

ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ CỦA CHẾ PHẨM SINH HỌC TỔNG HỢP LÊN TĂNG TRƯỞNG, KHẢ NĂNG MIỄN DỊCH VÀ PHÒNG BỆNH HOẠI TỬ GAN TỤY CẤP TÍNH (AHPND) TRÊN TÔM THẺ CHÂN TRẮNG

Nguyễn Thị Trúc Linh¹, Nguyễn Thị Hồng Nhi¹, Phạm Văn Đây¹,
Nguyễn Văn Sáng¹, Phan Công Minh², Nguyễn Trọng Nghĩa²

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá hiệu quả của việc sử dụng chế phẩm sinh học tổng hợp lên khả năng kích thích tăng trưởng, đáp ứng miễn dịch và phòng bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (AHPND) trên tôm thẻ chân trắng với thời gian 30 ngày sử dụng. Cân đo chiều dài và trọng lượng tôm được thu mẫu định kỳ 7 ngày/lần (ngày 0, 7, 14, 21, 28) và các chỉ tiêu miễn dịch được thu vào ngày 0, 15 và 30. Kết quả kiểm tra cho thấy việc sử dụng chế phẩm sinh học tổng hợp giúp tôm tăng trưởng khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) so với nghiệm thức đối chứng về chiều dài và trọng lượng tương ứng là sau 21 ngày và 28 ngày. Tốc độ tăng trưởng tương đối về trọng lượng (WG) tăng lên 59,9% và về chiều dài (LG) tăng 23,3%. Số lượng tổng tế bào máu, bạch cầu có hạt và bạch cầu không hạt đều tăng lên và thể hiện khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) giữa nghiệm thức sử dụng sản phẩm và nghiệm thức đối chứng. Đồng thời, sản phẩm cũng thể hiện khả năng bảo hộ tốt cho tôm với bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (AHPND) sau 30 ngày cho ăn với tỉ lệ chết sau 14 ngày cảm nhiễm bệnh ở nghiệm thức cho ăn sản phẩm là $23,33 \pm 5,77\%$, thấp hơn có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với nghiệm thức đối chứng dương là $53,33 \pm 5,77\%$. Tỷ lệ bảo hộ tương đối với AHPND là 56,25%.

Từ khóa: Tôm thẻ chân trắng, chế phẩm sinh học tổng hợp, khả năng miễn dịch, tăng trưởng, bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (AHPND)

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việc nuôi tôm thẻ ở Đồng bằng sông Cửu Long ngày càng phát triển rộng rãi và mang lại lợi nhuận kinh tế lớn cho người dân. Tuy nhiên, hiện nay người nuôi tôm thường thả nuôi với mật độ rất cao nên tốc độ tăng trưởng chậm và khả năng đề kháng mầm bệnh trên tôm cũng giảm, tôm dễ bệnh và năng suất nuôi cũng giảm theo. Bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (AHPND) hiện nay vẫn chưa có dấu hiệu dừng lại và vẫn còn gây thiệt hại ngày một nghiêm trọng ở một số quốc gia trên thế giới và gây tỷ lệ chết cao (Jory, 2018). Bệnh do vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* gây ra (Lightner *et al.*, 2013) đã làm thiệt hại trên 1 tỷ USD/năm cho nghề nuôi tôm nước lợ (Zorriehzahra and Banaederakhshan, 2015). Do đó, việc tìm ra các giải pháp trong việc phòng trị bệnh trên tôm nuôi đã và đang là nhiệm vụ hàng đầu để ngăn ngừa bệnh hoại tử gan tụy cấp tính trên tôm thẻ chân trắng. Các giải pháp được hướng tới như sử dụng probiotics và thảo dược.

Probiotics (chế phẩm sinh học) là thức ăn bổ sung có bản chất vi sinh vật sống có tác động có lợi đối với vật chủ nhờ cải thiện sự cân bằng hệ sinh vật trong đường ruột của chúng (Fuller, 1998). Ngoài ra, chúng còn có khả năng đối kháng với vi khuẩn gây bệnh như bám vào tế bào; ngăn chặn hoặc giảm sự bám vào tế bào của các tác nhân gây bệnh; cạnh tranh dinh dưỡng với vi khuẩn gây bệnh; kích thích

miễn nhiễm cho vật chủ; tạo ra acid, H_2O_2 , kháng sinh và bacteriocin để kháng lại sự tăng trưởng của các tác nhân gây bệnh; cân bằng vi sinh đường ruột, kích thích miễn dịch (Reid, 1999; Vázquez *et al.*, 2005). Trong nuôi trồng thủy sản nói chung và nghề nuôi tôm nói riêng, các nghiên cứu về áp dụng các loài vi khuẩn như *Lactobacillus* sp., *Bacillus* sp., *Saccharomyces* sp.,... đã thể hiện những tác động tích cực. Vì thế, để kiểm chứng giả thuyết xem chế phẩm sinh học dạng tổng hợp có khả năng kích thích tăng trưởng, khả năng đáp ứng miễn dịch và phòng bệnh hoại tử gan tụy cấp tính trên tôm thẻ chân trắng hay không thì nghiên cứu này được tiến hành.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Tôm thẻ chân trắng Post 15 âm tính với bệnh đốm trắng, bệnh vi bào tử trùng và bệnh hoại tử gan tụy cấp tính được ương ở trại thực nghiệm Khoa Nông nghiệp Thủy sản Trường Đại học Trà Vinh. Sử dụng 4000 con post để nuôi tiếp tục trong 02 bể composite 2 m³ đến khi tôm đạt kích cỡ 3gam/con tiến hành thí nghiệm. Trước khi bố trí, tôm được kiểm tra bằng phương pháp PCR, chọn những mẻ tôm không mang mầm bệnh đốm trắng và AHPND theo phương pháp của OIE (2006) và quy trình của Sirikharin và cộng tác viên (2014) với đoạn mỗi đặc hiệu. Sau khi bố trí vào các bể thí nghiệm, tôm được

¹ Trường Đại học Trà Vinh; ² Công ty TNHH một thành viên APC, Thành phố Cần Thơ

thuần dưỡng 3 ngày cho quen với điều kiện môi trường trong bể rồi mới bắt đầu thí nghiệm.

