

ẢNH HƯỞNG CỦA CHẾ PHẨM VI KHUẨN *PEDIOCOCCUS PENTOSACEUS* HN10 ĐẾN SINH TRƯỞNG, TỶ LỆ SỐNG VÀ HOẠT TÍNH ENZYME TIÊU HOÁ CỦA CÁ RÔ PHI (*OREOCHROMIS NILOTICUS*)

Lê Công Tuấn^{1*}, Kim Đình Hoàng², Hoàng Nghĩa Mạnh²

¹Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

²Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

Tóm tắt

Tổng số 400 cá giống được bố trí vào 2 nhóm (200 con/nhóm) nhằm đánh giá ảnh hưởng của chế phẩm chứa vi khuẩn *Pediococcus pentosaceus* đến tăng trưởng, tỷ lệ sống và hoạt tính enzyme tiêu hóa của cá rô phi (*Oreochromis niloticus*). Cá ở nhóm một được nuôi trong 4 bể nhựa (dung tích 300 L/bể) với mật độ 50 cá giống/bể và cho ăn thức ăn không bổ sung chế phẩm gọi là nghiệm thức đối chứng. Tương tự, cá ở nhóm hai được nuôi trong 4 bể và cho ăn thức ăn có bổ sung chế phẩm gọi là nghiệm thức thí nghiệm. Sau 60 ngày nuôi, kết quả cho thấy cá ở nghiệm thức thí nghiệm có các chỉ tiêu sinh trưởng như khối lượng cuối (29,69 g), mức tăng khối lượng (440,99 %), tốc độ tăng trưởng đặc trưng (2,81 %/ngày), lượng thức ăn ăn vào (49,38 g/con) và tỷ lệ sống (92 %) cao hơn và hệ số chuyển hóa thức ăn (1,66) thấp hơn so với cá ở nghiệm thức đối chứng ($p < 0,05$). Ngoài ra, hoạt tính enzyme tiêu hóa của cá ở nghiệm thức thí nghiệm như protease (463,6 U/g), lipase (6526,9 U/g), amylase (9,03 U/g) cao hơn nhóm cá ở nghiệm thức đối chứng ($p < 0,05$). Kết quả của nghiên cứu này, khuyến khích việc bổ sung chế phẩm (*P. pentosaceus*) vào thức ăn để cải thiện sinh trưởng, tỷ lệ sống và hoạt tính enzyme tiêu hóa của cá rô phi.

Từ khóa: Cá rô phi; Chế phẩm sinh học; Hoạt tính enzyme tiêu hóa; Sinh trưởng.

Abstract

Effects of probiotics containing *Pediococcus pentosaceus* on Tilapia's growth performance, survival rate and digestive enzymes (*Oreochromis niloticus*)

A total of 400 fingerlings were arranged into two groups (each containing 200 fish) to evaluate the effects of probiotics (*Pediococcus pentosaceus*) on the growth performance, survival rate and digestive enzyme activity of tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fingerlings in the first group were raised in four composite tanks (capacity of 300 L/tank) with a density of 50 fingerlings/tank and fed with a diet without probiotic supplementation that served as the control treatment. Similarly, fish in the second group were nursed in four tanks and fed with a probiotic-supplemented diet called experimental treatment. After 60 days, the results showed significant differences between the two groups. The fish in the experimental treatment group exhibited higher growth parameters, including higher final weight (29.69 g), weight gain (440.99 %), and specific growth rate (2.81 % per day) compared to those in the control group ($p < 0.05$). Additionally, the experimental treatment group also showed higher feed intake (49.38 g per fish) and survival rate (92 %), with a lower feed conversion ratio (1.66) compared to the control treatment group ($p <$

0.05). Furthermore, the digestive enzyme activity of the fish in the experimental treatment group, including protease (463.6 U/g), lipase (6526.9 U/g), and amylase (9.03 U/g), was significantly higher than those in the control treatment group ($p < 0.05$). These findings suggest that adding *Pediococcus pentosaceus* to the diet can enhance *Tilapia*'s growth performance, survival rate, and digestive enzyme activity.

Keywords: Tilapia; Probiotics; Digestive enzyme activity; Growth.

***Tác giả liên hệ, Email:** lctuan@hueuni.edu.vn

DOI: <https://doi.org/10.63064/khtnmt.2024.586>

1. Đặt vấn đề

Trong những năm gần đây, nghề nuôi cá rô phi, đặc biệt cá rô phi đơn tính dòng GIFT đã phát triển mạnh mẽ, ở quy mô công nghiệp trên toàn thế giới, mang lại sản lượng đáng kể và hiệu quả kinh tế cao [27]. Ở Việt Nam, bên cạnh cá tra, basa, cá rô phi được coi là đối tượng quan trọng trong nghề nuôi cá nước ngọt và có chiến lược ưu tiên phát triển trong tương lai. Tuy nhiên, nghề nuôi cá rô phi hiện đang đối mặt với nhiều khó khăn, thách thức như chi phí sản xuất còn cao (trong đó thức ăn chiếm trên 60 % chi phí sản xuất), năng suất cá nuôi thu được còn thấp và thị trường tiêu thụ còn hạn chế dẫn đến lợi nhuận mang lại chưa đáp ứng mong đợi và tạo sinh kế ổn định cho người nuôi. Mặt khác, việc nuôi cá với mật độ cao có thể dẫn đến các vấn đề như ô nhiễm môi trường, tăng stress và dịch bệnh ở cá. Điều này làm giảm tốc độ tăng trưởng và tăng tỷ lệ chết của cá. Để phòng trừ dịch bệnh và nâng cao tỷ lệ sống cho cá, người nuôi thường sử dụng kháng sinh và các hợp chất hóa học trong quá trình nuôi [27]. Lạm dụng kháng sinh và hóa chất trong nuôi cá không những ảnh hưởng tiêu cực tới môi trường, đa dạng sinh học mà còn ảnh hưởng tới chất lượng sản phẩm, không đáp ứng được tiêu chuẩn xuất khẩu do dư lượng kháng sinh cao vượt mức cho

phép, tồn tại tới sức khỏe của người nuôi và người sử dụng sản phẩm. Đã có rất nhiều nghiên cứu nhằm tìm ra giải pháp tối ưu cho nghề nuôi cá rô phi, trong đó có phương pháp sử dụng probiotics.

