cellulase thích hợp cho quá trình lên men

Hoạt độ cellulase của vi khuẩn *Bacillus subtilis* B3 ở các thời điểm hoạt hóa khác nhau được thể hiện trong Hình 3. Môi trường sau lên men cho thấy có sự gia tăng hoạt độ gần gấp đôi (85,75 U/ml) sau 48 giờ hoạt hóa trong môi trường dinh dưỡng so với tại thời điểm 24 giờ. Tuy nhiên, hoạt độ cellulase của vi khuẩn khi lên men đã được pha loãng 100 lần (10⁷ CFU/gam) tương đương 8,5 U/ml, thấp so với nghiên cứu của Kasai và *ctv.*, (2004) tại hoạt độ enzyme cellulase khoảng 50 U/g khi bổ sung để thủy phân vách tế bào bã sữa đậu nành, do đó cần thiết phải bổ sung thêm enzyme khi thủy phân hòa toàn BSDN.



Hình 3. Hoạt độ cellulase của vi khuẩn *Bacillus subtilis* B3 ở các thời điểm hoạt hóa khác nhau.

Xác định hoạt độ tối ưu của cellulose cho quá trình thủy phân

Bảng 1. Hàm lượng glucose ở các hoạt độ khác nhau của cellulose trên bã sữa đậu nành

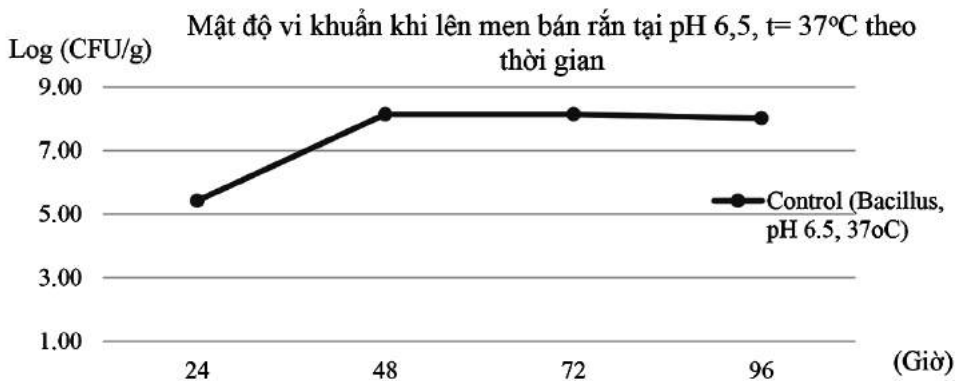
Enzyme cellulase (U/gam mẫu)	Glucose ($\mu\text{g/g}$)
14	2.109 \pm 351,6
24	2.168 \pm 224,9
35	2.627 \pm 563,5
54	3.388 \pm 262,4

Kết quả glucose từ thủy phân vách tế bào, ở hoạt độ 54 U/g cho thấy glucose tạo ra cao nhất (3.388 \pm 262,4 $\mu\text{g/g}$). Tuy nhiên, hoạt độ này (54 U/g) cao gấp 1,5 lần so với 35 U/g (2.627 \pm 563,5 $\mu\text{g/g}$) nhưng lượng glucose tạo ra chỉ tăng gấp 1,3 lần. Do đó, về hiệu quả kinh tế, hoạt độ enzyme cellulase được chọn bổ sung ở mức 35 U/gam mẫu.

3.2. Khảo sát quá trình lên men kết hợp giữa enzyme cellulase và *Bacillus subtilis* B3.

3.2.1. Ảnh hưởng của thời gian lên men

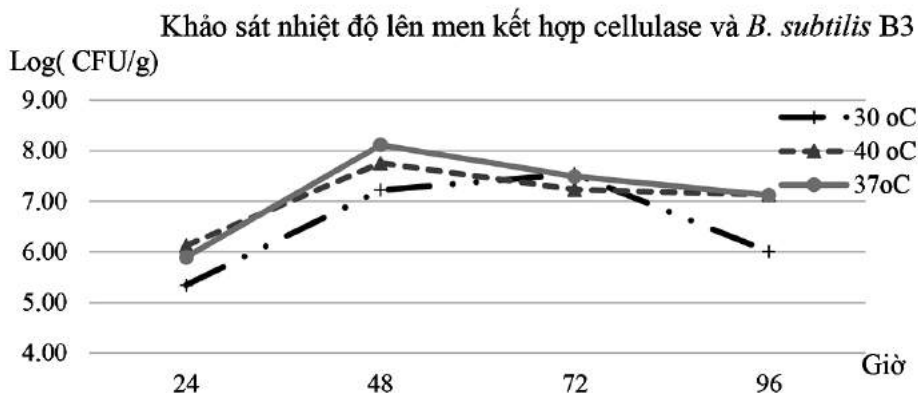
Kết quả khảo sát mật độ vi khuẩn lên men bán rắn *B. subtilis* B3 trong 96 giờ để xác định được mật độ tối ưu thể hiện trong Hình 4.



Hình 4. Mật độ vi khuẩn (CFU/g) theo thời gian khi lên men kết hợp cellulase và *B. subtilis* B3

Kết quả cho thấy việc lên men bán rắn (CFU/g) và duy trì tiếp tục đến 96 giờ sau khi kết hợp giữa thủy phân bằng enzyme cellulase lên men. cho thấy sau 48 giờ đạt mật độ tối ưu Log =8,1

3.2.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên men

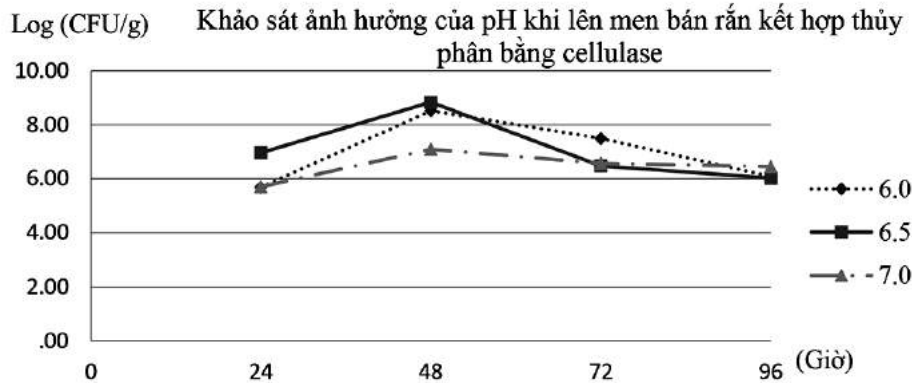


Hình 5. Mật độ vi khuẩn *B. subtilis* B3 ở các nhiệt độ lên men bán rắn khác nhau khi kết hợp thủy phân.

Khi lên men kết hợp thủy phân (Hình 5) cho thấy ở 24 giờ đầu tại nhiệt độ 40°C có mật độ *B. subtilis* B3 (Log=6,12 CFU/g) cao hơn không đáng kể so với tại 37°C (Log=5,90 CFU/g). Tuy nhiên sau 48 giờ lên men, các nghiệm thức cho thấy đạt mật độ cao nhất tại thời điểm này, cao nhất ở 37°C (Log=8,11 CFU/g), tiếp theo tại 40°C (Log=7,76 CFU/g), trong khi đó tại nhiệt độ 30°C cho thấy luôn duy trì mật độ vi khuẩn

thấp hơn so với 37°C và 40°C trong 48 giờ đầu tiên. Từ 72 giờ đến 96 giờ, mật độ vi khuẩn ở 40°C và 37°C cho thấy giảm rõ rệt, mặc dù tại thời điểm 72 giờ vi khuẩn ở nhiệt độ 30°C tăng mạnh nhưng vẫn tương đương so với tại 37°C và tại 96 giờ cho thấy mật độ thấp nhất trong các nhiệt độ khảo sát.

3.2.3. Ảnh hưởng của giá trị pH



Hình 6. Mật độ *B. subtilis* B3 khi lên men bán rắn kết hợp với thủy phân bằng cellulase ở các pH khác nhau.

Từ Hình 6 cho thấy tại pH 6,5 ở 48 giờ đầu tiên khi lên men bán rắn kết hợp thủy phân mật độ *B. subtilis* B3 đạt mức cao (24 giờ, Log =6,97 CFU/g; 48 giờ Log =8,84 CFU/g) so với pH 6 và 7. Ở thời gian 72 giờ cho thấy ở nghiệm thức pH 6 có mật độ *B. subtilis* B3 cao hơn pH 6,5 và pH 7, tuy nhiên, sau 96 giờ lên men cho

thấy mật độ *B. subtilis* B3 ở các nghiệm thức tương đương nhau khoảng Log= 6,3 CFU/g.

3.3. Đánh giá chất lượng sản phẩm

Chất lượng sản phẩm được tiến hành phân tích và đánh giá.

Bảng 2. Thành phần dinh dưỡng nguyên liệu lên men bán rắn

	Âm	Protein thô (%VCK*)	Lipid (%VCK)	Xơ (%VCK)	Tro (%VCK)
Bã sữa đậu nành	88,79	16,68±0,62	9,44±1,06	25,76±0,17	3,09±0,02
Bã sữa đậu nành + <i>B. subtilis</i> B3 + cellulase	9,66	16,23	5,39±0,20	22,53	4,93±0,02

(*) VCK: Vật chất khô

Kết quả từ việc lên men bã sữa đậu nành bằng phương pháp bán rắn được đánh giá ở Bảng (2). Ở thí nghiệm lên men bán rắn *B. subtilis* B3 kết hợp thủy phân cellulase cho thấy hàm lượng protein không tăng so với bã sữa

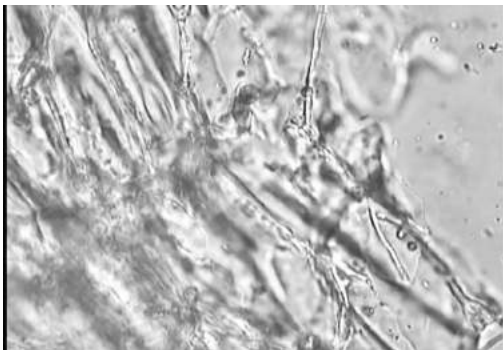
đậu nành. Trong khi đó, hàm lượng xơ và lipid giảm rõ rệt so với nguyên liệu BSDLN ban đầu (12,54% và 42,90%), tuy nhiên hàm lượng tro ở thí nghiệm này cho thấy gia tăng sau khi lên men.

Bảng 3. Bảng kết quả so sánh hàm lượng protein tan, acid amin tự do và mật độ vi khuẩn của bã sữa khi lên men bán rắn

Nguyên liệu	Protein tan ($\mu\text{g/g}$)	Acid amin tự do ($\mu\text{g/g}$)	Mật độ <i>B. subtilis</i> B3 sau khi sấy (CFU/g)
Bã sữa đậu nành	$2,83 \pm 0,34$	$0,30 \pm 0,04$	0
Bã sữa đậu nành + <i>B. subtilis</i> B3 + cellulase	$4,51 \pm 0,08$	$0,93 \pm 0,03$	$1,43 \times 10^8$

Các chỉ số protein tan, acid amin tự do và mật độ vi khuẩn *B. subtilis* B3 ở Bảng 3, cho thấy khi lên men kết hợp cellulase thủy phân cho thấy hàm lượng protein tan tăng so với trước khi lên men 1,68 ($\mu\text{g/g}$), hàm lượng acid amin tự do ở lên men kết hợp tăng 0,63 ($\mu\text{g/g}$) so với

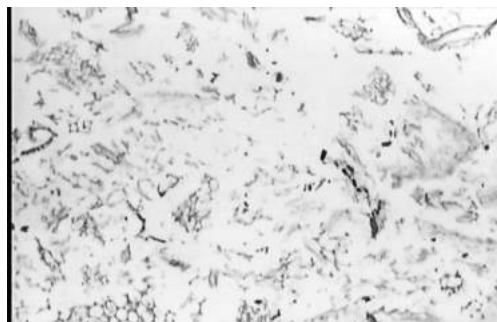
trước lên men. Đồng thời, mật độ *B. subtilis* B3 của sản phẩm sau khi sấy khô đạt mật độ trên 10^8 (CFU/g), cho thấy đây là một nguyên liệu có dinh dưỡng đầy đủ cho vi khuẩn phát triển, hơn nữa có thể xem là một dạng probiotic.



Hình 7. Tế bào của bã sữa trước khi xử lý nhiệt



Hình 8. Tế bào của bã sữa sau khi xử lý nhiệt



Hình 9. Tế bào của sau khi lên men bằng vi khuẩn *B. subtilis* B3 + cellulase tại pH 6,5 nhiệt độ 37°C, độ dày 3,0 cm

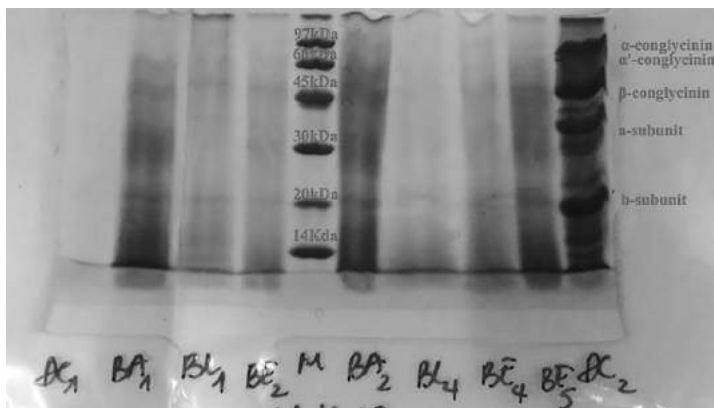
Các hình ảnh mô tế bào bã sữa đậu nành trước khi xử lý nhiệt, sau khi xử lý nhiệt và sau khi lên men của đề tài khi so sánh với nguyên liệu của bã sữa xử lý nhiệt (Hình 8) và nguyên liệu sau khi thủy phân bằng *B. subtilis* B3 và enzyme cellulase cho thấy tương đương với kết quả của nhóm nghiên cứu Kasai và *ctv.*, (2004).

Từ hình ảnh mô và kết quả điện di (Hình 7, 8, 9 và 10) cho thấy bã sữa đậu nành đã được thủy phân vách thứ cấp gần như hoàn toàn và dinh dưỡng bên trong vách tế bào của bã sữa như protein hầu hết được thủy phân và có phân tử lượng <20 KDa. Vách thứ cấp của bã sữa đậu nành có chứa protein, pectin và hemicelluloses,

trong nghiên cứu của tác giả (Kasai và ctv., 2004) đã sử dụng enzyme protease thương mại đã không phá vỡ được vách tế bào này, tuy vi khuẩn *Bacillus subtilis* có khả năng tiết ra enzyme pectinase trên cơ chất đậu nành và thủy phân vách tế bào thứ cấp. Tác giả (Salim và ctv., 2017) xác định hoạt tính của *Bacillus subtilis* trên cơ chất là phụ phẩm nông nghiệp, đặc biệt trên phụ phẩm khô đậu nành cho thấy sản sinh ra pectinase với hoạt tính mạnh. Một kết quả nghiên cứu tương tự cũng cho thấy gia tăng hàm lượng peptide trong dung dịch (Zhu và ctv., 2008) khi sử dụng vi khuẩn *Bacillus subtilis* lên men bã sữa đậu nành.