Nguồn vi khuẩn *V. parahaemolyticus* (Lighner, 2013) được trữ ở điều kiện -80°C tại Trường Đại học Trà Vinh được sử dụng cho thí nghiệm này.

Nguồn nước: Nước dùng trong thí nghiệm là nước biển được lấy từ biển Ba Động Trà Vinh có độ mặn 28‰, lọc qua túi lọc để loại bỏ chất cặn. Sau đó, nước được khử trùng bằng chlorin với nồng độ 20 - 30 mg/L, sục khí mạnh và liên tục (24 giờ) rồi tiến hành kiểm tra và trung hòa hàm lượng Cl tự do bằng $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ theo tỉ lệ 7 : 1 ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$: Cl). Sau khi xử lý nước biển, tiến hành pha loãng với nước ngọt để có độ mặn 15‰.

Sản phẩm chế phẩm sinh học: Spectra Lac-FS (Công ty TNHH MTV APC) với thành phần trong 1kg bao gồm *Lactobacillus acidophilus*: 9×10^7 CFU; *L. lactis*: 9×10^7 CFU; *L. sporogens*: 9×10^7 CFU; *Bacillus lechiformis*: 12×10^7 CFU; *B. subtilis*: 2×10^9 CFU; *Saccharomyces cerevisiae*: 3×10^7 CFU.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xác định khả năng kích thích tăng trưởng và tăng miễn dịch trên tôm

a) Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại gồm 2 nghiệm thức thí nghiệm. Nghiệm thức 1 là nghiệm thức đối chứng âm cho tôm ăn thức ăn bình thường không bổ sung sản phẩm và nghiệm thức 2 cho tôm ăn thức ăn có trộn SpectraLac-FS (Công ty TNHH MTV APC) liều 10g/kg thức ăn.

Thí nghiệm được bố trí trong bể composite 1000 L với mật độ 60 con/bể, kích cỡ tôm bố trí là 3 gam/con, độ mặn thí nghiệm là 15ppt và có sục khí. Tôm được cho ăn bằng thức ăn CP 40% protein, ngày ăn 4 lần 7 giờ, 11 giờ, 15 giờ và 21 giờ cho tôm ăn theo nhu cầu (7 - 10% trọng lượng thân). Thí nghiệm được bố trí trong thời gian 30 ngày.

b) Các chỉ tiêu theo dõi

- Các yếu tố môi trường: pH, nhiệt độ, NH_3 , KH, NO_2 được theo dõi mỗi ngày 1 lần bằng bộ test Kit Sera (Đức). Đối với chỉ tiêu nhiệt độ được đo bằng nhiệt kế.

- Tốc độ tăng trưởng của tôm: Được xác định bằng cách bắt ngẫu nhiên 10 con tôm để cân trọng lượng và đo chiều dài với tần suất 7 ngày/lần.

+ Tốc độ tăng trưởng tuyệt đối về khối lượng:
 $\text{DWG} = (\text{Wc} - \text{Wđ})/t$ (g/ngày)

+ Tốc độ tăng trưởng tương đối:
 $\text{WG} (\%) = (\text{Wc} - \text{Wđ})/\text{Wđ} \times 100$

+ Tăng trưởng chiều dài tương đối:

$$\text{DLG} = (\text{Lc} - \text{Lđ})/t \text{ (mm/ngày)}$$

+ Tăng trưởng chiều dài tuyệt đối:

$$\text{LG} (\%) = \text{Lc} - \text{Lđ}/\text{Lđ} \times 100$$

- Khả năng đáp ứng miễn dịch trên tôm: Thu mẫu máu để tiến hành xác định tổng số bạch cầu và định loại bạch cầu 3 lần trong suốt thời gian thí nghiệm: (1) trước khi bố trí thí nghiệm (2) ngày 15 sau cho ăn và (3) ngày kết thúc thí nghiệm. Tổng số bạch cầu được đếm theo phương pháp của Le Moullac và cộng tác viên (1997). Máu tôm (100 μl) được thu bằng cách dùng ống tiêm 1ml vô trùng có chứa 900 μl dung dịch chống đông (AS- trisodium citrate 30 mM, NaCl 338 mM, glucose 115 mM, EDTA 10 mM). Mật độ tế bào máu được xác định bằng buồng đếm hồng cầu và quan sát dưới kính hiển vi (40X). Tiêu bản, nhuộm và định loại bạch cầu được thực hiện theo phương pháp của Cornick và Stewart (1978) có điều chỉnh bằng cách dùng ống tiêm (có chứa 200 μl formalin-AS pH 4.6) rút 200 μl máu tôm cho vào ống eppendorf 1.5 ml, trộn đều và ly tâm 5000 vòng/phút trong 5 phút. Phần dịch phía trên được loại bỏ rồi cho 200 μl dung dịch formalin-AS vào phần tế bào máu còn lại, hòa tan, ly tâm và loại bỏ dung dịch phía trên. Cuối cùng hòa tan phần tế bào máu bằng 50 μl dung dịch formalin-AS. Một giọt mẫu máu được nhỏ lên lam thủy tinh, tán đều, làm khô, cố định 5 phút trong ethanol, rửa bằng nước cất và ngâm trong thuốc nhuộm Giemsa trong 30 phút, rửa lam bằng acetone và xylen và quan sát tiêu bản dưới kính hiển vi (100X) theo hình z-z.