Probiotics bao gồm vi sinh vật sống, chết hoặc các thành phần của chúng. Khi được bổ sung ở nồng độ phù hợp probiotics sẽ mang lại lợi ích sức khỏe cho động vật thủy sản [24]. Trong những năm qua probiotics đã và đang được sử dụng như một phương án thay thế hiệu quả kháng sinh nhằm thúc đẩy sinh trưởng, sức khỏe và phòng chống dịch bệnh trong nuôi trồng thủy sản [17]. Nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng probiotics cạnh tranh dinh dưỡng với tác nhân gây bệnh ức chế, kìm hãm sự phát triển làm chúng suy yếu hay bị tiêu diệt [21]. Bên cạnh đó, probiotics còn có vai trò quan trọng trong nâng cao sức khỏe và hỗ trợ tiêu hoá thông qua thúc đẩy tiết enzym tiêu hoá của tôm, cá [24]. Trong nuôi thủy sản, probiotics có thể sử dụng bằng cách trộn vào thức ăn cho tôm cá, hay trực tiếp bổ sung vào môi trường ao [21]. Các chế phẩm sinh học được ứng dụng phổ biến cho các đối tượng thủy sản thuộc về vi khuẩn axit lactic như *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Bifidobacteria* và nấm men như *Saccharomyces boulardii* [15]. Vi khuẩn lactic có tác dụng kích thích

Nghiên cứu

động vật tiết ra các enzyme khác nhau như amylase, lipase, protease và nhiều loại axit hữu cơ giúp vật nuôi tiêu hóa và hấp thụ thức ăn tốt hơn [12]. Điều này làm tăng tốc độ sinh trưởng, nâng cao sức khỏe và khả năng kháng bệnh của vật nuôi. Mặt khác, các hợp chất thơm được tạo ra trong quá trình lên men của vi khuẩn lactic khiến chúng trở thành chế phẩm sinh học hiệu quả.

Một trong những vi khuẩn lactic đang được nghiên cứu sử dụng nhiều hiện nay là *Pediococcus pentosaceus*. Chúng có thể tồn tại và phát triển trong môi trường pH thấp và nhiệt độ cao giúp chúng có khả năng tồn tại và phát triển tốt trong đường tiêu hóa của động vật. *P. pentosaceus* cho thấy vai trò và tác dụng của chúng trong hệ tiêu hóa của động vật thủy sản. Đặc biệt, là tác dụng ngăn chặn, ức chế sự phát triển của các vi khuẩn có hại trong đường ruột bằng cách tạo nên môi trường axit lactic trong đường ruột. Ngoài ra, *P. pentosaceus* còn có tác dụng kích thích hoạt tính của các enzyme tiêu hóa giúp vật nuôi hấp thụ các dưỡng chất tốt hơn. Tác giả Hong và cộng sự (2022) nghiên cứu bổ sung vi khuẩn *P. pentosaceus* vào thức ăn cho tôm sú giúp cải thiện hệ số chuyển đổi thức ăn (FCR), giảm mật độ vi khuẩn *Vibrio anguillarum* và cải thiện tốc độ sinh trưởng của tôm [17]. Bổ sung chế phẩm (*P. pentosaceus*) và thức ăn của cá chép (*Cyprinus carpio*) cải thiện tốc độ tăng trưởng, các chỉ tiêu miễn dịch và hoạt tính enzyme tiêu hóa của cá [2]. Hiện nay ở nước ta, chưa có nhiều nghiên cứu sử dụng chế phẩm sinh học chứa vi khuẩn *P. pentosaceus* trên một số đối tượng cá nuôi. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của chế phẩm chứa vi khuẩn *P. pentosaceus* lên

sinh trưởng, tỷ lệ sống và enzyme tiêu hóa của cá rô phi (*Oreochromis niloticus*).

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

- Vi khuẩn *P. pentosaceus* HN10: Được nuôi cấy trên môi trường de Man, Rogosa & Sharpe (MRS) ở nhiệt độ 30 °C trong 24 h. Sau khi nuôi tăng sinh, vi khuẩn được nuôi cấy trên môi trường MRS lỏng với tỷ lệ tiếp giống 10 % ở 30 °C, trong 24 giờ trên máy ủ (Kuhner shaker, ISF-1-W, Switzerland) với tốc độ lắc 180 vòng/phút. Dung dịch vi khuẩn sau đó được ly tâm bằng máy ly tâm (Sanyo NSE Mistral 2000R, Japan) với tốc độ 14.000 vòng trong 10 phút, loại bỏ phần dịch nổi và thu phần vi khuẩn. Tái huyền phù tế bào vi khuẩn với 50 mL dung dịch nước muối sinh lý 0,85 % NaCl. Dung dịch tái huyền phù được tiến hành pha loãng và xác định mật độ hấp thụ ở bước sóng 600 nm. Mật độ tế bào được quy đổi với giá trị $OD_{600}=1$ tương đương 10^9 CFU/mL.

- Con giống cá rô phi (*Oreochromis niloticus*): Có khối lượng ($5,50 \pm 0,35$ g) khỏe mạnh, không bệnh tật hay dị hình, dị tật được mua từ trại giống tại Thừa Thiên - Huế. Con giống sau khi vận chuyển về phòng thí nghiệm khoa Thủy sản - Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế được thả nuôi thích nghi 15 ngày trong bể trước khi bố trí thí nghiệm.

- Thức ăn: Sử dụng trong nghiên cứu này là hỗn hợp viên nổi cho cá rô phi (giai đoạn có kích cỡ dưới 20 g) của công ty TNHH GOLD COIN FEEDMILL Hà Nam (Mã số 986, có độ đạm 40 %, lipid 3 %, xơ thô 5 %, phốt pho tổng số không nhỏ hơn 1 %, lysine tổng số không nhỏ hơn 2 % và ethoxyquin không lớn hơn 150 ppm). Cá ở nghiệm thức đối chứng

được cho ăn thức ăn trực tiếp không qua khâu bổ sung chế phẩm chứa vi khuẩn *P. pentosaceus* vào thức ăn. Ngược lại, ở nghiệm thức thí nghiệm, thức ăn được chuẩn bị bằng cách pha loãng dung dịch chứa vi khuẩn *P. pentosaceus* (ở mật độ 10^8 CFU/mL) sau đó phun đều lên thức ăn với tỷ lệ 25 mL/100 g thức ăn. Hỗn hợp thức ăn và chế phẩm sinh học được để khô ở nhiệt độ phòng trong 4 giờ và lưu giữ trong tủ lạnh ở nhiệt độ 4 °C cho đến khi sử dụng. Thức ăn được chuẩn bị 7 ngày/lần để đảm bảo sự hiện diện của vi khuẩn *P. pentosaceus* ở mật độ thiết kế.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Bố trí thí nghiệm