Ngoài ra, hai thành phần chính của

protein trong hạt đậu nành là β -conglycinins (7S globulins) và glycinins (11S globulins) là các hợp chất kháng nguyên protein như β -conglycinin; α , α' -conglycinin, glycinin và α , β -subunit, chiếm khoảng 60% đến 80% protein hạt đậu nành (Utsumi và ctv., 1997), việc thủy phân protein này cho thấy loại bỏ được kháng nguyên protein. Ở các vạch BE2, BE4 và BE5 (lên men kết hợp giữa vi khuẩn *B. subtilis* B3 + cellulase). Ở vạch ĐC 1 không xuất hiện các phân tử kháng dinh dưỡng là do protein dạng tan đã được trích thành sữa chỉ còn protein trong tế bào, trong khi đó ở vạch ĐC 2 (khô đậu nành) vẫn chứa protein tan vì vậy các vạch kháng dinh dưỡng xuất hiện trên bảng điện di (Hình 10).



ĐC1: Nguyên liệu bã sữa ban đầu
 BA1: Bã sữa lên men vi khuẩn *B. subtilis* B3 lần 1
 BE2: Bã sữa lên men *B. subtilis* B3 + cellulase
 M: Marker protein chuẩn
 BA2: Bã sữa lên men vi khuẩn *B. subtilis* B3 lần 2
 BE4: Bã sữa lên men *Bacillus* + cellulase
 BE5: Bã sữa lên men *Bacillus* + cellulase
 ĐC2: Khô đậu nành

Hình 10. Kích thước protein của sản phẩm bã sữa sau khi lên men *B. subtilis* B3 và lên men kết hợp *B. subtilis* B3 +cellulase

Như vậy, việc lên men kết hợp đã giúp loại bỏ kháng nguyên protein đậu nành và giảm hàm lượng xơ. Protein của bã sữa đậu nành được phân cắt thành những đoạn nhỏ hơn (<20 kDa), điều này có thể do khả năng tiết ra enzyme cellulase và protease của vi khuẩn khi lên men (Teng và ctv., 2012; Shiu và ctv., 2015). Kết quả này phù hợp với đặc tính sinh enzyme ngoại bào đã được khảo sát trên chủng vi sinh *B. subtilis* B3 từ nghiên cứu trước đây bởi nhóm tác giả Nguyễn Thị Ngọc Tĩnh (2016) và kết quả thủy phân tốt trên nguyên liệu khô đậu nành khi lên men bán rắn (Nguyễn Thành Trung và ctv., 2018).

IV. KẾT LUẬN

Xác định được điều kiện lên men bán rắn và thủy phân kết hợp trên bã sữa đậu nành tại 37°C, pH = 6,5 và hoạt độ enzyme cellulase để sử dụng cho việc thủy phân BSDN. Nâng cao được giá trị dinh dưỡng của bã sữa đậu nành, sau khi lên men giảm 12,54% hàm lượng xơ so với BSDN ban đầu, loại bỏ kháng nguyên protein, mật độ vi khuẩn *B. subtilis* B3 đạt khoảng 10⁸ (CFU/g) sau khi sấy khô. Nguyên liệu sau khi lên men bán rắn bằng chủng *B. subtilis* B3 kết hợp với thủy phân bằng enzyme cellulase có thể sử dụng để làm nguyên liệu cho thức ăn thủy sản.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tiếng Việt

Bùi Thị Thùy Dương, 2019. Expanding the production capacity for sugar and soya bean milk, new hope on biomass power, Soya milk consumption in Vietnam, Phu Hung Securities, pp. 9 pages.

Nguyễn Thị Ngọc Tĩnh, 2016. Đề tài: Hoàn thiện và sản xuất thử nghiệm chế phẩm vi sinh BioShrimp-RIA2 phòng bệnh do *Vibrio* spp. gây ra trên tôm nuôi. Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản 2-Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn.

Nguyễn Thành Trung, Nguyễn Văn Nguyễn, Trần Văn Khanh, Lê Hoàng, Đinh Thị Mến, Nguyễn Thị Thu Hiền, Trần Thị Hồng Ngọc, Lê Thị Ngọc Bích, Võ Thị Cẩm Tiên và Nguyễn Thị Ngọc Tĩnh, 2018. Tối ưu hoá điều kiện lên men khô đậu nành và đánh giá hình thái học mô ruột khi sử dụng để thay thế bột cá ở thức ăn tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*). Journal of Mekong fisheries. 11, 43-58.

Tài liệu tiếng Anh

BS EN 15784, 2009. Animal feeding stuffs. Isolation and enumeration of presumptive.

Chakrabarti, I., Gani, M.A., Chaki, K.K., Sur, R. và Misra, K.K., 1995. Digestive enzymes in 11 freshwater teleost fish species in relation to food habit and niche segregation. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology. 112, 167-177.

Feng, J., Liu, X., Xu, Z.R., Lu, Y.P. và Liu, Y.Y., 2007. The effect of *Aspergillus oryzae* fermented soybean meal on growth performance, digestibility of dietary components and activities of intestinal enzymes in weaned piglets. Animal Feed Science and Technology. 134, 295-303.

Forster, I.P., Dominy, W.G., Conquest, L.D., Ju, Z.Y. và Grey, M., 2010. Use of agriculture byproducts in diets for pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Avances en Nutrición Acuícola X - Memorias del Décimo Simposio Internacional de Nutrición Acuícola, 8-10 de Noviembre, San Nicolás de los Garza, N. L., México. ISBN 978-607-433-546-0. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México., 366-392.

Heikkinen, J., Vielma, J., Kemiläinen, O., Tiirola, M., Eskelinen, P., Kiuru, T., Navia-Paldanius, D. và von Wright, A., 2006. Effects of soybean meal based diet on growth performance, gut

histopathology and intestinal microbiota of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture. 261, 259-268.

Hu, Y., Ge, C., Yuan, W., Zhu, R., Zhang, W., Du, L. và Xue, J., 2010. Characterization of fermented black soybean natto inoculated with *Bacillus natto* during fermentation. J Sci Food Agric. 90, 1194-1202.

Kasai, N., Murata, A., Inui, H., Sakamoto, T. và Kahn, R.I., 2004. Enzymatic High Digestion of Soybean Milk Residue (Okara). J. Agric. Food Chem. 52, 5709-5716.

Khare, S., Jha, K. và Gandhi, A., 1995. Citric Acid Production from Okara (soy-residue) by Solid-state Fermentation. Bioresource Technology. 54 323-325.

Mateos-Aparicio, I., Mateos-Peinado, C., Jiménez-Escrig, A. và Rupérez, P., 2010. Multifunctional antioxidant activity of polysaccharide fractions from the soybean byproduct okara. Carbohydrate polymers. 82, 245-250.

Matsumoto, T., Sugiura, Y., Kondo, A. và Fukuda, H., 2000. Efficient production of protopectinases by *Bacillus subtilis* using medium based on soybean flour. Biochemical Engineering Journal 6, 81-86.

Matsunari, H., Iwashita, Y., Suzuki, N., Saito, T., Akimoto, A., Okamatsu, K., Sugita, T. và Yamamoto, T., 2010. Influence of fermented soybean meal-based diet on the biliary bile status and intestinal and liver morphology of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture Sci. 58, 243-252.

Miller, G.L., 1959. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. Anal. Chem. 31, 426-428.

Nguyen Thanh Trung, Matsumoto, Y. và Masumoto, T., 2016. Effect of soybean meal diet on color and morphology of distal intestine of juvenile yellowtail (*Seriola quinqueradiata*). International Fisheries Symposium - Can Tho University publishing house.

Oh, S.-M., Kim, C.-S. và Lee, S.-P., 2006. Characterization of the functional properties of soy milk cake fermented by *Bacillus* sp. Food science and biotechnology. 15, 704-709.

Salim, A. A., Grbavčić, S., Šekuljica, N., Stefanović, A., Jakovetić Tanasković, S., Luković, N., Knežević-Jugović, Z., (2017). Production of

- enzymes by a newly isolated *Bacillus* sp. TMF-1 in solid state fermentation on agricultural by-products: The evaluation of substrate pretreatment methods, *Bioresource Technology*. 228, 193-200.
- Sanjukta, S. và Rai, A.K., 2016. Production of bioactive peptides during soybean fermentation and their potential health benefits. *Trends in Food Science & Technology*. 50, 1-10.
- Shiu, Y.-L., Wong, S.-L., Guei, W.-C., Shin, Y.-C. và Liu, C.-H., 2015. Increase in the plant protein ratio in the diet of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone), using *Bacillus subtilis* E20-fermented soybean meal as a replacement. *Aquaculture Research*. 46, 382-394.
- Singh, A., Meena, M., Kumar, D., Dubey, A.K. và Hassan, M.I., 2015. Structural and functional analysis of various globulin proteins from soy seed. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 55, 1491-1502.
- Teng, D., Gao, M., Yang, Y., Liu, B., Tian, Z. và Wang, J., 2012. Bio-modification of soybean meal with *Bacillus subtilis* or *Aspergillus oryzae*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 1, 32-38.
- Utsumi, S., Matsumura, Y. và Mori, T., 1997. Structure-Function Relationships of Soy Proteins. in: Damodaran, S. và Paraf, A. (Eds.), *Food Proteins and Their Applications*. Marcel Dekker, Inc., New York, US., pp. 257-291.
- Yokota, T., Hattori, T., Ohishi, H., Ohami, H. và Watanabe, K., 1996. Repression of acute gastric mucosal lesions by antioxidant-containing fraction from fermented products of okara (bean-curd residue). *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. 42, 167-172.
- Zhu, Y.P., Fan, J.F., Cheng, Y.Q. và Li, L.T., 2008. Improvement of the antioxidant activity of Chinese traditional fermented okara (Meitauza) using *Bacillus subtilis* B2. *Food Control*. 19, 654-661.

IMPROVING NUTRITIONAL VALUE OF SOYBEAN MILK RESIDUE USING *Bacillus subtilis* B3 AND CELLULASE

Tran Van Khanh^{1*}, Nguyen Van Nguyen¹, Le Hoang¹, Nguyen Xuan Hai¹,
Nguyen Thanh Trung¹, Tran Thi Le Trinh¹, Nguyen Thi Ngoc Tinh¹

ABSTRACT

The aim of this study is to improve nutritional value of soybean milk residues using *Bacillus subtilis* B3 strain and cellulase enzyme.

Soybean milk residues were hydrolyzed with cellulase enzyme and were solid-state fermented with *Bacillus subtilis* B3 strain. The optimal conditions for fermentation were investigated from 24 hours to 96 hours, while bacterial density was determined every 24 hours. At the same time, cell wall structure of soybean milk residue was monitored under light microscope. The quality of the product was evaluated based on proximate composition, hydrolysis degree by Lowry method and allergen protein by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis.

The results showed that the optimal conditions for solid-state fermentation of soybean milk residues by *Bacillus subtilis* B3 were found at 37°C and pH 6.5. *Bacillus subtilis* B3 reached maximum density after 48 hours. The fermented soybean residues also had a reduced fiber content by 12.54%, high soluble protein and allergen protein was almost hydrolysed. In summary, the soybean residue product after solid-state fermentation with *Bacillus subtilis* B3 and hydrolysis by cellulase enzyme has a high nutritional value and can be used as an ingredient for aquafeed.

Keywords: *Bacillus subtilis* B3, soybean milk residue, solid-state fermentation.

Người phản biện: TS. La Xuân Thảo
Ngày nhận bài: 27/8/2019
Ngày thông qua phản biện: 09/10/2019
Ngày duyệt đăng: 31/10/2019

Người phản biện: PGS.TS. Lê Thanh Hùng
Ngày nhận bài: 27/8/2019
Ngày thông qua phản biện: 09/10/2019
Ngày duyệt đăng: 31/10/2019

¹ Research Institute for Aquaculture No.2

* Email: tvkhanh76@yahoo.com

ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC YẾU TỐ ĐẦU VÀO ĐẾN CHỈ TIÊU SINH SẢN TRONG SẢN XUẤT CÁ TRA BỘT Ở ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG, VIỆT NAM

Đặng Minh Phương¹, Nguyễn Văn Sáng*

TÓM TẮT

Nghề nuôi cá tra thương phẩm trở thành nghề đóng góp lớn cho xuất khẩu thủy sản, tuy nhiên hiện nay nuôi cá tra vẫn phụ thuộc nhiều vào yếu tố chất lượng con giống. Nghiên cứu này ứng dụng lý thuyết hàm sản xuất để đánh giá ảnh hưởng của các yếu tố đầu vào đến chất lượng cá tra bột. Từ tháng 1 đến tháng 4 năm 2008, nghiên cứu tiến hành điều tra trực tiếp 89 cơ sở xuất cá tra bột tại An Giang và Đồng Tháp. Hàm sản xuất dạng Cobb-Douglas được sử dụng để tìm mối liên quan giữa các yếu tố đầu vào đến chất lượng cá bột và phần mềm Shazam được sử dụng để phân tích. Kết quả điều tra cho thấy mức độ tác động đã được định lượng cụ thể, qua đó người sản xuất có thể tăng hoặc giảm đầu vào nhằm đạt tối ưu cho quá trình sản xuất của mình. Các yếu tố đầu vào ảnh hưởng đến chất lượng cá tra bột đã ghi nhận: nguồn gốc cá bố mẹ tốt sẽ tăng được tỷ lệ thành thực, tỷ lệ thụ tinh, kích thước cá bột hay số lượng cá bột/kg trứng thu được cao hơn; tốc độ tăng trưởng của cá hậu bị cao thì kích thước cá bột lớn và số lượng cá bột/kg trứng thu được thấp; tuổi thay thế đàn cá bố mẹ phù hợp cho tỷ lệ thành thực cá bố mẹ cao là 3,17 năm khai thác và tuổi cá cái khi thay thế càng cao thì khi sản xuất cho kích thước cá bột càng lớn; tỷ lệ đực:cái tham gia sinh sản thấp hay số cá cái phối với một cá đực tăng thì tỷ lệ thụ tinh giảm. Cơ sở sản xuất có hiểu biết và cập nhật tiêu chuẩn ngành thường xuyên, chủ cơ sở hay cán bộ kỹ thuật trại giống có kỹ năng ương giống tốt cho tỷ lệ thành thực cá bố mẹ cao, tỷ lệ nở cao và cá bột có kích thước lớn hơn.