2.2.2. Xác định khả năng phòng bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (AHPND)

a) Bố trí thí nghiệm

Tôm sau khi được cho ăn sản phẩm 30 ngày được bố trí thí nghiệm để đánh giá khả năng phòng AHPND của việc sử dụng SpectraLac-FS. Thí nghiệm được bố trí bao gồm 3 nghiệm thức: (1) đối chứng âm - tôm ăn thức ăn bình thường, không bổ sung SpectraLac-FS và không cảm nhiễm *V. parahaemolyticus*; (2) đối chứng dương - tôm ăn thức ăn bình thường, không bổ sung SpectraLac-FS và cảm nhiễm *V. parahaemolyticus*; (3) tôm ăn thức ăn bổ sung SpectraLac-FS và cảm nhiễm *V. parahaemolyticus*. Tôm được bố trí trong bể nhựa 90L, 10 tôm/bể và mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần.

b) Phương pháp cảm nhiễm

Cảm nhiễm vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* được thực hiện theo phương pháp Loc Tran và cộng tác viên (2013). Tôm được ngâm trong 1 lít dung dịch

vi khuẩn *V. parahaemolyticus* mật độ 2×10^7 CFU/mL trong 15 phút sau đó vớt và bố trí vào bể thí nghiệm đã được bổ sung vi khuẩn *V. parahaemolyticus* với mật độ vi khuẩn của nước trong bể ở 10^6 CFU/mL. Đối với nghiệm thức đối chứng âm tiến hành ngâm tôm trong môi trường TSB (có bổ sung 1,5% NaCl) tiệt trùng và cho vào bể không bổ sung vi khuẩn.

c) Theo dõi thí nghiệm và thu mẫu sau khi cảm nhiễm

Theo dõi các chỉ tiêu môi trường được đo hàng ngày lúc 8 h và 15 h hằng ngày trong suốt quá trình thí nghiệm gồm pH, TAN, hàm lượng oxy hòa tan (DO) (đo bằng các bộ test SERA Đức) và nhiệt độ

(đo bằng nhiệt kế). Ghi nhận những biểu hiện bệnh lý, tỉ lệ tôm chết được ghi nhận hàng ngày, từ khi cảm nhiễm đến khi kết thúc thí nghiệm sau 14 ngày bằng công thức sau:

Tỷ lệ chết (%) được tính bằng công thức:
 $(\text{TLS}\%) = (\text{số tôm chết} / \text{số tôm thả}) \times 100\%$

Mẫu tôm thí nghiệm được thu mẫu để phân tích mô bệnh học 9 con tôm/NT.

Hiệu quả của sản phẩm sản phẩm được đánh giá bằng tỷ lệ bảo hộ tương đối, theo công thức (Ellis, 1998):

$$\text{RPS} (\%) = \left[1 - \frac{\% \text{ tôm chết ở nghiệm thức bổ sung SpectraLac-FS}}{\% \text{ tôm chết ở nghiệm thức đối chứng dương}} \right] \times 100$$

2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu được phân tích bằng phương sai một yếu tố (ANOVA) trên phần mềm SPSS 16.0 với phép kiểm định Duncan's Test được sử dụng để xác định sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với mức ý nghĩa $p < 0,05$. Tất cả các số liệu trong thí nghiệm được trình bày dưới dạng trung bình (Mean) \pm sai số chuẩn (SE).

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

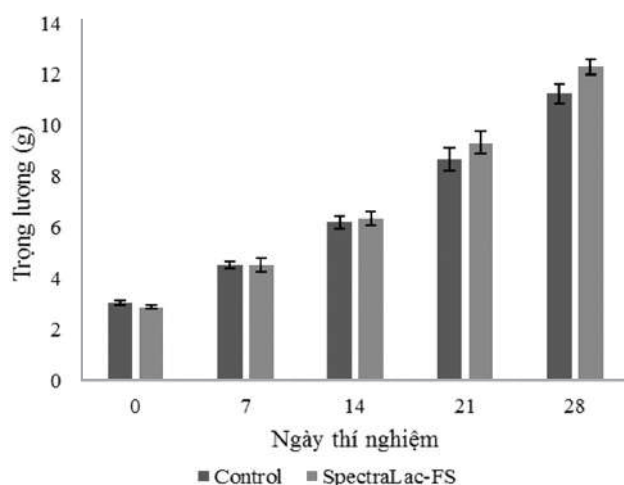
Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 01 - 3/2020

tại Bộ môn Thủy sản, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Trà Vinh.

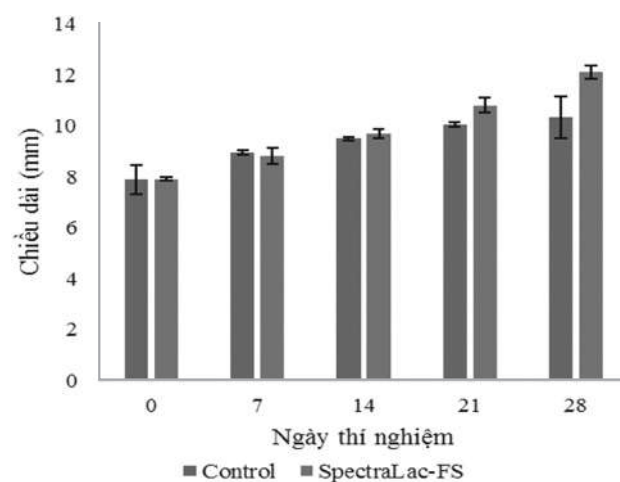
III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khả năng kích thích tăng trưởng

Trọng lượng và chiều dài của tôm được theo dõi trong suốt quá trình thí nghiệm với 5 lần kiểm tra cân, đo tôm bao gồm lần kiểm tra tôm trước thí nghiệm và 4 lần sau khi thí nghiệm vào các ngày 7, 14, 21 và 28 sau bố trí. Kết quả đánh giá ở các lần kiểm tra được thể hiện trên hình 1 và 2.