Cá rô phi giống (400 con) được thả trong 8 bể nhựa composite (dung tích 350 L) với mật độ 50 con/bể. Thí nghiệm được thiết kế dạng ngẫu nhiên hoàn toàn với 2 nghiệm thức bao gồm nghiệm thức đối chứng (NT - ĐC) cá được cho ăn trực tiếp thức ăn công nghiệp viên nổi cho cá rô phi (giai đoạn có kích cỡ dưới 20 g) của công ty TNHH GOLD COIN FEEDMILL Hà Nam không bổ sung chế phẩm sinh học. Trong khi, nghiệm thức ăn cá được cho ăn thức ăn viên công nghiệp trên có bổ sung chế phẩm sinh học chứa vi khuẩn *P. pentosaceus* ở mật độ 10^8 CFU/g (vi khuẩn sau khi nuôi tăng sinh, mật độ được xác định với giá trị quy đổi $OD_{600}=1$ tương đương 10^9 CFU/mL tiến hành pha loãng với nước cất theo tỷ lệ 1:10 để đạt mật độ tế bào 10^8 CFU/mL ở dạng dung dịch huyền phù) được gọi là nghiệm thức thí nghiệm (NT - TN). Mỗi nghiệm thức lặp lại 4 lần, thí nghiệm được tiến hành tại phòng thí nghiệm khoa Thủy sản - Trường đại học Nông Lâm Huế, Đại học

Huế trong 60 ngày. Điều kiện môi trường của thí nghiệm được duy trì nhiệt độ 25 - 28 °C; pH 7 - 7,5; Hàm lượng ô xy hòa tan 5 - 6 mg/L và $NH_3 \leq 0,1$ mg/L. Cá được cho ăn 2 lần/ngày vào lúc 8 giờ và 17 giờ. Với lượng cho ăn 8 % khối lượng thân. Sau 2 giờ kể từ khi cho ăn thức ăn dư thừa được thu vớt sấy khô trong tủ sấy ở nhiệt độ 60 °C trong 4 giờ, tiến hành cân đo để xác định lượng thức ăn ăn vào của cá. Hàng ngày tiến hành xi phông loại bỏ các sản phẩm dư thừa dưới đáy bể và thay 30 % lượng nước trong bể. Thường xuyên theo dõi tình hình bắt mồi và sức khỏe của cá để có những điều chỉnh kịp thời.

- Phương pháp thu thập và phân tích các chỉ tiêu nghiên cứu

Các yếu tố môi trường như: Nhiệt độ nước, pH, hàm lượng oxy hòa tan (DO), được kiểm tra hàng ngày (vào buổi sáng lúc 8 giờ). Nhiệt độ sử dụng nhiệt kế cầm tay (THERMA 20 (plus), Anh), pH dùng bút thử chất lượng nước YY-400H (Trung Quốc). Trong khi, các chỉ tiêu như NH_3 , NO_2 và NO_3 được đo 7 ngày 1 lần được đo bằng test kit nhanh (Sera LLC - Đức).

Định kỳ thu mẫu cá ngẫu nhiên ở các bể thí nghiệm để cân khối lượng và đo chiều dài (14 ngày/lần). Xác định khối lượng bằng cân điện tử (hiệu SHIMADZU, Nhật Bản) có độ chính xác đến 0,01g và đo chiều dài cá bằng thước kẹp có độ chính xác 0,01 mm, mỗi lần thu và đo ngẫu nhiên 30 cá thể/nghiệm thức. Các chỉ tiêu sinh trưởng như mức tăng khối lượng (WG, %), tỷ lệ sống (SR, %), hệ số chuyển hóa thức ăn (FCR), lượng thức ăn ăn vào (FI, g/cá thể) và tốc độ tăng trưởng đặc trưng (SGR, %/ngày) được tính theo mô tả bởi tác giả Xia và cộng sự (2020) [27] và Sokooti và cộng sự (2022) [25].

Nghiên cứu

Mức tăng khối lượng (WG , %)

$$WG (\%) = \frac{W_2 - W_1}{W_1} \times 100$$

trong đó: WG là mức tăng khối lượng (%); W_1 là khối lượng của cá lúc thả nuôi thí nghiệm và W_2 là khối lượng của cá khi kết thúc thí nghiệm.

Xác định tỷ lệ sống (SR , %)

$$SR (\%) = \frac{Nt}{No} \times 100\%$$

trong đó: SR là tỷ lệ sống của cá; Nt là số cá lúc thu hoạch và No là số cá thả ban đầu.

Hệ số chuyển hóa thức ăn (FCR : *Feed Conversion Ratio*)

$$FCR = \frac{FI}{(FW - IW)}$$

trong đó: FI là lượng thức ăn đã sử dụng; FW là khối lượng của cá lúc kết thúc thí nghiệm và IW là khối lượng của cá lúc thả nuôi thí nghiệm (g).

Xác định lượng thức ăn ăn vào (FI)

$$FI (\text{g/con}) = \frac{FI}{SF}$$

trong đó: FI là lượng thức ăn ăn vào của cá (tính theo vật chất khô) và SF là số lượng cá sống sót.

Tốc độ tăng trưởng đặc trưng (SGR) của cá

$$SGR (\%/ngày) = (\ln FW - \ln IW) \times 100$$

trong đó: SGR là tốc độ tăng trưởng đặc trưng (%/ngày); FW là khối lượng của cá lúc kết thúc thí nghiệm (g) và IW là khối lượng của cá lúc thả nuôi (g).

Hoạt tính enzyme tiêu hóa: Để phân tích hoạt tính enzyme của cá, mẫu ruột cá được thu vào ngày thứ 30 và 60 của thí nghiệm. Mỗi nghiệm thức thu 9 con,

tiến hành gây mê bằng AQUI-S (nồng độ 0,25 mL/L). Tiếp đến cá được mổ ra để thu ruột cho vào ống thu mẫu và bảo quản ở nhiệt độ -30°C cho đến khi phân tích.