Từ khóa: Cá bột, cá bố mẹ, chất lượng giống, yếu tố đầu vào.

I. GIỚI THIỆU

Trong những năm trở lại đây, tình hình xuất khẩu thủy sản tăng mạnh và đặc biệt là cá tra. Nuôi cá tra thương phẩm đạt hiệu quả cao phụ thuộc vào nhiều yếu tố, trong đó chất lượng con giống là một trong những khâu quyết định (Belton & ctv., 2008; Nguyễn Văn Sáng & ctv., 2010; Bui & ctv., 2010; Le & Le, 2010). Tuy nhiên, chất lượng cá tra giống hiện nay vẫn còn chưa thực sự đảm bảo và còn nhiều hạn chế (Belton & ctv., 2009; Phan, 2014). Các yếu tố ảnh hưởng đến tỷ lệ sống cá hương và cá giống là nguồn gốc cá bột, mật độ ương, kỹ thuật cải tạo ao, gây nuôi thức ăn tự nhiên, xử lý môi trường ao ương, thức ăn và cách cho ăn theo từng giai đoạn, phòng và trị bệnh. Hiện nay, tỷ lệ sống của cá đến lúc thu hoạch còn khá thấp và theo Nguyễn Thanh Phương & Nguyễn Anh

Tuấn (2016) tổng kết từ các điều tra liên quan giai đoạn 2002-2014, thì sau khoảng 10 năm phát triển tỷ lệ sống giảm khoảng 20%, từ 90% xuống còn 72,4%. Hiện nay, toàn vùng ĐBSCL có khoảng 109 trại sản xuất cá tra bột và khoảng 1.800 hộ ương cá tra giống cung cấp 2,067 tỷ con giống, đáp ứng đủ nhu cầu nuôi thương phẩm (Tạp chí Thủy sản, 2018). Chất lượng con giống không đảm bảo nên tỷ lệ hao hụt cao. Ngoài ra, dịch bệnh cũng góp phần là nguyên nhân làm giảm đáng kể tỷ lệ sống của cá giống. Theo Phạm Văn Khánh và ctv., (2011) thì trong sản xuất cá bột có một số vướng mắc như các trại giống giữ số lượng cá bố mẹ lớn hơn so với nhu cầu rất nhiều nên khó quản lý, khối lượng cá bố mẹ đưa vào khai thác nhỏ, tỷ lệ cá đực trong quần đàn bố mẹ thấp, tỷ lệ cá đực cho phối với cá cái trong sản xuất cũng thấp, liều lượng

¹ Khoa Kinh tế, Đại học Nông lâm Thành phố Hồ Chí Minh

* Email: nguyenvansang1973@yahoo.com

kích dục tổ sử dụng kích thích sinh sản cao, số lần tái phát dục còn cao và tỷ lệ cơ sở sản xuất cá bột tham gia các lớp tập huấn cũng như áp dụng các kỹ thuật phù hợp và mới là rất thấp.

Giá cá bột ngày càng giảm đến mức cạnh tranh để có lợi nhuận cho các trại sản xuất giống rất khó khăn. Giá cá bột chính vụ (tháng 4-tháng 11) trung bình 1,17 đồng/con và có cao hơn ở các tháng còn lại (Phạm Văn Khánh và *ctv.*, 2011). Các trại sản xuất cá bột đang nỗ lực áp dụng các giải pháp kỹ thuật và quản lý để tăng hiệu quả sản xuất. Trong kinh tế học, việc xác định các mức tối ưu trên được gọi là tối ưu hóa các yếu tố đầu vào và nó được thực hiện qua các hàm sản xuất theo quy trình toán học và ứng dụng các phần mềm kinh tế lượng như Eviews và Shazam để ước lượng các thông số cần biết (Ramanathan, 2003). Với nghề cá tra thì Nguyễn Văn Ngô (2009) đã ứng dụng hàm sản xuất trong đánh giá hiệu quả sản xuất của nghề nuôi cá tra ở Đồng Tháp. Như vậy, việc ứng dụng các phần mềm ứng dụng để ước lượng được hàm sản xuất sẽ giúp việc tính toán được các mô hình tối ưu hoá sản xuất, phân tích được các mức độ tác động, đồng thời cũng giúp phân tích được các các yếu tố đầu vào (kỹ thuật, quản lý) ảnh hưởng đến chất lượng con giống và chất lượng con giống đến hiệu quả sản xuất. Do vậy, nghiên cứu này thực hiện với mục tiêu chính là ứng dụng lý thuyết hàm sản xuất để đánh giá ảnh hưởng của các yếu tố đầu vào đến chất lượng cá tra bột sản xuất ở Đồng bằng sông Cửu Long.

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Điều tra phỏng vấn trực tiếp (i) cơ sở xuất bột quy mô lớn (>250 triệu bột/năm) và (ii) cơ sở sản xuất bột quy mô nhỏ và vừa tại hai tỉnh An Giang và Đồng Tháp. Thời gian tiến hành khảo sát từ tháng 1 đến tháng 4 năm 2008.

2.2. Thu thập số liệu

Sử dụng phiếu khảo sát được chuẩn hóa để tiến hành thu thập số liệu vụ sản xuất gần nhất

và chỉ điều tra phỏng vấn 1 lần, với các thông tin cần thu thập liên quan đến hoạt động sản xuất giống cá tra bột.

Dựa theo danh sách cơ sở sản xuất giống từ chính quyền địa phương tổng hợp lên, hình thành phiếu tên cơ sở theo quy mô và bốc thăm chọn mẫu ngẫu nhiên để phỏng vấn. Theo số liệu ước tính năm 2007, tổng số cơ sở sản xuất cá bột quy mô lớn là 27 và các quy mô còn lại là 100, do đó tiến hành điều tra 89 cơ sở sản xuất cá bột với 27 cơ sở quy mô lớn (100% số cơ sở) và 62 cơ sở quy mô nhỏ (62% số cơ sở).

2.3. Phân tích số liệu

Sử dụng phần mềm MS. Excel 2007 để nhập và lưu trữ số liệu và phần mềm Shazam cho xử lý số liệu và phân tích tối ưu (Shazam, 1997). Phân tích ảnh hưởng của các yếu tố đầu vào đến chất lượng cá bột bằng các thông số thực tế trên các nông hộ điều tra, cụ thể:

Dùng hàm sản xuất dạng Cobb-Douglas để tìm mối liên hệ giữa các yếu tố đầu vào X đến chất lượng cá bột Y.

Hàm sản xuất là hàm Cobb – Douglass: $Y = A.X_1^{\alpha_1}.X_2^{\alpha_2}.X_3^{\alpha_3}...X_n^{\alpha_n}$, với dạng hàm sản

xuất là hàm tuyến tính: $Y = \alpha_0 + \alpha_1 X_1 + \alpha_2 X_2 + ... + \alpha_n X_n$, hoặc hàm sản xuất là *hàm bậc 2*: $Y = \alpha_0 + \alpha_1 X_1 + \alpha_2 X_1^2$ (các ký hiệu: Y: yếu tố liên quan đến chất lượng cá bột (yếu tố đầu ra); X_i : là các biến độc lập (yếu tố đầu vào); α_i : hệ số co giãn của Y theo biến X_i ; P_{X_i} : giá yếu tố sản xuất X (được quy ra theo đơn vị yếu tố đầu vào X); và P_y : giá sản phẩm (được quy ra theo đơn vị chất lượng). Mô tả các biến đưa vào phân tích như trình bày trong Bảng 1.

Phương pháp Step-wise được áp dụng để xử lý số liệu (tự động lựa chọn phân tích hồi quy và đưa ra kết quả hồi quy có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) cho hàm Y ảnh hưởng bởi các biến có liên quan nhất). Ý nghĩa các hệ số ước lượng α_i trong hàm Cobb-Douglass: Nếu số lượng của biến đầu vào X_i tăng thêm 1%, thì sản lượng đầu ra sẽ tăng (hoặc giảm nếu âm) α_i %.

Bảng 1. Mô tả các biến phân tích ảnh hưởng hàm sản xuất về chất lượng cá bột

Tên biến	Mô tả các biến
Biến phụ thuộc, Y	
Y1	Tỷ lệ thành thực (%)
Y2	Số lượng bột trên 01 kg trứng (con/kg trứng)
Y3	Tỷ lệ nở (%)
Y4	Tỷ lệ thụ tinh (%)
Y5	Số lượng cá bột trong 01 ml cá bột đã loại nước, theo cách các trại sản xuất sử dụng phổ biến (con/ml)
Biến độc lập, X	
X1	Nguồn gốc cá bố mẹ: (1) Chọn từ đàn cá nuôi thương phẩm; (2) Kết hợp 2, 3 nguồn trong 4 nguồn; (3) Cơ sở chuyên cung cấp cá bố mẹ; (4) Đàn cá tự nhiên; (5) Đàn cá đã qua chọn lọc
X2	Tốc độ tăng trưởng trung bình của cá hậu bị (kg/năm)
X3	Số lượng cá hậu bị (Con)
X4	Số lượng cá bố mẹ (Con)
X5	Tốc độ tăng trưởng trung bình của cá bố mẹ (kg/năm)
X6	Kích cỡ trung bình cá bố mẹ (kg)
X7	Số năm thay thế đàn cá bố mẹ (năm)
X8	Kích cỡ cá cái khi thay thế (kg)
X9	Tuổi của cá cái khi thay thế (năm)
X10	Kích cỡ cá đực khi thay thế (kg)
X11	Tuổi của cá đực khi thay thế (năm)
X12	Số năm kinh nghiệm sản xuất giống (năm)
X13	Trình độ học vấn: (1) Cấp 1-3; (2) Qua tập huấn; (3) Sơ cấp, trung cấp thủy sản; (4) Cao đẳng; (5) Đại học; (6) Cao học
X14	Kỹ năng ương giống: (1) Tập huấn kỹ thuật tại TT. Khuyến nông; (2) Tập huấn kỹ thuật tại địa phương; (3) Tự học từ cơ sở sản xuất khác; (4) Truyền thống gia đình; (5) Kết hợp 2, 3 nguồn trong 5 nguồn ; (6) Từ tài liệu kỹ thuật
X15	Số lượng bể chứa cá bột (cái)
X16	Hiểu biết và cập nhật kỹ thuật theo tiêu chuẩn ngành (TCN): (1) Có; (0) Không
X17	Chất lượng nguồn nước: (1) Sạch, chất lượng đảm bảo; (2) Ô nhiễm, phải xử lý trước khi sử dụng; (3) Ô nhiễm nhẹ, chất lượng không ổn định
X18	Tổng liều lượng thuốc kích thích sinh sản cho 01 kg cá cái (UI/kg cá cái)
X19	Tỷ lệ giới tính (đực:cái) tham gia sinh sản

Năng suất cận biên của X_i sẽ được tính theo công thức

$$MY_{X_i} = \frac{dY}{dX_i} = \alpha_i \frac{Y}{X_i} \quad (1)$$

Trong đó, $i = 1, 2, 3, \dots, n$. Năng suất cận biên của một yếu tố sản xuất (X_i) nói lên khi tăng thêm một đơn vị yếu tố sản xuất (X_i) thì sản lượng đầu ra (Y) sẽ tăng (hoặc giảm đi) MY_i

đơn vị, với điều kiện các yếu tố khác cố định.

- Tối ưu kinh tế: Đánh giá mức sử dụng các yếu tố sản xuất

+ Giá trị năng suất biên của X_i : $MVP_{X_i} = MY_{X_i} \cdot P_y \Rightarrow MY_{X_i} = \frac{MVP_{X_i}}{P_y} \quad (2)$

Từ công thức (1) và (2) ta có: $\alpha_i \frac{Y}{X_i} = \frac{MVP_{X_i}}{P_y} \quad (3)$

+ Tối ưu trong sử dụng X_i khi:

$$MVP_{X_i} = P_{X_i} \quad (4), \text{ từ công thức (3) và (4) suy ra: } X_{i \text{ tối ưu}} = \alpha_i \cdot Y \cdot \frac{P_y}{P_{X_i}}$$

+ Tối ưu kỹ thuật hàm bậc 2: Tìm mức tối đa theo đạo hàm bậc một bằng 0,

$$Y' = \alpha_1 + \alpha_2 X_1 = 0, X_{1 \text{ tối ưu}} = (\alpha_1 / \alpha_2), Y_{\text{tối ưu}} = \alpha_0 + \alpha_1 (\alpha_1 / \alpha_2) + \alpha_2 (\alpha_1 / \alpha_2)^2.$$

III. KẾT QUẢ

3.1. Ảnh hưởng các yếu tố đầu vào đến tỷ lệ thành thực cá bố mẹ

Biến X_1 (nguồn gốc cá bố mẹ) tương quan thuận với tỷ lệ thành thực ($P < 0,01$), khi tăng nguồn gốc cá bố mẹ lên một cấp độ thì tỷ lệ thành thực sẽ tăng 0,15% (Bảng 2). Cá bố mẹ có nguồn gốc tốt, rõ ràng thì tỷ lệ thành thực sẽ tăng. Để sản xuất cá tra giống chất lượng,

hiệu quả cao đòi hỏi người sản xuất phải hiểu biết cũng như phải thường xuyên cập nhật TCN (biến X_{16}), nếu hộ có hiểu biết và cập nhật TCN thường xuyên so với hộ không cập nhật thì tỷ lệ thành thực sẽ tăng lên 0,04% ($P < 0,1$). Tốc độ tăng trưởng trung bình của cá hậu bị (X_2) càng nhanh thì tỷ lệ thành thực càng thấp. Điều này cần được kiểm chứng qua nghiên cứu kỹ thuật nuôi vỗ trong cùng điều kiện để so sánh.

Bảng 2. Ảnh hưởng các yếu tố đầu vào đến tỷ lệ thành thực của cá bố mẹ

Biến độc lập	Hệ số ước lượng	Mức ý nghĩa thống kê
$\ln X_1$	0,153	1%
$\ln X_2$	-0,067	10%
$\ln X_7$	-0,006	Không có
$\ln X_9$	-0,087	Không có
$\ln X_{12}$	-0,033	Không có
$\ln X_{14}$	-0,049	Không có
X_{16}	0,048	10%
$\ln X_{17}$	-0,028	Không có

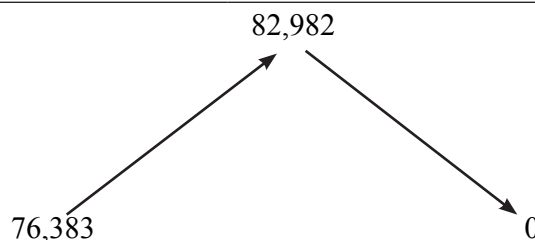
Khi thử nghiệm xem biến X_1 là biến định lượng và liên tục cho phân tích hồi quy thì thu được kết quả có ý nghĩa thống kê ở mức 1%. Tuy nhiên, khi phân tích hồi quy định lượng bậc 2, chúng tôi chỉ áp dụng cho biến X_7 . Tỷ lệ thành thực phụ thuộc vào tuổi thay đàn bố mẹ theo dạng hàm bậc hai. Khi thay đàn cá bố mẹ tuổi còn nhỏ hoặc khi quá già thì tỷ lệ thành

thực đều thấp (Bảng 3). Kết quả phân tích cho thấy thấy nếu hộ nuôi thay thế đàn cá bố mẹ sau 3,17 năm một lần thì tỷ lệ thành thực của cá sẽ là 82,98%. Nếu như tiếp tục kéo dài thời gian thay thế đàn cá bố mẹ thì tỷ lệ thành thực sẽ giảm dần theo thời gian tăng dần này. Hầu như không có tài liệu tham khảo để đối chiếu và thảo luận.