Hình 1. Trọng lượng tôm thí nghiệm



Hình 2. Trọng lượng tôm thí nghiệm

Tôm ở nghiệm thức cho ăn SpectraLac-FS đều thể hiện giá trị trung bình trọng lượng cao hơn so với nghiệm thức đối chứng ở tất cả các lần thu mẫu và thể hiện khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) ở lần thu mẫu kiểm tra ở ngày thứ 28 với trọng lượng trung bình được ghi nhận là $11,27 \pm 0,39$ g và $12,11 \pm 0,31$ g tương ứng với từng nghiệm thức.

Trong khi đó, sự phát triển về chiều dài của tôm lại thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) ở thời gian sớm hơn chỉ sau 21 ngày với chiều dài trung bình tương ứng với từng đợt thu ở ngày 21, 28 là $10,33 \pm 0,28$ mm, $12,11 \pm 0,26$ mm đối với tôm ở nghiệm thức cho ăn SpectraLac-FS khi so sánh với $10,03 \pm 0,08$ mm, $10,33 \pm 0,8$ mm đối với tôm ở

nghiệm thức đối chứng. Sự kích thích tăng trưởng là một trong những chỉ tiêu sử dụng để đánh giá hiệu quả của chế phẩm vi sinh lên tôm nuôi nói chung. Một số nghiên cứu về chế phẩm sinh học trên tôm thẻ chân trắng đã ghi nhận được hiệu quả tích cực các chế phẩm sinh học có chứa *Bacillus subtilis* (Zokaeifar *et al.*, 2012) *Shewanella haliotis* D4, *Bacillus cereus* D7 và *Aeromonas bivalvium* D15 (Hao *et al.*, 2012), *Bacillus* sp. (Arangure *et al.*, 2013). Kongnum và Hongpattarakere (2012) cũng đã xác định việc sử dụng probiotics có khả năng kích thích tăng trọng trên tôm. Qua nghiên cứu này cũng cho thấy trong điều kiện thử nghiệm trong bể sử dụng sản phẩm SpectraLac-FS với thành phần *Lactobacillus* sp. và *Bacillus* sp. có khả năng giúp tôm cải thiện tăng trưởng trong khoảng thời gian sau 21 ngày sử dụng, đồng thời thể hiện tốc độ tăng trưởng chiều dài, trọng lượng tương đối và tuyệt đối cao hơn khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) khi so sánh với tôm ở nghiệm thức không sử dụng sản phẩm (Bảng 1).

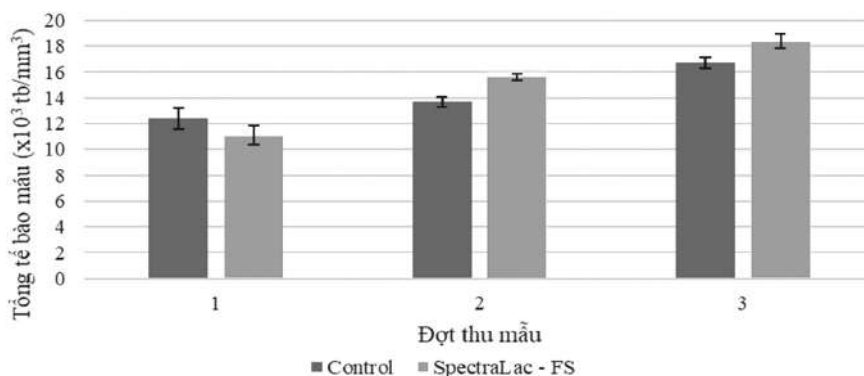
Bảng 1. Khả năng kích thích tăng trưởng của SpectraLac - FS

Chỉ tiêu	Control	SpectraLac-FS
DWG (g/ngày)	0,27 ± 0,01 ^a	0,31 ± 0,009 ^b
WG (%)	272 ± 16,90 ^a	331 ± 13,80 ^b
DLG (mm/ngày)	0,081 ± 0,04 ^a	0,14 ± 0,008 ^b
LG (%)	31,11 ± 1,58 ^a	53,40 ± 2,29 ^b

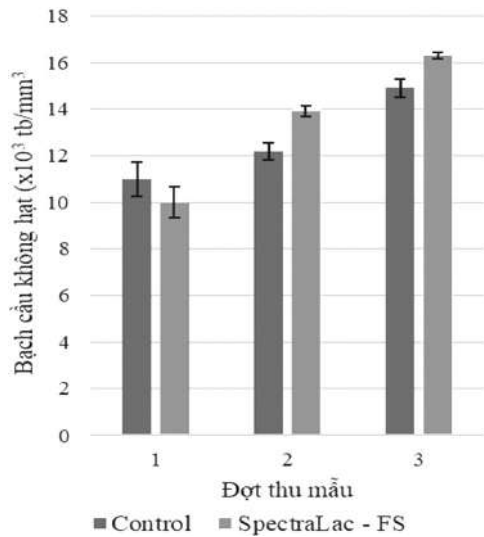
3.2. Khả năng kích thích miễn dịch

Tế bào máu tôm được thu và đánh giá trong các khoảng thời gian: Trước bố trí thí nghiệm, ngay khi bố trí thí nghiệm 15 ngày và kết thúc thí nghiệm. Kết quả phân tích tổng tế bào máu và phân loại bạch cầu trong 2 đợt thu mẫu sau bố trí thí nghiệm đều thể hiện tăng lên về mật số của tổng tế bào máu, bạch cầu không hạt và bạch cầu có hạt so với trước bố trí thí nghiệm. Đồng thời, kết quả trên cũng thể hiện được