Hoạt tính protease: 9 mẫu ruột cá/nghiệm thức được rửa đông, trộn vào nhau và nghiền trong dung dịch đệm chứa 50 mM Potassium Phosphate pH 7. Sau đó, 100 μL dịch chiết được cho vào 400 μL dung dịch 50 mM Potassium Phosphate chứa 0,65 % casein (w/v) pH = 7, trộn đều bằng máy vortex và ủ ở 37°C . Sau 10 phút, thêm 500 μL thuốc thử TCA (Trichloroacetic acid) vào mỗi ống mẫu để dừng phản ứng, tiếp tục ủ các dung dịch ở 37°C trong 30 phút. Tiến hành ly tâm 10.000 vòng/phút, thu dịch nổi chuyển sang ống eppendorf mới. 200 μL dịch nổi + 500 μL Na_2CO_3 dung dịch sẽ trở nên đục màu. Thêm 100 μL thuốc thử Folin, Folin sẽ phản ứng chủ yếu với tyrosine tự do. Trộn mẫu đều và ủ ở 37°C trong 30 phút. Hoạt tính Protease được đo ở bước sóng 660 nm [7].

Hoạt tính amylase: Hoạt tính amylase được xác định thông qua lượng đường khử từ tinh bột hòa tan. Hỗn hợp phản ứng chứa 100 μL enzyme và 400 μL dung dịch đệm phosphat 50 mM (pH 7,0) chứa tinh bột hòa tan (1 %). Sau khi ủ ở 40°C trong 30 phút trong bể nước lác, phản ứng được dừng lại bằng cách thêm 500 μL axit 3 - 5 - Dinitrosalicylic 1 M [6]. Các ống được giữ trong nước sôi trong 15 phút để phát triển màu sắc và sau đó được làm lạnh đến nhiệt độ phòng. Độ hấp thụ được đọc ở bước sóng 540 nm bằng máy đo quang phổ. Glucose đã được sử dụng để xây dựng một đường cong tiêu chuẩn. Một đơn vị hoạt động của enzyme được định nghĩa là lượng enzyme giải phóng

1 μmol Glucose mỗi phút trong các điều kiện xét nghiệm.

Hoạt tính lipase: Để xác định hoạt tính lipase, 900 μL dung dịch A (50 mM Sodium phosphate, 150 mM NaCl, 0,5 % (v/v) Triton X-100, pH 7,2) trộn với 0,1 mL dịch chiết enzyme và ủ ở 37 °C trong 10 phút. Sau đó, 10 μL dung dịch 50 mM p-nitrophenyl butyrat (pNPB) được thêm vào và ủ ở nhiệt độ phòng trong 5 phút. Độ hấp thụ được đọc ở bước sóng 400 nm bằng Máy đo quang phổ [11].

- Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

Số liệu thống kê được thu thập hàng ngày và được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2016 và SPSS 20.0. Các giá trị trung bình và độ lệch chuẩn được xử lý trên chương trình Microsoft Excel 2016. So sánh các giá trị trung bình giữa 2 nghiệm thức được dựa vào phép phân tích T-test và phép thử TUKEY với mức ý nghĩa $p < 0,05$ bằng phần mềm SPSS Version 22.0. Ngoài ra, hoạt tính của

enzyme tiêu hóa giữa hai thời điểm lấy mẫu (ngày 30 và ngày 60) được so sánh bằng cách sử dụng independent-Samples T-test với sự khác biệt ở $p < 0,05$.

3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

3.1. Biến động của các yếu tố môi trường trong quá trình thí nghiệm

Các thông số như nhiệt độ, pH, hàm lượng ô xy hòa tan (DO), NH₃, NO₂ và NO₃ trong suốt 60 ngày thí nghiệm được trình bày trong (Bảng 1). Trong quá trình thí nghiệm nhiệt độ dao động từ 24 - 30 °C; DO từ 5 - 6 mg/L và NO₂ dao động từ 0,18 - 0,30 mg/L không bị ảnh hưởng bởi sự bổ sung probiotic và không có sự chênh lệch lớn giữa 2 nghiệm thức ($p > 0,05$). Ngược lại, các yếu tố chất lượng nước khác như pH dao động từ 7,0 - 7,6; NH₃ từ 0,01 - 0,018 mg/L và NO₃ từ 1,70 - 2,10 mg/L có xu hướng thấp ở nghiệm thức thí nghiệm và chịu sự ảnh hưởng của việc bổ sung probiotic vào thức ăn của cá ($p < 0,05$).

Bảng 1. Sự biến động của môi trường nước trong ở các nghiệm thức

Yếu tố môi trường	Nghiệm thức		
	NT - ĐC	NT - TN	Giá trị p
Nhiệt độ (°C)	25,30 ± 1,75 ^a	25,30 ± 1,76 ^a	0,387
pH	7,55 ± 0,13 ^a	7,26 ± 0,10 ^b	0,004
DO (mg/L)	5,42 ± 0,31 ^a	5,43 ± 0,26 ^a	0,730
NH ₃ (mg/L)	0,016 ± 0,003 ^a	0,012 ± 0,002 ^b	0,020
NO ₂ (mg/L)	0,28 ± 0,02 ^a	0,26 ± 0,01 ^a	0,110
NO ₃ (mg/L)	2,02 ± 0,35 ^a	1,94 ± 0,28 ^b	0,043

Số liệu được trình bày là Trung bình ± SD. Các ký tự ^{a,b} khác nhau trong cùng một hàng có sự sai khác ($p < 0,05$). Nghiệm thức đối chứng (NT - ĐC) không bổ sung *P. pentosaceus* và nghiệm thức thí nghiệm (NT - TN) có bổ sung *P. pentosaceus*.