Bảng 3. Kết quả phân tích hồi quy giữa tỷ lệ thành thực với nguồn gốc cá bố mẹ và tuổi thay thế đàn cá bố mẹ

Biến độc lập	Hệ số ước lượng	Giá trị t	Mức ý nghĩa thống kê
X_1	6,878	6,557	1%
X_7	4,158	1,699	10%
X_7^2	-0,655	-2,150	5%
Biến thiên của tỷ lệ thành thực đối với nhập lượng X_7			
X_7 (số năm thay thế đàn cá bố mẹ)	0	3,174	

Y_1 (tỷ lệ thành thực)



3.2. Ảnh hưởng các yếu tố đầu vào đến số lượng cá bột trên 1 kg trứng

Biến X_1 và X_2 tỷ lệ nghịch với số lượng cá bột/kg trứng cá ($P < 0,01$), tức là khi cá bố mẹ có nguồn gốc tốt và tốc độ tăng trưởng của cá hậu bị cao, thì kích thước cá bột có thể lớn nên số lượng cá bột/kg trứng sẽ thấp hơn lần lượt là 1,47% và 0,39% (Bảng 4).

Bảng 4 cũng cho thấy số năm thay thế đàn cá bố mẹ (X_7), tuổi của cá cái khi thay thế (X_9), kích cỡ cá đực khi thay thế (X_{10}) càng lớn thì số lượng cá bột/kg trứng sẽ cao hơn lần lượt là 1,99%, 2,14% và 4,096%, nghĩa là kích cỡ cá bột nhỏ đi. Trong khi đó, số lượng cá bột/kg

trứng giảm trong trường hợp tuổi cá đực thay thế cao hơn (X_{11}). Điều này có thể do cá đực già đã làm giảm tỷ lệ thụ tinh và tỷ lệ nở. Hiểu biết về TCN (X_{16}) thì số lượng cá bột/kg trứng sẽ cao hơn 0,45%, có thể nhờ vào kỹ thuật tốt hơn mà cho kết quả tỷ lệ thụ tinh và tỷ lệ nở cao hơn. Chất lượng nước nuôi vỗ tốt hơn (X_{17}) cho số lượng cá bột/kg trứng sẽ thấp hơn 2,30%, có thể cá cái hấp thụ dinh dưỡng tốt hơn trong điều kiện môi trường thuận lợi và trứng có kích cỡ lớn hơn. Các kết quả này cần có kiểm chứng thêm bằng các thí nghiệm trên cá bố mẹ theo các chỉ tiêu khác nhau.

Bảng 4. Ảnh hưởng các yếu tố đầu vào đến số lượng cá bột trên 1 kg trứng

Biến độc lập	Hệ số ước lượng	Mức ý nghĩa thống kê
$\ln X_1$	-1,470	1%
$\ln X_2$	-0,396	1%
$\ln X_7$	1,994	1%
$\ln X_9$	2,146	1%

$\text{Ln } X_{10}$	4,096	1%
$\text{Ln } X_{11}$	-3,906	1%
$\text{Ln } X_{12}$	-0,501	1%
$\text{Ln } X_{14}$	0,694	1%
X_{16}	0,450	1%
$\text{Ln } X_{17}$	-2,301	1%
$\text{Ln } X_{18}$	-10,252	1%
$\text{Ln } X_{19}$	-1,420	1%

3.3. Ảnh hưởng các yếu tố đầu vào đến tỷ lệ thụ tinh

Chỉ có biến X_1 (nguồn gốc cá bố mẹ) và X_{19} (tỷ lệ đực: cái tham gia sinh sản) có ý nghĩa thống kê ở mức 1% (Bảng 5). Cá bố mẹ có

nguồn gốc tốt thì sẽ cho tỷ lệ thụ tinh khi sinh sản cao hơn 0,08% và khi sử dụng 01 cá đực thụ tinh nhiều cá cái hơn (tỷ lệ đực:cái tăng) thì tỷ lệ thụ tinh giảm 0,04%. Điều này cho phép kết luận nên sử dụng tỷ lệ đực: cái vừa phải.

Bảng 5. Ảnh hưởng các yếu tố đầu vào đến tỷ lệ thụ tinh

Biến độc lập	Hệ số ước lượng	Mức ý nghĩa thống kê
$\text{Ln } X_1$	0,085	1%
$\text{Ln } X_2$	0,021	Không có
$\text{Ln } X_6$	-0,004	Không có
$\text{Ln } X_7$	-0,014	Không có
$\text{Ln } X_9$	-0,0005	Không có
$\text{Ln } X_{10}$	-0,051	Không có
$\text{Ln } X_{11}$	-0,017	Không có
$\text{Ln } X_{12}$	0,008	Không có
$\text{Ln } X_{13}$	-0,002	Không có
$\text{Ln } X_{14}$	-0,042	Không có
X_{16}	0,011	Không có
$\text{Ln } X_{17}$	-0,025	Không có
$\text{Ln } X_{18}$	0,014	Không có
$\text{Ln } X_{19}$	-0,042	1%

3.4. Ảnh hưởng các yếu tố đầu vào đến tỷ lệ nở

Đa số các biến đều không có ý nghĩa thống kê, ngoại trừ biến X_9 , X_{16} , X_{17} và X_{18} có ý nghĩa thống kê ở mức 1%. Hệ số ước lượng biến X_{16} mang dấu dương cho thấy nếu nông hộ có cập nhật về quy trình kỹ thuật thì cá bột có tỷ lệ nở cao hơn 0,069%. Các yếu tố X_9 , X_{17} và X_{18} ảnh hưởng đến tỷ lệ nở theo chiều hướng khó giải thích (Bảng 6).

3.5. Ảnh hưởng các yếu tố đầu vào đến kích cỡ cá bột

Kết quả phân tích cho thấy biến X_2 và X_9 tỷ lệ nghịch với kích cỡ cá bột ($P < 0,01$), tức là khi tốc độ tăng trưởng của cá hậu bị cao và tuổi cá cái khi thay thế lớn thì kích thước cá bột có thể lớn nên số lượng cá bột trên 01 ml sẽ thấp hơn lần lượt là 0,07% và 0,08%. Biến X_{14} có ý nghĩa thống kê ở mức 1% và mang dấu âm, tức là khi kỹ năng sản xuất giống tăng lên thì kích thước cá bột có thể lớn hơn nên số lượng cá bột trên 01

ml sẽ thấp hơn. Do biến X_{14} là biến danh nghĩa, nên kết quả có ý nghĩa tham khảo về định tính. Trong khi, biến X_7 và X_{11} tỷ lệ thuận với kích cỡ cá bột ($P < 0,01$), nghĩa là khi tăng số năm thay thế đàn cá bố mẹ lên một năm thì số lượng

cá bột trên 01 ml sẽ tăng 0,05% và khi tuổi cá được thay thế lớn thì kích thước cá bột có thể nhỏ nên số lượng cá bột trên 01 ml sẽ cao hơn 0,06%. Ảnh hưởng của hai biến X_7 và X_{11} cần được nghiên cứu thêm (Bảng 7).

Bảng 6. Ảnh hưởng các yếu tố đầu vào đến tỷ lệ nở

Biến độc lập	Hệ số ước lượng	Mức ý nghĩa thống kê
$\ln X_1$	-0,018	Không có
$\ln X_2$	0,013	Không có
$\ln X_6$	0,045	Không có
$\ln X_7$	-0,030	Không có
$\ln X_9$	0,145	1%
$\ln X_{10}$	0,012	Không có
$\ln X_{11}$	-0,090	Không có
$\ln X_{12}$	0,045	Không có
$\ln X_{13}$	-0,009	Không có
$\ln X_{14}$	-0,003	Không có
X_{16}	0,069	1%
$\ln X_{17}$	-0,128	1%
$\ln X_{18}$	0,183	1%
$\ln X_{19}$	-0,044	Không có

Bảng 7. Ảnh hưởng các yếu tố đầu vào đến kích cỡ cá bột

Biến độc lập	Hệ số ước lượng	Mức ý nghĩa thống kê
$\ln X_1$	-0,010	Không có
$\ln X_2$	-0,070	1%
$\ln X_6$	-0,033	Không có
$\ln X_7$	0,052	1%
$\ln X_9$	-0,089	1%
$\ln X_{10}$	0,020	Không có
$\ln X_{11}$	0,069	1%
$\ln X_{12}$	0,071	1%
$\ln X_{13}$	0,001	Không có
$\ln X_{14}$	-0,100	1%
X_{16}	-0,017	Không có
$\ln X_{17}$	-0,082	1%
$\ln X_{18}$	-0,055	Không có
$\ln X_{19}$	0,553	1%

IV. THẢO LUẬN

Nguồn gốc cá bố mẹ (biến X_1) tốt sẽ tăng được tỷ lệ thành thực cá bố mẹ, tỷ lệ thụ tinh cao, kích thước cá bột lớn hay số lượng cá bột/kg trứng thu được thấp. Tốc độ tăng trưởng của cá hậu bị (X_2) cao thì kích thước cá bột lớn và số lượng cá bột/kg trứng thu được thấp hơn. Ataguba và *ctv.*, (2013) khi nghiên cứu trên cá trê Phi bố mẹ ở các phép lai theo các kích thước khác nhau từ 200g đến 900g cho thấy khối lượng cá cái có tương quan thuận chặt chẽ với hệ số thành thực, kích thước trứng và tỷ lệ thụ tinh. Nhóm tác giả này còn tìm thấy tương quan thuận tương đối cao giữa hệ số thành thực và tỷ lệ thụ tinh cũng như giữa kích thước trứng và tỷ lệ thụ tinh. Ngoài ra, nhóm tác giả còn tìm thấy tương quan thuận trung bình giữa khối lượng cá cái, sức sinh sản và kích cỡ trứng với tỷ lệ nở và tương quan thuận giữa khối lượng buồng tinh với tỷ lệ thụ tinh và tỷ lệ nở. Theo Ibiwoye (2018) khi tổng kết quản lý giống thủy sản ở Nigeria cho thấy, cá cái có kích thước lớn sản xuất lượng trứng lớn hơn, tỷ lệ thụ tinh cao hơn và cho cá bột có tỷ lệ sống cao hơn. Tương tự, Bichi và *ctv.*, (2014) khi cho sinh sản cá trê Phi ở khối lượng lớn hơn cũng cho kích cỡ trứng lớn hơn và tỷ lệ sống cá bột 1 tuần tuổi cũng cao hơn.

Tuổi cá cái khi thay thế (X_9) càng cao thì liên quan đến kết quả sản xuất cho kích thước cá bột càng lớn. Tuy nhiên, tuổi trung bình thay thế đàn cá bố mẹ (X_7) phù hợp cho tỷ lệ thành thực cá bố mẹ cao là 3,17 năm (3-4 năm) khai thác. Cũng chính từ thực tiễn sản xuất và kiến thức quản lý trại giống mà tài liệu Quy phạm thực hành cho sản xuất giống cá tra (Nguyen, 2011) cũng đã khuyến cáo nên thay thế đàn cá bố mẹ sau 3-6 năm khai thác.

Tỷ lệ đực:cái tham gia sinh sản thấp hay số cá cái phối với một cá đực tăng (X_{10}) thì tỷ lệ thụ tinh giảm. Trong khi đó, trong nghiên cứu này thì tỷ lệ các cơ sở sử dụng tỷ lệ đực:cái khi sinh sản trên 1:5 chiếm 30,34%. Các trại giống cá trê Phi ở Nigeria cũng giữ tỷ lệ đực:cái này từ 1:4 đến 1:6 là 12% (Ibiwoye, 2018). Từ thực tiễn sản xuất và kiến thức quản lý trại giống

mà tài liệu Quy phạm thực hành cho sản xuất giống cá tra (Nguyen, 2011) cũng đã khuyến cáo khi giữ và cho sinh sản đàn cá cần đảm bảo tỷ lệ 1:1. Tuy nhiên, bài toán hiệu quả kinh tế luôn được các trại giống đặt ra. Nếu các trại giống sử dụng tỷ lệ một cá đực thụ tinh cho nhiều hơn một cá cái, nhưng vẫn đảm bảo tỷ lệ thụ tinh ở mức chấp nhận được và các trại giống tuân thủ rằng không sử dụng đàn con làm bố mẹ cho thế hệ tiếp theo thì vẫn có áp dụng được.

Về hiểu biết và cập nhật TCN (X_{16}) thường xuyên cho tỷ lệ thành thực cá bố mẹ cao và tỷ lệ nở cao. Chủ hay cán bộ kỹ thuật trại giống có kỹ năng ương giống (X_{14}) tốt thông qua các phương thức khác nhau khi sản xuất liên quan đến tạo ra cá bột có kích thước lớn hơn. Kết quả này cho thấy vai trò của việc hiểu biết tốt hơn và cập kỹ thuật thường xuyên giúp kết quả sản xuất tốt hơn ở một số chỉ tiêu đã nêu. Đây cũng là một vấn đề đặt ra cho công tác quản lý giống phải thực hiện như đề xuất của tác giả Ibiwoye (2018).

V. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

5.1. Kết luận

Cá bố mẹ có nguồn gốc theo mức độ tăng theo mức độ từ các cơ sở chuyên cung cấp, từ tự nhiên và đã qua chọn lọc sẽ tăng được tỷ lệ thành thực (0,15%), tỷ lệ thụ tinh (0,08%), kích thước cá bột hay số lượng cá bột trên một đơn vị khối lượng trứng thu được thấp (giảm 1,47%).

Tốc độ tăng trưởng của cá hậu bị cao thì kích thước cá bột lớn và số lượng cá bột trên một đơn vị khối lượng trứng thu được thấp hơn (giảm 0,37%).

Tuổi trung bình thay thế đàn cá bố mẹ phù hợp cho tỷ lệ thành thực cá bố mẹ cao là 3,17 năm (3-4 năm) khai thác và tuổi cá cái khi thay thế càng cao thì khi sản xuất cho kích thước cá bột càng lớn với số lượng cá bột trên đơn vị đo lường giảm 0,08%.