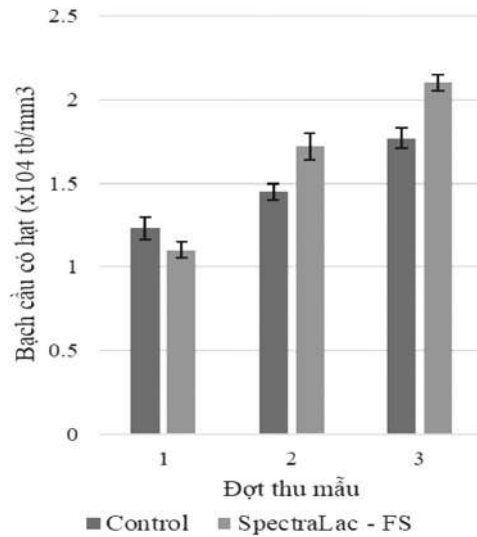
hiệu quả giữa nghiệm thức tôm cho ăn sản phẩm SpectraLac-FS khi so sánh với nghiệm thức đối chứng không sử dụng sản phẩm khi mật số của các loại tế bào này cao hơn khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) ở cả 2 đợt thu mẫu (Hình 3, 4, 5). Kết quả cho thấy khả năng kích thích hệ miễn dịch tự nhiên tôm thẻ chân trắng của sản phẩm chế phẩm SpectraLac-FS có chứa *Lactobacillus* và *Bacillus* thể hiện qua sự gia tăng tổng tế bào máu cũng như số lượng bạch cầu. Kết quả trên tương tự nghiên cứu của Gullian và cộng tác viên (2004) về miễn dịch của chế phẩm sinh học đối với tôm thẻ chân trắng trên chủng vi khuẩn *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio* P62, *Vibrio* P63 và *Bacillus* P64 được phân lập từ gan tụy tôm thẻ chân trắng tự nhiên cho thấy đối với tôm được cho ăn bổ sung 2 chủng vi khuẩn *V. alginolyticus* và *Bacillus* P64 làm tăng số lượng bạch cầu không hạt (bạch cầu đơn nhân) và hoạt động của Phenoloxidase. Li và cộng tác viên (2009) bổ sung vi khuẩn *Bacillus* OJ giúp tăng các thông số miễn dịch như tổng tế bào máu, khả năng thực bào và phenoloxidase (PO). Bổ sung 2 loài vi khuẩn *B. licheniformis* and *B. megaterium* trong thức ăn tôm thẻ chân trắng giai đoạn PL với khẩu phần $0,5 \times 10^8$ CFU/kg thức ăn kích thích làm tăng hoạt tính peroxide dismutase, phenoloxidase và tổng tế bào máu sau 60 ngày cho ăn, trong khi hoạt tính của respiratory burst luôn luôn tăng trong quá trình thu mẫu (Kumar *et al.*, 2014). Các chế phẩm sinh học kích thích hệ miễn dịch của tôm qua việc tăng cao một số các chỉ tiêu ở cả miễn dịch thể và miễn dịch tế bào như số lượng tổng tế bào máu và các loại bạch cầu trong huyết tương, hoạt tính phenoloxidase, proPhenoloxidase, superoxide dismutase, khả năng thực bào của tế bào máu và tăng cường biểu hiện một số gen miễn dịch như beta - 1,3 glucan binding protein. Sự tăng cường của các các chỉ tiêu sẽ góp phần nâng cao chức năng miễn dịch của tôm giúp cho khả năng nhận dạng, cô lập và tiêu diệt các vật chất lạ khi xâm nhập vào cơ thể (Johansson *et al.*, 2000).



Hình 3. Tổng tế bào máu tôm thí nghiệm qua các đợt thu mẫu



Hình 4. Tổng bạch cầu không hạt tôm thí nghiệm qua các đợt thu mẫu



Hình 5. Tổng bạch cầu có hạt tôm thí nghiệm qua các đợt thu mẫu

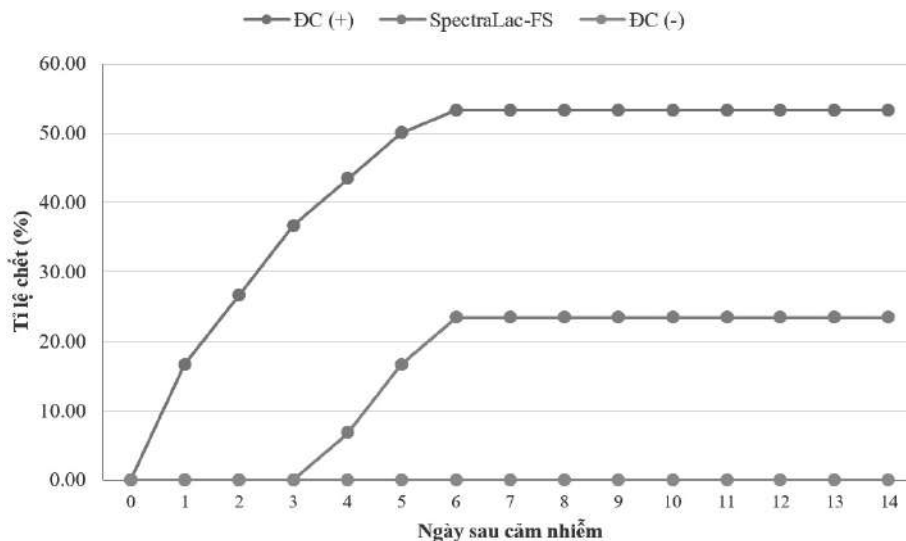
3.3. Khả năng phòng bệnh hoại tử gan tụy cấp tính

Tôm sau khi cho ăn sản phẩm SpectraLac-FS trong 30 ngày được cảm nhiễm với vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp (AHPND) để tiến hành đánh giá khả năng phòng bệnh, biểu hiện thông qua tỉ lệ chết.

Sau 14 ngày cảm nhiễm vi khuẩn, đối với tôm ở nghiệm thức đối chứng âm (không cảm nhiễm bệnh) tỉ lệ sống ghi nhận tôm là 100%, chứng tỏ điều kiện thực hiện thí nghiệm luôn ổn định trong suốt thời gian bố trí. Trong khi đó, ở các nghiệm thức có cảm nhiễm *V. parahaemolyticus* đều ghi nhận được

tôm chết với thời gian gây chết và tỉ lệ chết khác biệt theo từng nghiệm thức.

