

4.2. Đề nghị

Thí nghiệm ô khuyết dinh dưỡng mới tiến hành 2 vụ nên cần nghiên cứu thêm và thêm các vùng khác để có kết quả chính xác hơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bộ Nông nghiệp và PTNT, 2011. QCVN 01-55:2011/BNNPTNT. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về khảo nghiệm giá trị canh tác và sử dụng của giống lúa.

Hach C.V. and P.S.Tan, 2007. Study on Site-specific nutrient management (SSNM) for high-yielding rice in the Mekong Delta. *Omon Rice* 15:144-152.

IRRI, 2000. Use of chlorophyll meter for efficient N management in rice. *Crop Resource Management Network Technology Brief (1)*. IRRI, Manila, Philippines.

Khalilzadeh R., Tajbakhsh M. and J. Jalilian, 2012. Growth characteristics of mung bean (*Vigna radiata* L.) affected by foliar application of urea and bio-organic fertilizers. *International journal of agriculture and crop sciences* 4(10): 637-642.

Yoshida S, 1981. *Fundamental of rice crop science*. IRRI, Los Bafios, Philippines.

Study on the ability of supplying nutrition from soil to rice by using non-fertilization method

Le Van Vinh, Tran Thi Tham

Abstract

In 2017, the North Central Institute of Agricultural Science and Technology conducted a study on the ability of supplying nutrition from soil to rice by using non-fertilization method in Dien Lien commune, Dien Chau district, Nghe An province. The results showed that the amount of soil nutrient supplied to rice was 36 kg N + 34.02 kg P₂O₅ + 94.45 kg K₂O in Spring season and it was proposed to apply 119.4 - 132.7 kg N + 14.2 - 17 kg P₂O₅ + 34 - 40.8 kg K₂O for obtaining rice yield of 63.8 quintals/ha. The amount of soil nutrient supplied to rice was 47.25 kg N + 34.82 kg P₂O₅ + 106.51 kg K₂O in Summer-Autumn and it was proposed to apply 114.3 - 128.6 kg N + 18.6 - 23.3 kg P₂O₅ + 23.9 - 29.8 kg K₂O for obtaining rice yield of 66.8 quintals/ha.

Keywords: Rice, nutrition, non-fertilization method

Ngày nhận bài: 19/6/2019
Ngày phản biện: 29/6/2019

Người phản biện: PGS. TS. Lê Như Kiều
Ngày duyệt đăng: 11/7/2019

ẢNH HƯỞNG CỦA VIỆC BỔ SUNG VI KHUẨN *Lactobacillus plantarum* VÀ C, N, P LÊN TỶ LỆ SỐNG VÀ PHÒNG BỆNH HOẠI TỬ GAN TỤY CẤP TÍNH TRÊN TÔM THẺ CHÂN TRẮNG

Nguyễn Thị Trúc Linh¹, Trần Thị Hồng Tơ¹,
Dương Hoàng Oanh¹, Nguyễn Thị Hồng Nhi¹,
Phan Thị Thanh Trúc¹, Đặng Thị Hoàng Oanh², Trương Quốc Phú²