Giá trị pH ở NT - TN (7,26) thấp hơn ở nghiệm thức đối chứng (7,55), có thể do *P. pentosaceus* sau khi được cá ăn vào và

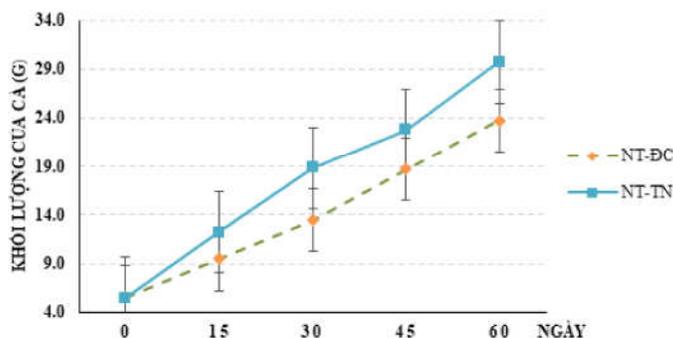
thải ra ngoài môi trường bể nuôi, chúng lên men các sản phẩm hữu cơ trong bể (thức ăn dư thừa và phân cá) sản sinh ra các axit lactic (acetic, axit butyric, axit propionic và các chất khác) làm giảm pH của môi trường nước [21, 23, 25]. Tương tự, hàm lượng NH₃, NO₃ thấp ở nghiệm thức thí nghiệm có thể do sự hiện diện của *P. pentosaceus* trong bể nuôi đã thúc đẩy

Nghiên cứu

tốc độ phân hủy chất hữu cơ, loại bỏ các chất thải không mong muốn như amoniắc, cacbon dioxit và sunfua [21]. Nhiệt độ thuận lợi cho cá rô phi sinh trưởng và phát triển là 20 - 35 °C, tối ưu ở 28 - 30 °C và cá có khả năng chịu được pH từ 5 đến 11, môi trường nước có giá trị pH từ 6,5 - 8,5 là ngưỡng thích hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của cá [27]. Mặc khác, có thể sống trong ao tù có hàm lượng oxy hoà tan thấp ($\geq 1,0$ mg/L) và hàm lượng $\text{NH}_3 \leq 0,01$ mg/L [14]. Như vậy, trong suốt quá trình thí nghiệm các yếu tố môi trường luôn có những biến động, nhưng biến động không lớn và luôn duy trì trong ngưỡng thích hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của cá rô phi.

3.2. Ảnh hưởng của vi khuẩn *P. pentosaceus* đến sinh trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn và tỷ lệ sống của cá rô phi

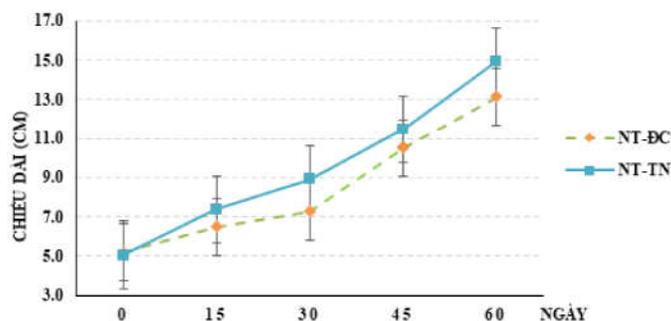
Sinh trưởng về khối lượng của cá rô phi có sự khác biệt đáng kể ($p < 0,05$) sau 15 ngày nuôi (Hình 1). Trong đó, đường cong sinh trưởng của cá qua các đợt kiểm tra ở nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn *P. pentosaceus* luôn thể hiện mức sinh trưởng cao hơn so với nghiệm thức đối chứng. Kết thúc thí nghiệm (sau 60 ngày nuôi) cá ở nghiệm thức thí nghiệm đạt khối lượng trung bình 29,69 g trong khi cá ở nghiệm thức đối chứng chỉ đạt 23,70 g.



Hình 1: Sinh trưởng về khối lượng của cá rô phi sau 60 ngày nuôi

Tương tự, sinh trưởng về chiều dài của cá ở nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn *P. pentosaceus* luôn có sự vượt trội so với nghiệm thức đối chứng (Hình 2). Sau 60 ngày nuôi chiều dài trung

bình của cá ở nghiệm thức bổ sung vi khuẩn *P. pentosaceus* đạt 14,96 cm có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với nghiệm thức đối chứng (chỉ đạt 13,15 cm).



Hình 2: Sinh trưởng về chiều dài của cá rô phi sau 60 ngày nuôi

Sự sinh trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn và tỷ lệ sống của cá rô phi sau 60 ngày nuôi ở nghiệm thức bổ sung vi khuẩn *P. pentosaceus* vào thức ăn có sự cải thiện rõ rệt ($p < 0,05$) so với nghiệm thức đối chứng (Bảng 2). Các chỉ tiêu sinh trưởng ở nhóm cá được cho ăn thức ăn có bổ sung vi khuẩn *P. pentosaceus* như FW (29,69 g), WG (440,99 %) và SGR (2,81 %/ngày) cao hơn đáng kể ($p < 0,05$) so với nhóm cá chỉ cho ăn thức ăn công nghiệp.

Trương tự, lượng thức ăn ăn vào của cá ở NT - TN cũng lớn hơn ở NT - ĐC. Trong khi, hệ số chuyển hóa thức ăn (FCR = 1,66) của cá được cải thiện rõ rệt và thấp hơn so với nghiệm thức đối chứng (FCR = 1,86) ($p < 0,05$). Đặc biệt, tỷ lệ sống của cá rô phi trong thí nghiệm này đạt được tương đối cao từ 86,0 đến 92,0 % và việc bổ sung vi khuẩn *P. pentosaceus* vào thức ăn đã nâng cao tỷ lệ sống của cá ($p < 0,05$).

Bảng 2. Sinh trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn và tỷ lệ sống của cá rô phi sau 60 ngày nuôi

Chỉ tiêu đánh giá	Nghiệm thức		
	NT - ĐC	NT - TN	Giá trị p
Khối lượng lúc thả (IW, g)	5,50 ± 0,49 ^a	5,47 ± 0,30 ^a	0,830
Khối lượng lúc thu (FW, g)	23,70 ± 0,29 ^a	29,69 ± 0,29 ^b	0,021
Mức tăng khối lượng (WG, %)	330,92 ± 3,44 ^a	440,99 ± 2,51 ^b	0,010
Tốc độ tăng trưởng đặc trưng (SGR, %/ngày)	2,43 ± 0,13 ^a	2,81 ± 0,10 ^b	0,010
Lượng thức ăn ăn vào (FI, g/con)	33,89 ± 0,25 ^a	40,38 ± 0,26 ^b	0,000
Hệ số chuyển hóa thức ăn (FCR)	1,86 ± 0,13 ^a	1,66 ± 0,12 ^b	0,001
Tỷ lệ sống (SR, %)	86,0 ± 1,00 ^a	92,0 ± 1,00 ^b	0,002

Số liệu được trình bày là Trung bình ± SE ($n = 3$). Các ký tự ^{a,b} khác nhau trong cùng một hàng có sự sai khác ($p < 0,05$). NT - ĐC nghiệm thức đối chứng không bổ sung *P. pentosaceus* và NT - TN nghiệm thức thí nghiệm có bổ sung *P. pentosaceus*.