Tôm ở nghiệm thức đối chứng dương chết ở thời gian sớm, chỉ trong 12 giờ sau cảm nhiễm và tăng liên tục hàng ngày, trong khi ở nghiệm thức sử dụng SpectraLac-FS thời gian tôm bắt đầu chết là 72 giờ sau cảm nhiễm. Tôm dùng chết ở cả 2 nghiệm thức sau 7 ngày cảm nhiễm và đến khi kết thúc thí nghiệm tỉ lệ chết tôm ở nghiệm thức sử dụng SpectraLac-FS là $23,33 \pm 5,77\%$, thấp hơn có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với tỉ lệ $53,33 \pm 5,77\%$ ở nghiệm thức đối chứng dương không sử dụng sản phẩm (Hình 6).



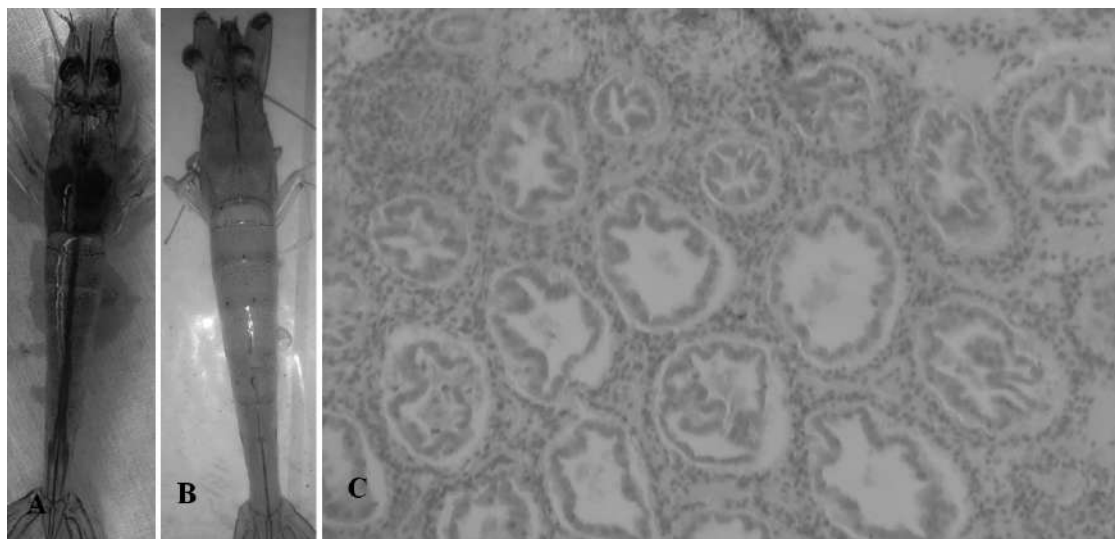
Hình 6. Tỉ lệ chết tôm cảm nhiễm AHPND trong thời gian thí nghiệm

Tôm chết ở các nghiệm thức cảm nhiễm AHPND xuất hiện các dấu hiệu bệnh lý bên ngoài của bệnh như gan tụy teo, dai, nhạt màu; dạ dày và ruột rỗng cùng với các biểu hiện mô bệnh học đặc trưng như

ống gan tụy teo, giảm số lượng tế bào B, R, F; tế bào gan tụy bong tróc rơi vào lòng ống, tế bào máu tập trung xung quanh các ống gan tụy và melanin hóa như mô tả của Lightner và cộng tác viên (2012). Kết

quả nghiên cứu này cũng phù hợp với Pinoargote và cộng tác viên (2018) khi bổ sung kết hợp các chủng vi sinh vật có lợi vào thức ăn cho tôm giúp tỷ lệ sống của tôm tăng từ 11,7% lên 73,3% và tỷ lệ nhiễm AHPND cũng giảm có ý nghĩa thống kê so

với đối chứng. Kết quả này cũng tương tự nghiên cứu của Nguyen và cộng tác viên (2019) bổ sung *L. plantarum* vào thức ăn cũng giúp tôm tăng tỷ lệ sống và phòng được bệnh hoại tử gan tụy cấp tính.



Hình 7. Đặc điểm bệnh học tôm cảm nhiễm AHPND

Ghi chú: (A) Tôm nghiệm thức đối chứng âm: gan tụy màu nâu, dạ dày và đường ruột đầy thức ăn; (B) Tôm cảm nhiễm AHPND: dạ dày và đường ruột rỗng, gan tụy teo, dai nhạt màu; (C) Đặc điểm mô bệnh học tôm cảm nhiễm ống gan tụy teo, giảm số lượng tế bào B, R, F; tế bào gan tụy bong tróc rơi vào lòng ống, tế bào máu tập trung xung quanh các ống gan tụy và melanin hóa.

Dựa vào kết quả thí nghiệm ta thấy được sử dụng sản phẩm SpectraLac-FS cho tôm sẽ có khả năng phòng AHPND khi so sánh với tôm ở nghiệm thức đối chứng không sử dụng sản phẩm. Tỷ lệ bảo hộ tương đối trên tôm của SpectraLac-FS đối với AHPND là 56,25%.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Việc sử dụng chế phẩm SpectraLac-FS đã giúp tăng chiều dài và trọng lượng tôm khác biệt rõ rệt từ sau 28 ngày sử dụng, cũng như đẩy mạnh tốc độ tăng trưởng với tốc độ tăng trưởng trọng lượng và chiều dài tương đối trong 30 ngày thí nghiệm cao hơn tương ứng là 59,9% và 22,3% so với nghiệm thức không sử dụng sản phẩm. Sử dụng sản phẩm còn kích thích miễn dịch tôm, tăng tổng tế bào máu, bạch cầu không hạt và bạch cầu có hạt, đồng thời có tác dụng trong phòng bệnh hoại tử gan tụy cấp tính trên tôm.