TÓM TẮT

Thí nghiệm được thực hiện nhằm mục đích đánh giá tỷ lệ sống và khả năng kháng bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (AHPND) của tôm thẻ chân trắng khi sử dụng vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* trộn vào thức ăn, đồng thời bổ sung C, N, P (đường trehalose, acid glutamic, KH₂PO₄, và K₂HPO₄) theo tỷ lệ 10 : 1 : 0,1 vào môi trường nước. Kết quả cho thấy các nghiệm thức khi bổ sung C, N, P vào môi trường nước thì tỷ lệ sống của tôm thấp hơn so với các nghiệm thức không bổ sung C, N, P. Đối với 4 nghiệm thức không cảm nhiễm *Vibrio parahaemolyticus* thì tôm không có biểu hiện bệnh lý đặc trưng của AHPND, tỷ lệ sống của tôm rất cao từ 82,23 - 88,3%. Tuy nhiên, ở 4 nghiệm thức có cảm nhiễm *V. parahaemolyticus* thì tỷ lệ sống của tôm ở nghiệm thức đối chứng dương có bổ sung và không bổ sung C, N, P lần lượt là 47 và 52%. Bên cạnh đó, ở nghiệm thức bổ sung *L. plantarum* và nghiệm thức bổ sung *L. plantarum* và C, N, P thì tỷ lệ sống đạt lần lượt là 83% và 80%. Kết quả mô bệnh học cho thấy ở 2 nghiệm thức bổ sung *L. plantarum*, *L. plantarum* và C, N, P, đồng thời cảm nhiễm *V. parahaemolyticus* thì tỷ lệ tôm bị nhiễm AHPND đạt lần lượt là 11,11 và 21,66% so với 2 nghiệm thức đối chứng dương có bổ sung và không bổ sung C, N, P lần lượt là 68,89% và 74,44%.

Từ khóa: Tôm thẻ chân trắng, hoại tử gan tụy cấp tính, C, N, P, *L. plantarum*, *V. parahaemolyticus*

¹ Trường Đại học Trà Vinh; ² Bộ môn Bệnh học Thủy sản, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (AHPND) do vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây ra đã làm thiệt hại trên 1 tỷ USD/năm cho nghề nuôi tôm nước lợ (Zorriehzahra, 2015). Cho đến nay, bệnh hoại tử gan tụy cấp tính vẫn chưa có dấu hiệu dừng lại và gây thiệt hại ngày một nghiêm trọng (Tổng cục Thủy sản, 2015). Thực tế còn cho thấy, trong quá trình gây màu nước nuôi tôm, người nuôi thường sử dụng một số chế phẩm có chứa acid glutamic, phospho và một số acid amine khác từ phân bón gây màu. Bên cạnh đó, phần lớn chất độn sử dụng trong chế phẩm vi sinh được cung cấp từ đường trehalose vào trong nước ao. Sau 7 ngày bón chế phẩm vi sinh vào trong môi trường nước thì bệnh hoại tử gan tụy cấp tính lại thường xuyên xảy ra. Nghiên cứu của Al-Ani (1980) cũng cho thấy khi bổ sung đường trehalose, acid glutamic, KH_2PO_4 và K_2HPO_4 vào môi trường thí nghiệm đã thúc đẩy sự phát triển của *V. parahaemolyticus*.

Hiện nay, có nhiều biện pháp được đề xuất để ngăn chặn sự phát triển của vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính như: dùng hóa chất diệt khuẩn, sử dụng kháng sinh, áp dụng biện pháp sinh học,... Tuy nhiên, biện pháp sử dụng hóa chất, kháng sinh gây ra nguy cơ phát sinh nhiều loài vi khuẩn gây bệnh kháng với kháng sinh. Thêm vào đó, sự tồn dư thuốc trong thực phẩm cũng là chỉ tiêu quan trọng trong kiểm định nhập khẩu sản phẩm nông nghiệp tại nhiều quốc gia trên thế giới. Vì thế, cách tốt nhất là sử dụng biện pháp sinh học, dùng vi khuẩn có lợi có khả năng đối kháng với vi khuẩn gây bệnh.

L. plantarum được sử dụng làm chế phẩm sinh học, là một trong những loài quan trọng trong việc lên men những sản phẩm thực vật khác nhau, chúng tiết ra những chất kháng khuẩn giống như plantaricin, những chất này có khả năng chống lại mầm bệnh (Ashenafi *et al.*, 1991; Cebeci and Gurakan, 2003). Felipe và cộng tác viên (2016) đã sử dụng *L. plantarum* trộn vào thức ăn cho tôm thẻ chân trắng đã làm tăng chất lượng và hệ thống miễn dịch của tôm, đồng thời tỷ lệ sống được cải thiện đáng kể từ 74,65% ở nghiệm thức không bổ sung *L. plantarum* lên 83,02% ở nghiệm thức bổ sung *L. plantarum*. Bên cạnh đó, khi trộn *L. plantarum* vào thức ăn cũng đã làm giảm mật số *Vibrio* trong ruột đồng thời cũng làm tăng tỷ lệ sống của tôm.