Việc bổ sung vi khuẩn *P. pentosaceus* vào thức ăn giúp cải thiện sinh trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá rô phi có thể do khi probiotic đi vào cơ thể động vật thủy sản, sau đó được thải ra ngoài bể nuôi với mật độ ngày càng cao. Vi khuẩn sẽ tiến hành lên men trong ruột và môi trường bể nuôi sản sinh ra các chất thúc đẩy sự sinh trưởng của cá như vitamin (vitamin C, vitamin B12 và vitamin B9) [21]; A xít béo, a xít amin [5]; Các axit amin thiết yếu (isoleucine, lysine, tryptophan, leucine, histidine) và các axit amin không thiết yếu (glutamate, tyrosine và alanine) [27]. Ngoài ra, còn tạo ra các hợp chất có hoạt tính sinh học khác đóng vai trò quan trọng trong sự tiêu hóa và hấp thụ thức ăn giúp cải thiện khả năng sinh

trưởng của vật chủ. Mặt khác, sự hiện diện của vi khuẩn *P. pentosaceus* trong ống tiêu hóa của cá được cho là kích thích sự giải phóng các enzyme ngoại bào như amylase, protease và lipase [1] giúp cá tiêu hóa, hấp thụ thức ăn tốt hơn kết quả là cải thiện hiệu quả sử dụng thức ăn và nâng cao tốc độ sinh trưởng của cá. Hơn nữa, một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng bổ sung probiotics sẽ thay đổi hệ vi sinh vật tròn ống tiêu hóa và môi trường bể nuôi theo hướng tạo ra nhiều vi khuẩn có lợi và ức chế các vi khuẩn gây bệnh [21, 25]. Vi khuẩn *P. pentosaceus* có khả năng giải phóng các chất hóa học có tác dụng diệt khuẩn hoặc kìm khuẩn đối với vi khuẩn gây bệnh có trong ruột của vật chủ, từ đó tạo thành hàng rào chống lại sự phát triển

Nghiên cứu

của các mầm bệnh cơ hội. Chúng còn có khả năng lên men tạo ra các axit hữu cơ làm giảm độ pH trong ruột động vật thủy sản, giúp ức chế sự phát triển của tác nhân gây bệnh [21]. Điều này, không chỉ giúp cải thiện sinh trưởng, mà còn nâng cao sức khỏe và tỷ lệ sống của cá.

Kết quả của nghiên cứu này, tương đồng với kết quả nghiên cứu của nhiều tác giả khác. Nghiên cứu của tác giả Khattab và cộng sự (2004) và Mohamed và cộng sự (2007) bổ sung probiotics (Biogen® và Pronifer®) vào thức ăn cho cá rô phi Sông Nile (*Oreochromis niloticus*) giúp cải thiện tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá [19]. El-Dakar và cộng sự (2007), báo cáo rằng khối lượng thu hoạch, tốc độ tăng trưởng đặc trưng (SGR), tỷ lệ tiêu hóa protein (PR), tỷ lệ tiêu hóa năng lượng (ER) và hệ số chuyển đổi thức ăn (FCR) của cá được cung cấp thức ăn có bổ sung probiotic thương mại (Biogen) cao hơn đáng kể so với cá đối chứng [13]. Ngoài ra, các nghiên cứu của Dawood và cộng sự (2019), Dawood và cộng sự (2020) đều công bố cá rô phi được nuôi

bằng thức ăn có bổ sung probiotics giúp cải thiện hiệu suất tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá [8, 9]. Tác giả Ahmadifar và cộng sự (2020) nuôi cá chép (*Cyprinus carpio*) bằng thức ăn có bổ sung vi khuẩn *P. pentosaceus* cải thiện tốc độ tăng trưởng, các chỉ tiêu miễn dịch và hoạt tính enzyme tiêu hóa của cá [2].

3.3. Ảnh hưởng của vi khuẩn *P. pentosaceus* đến hoạt tính enzyme tiêu hóa của cá rô phi

Hoạt tính enzyme tiêu hóa của cá rô phi không chỉ chịu ảnh hưởng của việc bổ sung vi khuẩn *P. pentosaceus*, mà còn có sự gia tăng theo thời gian thí nghiệm (Bảng 3). Sau 30 ngày nuôi, hoạt tính enzyme bao gồm amylase, protease và lipase trong ống tiêu hóa của nhóm cá sử dụng thức ăn có bổ sung probiotic cao hơn đáng kể so với nhóm cá ở nghiệm thức đối chứng ($p < 0,05$). Xu hướng tương tự, còn được tìm thấy ở ngày nuôi thứ 60 khi hoạt tính của các enzyme này cao ở nghiệm thức thí nghiệm. Đồng thời, hoạt tính enzyme tiêu hóa của cá ở ngày nuôi thứ 60 cao hơn ngày nuôi thứ 30 từ 1 đến 4 lần ($p < 0,05$).

Bảng 3. Hoạt tính enzyme tiêu hóa của cá rô phi ở ngày nuôi 30 và 60

Hoạt tính enzyme tiêu hóa	Nghiệm thức	Ngày thứ 30	Ngày thứ 60
Protease (U/g)	NT - ĐC	104,53 ± 3,64 ^{A, a}	333,2 ± 6,04 ^{B, a}
	NT - TN	125,08 ± 4,97 ^{A, b}	463,6 ± 10,10 ^{B, b}
Lipase (U/g)	NT - ĐC	2958,87 ± 204,03 ^{A, a}	4530,11 ± 52,9 ^{B, a}
	NT - TN	3562,34 ± 115,37 ^{A, a}	5526,9 ± 144,8 ^{B, b}
Amylase (U/g)	NT - ĐC	5,53 ± 0,19 ^{A, a}	7,07 ± 0,3 ^{B, a}
	NT - TN	6,74 ± 0,31 ^{A, b}	9,03 ± 0,08 ^{B, b}

Số liệu được trình bày là Trung bình ± SD ($n = 9$). Các ký tự viết thường ^{a, b} khác nhau trong cùng một cột là có sự sai khác ($p < 0,05$) giữa hai nghiệm thức. Các ký tự viết thường ^{A, B} khác nhau trong cùng một hàng là có sự sai khác ($p < 0,05$) giữa hai thời điểm thu mẫu ngày thứ 30 và 60.