4.2. Đề nghị

Thử nghiệm xác định hiệu quả của sản phẩm trong các ao nuôi tôm thẻ thâm canh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Aly, S.M., Ahmed, Y.A.-G., Ghareeb, A.A.-A., Mohamed, M.F., 2008. Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*, as potential probiotics, on the immune response and resistance of *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. *Fish Shellfish Immunol*, 25: 128-136.
- Blanca O. Partida-Arangure, Antonio Luna-González, Jesús A. Fierro-Coronado, Ma. Del Carmen Flores-Miranda and Héctor A. González-Ocampo., 2013. Effect of inulin and probiotic bacteria on growth, survival, immune response, and prevalence of white spot syndrome virus (WSSV) in *Litopenaeus vannamei* cultured under laboratory conditions. *African Journal of Biotechnology* 12(21): 3366-3375.
- Dugas, B., A. Mercenier, I. Lenoir-Wijnkoop, C. Arnaud, N. Dugas and E. Postaire, 1999. Immunity and probiotics. *Trends Immunology Today*, 20 (9): 387-390.
- Fuller R., 1998. Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.*, 66: 365-78.
- Gullian, M., Thompson, F., Rodriguez, J., 2004. Selection of probiotic bacteria and study of their immunostimulatory effect in *Penaeus vannamei*. *Aquaculture* 233: 1-14.

- Hadi Zokaei Far, Che Roos B. Saad, Hassan Mohd Daud, Sharr Azni Harmin, Shahram Shakibzadeh**, 2012. Effect of *Bacillus subtilis* on the growth and survival rate of shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *African Journal of Biotechnology* Vol. 8 (14), pp. 3369-3376.
- Johansson, M.W., Keyser, P., Sritunyalucksana, K., Söderhäll, K.**, 2000. Crustacean hemocytes and haematopoiesis. *Aquaculture* 191: 45-52.
- Jory, D.E.**, 2018. Summaries of relevant papers presented at annual World Aquaculture Society conference. Updat. shrimp Dis. AHPND, NHP Aquac. Am. Glob. *Aquac. dvocate*, 7-11.
- Kai Hao, Jia-Yan Liu, Fei Ling, Xiao-Lin Liu, Lin Lu, Lei Xia, Gao-Xue Wang.**, 2014. Effects of dietary administration of *Shewanella haliotis* D4, *Bacillus cereus* D7 and *Aeromonas bivalvium* D15, single or combined, on the growth, innate immunity and disease resistance of shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 141-149.
- Kongnum, K., Hongpattarakere, T.**, 2012. Effect of *Lactobacillus plantarum* isolated from digestive tract of wild shrimp on growth and survival of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) challenged with *Vibrio harveyi*. *Fish Shellfish Immunol.*, 32, 170-177.
- Kumar, A.1, Suresh Babu, P. P.2, Roy, S. D1, Razvi, S. S. H2 and R. Charan.**, 2014. Synergistic Effects of Two Probiotic Bacteria on Growth, Biochemical, and Immunological Responses of *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh*, IJA_66.2014.1009, 8 pages.
- Lazado, C.C., Caipang, C.M.A., Estante, E.G.**, 2015. Host-associated microorganisms of fish and penaeids as probiotics with immunomodulatory functions. *Fish Shellfish Immun.* 45, 2-12.
- Li, J., Tan, B., Mai, K.**, 2009. Dietary probiotic *Bacillus* OJ and isomaltooligosaccharides influence the intestine microbial populations, immune responses and resistance to white spot syndrome virus in shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture* 291: 35-40.
- Lightner D.V., C. R.Redman, B. L.Pantoja, L. M.Noble, L. Nunan, Loc Tran**, 2013. *Documentation of an Emerging Disease (Early Mortality Syndrome) in SE Asia & Mexico*, 1-52.
- Lightner D.V., R. M. Redman, C. R. Pantoja, B. L. Noble, Loc Tran**, 2012. Early mortality syndrome affects shrimp in Asia. *Global aquaculture advocate*, January/February 2012, 40.
- Loc Tran., N. Linda., R.M. Redman., L.L. Mohney., R.P. Carlos., F. Kevin and D.V. Lightner**, 2012. Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp. *Diseases of aquatic organisms*, 105: 45-55.
- Nguyen Thi Truc Linh, Trinh Ngoc Ai, Tran Thi Hong To, Nguyen Thanh Tuu, Huynh Kim Huong, Pham Kim Long, Huynh Truong Giang, Truong Quoc Phu and Nguyen Thi Ngoc Tinh**, 2019. Selection of lactic acid bacteria (LAB) antagonizing *Vibrio parahaemolyticus*: The pathogen of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in Whiteleg Shrimp (*Penaeus vannamei*). *Biology*, 8: 91; doi:10.3390/biology8040091.
- OIE**, 2009. *White spot disease. Manual of diagnostic test for aquatic animal*, 2009, chapter 2.2.5: 121-131.
- Pinoargote, G, Flores, G., Cooper, K., Ravishankar, S.**, 2018. Effects on survival and bacterial community composition of the aquaculture water and gastrointestinal tract of shrimp (*Litopenaeus vannamei*) exposed to probiotic treatments after an induced infection of acute hepatopancreatic necrosis disease. *Aquac. Res.*, 49, 3270-3288.
- Reid G.**, 1999. The scientific basis for probiotic strains of *Lactobacillus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65: 3763-3766.
- Sirikharin, R., Taengchaiyaphum, S., Sritunyalucksana, K., Thitamadee, S., T.W. Flegel, R. Mavichak**, 2014. *A new and improved PCR method for detection of AHPND bacteria*. National Science and Technology Development Agency. 1-3.
- Vázquez J. A., M. P. González and M. A. Murado**, 2005. Effects of lactic acid bacteria cultures on pathogenic microbiota from fish. *Aquaculture*, 245: 149-161.
- Zorriehzakra, M.J., Banaederakhshan, R.**, 2015. Early mortality syndrome (EMS) as new emerging threat in shrimp industry. *Adv. Anim. Vet. Sci.*, 3: 64-72.