Nguyễn Thị Trúc Linh và cộng tác viên (2017) đã xác định khi trộn *L. plantarum* vào thức ăn đã làm giảm số lượng tôm nhiễm AHPND từ 70% xuống còn 11% đồng thời tăng tỷ lệ sống của tôm tăng lên từ 42 lên 78%. Với những cơ sở vừa nêu đã cho thấy *L. plantarum* có khả năng phòng bệnh hoại tử gan tụy cấp tính. Tuy nhiên, để kiểm chứng giả thiết các chất bổ sung đường trehalose, acid glutamic, KH_2PO_4 và K_2HPO_4 có làm tăng tỷ lệ bệnh hoại tử gan tụy cấp tính hay không và *L. plantarum* có thể ngăn ngừa AHPND trong trường hợp bổ sung các chất trên không. Chính vì lý do trên, nghiên cứu được tiến hành nhằm mục đích đánh giá tỷ lệ sống và khả năng kháng bệnh hoại tử gan tụy cấp tính của tôm thẻ chân trắng khi sử dụng *L. plantarum* trộn vào thức ăn đồng thời bổ sung đường trehalose, acid glutamic, KH_2PO_4 , và K_2HPO_4 (C, N, P) vào môi trường nước.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Nguồn tôm thí nghiệm: Tôm thẻ chân trắng giai đoạn PL10 được ương trong hệ thống tuần hoàn tại Bộ môn Bệnh học Thủy sản, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ cho đến kích cỡ trung bình 1g/con và dùng để bố trí thí nghiệm. Trước khi bố trí, tôm được kiểm tra bằng phương pháp PCR nhằm xác định âm tính với WSSV (OIE, 2006) và *V. parahaemolyticus* (Sirikharin *et al.*, 2014) với đoạn môi đặc hiệu AP3.

- Nguồn vi khuẩn *V. parahaemolyticus*: Chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính sử dụng trong thí nghiệm là chủng được lưu trữ tại Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ (Nguyễn Trọng Nghĩa và *ctv.*, 2015) ở điều kiện -80°C . Chủng vi khuẩn này được phục hồi trong môi trường nutrient broth (NB, Merck) có bổ sung 1,5% NaCl (NB⁺), sau đó ủ ở 28°C trong 18 giờ. Ghi nhận màu sắc và hình dạng khuẩn lạc, nhuộm Gram để kiểm tra tính thuần của vi khuẩn. Khuẩn lạc vi khuẩn thuần được nuôi tăng sinh trong môi trường NB⁺ ở 28°C trong 18 - 24 giờ sau đó xác định mật độ vi khuẩn bằng máy so màu quang phổ ở bước sóng 610 nm.

- Nuôi tăng sinh vi khuẩn *L. plantarum* và cách chuẩn bị thức ăn: *L. plantarum* được nuôi sinh khối trong 100 mL môi trường MRS broth có bổ sung 1,5% NaCl trong 48 giờ, sau 48 giờ tiến hành xác định mật số vi khuẩn bằng phương pháp đo OD