Tỷ lệ đực:cái tham gia sinh sản thấp hay số cá cái phối với một cá đực tăng thì tỷ lệ thụ tinh giảm (0,04%).

Cơ sở sản xuất có hiểu biết và cập nhật TCN thường xuyên, chủ cơ sở hay cán bộ kỹ thuật trại giống có kỹ năng ương giống tốt cho tỷ lệ thành thực cá bố mẹ cao, tỷ lệ nở cao và cá bột có kích thước lớn hơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tiếng Việt

- Nguyễn Văn Ngô, 2009. Phân tích ngành hàng cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) ở tỉnh Đồng Tháp. Luận văn Cao học, chuyên ngành NTTS, Đại học Cần Thơ, Cần Thơ.
- Nguyễn Thanh Phương & Nguyễn Anh Tuấn, 2016. Nuôi cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) ở Đồng bằng sông Cửu Long: Thành công và Thách thức trong phát triển bền vững. Nhà xuất bản Đại học Cần Thơ, Cần Thơ.
- Nguyễn Văn Sáng, Phạm Văn Khánh, Phạm Đình Khôi, Phan Thanh Lâm, Nguyễn Quyết Tâm, Đặng Minh Phương, Nguyễn Thị Đang, Trần Anh Dũng, Nguyễn Văn Ngô, 2011. Báo cáo tổng kết đề tài “Đánh giá hiện trạng sản xuất giống và xây dựng các giải pháp quản lý nhằm nâng cao chất lượng giống cá tra ở đồng bằng sông Cửu Long”, 105 trang.
- Phạm Văn Khánh, Nguyễn Văn Sáng, Phạm Đình Khôi, Phan Thanh Lâm, Nguyễn Quyết Tâm, Nguyễn Thị Đang, Đặng Minh Phương, Trần Anh Dũng, Nguyễn Văn Ngô, 2011. Đánh giá ảnh hưởng của yếu tố kỹ thuật hiện hành đến chất lượng giống cá tra. Tuyển Tập Nghề Cá Sông Cửu Long, 151-162.
- Ramanathan, 2003. Nhập Môn Kinh Tế Lượng Với Ứng Dụng, Chương trình giảng dạy Fulbright Việt Nam (sách dịch).
- Tạp chí Thủy sản, 2018. Ưu tiên lớn cho sản xuất cá tra giống, <http://www.thuysanvietnam.com.vn/uu-tien-lon-cho-san-xuat-ca-tra-giong-article-20910.tsvn>.

Tài liệu tiếng Anh

- Ataguba, A.G., Okomoda, V.T., Onwuka, M.C., 2013. Relationship between broodstock weight combination and spawning success in African catfish (*Clarias gariepinus*). Croatian Journal of Fisheries 71, 176-181.

5.2. Đề xuất

Cần thực hiện kiểm chứng các kết quả nghiên cứu về các yếu tố ảnh hưởng liên quan đến sinh học và có thể định lượng được.

- Bichi, A.H., Isyaku, S., Danba, E.P., Kurawa, I.A. and Nayawo, A.A, 2014. Effect of broodstock size on egg fertilization, hatchability and fry survival rate of African catfish (*Clarias gariepinus*). Bayero Journal of Pure and Applied Sciences 7(2), 150 – 15.
- Belton, B., Le, S.X., Little, D.C., 2008. The Development and Status of Catfish Seed Production Systems in Vietnam. PMI2 project report. (p. 49). Intitute of Aquaculture, The University o Stirling, Stirling.
- Belton, B., Little, D.C., Sinh, L.X., 2009. User and producer perceptions of *Pangasius* seed quality in Vietnam. Master thesis, in writing, p.12.
- Bui, T.M., Phan, T.L., Ingram, B.A., Nguyen, T.T.T., Gooley, G.J., Nguyen, H.V., De Silva, S.S., 2010. Seed production practices of striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* in the Mekong Delta region, Vietnam. Aquaculture 306 (1-4), 92–100.
- Le, S.X., Le, H.L., 2010. Supply and use of catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) seed in the Mekong Delta of Vietnam. Aquaculture Asia Magazine XV(1), 26–33.
- Nguyen, P.T., Hao, N.V, Tam, B.M., Lam, P.T., Son, V.M., Nhut, N., De Silva, S.S., 2011. Better Management Practices for Striped Catfish Farming in the Mekong Delta-Viet Nam. Collaboration for Agriculture and Rural Development (CARD) project (001/07VIE). Aquaculture (p. 92). Bangkok. Retrieved from http://library.enaca.org/inland/catfishbmps/catfish_bmp_version3_final.pdf.
- Phan, T.L., 2014. Sustainable development of export-orientated farmed seafood in Mekong Delta, Vietnam. PhD thesis, The University of Stirling, Stirling
- Shazam, 1997. User’s Reference Manual Version 8.0 McGraw-Hill. Canada.

EFFECTS OF PRODUCTION INPUTS TO FRY QUALITY OF STRIPED CATFISH IN MEKONG DELTA, VIETNAM

Dang Minh Phuong¹, Nguyen Van Sang^{2*}

ABSTRACT

Striped catfish culture has becoming a major contribution for seafood export. However, it depends largely on fingerling quality. This study applies theory of production model to evaluate the relationship between production inputs on fry quality of this species. The survey was conducted on 89 hatcheries in An Giang and Dong Thap provinces from January to April 2008. Cobb-Douglas model was used to find these relationships in Shazam software. These relationships were quantified with the change in inputs to acquired outputs. Good broodstock sources help to increase the maturation and fertilization rates and the size of newly hatch fry. High growth rate of pre-broodstock also helps to increase the size newly hatch fry. The appropriate replacing age for broodstock is 3,17 years and the size of newly hatch fry increases with the increment of broodstock age. The mating rate, male to female, decreases will cause the reduction of fertilization rate. The well-trained and regular technique updated of hatchery owners or technicians will help to increase the maturation and hatching rates and the size of newly hatch fry.

Keywords: *fry, broodstock, fry quality, producing inputs.*

Người phản biện: PGS.TS. Võ Nam Sơn

Ngày nhận bài: 16/9/2019

Ngày thông qua phản biện: 09/10/2019

Ngày duyệt đăng: 27/10/2019

Người phản biện: TS. Phạm Cử Thiện

Ngày nhận bài: 16/9/2019

Ngày thông qua phản biện: 08/10/2019

Ngày duyệt đăng: 27/10/2019

¹ Economics Faculty, The University of Agriculture-Forestry Ho Chi Minh City

² Research Institute for Aquaculture No.2

* Email: nguyenvansang1973@yahoo.com

ĐIỀU TRA, THU THẬP VÀ ĐỊNH DANH CÁC LOÀI CÁ TỖ BÀ BƯỚM (*Sewellia* spp.) TẠI MỘT SỐ TỈNH MIỀN TRUNG

Nguyễn Thị Kim Liên^{1*}, Trương Thị Thúy Hằng¹, Ngô Khánh Duy¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm điều tra điều kiện tự nhiên nơi phân bố, tình hình khai thác và định danh phân loại các loài cá tỳ bà bướm thu thập tại 6 tỉnh miền Trung: Huế, Đà Nẵng, Quảng Nam, Quảng Ngãi, Bình Định và Phú Yên. Nghiên cứu gồm hai nội dung: nội dung 1 điều tra điều kiện tự nhiên nơi phân bố và khai thác cá tỳ bà bướm tại 6 tỉnh miền Trung bằng phương pháp phỏng vấn trực tiếp người dân đánh bắt tại các vùng thu mẫu qua các phiếu câu hỏi đã soạn thảo trước; Nội dung 2 tiến hành định danh phân loại các loài cá tỳ bà bướm được thu thập dựa theo khóa định loại CITES Identification Guide to the Fresh water Fish và hệ thống định loại của FAO. Kết quả ghi nhận: Địa hình nơi cá phân bố ở 6 tỉnh miền Trung là như nhau đều là các con suối ở miền núi. Cá phân bố tại vùng thượng nguồn và hạ nguồn của các con suối chảy qua vùng rừng từ Huế đến Phú Yên, cá bám trên các tảng đá nơi nước chảy xiết, ở thượng nguồn cá tập trung nhiều hơn so với hạ nguồn; Sinh cảnh nơi cá phân bố là những cây rừng mọc ven bờ suối. Nền đáy có nhiều đá, rong rêu bám đá là nguồn thức ăn cho cá. Khu vực cá sinh sống thường có ánh sáng nhiều để tạo phát triển làm thức ăn cho cá. Các yếu tố chất lượng nước ghi nhận: nhiệt độ 22 – 25°C, DO 4 mg/L, pH nước 5,5, độ cứng nước 53,7 mgCaCO₃/L, tốc độ dòng chảy một chiều dao động từ 0,36 – 0,42 m/s. Mùa vụ khai thác cá là mùa nắng từ tháng 3 đến tháng 10 dương lịch, cỡ cá khai thác từ 3 - 4 cm, sản lượng khai thác ngày càng giảm từ năm 2003 đến nay. Kết quả nghiên cứu đã định danh phân loại được ba loài cá tỳ bà bướm: Cá tỳ bà bướm beo (*Sewellia elongate* Roberts, 1998), cá tỳ bà bướm hổ (*Sewellia lineolata* Valenciennes, 1846) và cá tỳ bà bướm đốm (*Sewellia speciosa* Roberts, 1998).

Từ khóa: Cá tỳ bà bướm, điều tra, điều kiện tự nhiên, tình hình khai thác, định danh.

I. GIỚI THIỆU

Tại Thành phố Hồ Chí Minh (TPHCM), cá cảnh là đối tượng nuôi chủ lực phù hợp với chương trình chuyển dịch cơ cấu kinh tế nông nghiệp, xây dựng và phát triển nông nghiệp đô thị của Thành phố. Trong các nhóm cá cảnh xuất khẩu, nhóm cá cảnh tự nhiên bản địa ngày càng có giá trị và được quan tâm trên thị trường trong và ngoài nước, nhưng hiện nay sản lượng đánh bắt và khai thác ngoài tự nhiên ngày càng ít không đủ đáp ứng cho thị trường cá cảnh. Bên cạnh đó nguồn cá cảnh tự nhiên chủ yếu là khai thác nên nguy cơ suy giảm và cạn kiệt dần, một số khác có nguy cơ tuyệt chủng nguồn lợi này. Xác định cá cảnh tiếp tục là đối tượng phù hợp với nền nông nghiệp đô thị và là nguồn thu nhập đáng kể của người dân, Thành phố hiện đã xây dựng chương trình phát triển cá cảnh đến năm

2020 với mục tiêu thành phố Hồ Chí Minh sẽ là nguồn cung cấp cá cảnh chính của khu vực Đông Nam Á và cho thị trường cá cảnh thế giới. Mục tiêu đến năm 2020 sản lượng cá cảnh đạt 150 - 180 triệu con, xuất khẩu 30 – 50 triệu con, kim ngạch xuất khẩu đạt 50 triệu USD, Thành phố cũng yêu cầu tiếp tục nghiên cứu sinh sản nhân tạo, chọn lọc, thuần chủng một số loài cá tự nhiên bản địa dùng làm cảnh được thị trường ưa chuộng, ưu tiên nghiên cứu về bảo tồn giống cá cảnh bản địa quý hiếm. Để đạt mục tiêu trên thì chúng ta cần phải tiếp tục nghiên cứu, thuần dưỡng bảo tồn một số giống cá cảnh tự nhiên bản địa bên cạnh đó ứng dụng tiến bộ khoa học kỹ thuật trong lai tạo, khảo nghiệm, nhập nội và nhân giống một số đối tượng cá cảnh có giá trị xuất khẩu cao về số lượng cũng như chất lượng để phục vụ cho nhu cầu xuất khẩu.

¹ Trung Tâm Nghiên Cứu và Phát Triển Nông Nghiệp Công Nghệ Cao.

* Email: lienkimnguyen85@gmail.com

Tỳ bà bướm (*Sewellia*) là giống cá nước ngọt bản địa của Việt Nam. Loài cá này phân bố ở các sông suối nước ngọt, nơi có dòng chảy mạnh của các tỉnh miền Trung Việt Nam như Bình Định, Quảng Ngãi, Quảng Nam, Đà Nẵng, Huế. Đây là một trong những đối tượng cá cảnh tự nhiên hiện nay khai thác rất nhiều để phục vụ cho xuất khẩu. Chỉ có ở vùng núi miền Trung mới có giống cá tỳ bà bướm quý hiếm. Là loài cá chưa có nghiên cứu sinh sản nhân tạo được công bố. Là loài cá có nguy cơ tuyệt chủng, rất cần được nghiên cứu để duy trì nguồn gen, bảo tồn đa dạng sinh học. Bên cạnh đó đây là loài cá được ưu chuộng và có nhiều tiềm năng trên thị trường cá cảnh tại TpHCM nói riêng và cả nước nói chung. Hiện này, kết quả nghiên cứu định danh phân loại giống cá tỳ bà bướm của nhiều tác giả có nhiều điểm không tương đồng. Cùng một loài có hình thái tương đồng loài *Sewellia lineolata*, nhưng loài phát hiện ở Quảng Ngãi có tên khoa học là *Sewellia trakhucensis*, trong khi đó loài phát hiện ở Thừa Thiên Huế có tên gọi là *Sewellia songboensis* (Nguyễn Văn Hào, 2005). Ở Thừa Thiên Huế, các nghiên cứu đã ghi nhận một số loài thuộc giống *Sewellia*, như *S. songboensis*, *S. brevis*, *S. analis songboensis* (Nguyễn Văn Hào, 2005); *S. brevis*, *S. elongata* và *S. lineolata* (Võ Văn Phú và Nguyễn Duy Thuận, 2009). Vũ Cẩm Lương (2008) thì kết luận rằng tên khoa học cá tỳ bà bướm hồ (*Sewellia lineolata*) và cá tỳ bà bướm đốm (*Sewellia speciosa*). Kết quả nghiên cứu mới của Võ Điều và ctv., (2019) thì kết luận rằng hai loài cá tỳ bà bướm thu thập tại Thừa Thiên Huế có tên khoa học là cá tỳ bà bướm hồ (*Sewellia lineolata*) và cá tỳ bà bướm đốm (*Sewellia albisuera*). Nhưng khi so sánh kết quả định danh phân loại của hai loài trên với các tài liệu phân loại hiện nay như Nguyễn Văn Hào (2005), Kottelat (1994) thì có một số điểm không tương đồng, đặc biệt là loài tỳ bà bướm đốm (*Sewellia speciosa*). Từ thực tế trên nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá tình hình khai thác và điều kiện tự nhiên nơi cá tỳ bà bướm phân bố tại 6 tỉnh

miền Trung; Định danh phân loại các loài cá tỳ bà bướm được thu thập để làm tiền đề cho nghiên cứu thuần dưỡng và sinh sản loài cá này trong điều kiện nhân tạo.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Điều tra điều kiện tự nhiên về nơi phân bố và khai thác các loài cá tỳ bà bướm tại các tỉnh miền Trung.