NT - ĐC không bổ sung *P. pentosaceus* và NT - TN có bổ sung *P. pentosaceus*.

Sự gia tăng hoạt tính enzyme tiêu hóa được nhiều tác giả lý giải do probiotic sau khi đi vào ống tiêu hóa của động vật thủy sản, chúng kích thích vật chủ bài tiết nhiều loại enzyme tiêu hóa như amylase, lipase và protease từ thành nhung mao ruột [21, 25]. Những enzyme này kết hợp với enzyme tiêu hóa nội sinh của cá giúp quá trình tiêu hóa, phân hủy và hấp thụ các chất dinh dưỡng của cá được cải thiện [4] làm tăng hiệu quả sử dụng thức ăn và do đó thúc đẩy tăng trưởng của cá [4, 16]. Mặt khác, probiotic còn giúp động vật thủy sản tăng khả năng hấp thụ các khoáng chất thiết yếu như can xi, magie, đặc biệt là cân bằng hệ vi khuẩn đường ruột [3, 15, 20, 26], sản xuất enzyme tiêu hóa, nâng cao hiệu quả sử dụng thức ăn [4]. Ngoài ra, khi probiotic xâm nhập vào ruột vật chủ, chúng bám vào bề mặt ruột và sử dụng carbohydrate sẵn có trong ống tiêu hóa để sản sinh một lượng lớn enzyme tiêu hóa bao gồm amylase, protease và lipase [21, 25]. Do đó, chúng làm tăng khả năng tiêu hóa thức ăn và cuối cùng là tăng tốc độ tăng trưởng và ngăn ngừa các rối loạn đường ruột của cá. Nhiều nghiên cứu có kết quả tương đồng, nghiên cứu bổ sung synbiotics (Powerlac®) vào thức ăn của cá rô phi đơn tính (*Oreochromis niloticus*) làm tăng hoạt động của enzyme amylase và protease trong ruột cá [22]. Kết quả nghiên cứu bổ sung probiotic (*Enterococcus faecium*) của Ghasempour và cộng sự (2015) cải thiện đáng kể hoạt tính trypsin và chymotrypsin trong ruột cá chép (*Cyprinus carpio*) [10].

4. Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy, sau 60 ngày nuôi nghiệm thức thức ăn có bổ sung vi khuẩn *P. pentosaceus* (ở mật độ 10^8 CFU/mL) làm giảm hàm lượng nitrat (NO_3) và giá trị pH trong bể nuôi; Các chỉ tiêu sinh trưởng của cá như WG (440,99 %), SGR (2,81 %/ngày) cao hơn so với cá ở NT - ĐC ($p < 0,05$); Hiệu quả sử dụng thức ăn của cá như FI (49,38 g/con) cao hơn và FCR (1,66) thấp hơn so với cá ở NT - ĐC ($p < 0,05$). Trong khi, SR (92 %) và hoạt tính enzyme tiêu hóa như protease (463,6 U/g), lipase (6526,9 U/g), amylase (9,03 U/g) cao hơn so với cá ở NT - ĐC ($p < 0,05$). Vì vậy, trong nuôi cá rô phi nên bổ sung vi khuẩn *P. pentosaceus* vào thức ăn để nâng cao tỷ lệ sống, sinh trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Adel, M., Yeganeh, S., Dawood, M.A.O., Safari, R., and Radhakrishnan, S. (2017). *Effects of pediococcus pentosaceus supplementation on growth performance, intestinal microflora and disease resistance of white shrimp, Litopenaeus vannamei*. Aquaculture Nutrition, 23: 1401-1409. <https://doi.org/10.1111/anu.12515>.
- [2]. Ahmadifar, E., Sadegh, T.H., Dawood, M.A.O., Dadar, M., and Sheikhzadeh, N. (2020). *The effects of dietary Pediococcus pentosaceus on growth performance, hemato-immunological parameters and digestive enzyme activities of common carp (Cyprinus carpio)*. Aquaculture. 516: 734656. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734656>.
- [3]. Aljewicz, M., Siemianowska, E., Cichosz, G., & Tońska, E. (2014). *The effect of probiotics (Lactobacillus rhamnosus HN001, lactobacillus paracasei LPC-37, and Lactobacillus acidophilus NCFM) on the availability of minerals from Dutch-type cheese*. Journal of Dairy Science. 97(8):