Effects of synthetic probiotics on growth, immunity and prevention of acute hepatopancreatic necrosis disease in whiteleg shrimp

Nguyen Thi Truc Linh, Nguyen Thi Hong Nhi, Pham Van Day, Nguyen Van Sang, Phan Cong Minh, Nguyen Trong Nghia

Abstract

The study was conducted to evaluate the effects of synthetic probiotics (Spectralac - FS) on the ability to stimulate growth, immune response and acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) prevention in 30 days periods.

Length and weight were measured at 7 days interval (0; 7th; 14th; 21th; 28th day) and immune parameters were recorded at the day of 0; 15th and 30th. The results showed that the length and weight were increased and the difference between treated group and control group was significant ($p < 0.05$) after 21 days and 28 days, respectively. The relative weight growth rate increased by 59.9% and the length (LG) increased by 23.3%. The total hemocytes cells, granulocytes and hyaline cells increased, and showed a significant difference ($p < 0.05$). The probiotics also well protected shrimp from AHPND after 30 days of feeding with the mortality in 14 days of infection of $23.33 \pm 5.77\%$, significantly lower ($p < 0.05$) than positive control by $53.33 \pm 5.77\%$. The relative percentage survival of AHPND was 56.25%.

Keywords: white leg shrimp, synthetic probiotics, immunity, growth, probiotics, acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND)

Ngày nhận bài: 20/4/2020

Ngày phản biện: 5/5/2020

Người phản biện: TS. Lê Văn Khôi

Ngày duyệt đăng: 20/5/2020

ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC NGUỒN CACBON LÊN TĂNG TRƯỞNG VÀ TỶ LỆ SỐNG TRONG ƯƠNG ẤU TRÙNG TÔM CÀNG XANH (*Macrobrachium rosenbergii*) BẰNG CÔNG NGHỆ BIOFLOC

Lê Thanh Nghị¹, Phạm Minh Truyền²,
Châu Tài Tào³, Nguyễn Văn Hòa³, Trần Ngọc Hải³

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm xác định nguồn cacbon thích hợp cho tăng trưởng, tỷ lệ sống và năng suất của ấu trùng và hậu ấu trùng tôm càng xanh. Thí nghiệm gồm 4 nghiệm thức bổ sung các nguồn cacbon lần lượt là (i) nghiệm thức đối chứng (không bổ sung cacbon); (ii) bột gạo, (iii) cám gạo và (iv) đường cát, mật độ ương 60 con/L. Bể ương có thể tích 500 lít, độ mặn 12‰. Kết quả nghiên cứu cho thấy sau 35 ngày ương, các chỉ tiêu môi trường, biofloc và các chỉ tiêu vi sinh nằm trong khoảng thích hợp cho tôm sinh trưởng và phát triển tốt. Tôm PL-15 ở nghiệm thức bổ sung đường cát có tăng trưởng về chiều dài ($11,7 \pm 0,3$ mm), tỷ lệ sống ($59,3 \pm 8,7$ %) và năng suất (35.573 ± 5.219 con/m³) cao nhất khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với các nghiệm thức còn lại. Vì vậy có thể kết luận rằng, bổ sung đường cát trong ương ấu trùng tôm càng xanh bằng công nghệ biofloc cho kết quả tốt nhất.

Từ khóa: Ấu trùng tôm càng xanh, biofloc, nguồn cacbon, tăng trưởng, tỷ lệ sống

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*) là loài tôm nước ngọt có kích thước lớn, thịt thơm ngon có giá trị dinh dưỡng cao, được ưa chuộng và được nuôi chủ yếu ở châu Á. Sản lượng tôm càng xanh toàn cầu năm 2014 đạt 216.856 tấn (FAO, 2018). Tuy nhiên, trở ngại lớn nhất của Việt Nam đối với nghề nuôi tôm càng xanh hiện nay là thiếu con giống và chất lượng giống không đảm bảo. Để tìm được giải pháp cho nghề sản xuất giống tôm càng xanh theo hướng an toàn sinh học thì việc ứng dụng công nghệ biofloc trong ương ấu trùng tôm càng xanh để tạo ra con giống chất lượng cao phục vụ cho nghề nuôi là rất cần thiết. Theo McIntosh và cộng tác viên (2000) biofloc có tác dụng như là chế phẩm sinh học và có nhiều vai trò quan trọng trong việc ổn định môi trường nước, an toàn sinh học, ngăn ngừa mầm bệnh, làm thức ăn trực tiếp cho tôm, tăng cường

dưỡng chất tự nhiên, giảm ô nhiễm môi trường. Cho đến nay đã có các công trình ương ấu trùng tôm càng xanh bằng công nghệ biofloc (Phạm Văn Đầy, 2018; Trần Ngọc Hải và ctv., 2019). Tuy nhiên, để đánh giá ảnh hưởng của các nguồn cacbon lên tăng trưởng, tỷ lệ sống và năng suất của hậu ấu trùng tôm càng xanh ương bằng công nghệ biofloc là rất cần thiết nhằm góp phần hoàn thiện quy trình ương ấu trùng tôm càng xanh bằng công nghệ biofloc từ đó ứng dụng vào thực tế sản xuất.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

2.1.1. Nguồn nước thí nghiệm

Nguồn nước thí nghiệm được pha từ nguồn nước máy thành phố với nước ót (độ mặn 80‰ được lấy từ ruộng muối ở huyện Vĩnh Châu, tỉnh

¹ Học viên cao học khóa 25; ² Nghiên cứu sinh nuôi trồng thủy sản Khóa 2017

³ Khoa Thủy sản - Trường Đại học Cần Thơ