Địa điểm thực hiện: Căn cứ vào các tài liệu đã tổng hợp về sự phân bố của các loài cá tỳ bà bướm chúng tôi tiến hành điều tra các yếu tố môi trường sống, điều kiện tự nhiên nơi phân bố, khai thác và thu thập các loài cá tỳ bà bướm tại 6 tỉnh miền Trung. Mỗi tỉnh chúng tôi tiến hành điều tra thu mẫu tại một địa điểm.

Thời gian thực hiện: tại mỗi địa điểm nghiên cứu chúng tôi đã tiến hành khảo sát 3 đợt ứng với điều kiện thời tiết là mùa khô lạnh (đợt 1 ngày 22, 23, 24/03 và 5, 6, 7/04/2018), mùa khô nóng (đợt 2 ngày 29,30,31/06 và 6,7,8/07/2018), đầu mùa mưa (đợt 3 ngày 5, 6,7/10 và 11,12,13/10/2018).

Phương pháp nghiên cứu khảo sát tại thực địa: Nhóm nghiên cứu phối hợp với người dân chuyên khai thác các loài cá tỳ bà bướm tại địa phương đến khu vực phân bố của cá để thu mẫu, khảo sát và phỏng vấn trực tiếp 60 ngư dân thường xuyên khai thác cá tỳ bà bướm qua phiếu câu hỏi đã soạn thảo trước để ghi nhận thêm các thông tin sơ cấp về vùng phân bố, điều kiện tự nhiên, tình hình khai thác cá, mùa vụ cá xuất hiện. Mỗi tỉnh chúng tôi chọn 60 hộ dân (10 hộ chuyên đi khai thác cá tỳ bà bướm và 50 hộ ở gần khu vực thu mẫu và hiểu biết về cá tỳ bà bướm) để phỏng vấn. Các chỉ tiêu khảo sát bao gồm: tại mỗi điểm điều tra chúng tôi thu 3 mẫu nước để đo trực tiếp (đo 3 lần lặp lại) các chỉ tiêu môi trường sinh thái nơi cá phân bố như nhiệt độ, độ mặn, độ pH, hàm lượng oxy hòa tan (DO), độ cứng, độ trong, dòng chảy đồng thời quan sát sinh cảnh để tìm hiểu các đặc điểm sinh thái của cá. Thu thập 200 con cá tỳ bà bướm/tỉnh để khảo sát hình thái bên ngoài và định danh phân loại cá tỳ bà bướm.

Phương pháp đo các chỉ tiêu: Độ pH, DO, độ mặn, độ cứng đo bằng máy cầm tay kết hợp với các test kit hiệu Sera do Đức sản xuất. Độ trong đo bằng đĩa secchi, nhiệt độ đo bằng nhiệt kế chuyên dùng, dòng chảy đo trực tiếp dùng đồng hồ bấm giờ. Tất cả các mẫu nước được lấy ở tầng giữa của thủy vực.

Số liệu được thu thập qua phỏng vấn 60 người dân khai thác cá tỳ bà bướm và 300 hộ dân ở gần khu vực thu mẫu bằng bảng câu hỏi đã soạn sẵn. Số liệu được tổng hợp và xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel. Thông qua các kết quả, chúng tôi tiến hành phân tích, xem xét, đánh giá sự khác nhau giữa các vùng điều tra.

2.2. Định danh các loài cá tỳ bà bướm

Địa điểm thu mẫu cá: Cá tỳ bà bướm được thu tại các suối nước ngọt tại 6 tỉnh miền Trung.

Phương pháp thu mẫu cá: Cá thường trú ẩn dưới lớp đá do vậy để thu được cá bằng cách lật nhẹ các lớp đá lên rồi dùng vợt hoặc dùng rô nhựa để vớt cá. Cá thu xong được chứa trong các xô nhựa đã có sẵn nước nơi thu cá. Sử dụng bao nhựa PE có kích thước 60 x 80 cm để vận chuyển cá về bố trí thí nghiệm tại Trung tâm. Dùng nước sạch tại nơi thu mẫu để chứa cá, sử dụng nước đá để ổn định nhiệt độ nước và đảm bảo nhiệt độ nước trong quá trình vận chuyển là 22°C. Bơm khí oxy để cung cấp khí oxy cho cá trong quá trình vận chuyển. Cá được vận chuyển về bằng đường bộ thời gian vận chuyển từ 18 – 24 giờ.

Mẫu cá được thu thập tiến hành khảo sát ghi nhận các đặc điểm về hình thái bên ngoài của cá bao gồm: Chiều dài chuẩn, chiều dài đầu, chiều cao đầu, số nốt sần trên thân, hình dạng, màu sắc, hoa văn trên cơ thể, kích thước miệng,...

Xác định tên khoa học của các loài cá tỳ bà bướm được thu thập tại 6 tỉnh miền Trung: tên khoa học được xác định theo phương pháp hình thái so sánh dựa trên mẫu đã công bố trên trang fishbase.org và một số công trình (Rainboth, 1996; Roberts, 1998; Freyhof, 2003) mô tả đặc điểm hình thái về các loài cá tỳ bà bướm. Ngoài

ra để định danh mẫu nhóm nghiên cứu đã phối hợp với Viện nghiên cứu nuôi trồng thủy sản II để định danh từng loài cá đã được thu thập tại 6 tỉnh miền nam Trung dựa theo khóa định loại CITES Identification Guide to the Fresh water Fish và hệ thống định loại của FAO.

III. KẾT QUẢ

3.1. Điều kiện tự nhiên về nơi phân bố các loài cá tỳ bà bướm tại 6 tỉnh miền Trung

Kết quả khảo sát điều kiện tự nhiên nơi phân bố cá tỳ bà bướm 6 tỉnh miền Trung được trình bày qua Bảng 1. Kết quả ghi nhận địa hình nơi cá phân bố ở 6 tỉnh miền Trung là như nhau đều là các con suối ở miền núi, cá bám trên các tảng đá nơi nước chảy xiết, cá thường tập trung nhiều ở thượng nguồn.

3.2. Các yếu tố môi trường sống của cá tỳ bà bướm

Do các yếu tố môi trường sống của cá tỳ bà bướm ở 6 tỉnh miền Trung tương đối giống nhau nên chúng tôi tiến hành phân tích dựa trên 3 đợt khảo sát ứng với 3 điều kiện thời tiết khác nhau. Từ kết quả khảo sát trong Bảng 2 đã ghi nhận một số thông tin về điều kiện môi trường sống của cá tỳ bà bướm như sau: Cá phân bố tại vùng thượng nguồn và hạ nguồn của các con suối chảy qua vùng rừng từ Huế đến Phú Yên, ở thượng nguồn cá tập trung nhiều hơn so với hạ nguồn; Sinh cảnh nơi cá phân bố là những cây rừng mọc ven bờ suối. Độ sâu thủy vực dao động từ 20 – 80 cm. Nền đáy có nhiều đá, rong rêu bám đá là nguồn thức ăn cho cá. Khu vực cá sinh sống thường có ánh sáng nhiều để tảo phát triển làm thức ăn cho cá. Các yếu tố chất lượng nước ghi nhận: nhiệt độ 22 – 25°C, DO 4 mg/L, pH nước 5,5, độ cứng nước 53,7 mgCaCO₃/L, tốc độ dòng chảy một chiều dao động từ 0,36 – 0,42 m/s chênh lệch do điều kiện mùa nắng và mưa khác nhau. Độ trong tương đương với độ sâu thủy vực 20 – 80 cm, cá sống ở khe suối thích nghi với dòng chảy mạnh nên nguồn nước luôn trong cũng là điều kiện để phát triển tảo đáy làm thức ăn cho cá.

VIỆN NGHIÊN CỨU NUÔI TRỒNG THỦY SẢN II

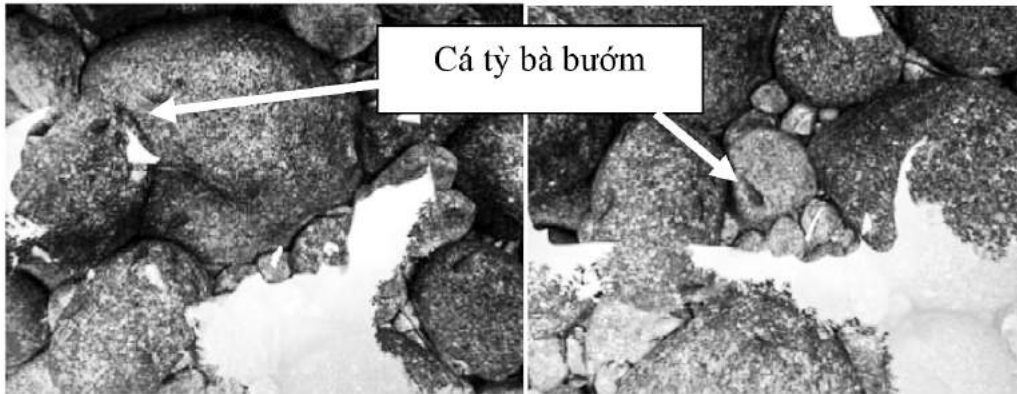
Bảng 1. Điều kiện tự nhiên nơi phân bố cá tỳ bà bướm

Nơi khảo sát	Thông số			
	Ngày khảo sát	Đặc điểm địa hình	Đặc điểm môi trường nước	Đặc điểm khí hậu
Huế	22/03; 29/06; 05/10	Vùng núi, sông ở suối	Nước chảy	Mùa khô, lạnh; Mùa khô, nóng; Đầu mùa mưa
Đà Nẵng	23/03; 30/06; 06/10	Vùng núi, sông ở suối	Nước chảy	Mùa khô, lạnh; Mùa khô, nóng; Đầu mùa mưa
Quảng Nam	24/03; 31/06; 07/10	Vùng núi, sông ở suối	Nước chảy	Mùa khô, lạnh; Mùa khô, nóng; Mùa mưa
Quảng Ngãi	07/04; 08/07; 13/10	Vùng núi, sông ở suối	Nước chảy	Mùa khô, lạnh; Mùa khô, nóng; Đầu mùa mưa
Bình Định	06/04; 07/07; 12/10	Vùng núi, sông ở suối	Nước chảy	Mùa khô, lạnh; Mùa khô, nóng; Mùa mưa
Phú Yên	05/04; 06/07; 11/10	Vùng núi, sông ở suối	Nước chảy	Mùa khô, lạnh; Mùa khô, nóng; Đầu mùa mưa

Bảng 2. Kết quả khảo sát các yếu tố môi trường nước tại nơi phân bố cá tỳ bà bướm ở 6 tỉnh miền Trung

Thông số	Đợt khảo sát		
	Đợt 1	Đợt 2	Đợt 3
Nhiệt độ nước (°C)	21,72 ± 0,57	24,76 ± 0,43	24,55 ± 0,51
DO (ppm)	4,12 ± 0,49	4,36 ± 0,48	4,24 ± 0,44
pH	6,14 ± 0,19	6,15 ± 0,21	6,17 ± 0,22
Độ cứng (mgCaCO ₃ /l)	52,71 ± 17,87	53,7 ± 15,04	53,7 ± 18,42
Tốc độ dòng chảy 1 chiều (m/s)	0,38 ± 0,01	0,36 ± 0,01	0,42 ± 0,01
Độ sâu thủy vực (cm)	20 - 80	20 - 80	20 - 80
Độ trong (cm)		20 - 80	
Đặc điểm nền đáy		Có nhiều đá lớn nhỏ	
Điều kiện ánh sáng		Ánh sáng nhiều	
Sinh cảnh		Cây rừng mọc ven bờ suối	

Số liệu trình bày trong bảng là giá trị trung bình ± sai số số trung bình của 6 điểm thu mẫu tại 6 tỉnh miền Trung.



Hình 1. Nền đáy cá tỳ bà bướm hồ bám tại Ấp An Cư Tây, Lăng Cô, Phú Lộc, Huế

3.3. Tình hình khai thác cá tỳ bà bướm

Kết quả khảo sát tình hình khai thác cá tỳ bà bướm ở 6 tỉnh miền Trung được chúng tôi ghi nhận qua Bảng 3. Theo điều tra từ những ngư dân và từ những chủ trại cá cảnh chuyên thu mua cá tỳ bà bướm thì cá tỳ bà bướm xuất hiện

quanh năm. Tuy nhiên người ta sẽ khai thác cá theo mùa, qua kết quả điều tra cả 6 tỉnh miền Trung mùa khai thác cá tỳ bà bướm vào mùa khô (thường từ tháng 3 – 10 dương lịch hoặc thời điểm khai thác phù thuộc vào điều kiện thời tiết mỗi năm tại miền trung) là chủ yếu.

Bảng 3. Tình hình khai thác cá tỳ bà bướm theo kết quả khảo sát tại nơi cá phân bố

Nơi khảo sát	Thông số				
	Mùa khai thác	Tần số cá xuất hiện	Loài cá tỳ bà bướm	Dụng cụ khai thác	Cỡ cá khai thác
Huế	Mùa nắng	XXX	Hồ, đóm	Thả lưới, dùng vợt	3 – 4 cm
Đà Nẵng	Mùa nắng	XXX	Hồ, đóm	Thả lưới, dùng vợt	3 – 4 cm
Quảng Nam	Mùa nắng	XXX	Hồ	Thả lưới, dùng vợt	3 – 4 cm
Quảng Ngãi	Mùa nắng	X	Hồ	Thả lưới, dùng vợt	3 – 4 cm
Bình Định	Mùa nắng	XX	Hồ, beo	Thả lưới, dùng vợt	3 – 4 cm
Phú Yên	Mùa nắng	X	Hồ	Thả lưới, dùng vợt	3 – 4 cm

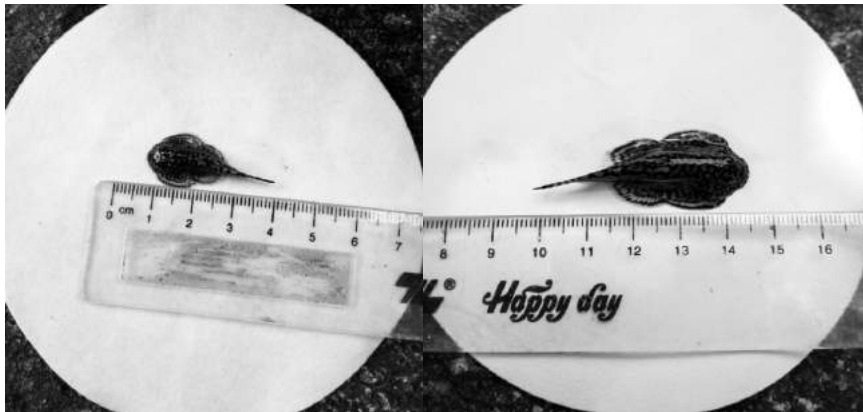
Ghi chú: XXX (Cá tỳ bà bướm xuất hiện nhiều); XX (Cá tỳ bà bướm xuất hiện trung bình) và X (Cá tỳ bà bướm xuất hiện ít).