- 4824–4831. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8240>.
- [4]. Assan, D., Kofi, F., Kuebutornye, A., Hlordzi, V., Chen, H., Mraz, J., Mustapha, U.F., & Abarike, E.D. (2022). *Effects of probiotics on digestive enzymes of fish (finfish and shellfish); Status and outlook: A mini review*. *Comparative Biochemistry and Physiology part B*, 257: 110653. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2021.110653>.
- [5]. Balami, S., Paudel, K., and Shrestha, N. (2022). *A review: Use of probiotics in striped catfish larvae culture*. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 10:41-49.
- [6]. Bernfeld, P. (1955). *Amylase α and β* . *Methods in Enzymology*. 1, 149-151. [http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879\(55\)01021-5](http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879(55)01021-5).
- [7]. Cupp-Enyard, C. (2008). *Sigma's non-specific protease activity assay-casein as a substrate*. *Journal of Visualized Experiments*. 19: e899.
- [8]. Dawood, M.A.O., Magouz, F.I., Salem, M.F.I., Elbially, Z.I., and Abdel-Daim, H.A. (2020). *Synergetic effects of Lactobacillus plantarum and β -Glucan on digestive enzyme activity, intestinal morphology, growth, fatty acid, and glucose-related gene expression of genetically improved farmed tilapia*. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 12:389-399. <https://doi.org/10.1007/s12602-019-09552-7>.
- [9]. Dawood, M.A.O., Mohsen, M., El-Dakar, A., Abdelraouf, E., Moustafa, E.M., and Ahmed, H.A. (2019). *Effectiveness of exogenous digestive enzymes supplementation on the performance of rabbitfish (Siganus rivulatus)*. *Slovenian Veterinary Research*. 56: 409-419. <https://doi.org/10.26873/SVR-779-2019>.
- [10]. Dehaghani, P. Ghasempour, F. (2015). *Effect of synbiotic dietary supplementation on survival, growth performance, and digestive enzyme activities of common carp (Cyprinus carpio) fingerlings*. *Czech Journal of Animal Science*. 60(5): 224-232.
- [11]. Eckel R.H, Robbins R.J., (1984). *Lipoprotein lipase is produced, regulated, and functional in rat brain*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*.
- [12]. Eissa, E.S.H., Baghdady, E.S., Gaafar, A.Y., El-Badawi, A.A., Bazina, W.K., Abd Al-Kareem, O.M., and Abd El-Hamed, N.N.B. (2022). *Assessing the influence of dietary Pediococcus acidilactici probiotic supplementation in the feed of European sea bass (Dicentrarchus labrax Linnaeus, 1758) on farm water quality, growth, feed utilization, survival rate, body composition, blood bioch*. *Aquaculture Nutrition*. 1-11. <https://doi.org/10.1155/2022/5841220>.
- [13]. El-Dakar, A. Y., Shalaby, S. M., and Saoud, I. P. (2007). *Assessing the use of dietary probiotic/prebiotic as an enhancer of spinefoot rabbitfish Siganus rivulatus survival and growth*. *Aquaculture Nutrition*. 13: 407-412.
- [14]. El-Naggar, A. M., Abdeen, S. H., Hagra, A. E., Abdrabbuh, A. E., Mashaly, M. I., & Al-Halani, A. A. (2016). *Impacts of Fluctuations of Physicochemical Environmental Parameters of Aquatic Ecosystems on Somatic Indices and Sex Hormones of the Teleosts Clarias gariepinus and Oreochromis niloticus niloticus*. *Journal of Bioscience and Applied Research*. 2(10): 670-685.
- [15]. El-Saadony, M.T., Alagawany, M., Patra, A.K., Kar, I., Tiwari, R., Dawood, M.A.O., Dhama, K., and Abdel-Latif, H.M.R. (2021). *The functionality of probiotics in aquaculture: An overview*. *Fish Shellfish Immunology*. 117: 36-52. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.07.007>.
- [16]. Ghanei-Motlagh, R., Mohammadian, T., Gharibi, D., Khosravi, M., Mahmoudi, E., Zarea, M., El-Matbouli, M., & Menanteau-Ledouble, S. (2021). *Quorum quenching probiotics modulated digestive enzymes activity, growth performance, gut microflora, haemato biochemical parameters*

- and resistance against *Vibrio harveyi* in Asian seabass (*Lates calcarifer*). *Aquaculture*. 531: 735-874. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735874>.
- [17]. Hong, N. T. X., Linh, N. T. H., Baruah, K., Thuy, D. T. B., & Phuoc, N. N. (2022). *The combined use of Pediococcus pentosaceus and fructooligosaccharide improves growth performance, immune response, and resistance of whiteleg shrimp Litopenaeus vannamei against Vibrio parahaemolyticus*. *Frontiers in Microbiology*. 13: 826151.
- [18]. Hui W., Xiaowen Z., Haizhen W., Jun Q., Pao X. and Ruiwei L. (2014). *Joint effect of temperature, salinity and pH on the percentage fertilization and hatching of Nile tilapia (Oreochromis niloticus)*. *Aquaculture Research*. 45: 259-269.
- [19]. Mohamed, K. A., Badia, A. F., and Eid, A. M. S. (2007). *Evaluation of using some feed additives on growth performance and feed utilization of monosex Nile tilapia (Oreochromis niloticus) Fingerlings*. *Agricultural Research Journal Suez Canal University*. 7: 49-54.
- [20]. Nath, S., Matozzo, V., Bhandari, D., & Faggio, C. (2019). *Growth and liver histology of Channa punctatus exposed to a common biofertilizer*. *Natural Product Research*. 33: 1591-1598. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1428586>.
- [21]. Okey, I.B., Gabriel, U.U., and Deekae, S.N. (2018). *The Use of Synbiotics (Prebiotic and Probiotic) in Aquaculture Development*. *Sumerianz Journal of Biotechnology*. 1(2): 51-60.
- [22]. Rahman, M. M., Paul, S. I., Rahman, A., Haque, M. S., Ador, M. A. A., Foysal, M. J., & Rahman, M. M. (2022). *Suppression of Streptococcosis and modulation of the gut bacteriome in Nile tilapia (Oreochromis niloticus) by the marine sediment bacteria Bacillus haynesii and Advenella mimigardefordensis*. *Microbiology Spectrum*, 10(6): e02542-22.
- [23]. Ringø, E., Doan, H. Van, Lee, S., and Song, S.K. (2020). *Lactic acid bacteria in shellfish: Possibilities and challenges*. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*. 28: 139-169. <https://doi.org/10.1080/23308249.2019.1683151>.
- [24]. Salminen-Paatero, S., & Paatero, J. (2021). *Transfer of natural radionuclides in terrestrial food chains-a review of investigations in Finland*. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 18(20): 10577.
- [25]. Sokooti, R., Chelemal Dezfoulnejad, M., Javaheri Baboli, M., Askary Sary, A., and Mabudi, H. (2022). *The effects of probiotics-supplemented diets on Asian sea bass (Lates calcarifer): Growth performance, microbial flora, digestive enzymes activity, serum biochemical and non-specific immune indices*. *Aquaculture Research*. 53(16), 500-509. <https://doi.org/10.1111/are.16032>.
- [26]. Van Doan, H., Hoseinifar, S. H., Ringø, E., Esteban, M. A., Dadar, M., Dawood, M. A. O., & Faggio, C. (2019). *Host-associated probiotics: A key factor in sustainable aquaculture*. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*. 28(1):16-42. <https://doi.org/10.1080/23308249.2019.1643288>.
- [27]. Xia, Y., Wang, M., Gao, F., Lu, M., and Chen, G. (2020). *Effects of dietary probiotic supplementation on the growth, gut health and disease resistance of juvenile Nile tilapia (Oreochromis niloticus)*. *Aquaculture Nutrition*. 6: 69-79. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2019.07.002>.
- BBT nhận bài: 16/5/2024; Phản biện xong: 28/5/2024; Chấp nhận đăng: 28/6/2024