Ở 6 tỉnh miền Trung tần số cá xuất hiện lại khác nhau, cá tập trung nhiều ở Huế, Đà Nẵng, Quảng Nam và càng vào phía miền nam thì số lượng cá ít dần. Theo kết quả ghi nhận từ một số trại thu mua cá tỳ bà bướm cho xuất khẩu, thì nguồn cá tỳ bà bướm thu ngoài tự nhiên từ các ngư dân chủ yếu từ Huế, Đà Nẵng, Quảng Nam và một số ít ở Bình Định. Cá tỳ bà bướm với

nhiều kiểu hình khác nhau cũng được ghi nhận, chúng tôi đã thu thập được 3 kiểu hình cá tỳ bà bướm trong quá trình khảo sát. Cá tỳ bà bướm hồ phân bố từ Huế đến Phú Yên, cá tỳ bà bướm đóm có ở Huế, Đà Nẵng và cá tỳ bà bướm beo chỉ có ở Bình Định. Điều này cho thấy sự đa dạng của cá tỳ bà bướm và sự phân bố đặc trưng của từng loài ở từng vùng khác nhau.

Với tập tính sống bám vào các tảng đá trong các khe suối nước chảy xiết, do đó việc khai thác cá thường gặp khó khăn. Theo điều tra của chúng tôi, có nhiều cách khai thác cá tỳ bà bướm: Dùng vợt do cá sống bám vào các tảng đá nên lật nhẹ các tảng đá và dùng vợt hoặc rổ vớt cá. Bằng hình thức này thì tỉ lệ sống của cá cao do cá không bị xây sát nhiều và đây cũng là hình thức khai thác cá phổ biến nhất hiện nay; Ngoài ra còn dùng trum, thả lưới thường các ngư dân dùng lưới thả quanh một vùng (thường 3 – 4 giờ) sau đó thu lưới và bắt cá. Hình thức này ít phổ biến hơn, cá đánh bắt có tỉ lệ sống thấp hơn do xây sát trong quá trình thu cá.

Cá tỳ bà bướm là loài thích hợp trong bể thủy sinh nên kích thước cá thị trường ưa chuộng cũng là tiêu chí ảnh hưởng trực tiếp đến cỡ cá khai thác ngoài tự nhiên. Cá khai thác ngoài tự nhiên kích cỡ chủ yếu dao động từ 3 – 4 cm, với kích thước này thì màu sắc, hoa văn trên cá thể hiện rõ nét và việc đánh bắt cá dễ dàng hơn. Tuy nhiên, trong quá trình khai thác có những cá nhỏ hơn từ 1 – 2 cm người dân vẫn đánh bắt và đây là một trong những lý do làm cho nguồn cá ngoài tự nhiên ngày càng có nguy cơ tuyệt chủng.



Hình 2. Cỡ cá khai thác ngoài tự nhiên

Bảng 4. Sản lượng khai thác cá tỳ bà bướm

Thời gian	Sản lượng (con/năm)	Loại cá (%/năm)		
		Cá tỳ bà bướm hổ	Cá tỳ bà bướm đốm	Cá tỳ bà bướm beo
Trước năm 2003	Rất nhiều*	-	-	-
Từ 2004 – 2015	600.000	70	20	10
Từ 2015 – nay	300.000	70	20	10

*Ghi chú: Số liệu chúng tôi thu thập tại các cơ sở thu mua và người dân chuyên khai thác cá tỳ bà bướm tại nơi khảo sát dùng để phục vụ cho nghiên cứu này. *Trước năm 2003 cá chưa được thu mua cho xuất khẩu nên chưa ước tính được sản lượng khai thác, mà số lượng cá xuất hiện ngoài tự nhiên rất nhiều.*

Thông tin ghi nhận từ người dân đánh bắt cá, số lượng cá tỳ bà bướm ngoài tự nhiên ngày càng giảm do sự khai thác quá mức đã tác động đến nguồn lợi tự nhiên. Kết quả phỏng vấn từ ngư dân và một số trại chuyên thu mua cá cảnh

tự nhiên cho xuất khẩu tại nơi khảo sát, trước năm 2003 cá tỳ bà bướm xuất hiện ngoài tự nhiên rất nhiều mỗi lần khai thác cá sản lượng được tính bằng kg tại thời điểm đó cá chưa được thị trường quan tâm. Xuất khẩu cá tỳ bà bướm

bắt đầu thu hút sự quan tâm của thị trường thế giới từ năm 2004 và ngày càng ưa chuộng trên thị trường cá cảnh, chỉ có ở vùng núi miền Trung mới có giống cá tỳ bà bướm quý hiếm này nên số lượng cá khai thác ngày càng nhiều để phục vụ cho xuất khẩu. Ngoài khai thác cá tỳ bà bướm người dân dùng thuốc để khai thác các loài khác như tôm, cá chình nên đã làm giảm số lượng cá tỳ bà bướm. Mặc khác tại Huế, Đà Nẵng môi

trường sống của cá tỳ bà bướm bị ảnh hưởng do con người khai thác các con suối để phát triển du lịch. Trước tình hình khai thác cá quá mức mà chưa có sự quản lý của chính quyền địa phương thì nguy cơ cạn kiệt nguồn cá này ngoài tự nhiên rất cao nên việc điều tra nghiên cứu nuôi dưỡng và sinh sản là điều cần thiết hiện nay đối với cá tỳ bà bướm.

Bảng 5. Tình hình khai thác cá tỳ bà bướm theo kết quả phân tích từ 360 phiếu điều tra

Nơi thu mẫu	Thông số	Kết quả phiếu khảo sát
Huế	Nơi cá tỳ bà bướm sinh sống	Vùng núi
	Mùa khai thác	Mùa khô (tháng 3 – 10 dương lịch)
	Mùa sinh sản	Tháng 4 - 7 dương lịch
	Sản lượng đánh bắt	500 - 700 con/lần
	Loài cá tỳ bà bướm	Hồ, đóm
	Cỡ cá khai thác	3 - 5 cm
	Dụng cụ khai thác	Thả lưới, dùng vợt
	Nơi tiêu thụ cá	TpHCM
Đà Nẵng	Nơi cá tỳ bà bướm sinh sống	Vùng núi
	Mùa khai thác	Mùa khô (tháng 3 – 10 dương lịch)
	Mùa sinh sản	Tháng 4 - 7 dương lịch
	Sản lượng đánh bắt	500 - 700 con/lần
	Loài cá tỳ bà bướm	Hồ, đóm
	Cỡ cá khai thác	3 - 5 cm
	Dụng cụ khai thác	Thả lưới, dùng vợt
	Nơi tiêu thụ cá	TpHCM
Quảng Nam	Nơi cá tỳ bà bướm sinh sống	Vùng núi
	Mùa khai thác	Mùa khô (tháng 3 – 10 dương lịch)
	Mùa sinh sản	Tháng 4 - 7 dương lịch
	Sản lượng đánh bắt	500 - 800 con/lần
	Loài cá tỳ bà bướm	Hồ
	Cỡ cá khai thác	4 - 5 cm
	Dụng cụ khai thác	Thả lưới, dùng vợt
	Nơi tiêu thụ cá	TpHCM
Quảng Ngãi	Nơi cá tỳ bà bướm sinh sống	Vùng núi
	Mùa khai thác	Mùa khô (tháng 4 – 10 dương lịch)
	Mùa sinh sản	Tháng 4 - 7 dương lịch
	Sản lượng đánh bắt	100 - 150 con/lần
	Loài cá tỳ bà bướm	Hồ
	Cỡ cá khai thác	3 - 4 cm
	Dụng cụ khai thác	Thả lưới, dùng vợt
	Nơi tiêu thụ cá	TpHCM

Bình Định	Nơi cá tỳ bà bướm sinh sống	Vùng núi
	Mùa khai thác	Mùa khô (tháng 3 – 10 dương lịch)
	Mùa sinh sản	Tháng 4 - 7 dương lịch
	Sản lượng đánh bắt	120 - 300 con//lần
	Loài cá tỳ bà bướm	Hồ, beo
	Cỡ cá khai thác	3 - 4 cm
	Dụng cụ khai thác	Thả lưới, dùng vợt
	Nơi tiêu thụ cá	TpHCM
Phú Yên	Nơi cá tỳ bà bướm sinh sống	Vùng núi
	Mùa khai thác	Mùa khô (tháng 3 – 10 dương lịch)
	Mùa sinh sản	Tháng 4 - 7 dương lịch
	Sản lượng đánh bắt	100 con/lần
	Loài cá tỳ bà bướm	Hồ
	Cỡ cá khai thác	3 - 4 cm
	Dụng cụ khai thác	Thả lưới, dùng vợt
	Nơi tiêu thụ cá	TpHCM

Qua kết quả phân tích 360 phiếu khảo sát về tình hình khai thác cá tỳ bà bướm tại 6 tỉnh miền Trung (Bảng 5) thì có 360 ý kiến cho rằng nơi cá tỳ bà bướm sinh sống là vùng núi nơi có nước chảy xiết. Mùa khô là thời điểm thuận lợi cho việc khai thác cá tỳ bà bướm. Trong tự nhiên, cá sinh sản tập trung vào khoảng thời gian từ tháng 4 đến tháng 7 trong năm. Khoảng thời gian này, thời tiết miền trung có mưa giông nên nhiệt độ thay đổi (từ cao xuống thấp) và đây có thể là điều kiện để cá tỳ bà bướm sinh sản. Kết quả ghi nhận này trùng với thông tin phỏng vấn từ người đánh bắt là

khi có mưa giông thì cá tỳ bà bướm đẻ rất nhiều. Sản lượng khai thác cá tập trung nhiều ở Huế, Đà Nẵng và Quảng Nam càng vào miền nam thì sản lượng khai thác cá ít dần. Thành phố Hồ Chí Minh là thị trường tiêu thụ chính cá tỳ bà bướm được thu thập tại miền Trung.

3.4. Định danh loài

Đã xác định được 3 loài trong các mẫu được thu thập dựa theo khóa định loại CITES Identification Guide to the Fresh water Fish và hệ thống định loại của FAO.

3.4.1. Cá tỳ bà bướm đốm (Hình 3)

Bộ: Cypriniformes

Họ: Balitoridae

Giống: Sewellia

Loài: *Sewellia speciosa* Roberts, 1998

Tên tiếng anh: Spotted butterfly loach

Tên tiếng việt: Cá tỳ bà bướm đốm

Bảng 6. Các chỉ tiêu đo cá tỳ bà bướm đốm *Sewellia speciosa* Roberts, 1998

Chỉ tiêu	Kích thước đo (mm)		
	Max	Min	Trung bình
Chiều dài chuẩn	60	38	48,90 ± 7,76
Chiều dài đầu	11	8	10,00 ± 2,12

Chiều cao đầu	6	4	5,16 ± 0,87
Chiều dài cuốn đuôi	12	8	10,00 ± 1,58
Chiều cao đuôi	6,5	3,5	5,20 ± 1,35
Chiều rộng miệng	3	2	2,64 ± 0,6

Kết quả phân tích dựa vào hình thái học như sau: Vây lưng 9 tia, vây ngực 23 tia, vây bụng 19 tia. Không sọc đen trên thân. Không có dãy đồng tâm trên vây ghép (vây ngực và vây bụng). Góc vây bụng ngang góc vây lưng.

Những mảng nhỏ nhô lên cao trên các tia vây ngực đầu tiên (các nốt nhỏ). Có nhiều đốm trên thân. Vây bụng đến gốc vây hậu môn. Thân và các vây có nhiều đốm nhỏ màu vàng trên nền nâu sẫm.

Bảng 7. Các đặc điểm hình thái của cá tỳ bà bướm đốm *Sewellia speciosa* Roberts, 1998

Chỉ tiêu	Kết quả phân tích đề tài	Cá tỳ bà bướm đốm (<i>Sewellia speciosa</i>)	
		Roberts, 1998	Nguyễn Văn Hào, 2005
Vây lưng	9	-	9
Vây ngực	23	20 – 22	23
Vây bụng	19	19	19
	Vây bụng đến gốc vây hậu môn	Vây bụng chạm gốc vây hậu môn	

So sánh kết quả phân tích dựa vào hình thái học của loài cá nghiên cứu với chỉ tiêu hình thái phân loại của Roberts (1998), Nguyễn Văn Hào

(2005) cho thấy các chỉ tiêu hình thái của cá chúng tôi thu thập tương đồng với loài *Sewellia speciosa* Roberts, 1998.

3.4.2. Cá tỳ bà bướm hổ (Hình 4)

Bộ: Cypriniformes

Họ: Balitoridae

Giống: *Sewellia*

Loài: *Sewellia lineolata* (Valenciennes, 1846)

Tên tiếng anh: Butterfly loach

Tên tiếng việt: Cá tỳ bà bướm hổ

Bảng 8. Các chỉ tiêu đo cá tỳ bà bướm hổ *Sewellia lineolata* (Valenciennes, 1846)

Chỉ tiêu	Kích thước đo (mm)		
	Max	Min	Trung bình
Chiều dài chuẩn	55	35	42,75 ± 6,55
Chiều dài đầu	11	6,5	9,00 ± 1,87
Chiều cao đầu	6	4	4,89 ± 0,85
Chiều dài cuốn đuôi	11,5	7	9,63 ± 1,49
Chiều cao đuôi	5	3,5	4,25 ± 0,65
Chiều rộng miệng	2	1,5	1,70 ± 0,24

Kết quả phân tích dựa vào hình thái học như sau: Có 3 sọc đen đậm trên thân. Có 2 dãy đồng tâm trên vây ngực và vây bụng (vây ghép). Góc vây bụng ngang gốc vây lưng. Những mảng nhỏ

nhô lên cao trên các tia vây ngực đầu tiên. Góc vây ngực cách xa mép miệng. Vây lưng 9 tia, vây ngực 20 – 21 tia, vây bụng 17 – 18 tia. Vây bụng đến gốc vây hậu môn.

Bảng 9. Các đặc điểm hình thái của cá tỳ bà bướm hồ *Sewellia lineolata* (Valenciennes, 1846)

Chỉ tiêu	Kết quả phân tích đề tài	Cá tỳ bà bướm hồ (<i>Sewellia lineolata</i>)	
		Kottelat, 1994	Nguyễn Văn Hảo, 2005
Vây lưng	9	8	7
Vây ngực	20 - 21	21 – 22	20 - 21
Vây bụng	17 - 18	17 - 18	17 - 18

Kết quả phân tích dựa vào hình thái học của loài cá nghiên cứu với chỉ tiêu hình thái phân loại của Kottelat (1994), Nguyễn Văn Hảo (2005) cho thấy các chỉ tiêu hình thái của cá

chúng tôi thu thập cũng tương đồng với loài tỳ bà bướm hồ *Sewellia lineolata* (Valenciennes, 1846).

3.4.3. Cá tỳ bà bướm beo (Hình 5)

Bộ: Cypriniformes

Họ: Balitoridae

Giống: *Sewellia*

Loài: *Sewellia elongate* Roberts, 1998

Tên tiếng anh: Satr butterfly loach

Tên tiếng việt: Cá tỳ bà bướm beo

Bảng 10. Các chỉ tiêu đo cá tỳ bà bướm beo *Sewellia elongate* Roberts, 1998

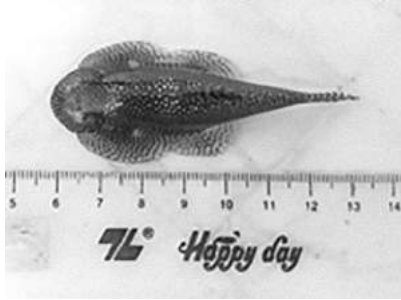
Chỉ tiêu	Kích thước đo (mm)		
	Max	Min	Trung bình
Chiều dài chuẩn	55	31	40,4 ± 12,1
Chiều dài đầu	13	6	9,1 ± 3,2
Chiều cao đầu	5,5	3	4,2 ± 1,22
Chiều dài cuốn đuôi	14	8	9,2 ± 4,13
Chiều cao đuôi	6,2	3	4,26 ± 1,73
Chiều rộng miệng	2	1,5	1,86 ± 0,26

Kết quả phân tích dựa vào hình thái học như sau: Vây lưng 9 tia, vây ngực 24 – 27 tia, vây bụng 18 – 20 tia. Không có sọc đen. Không có dãy đồng tâm. Góc vây bụng nằm sau gốc vây lưng. Có các nốt ở 2 bên môn. Vây bụng vượt qua hậu môn nhưng không đến gốc

vây hậu môn. So sánh các chỉ tiêu hình thái trong nghiên cứu của chúng tôi cho thấy loài cá chúng tôi thu thập có điểm tương đồng với loài cá tỳ bà bướm beo *Sewellia elongate* Roberts, 1998 (Bảng 11).

Bảng 11. Các đặc điểm hình thái của cá tỳ bà bướm beo *Sewellia elongate* Roberts, 1998

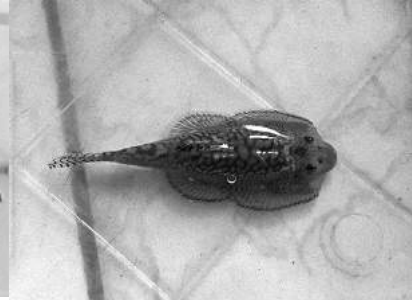
Chỉ tiêu	Kết quả nghiên cứu của chúng tôi	Cá tỳ bà bướm beo (<i>Sewellia elongate</i>) Roberts, 1998
Vây lưng	9	-
Vây ngực	24 – 27	22 – 24
Vây bụng	18 - 20	20



Hình 3. Cá tỳ bà bướm đốm



Hình 4. Cá tỳ bà bướm hổ



Hình 5. Cá tỳ bà bướm beo

IV. THẢO LUẬN

Cá tỳ bà bướm (*Sewellia*) là giống cá nước ngọt bản địa tại Việt Nam đã và đang được khai thác vụ phục vụ cho xuất khẩu. Tuy nhiên các nghiên cứu về cá tỳ bà bướm cho đến nay vẫn chưa được quan tâm nhiều. Theo ghi nhận từ các tài liệu hiện có, những nghiên cứu về cá tỳ bà bướm mới chỉ dừng lại ở mức độ phân loại, phân bố và nghiên cứu đặc điểm sinh học sinh sản của cá. Hiện nay việc định danh các loài cá tỳ bà bướm còn có nhiều điểm chưa thông nhất. Nghiên cứu mới nhất của Võ Điều và ctv., (2019) đã kết luận rằng hai loài cá tỳ bà bướm (giống *Sewellia*) phân bố ở Thừa Thiên Huế là tỳ bà bướm hổ có tên khoa học là *Sewellia lineolata* Valenciennes, 1846 và tỳ bà bướm đốm có tên khoa học là *Sewellia albisuera* Freyhof, 2003. Tuy nhiên, khi so sánh kết quả phân loại của hai loài trên với một số kết quả nghiên cứu khác thì có một số điểm không tương đồng đặc biệt là loài cá tỳ bà bướm đốm. Kết quả nghiên cứu định danh của chúng tôi cho rằng, cá tỳ bà bướm hổ có tên khoa học là *Sewellia lineolata* Valenciennes, 1846 và tỳ bà bướm đốm có tên khoa học là *Sewellia speciosa* Roberts, 1998. Kết quả định danh cá tỳ bà bướm đốm của chúng tôi giống với kết quả so sánh hình thái phân loại của một số tác giả Vũ Cẩm Lương (2008), Nguyễn Văn Hào (2005), Kottelat (1994) cũng cho rằng cá tỳ bà bướm đốm có tên khoa học là *Sewellia*

speciosa Roberts, 1998. Mẫu cá tỳ bà bướm beo chúng tôi thu thập tại Bình Định có tên khoa học là *Sewellia elongate* Roberts, 1998. Đây là loài phân bố duy nhất tại tỉnh Bình Định. Theo như tài liệu tổng hợp trong các loài thuộc giống *Sewellia*, Việt Nam có đến 8 loài, phân bố của các loài ở khu vực miền trung. Tuy nhiên theo kết quả điều tra tại 6 tỉnh miền trung của chúng tôi, hiện nay ngoài tự nhiên chỉ thu thập được 3 loài cá tỳ bà bướm (hổ, đốm và beo). Điều này có thể do một số loài cá tỳ bà khác đã không còn do môi trường sống ngoài tự nhiên thay đổi, do con người khai thác quá mức làm suy kiệt nguồn lợi này. Ngoài ra, cũng có thể do giới hạn đề tài nên chúng tôi chưa đi điều tra hết tất cả các con suối nơi cá tỳ bà bướm sinh sống nên chưa thu thập được tất cả các loài thuộc giống *Sewellia*.

Cá tỳ bà bướm là loài phân bố ở các con suối nước ngọt, nơi có dòng chảy mạnh và có hàm lượng oxy hòa tan cao từ Huế vào Phú Yên. Trong đó, cá tỳ bà bướm hổ phân bố từ Huế đến Phú Yên, cá tỳ bà bướm đốm ở Huế và Đà Nẵng, cá tỳ bà bướm beo chỉ có ở Bình Định và sản lượng cá ít hơn so với hai loài còn lại. Hiện nay, ba loài cá tỳ bà bướm được chúng tôi thu thập đã và đang được người dân khai thác để phục vụ cho thị trường cá cảnh. Cá sống ở khe suối, nước chảy mạnh nên điều kiện thời tiết ảnh hưởng trực tiếp đến mùa vụ khai thác cá. Mùa khô nước cạn, chảy nhẹ, thuận lợi cho việc

khai thác cá, vào mùa mưa nước chảy rất mạnh và nguồn nước lại sâu nên việc khai thác cá gặp nhiều khó khăn. Theo kết quả phỏng vấn người đánh bắt cá cho thấy, vào mùa mưa có nhiều đơn hàng đặt mua cá với giá khá cao nhưng lượng cá khai thác không đủ để cung cấp. Chính vì vậy đã tạo nên tính mùa vụ của cá tỳ bà bướm ở thị trường cá cảnh TpHCM và xuất khẩu. Trong các loài cá tỳ bà bướm khai thác cho xuất khẩu hiện nay thì cá tỳ bà bướm hồ (*Sewellia lineolata*) là loài được khai thác nhiều nhất để phục vụ cho xuất khẩu (Nguyễn Duy Thuận và ctv., 2018). Với tình trạng khai thác quá mức mà không có sự can thiệp của chính quyền địa phương nên nguồn cá ngoài tự nhiên ngày càng giảm dần về sản lượng khai thác hàng năm và có nguy cơ tuyệt chủng nguồn lợi này.

Căn cứ vào các kết quả trên chúng tôi khẳng định ba loài cá tỳ bà bướm đã thu thập tại 6 tỉnh miền Trung trong nghiên cứu này là *Sewellia lineolata* Valenciennes, 1846 (cá tỳ bà bướm hồ), *Sewellia speciosa* Roberts, 1998 (cá tỳ bà bướm đốm), *Sewellia elongate* Roberts, 1998 (cá tỳ bà bướm beo).

V. KẾT LUẬN

Cá tỳ bà bướm phân bố ở các con suối nơi có nước chảy xiết tại các tỉnh miền trung, các yếu tố môi trường sống của cá bao gồm: nhiệt

độ nước 22° – 25°C, pH nước 6,0, DO 4mg/L, độ cứng 53,7 mgCaCO₃/L, độ trong 20 – 80 cm, tốc độ dòng chảy một chiều 0,38 – 0,42. Mùa vụ khai thác cá chủ yếu là mùa nắng, cỡ cá khai thác từ 3 - 4 cm. Sản lượng khai thác cá tỳ bà bướm ngày càng giảm và có nguy cơ cạn kiệt nguồn cá ngoài tự nhiên. Việc khai thác cá không có sự quản lý của chính quyền địa phương. Đã định danh được 3 loài cá tỳ bà bướm trong các mẫu cá thu tại 6 tỉnh miền Trung: Cá tỳ bà bướm beo (*Sewellia elongate* Roberts, 1998), cá tỳ bà bướm hồ (*Sewellia lineolata* Valenciennes, 1846) và cá tỳ bà bướm đốm (*Sewellia speciosa* Roberts, 1998).

VI. KIẾN NGHỊ

Cần tiếp tục nghiên cứu thuần dưỡng môi trường sống của cá trong điều kiện nhân tạo để hướng đến nghiên cứu sinh sản loài cá này để phục vụ cho xuất khẩu cá cảnh và bảo tồn cá tỳ bà bướm ngoài tự nhiên.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Sở Khoa học Công nghệ TP. Hồ Chí Minh và Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Nông nghiệp Công nghệ cao đã hỗ trợ kinh phí cho thực hiện nghiên cứu này.

(Osteichthys) ở khu bảo tồn Sao la, tỉnh Thừa Thiên Huế, *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, chuyên đề: Thủy sản, 54(2), 7–18.

Tài liệu tiếng Anh

- Freyhof, J., 2003. *Sewellia albisuera* a new balitorid loach from Central Vietnam (Cypriniformes: Balitoridae). *Ichthyol. Explor. Freshwaters* v. 14 (no.3): 225 – 230.
- Kottelat M., 1994. Rediscovery of *Sewellia lineolata* in Annam, Viet Nam (Teleostei: Balitoridae). *Zoologische Mededelingen*, 68(11), 109–112.
- Rainboth, W.J., 1996. *FAO species identification field guide for fisheries purpose*. Fish of the Cambodian Mekong. FAO, Rome. 265p.
- Roberts, T.R., 1998. Systematic revision of the Balitorid loach genus *Sewellia* of Vietnam and Laos, with diagnoses of four new species. *Raffles Bulletin of Zoology* 46(2): 271-288.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tiếng Việt

- Võ Điều, Trần Văn Việt, Phan Đỗ Dạ Thảo, 2019. Định danh thành phần loài cá tỳ bà bướm (*Sewellia* spp.) phân bố ở Thừa Thiên Huế dựa trên đặc điểm hình thái và DNA mã vạch. *Tạp chí Khoa học đại học Huế*, 3C, trang 1 -12.
- Nguyễn Văn Hào, 2005. *Cá nước ngọt Việt Nam*, tập II. NXB. Nông nghiệp Hà Nội.
- Vũ Cẩm Lương, 2008. *Cá cảnh nước ngọt*. NXB Nông Nghiệp. 263 trang.
- Võ Văn Phú và Nguyễn Duy Thuận, 2009. Cấu trúc thành phần loài cá ở hệ thống sông Ô Lâu, tỉnh Thừa Thiên Huế. *Tạp chí khoa học Đại học Huế*, 55, 61–71.
- Nguyễn Duy Thuận, Võ Văn Phú và Vũ Thị Phương Anh, 2018. Dẫn liệu về thành phần loài cá xương

INVESTIGATION, COLLECTION AND IDENTIFICATION SOME SPECIES BELONG TO *Sewellia* spp. AT THE CENTRAL PROVINCES OF VIETNAM

Nguyen Thi Kim Lien^{*}, Truong Thi Thuy Hang¹, Ngo Khanh Duy¹

ABSTRACT

The study aims to investigate the natural conditions of distribution, the exploitation and identification of fishes belonging to *Sewellia* spp. groups collected in Hue, Da Nang, Quang Nam, Quang Ngai and Phu Yen (six central provinces of Vietnam). The study consists of two main contents: Firstly, to investigate the natural conditions of distribution and the exploitation of *Sewellia* spp. in the six central provinces by fisher survey in the study sites through questionnaires; Secondly, taxonomic identification of the *Sewellia* spp. collected based on CITES Identification Guide to the Fresh water Fish and FAO classification system. The result demonstrated that the topography of the fish distributed in the six central provinces is the same, all are waterstreams in the mountain areas. Fish are distributed at the upstream and downstream of streams flowing through the forest from Hue to Phu Yen, many fish stick on the rocks where the water flow is fast, and fish distribution at the upstream are more concentrated than that at the downstream. The habitat of fish distribution area is the forest where waterstream flowthrough. The mossy rocky bottom is the main food source for fish. The area where the fish live often has high level of light suitable for algae development and served as the food source for the fish. The water quality factors recorded: temperature of 22 - 25°C, DO 4 ppm, water pH 5.5, water hardness 53.7 mgCaCO₃/l, the one-way flow rate ranging from 0.36 to 0.42 m/s. The fishing season is the sunny season from March to October of the solar calendar, the fish has exploited at size ranging from 3 to 4 cm, the catch production has been decreasing from 2003 to the present. Identified three species of fish from *Sewellia* spp: *Sewellia lineolata*, *Sewellia speciosa* and *Sewellia elongate*.

Keywords: *Butterfly*, *investigation*, *natural conditions*, *exploitation*, *identification*.

Người phản biện: TS. Nguyễn Phúc Cẩm Tú

Ngày nhận bài: 17/10/2019

Ngày thông qua phản biện: 26/10/2019

Ngày duyệt đăng: 31/10/2019

Người phản biện: PGS.TS. Trần Đắc Định

Ngày nhận bài: 14/10/2019

Ngày thông qua phản biện: 26/10/2019

Ngày duyệt đăng: 31/10/2019

¹ The Research & Development Center for High Technology Agriculture

* Email: lienkimnguyen85@gmail.com