với mật độ quang $1 \pm 0,025$, tương ứng với mật số vi khuẩn 10^9 CFU/mL. Tiếp đến, đem ly tâm *L. plantarum* với tốc độ 7000 vòng trong 5 phút, rửa lại 3 lần bằng nước muối sinh lý đã tiệt trùng, sau đó *L. plantarum* sẽ được hòa đều vào 10 mL nước muối sinh lý và trộn đều vào 100 g thức ăn và áo bằng 1mL dầu mực bên ngoài. Thức ăn được cho vào túi ni lon, dán nhãn bảo quản ở 4°C để sử dụng tối đa trong 7 ngày. Sau khi trộn LAB vào thức ăn, tiến hành kiểm tra lại mật số LAB trong thức ăn đạt 10^9 CFU/g và tiến hành thí nghiệm. Phương pháp kiểm tra mật số vi khuẩn lactic trong thức ăn. Cân 1g mẫu thức ăn cho vào 9 mL nước muối sinh lý đã tiệt trùng và nghiền. Tiếp tục pha loãng mẫu đến mật số 10^2 , 10^3 và 10^4 CFU/g. Các mật số này trải lên đĩa môi trường MRS có bổ sung 1,5% NaCl, ủ đĩa ở nhiệt độ 28°C trong 48 giờ. Số khuẩn lạc phát triển trên đĩa thạch được đếm và xác định mật số vi khuẩn bằng công thức:

$$\text{Mật số vi khuẩn (CFU/g)} = \frac{(\text{Số khuẩn lạc} \times \text{độ pha loãng}) / V (\text{mẫu})}{m}$$

Trong đó: *V* (mẫu) là thể tích dung dịch mẫu được nhỏ trên môi trường MRS, *m* là khối lượng của thức ăn.

- Chuẩn bị nguồn C, N, P thí nghiệm: Cân 13,4 g $C_5H_9NNaO_4$; 25 gam đường trehalose; 0,22 gam KH_2PO_4 và 0,28 gam K_2HPO_4 . Các thành phần này sẽ được trộn lẫn vào nhau và lên thể tích 1 lít, bổ sung 20 mL/bể thí nghiệm.

- Nguồn nước: Nước có độ mặn 20 ppt được khử trùng và sục khí đến khi đạt tiêu chuẩn thí nghiệm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại trong bể kính chứa 20 L nước và 30 con tôm. Thí nghiệm gồm 8 nghiệm thức. Nghiệm thức 1 (ĐCA): tôm được cho ăn thức ăn bình thường không cảm nhiễm *V. parahaemolyticus*, không bổ sung *L. plantarum* và C, N, P. Nghiệm thức 2 (ĐCA + CNP): giống như nghiệm thức 1 nhưng có bổ sung C, N, P. Nghiệm thức 3 (*L. plan*): tôm được cho ăn thức ăn bổ sung *L. plantarum* không cảm nhiễm *V. parahaemolyticus*. Nghiệm thức 4 (*L. plan* + CNP) giống như nghiệm thức 3 có bổ sung C, N, P. Nghiệm thức 5 (ĐCD) tôm được cho ăn thức ăn bình thường, cảm nhiễm *V. parahaemolyticus*. Nghiệm thức 6 (ĐCD + CNP) giống như nghiệm thức 5 có bổ sung C, N, P. Nghiệm thức 7 (VP + *L. plan*) cho tôm ăn thức ăn có bổ sung *L. plantarum*, cảm nhiễm *V. parahaemolyticus*.

Nghiệm thức 8 (VP + *L. plan* + CNP) giống như nghiệm thức 7 và bổ sung C, N, P. Ở nghiệm thức 7, và 8 tôm được cho ăn *L. plantarum*, trước khi cảm nhiễm 7 ngày. Các nghiệm thức 2, 4, 6, và 8 được bổ sung C, N, P vào môi trường nước ngay sau khi cảm nhiễm *V. parahaemolyticus* với tỷ lệ 15; 1, và 0,1, tần suất 7 ngày/lần. Thí nghiệm được bố trí trong thời gian 14 ngày, tôm được cho ăn 3 lần/ngày bằng thức ăn CP 40% đậm và nước được thay 30% sau 3 ngày cảm nhiễm, nước được thay mỗi ngày 30%.

2.2.2. Phương pháp cảm nhiễm

Được thực hiện theo phương pháp Loc Tran và cộng tác viên (2013). Tôm được ngâm trong 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.

2.2.3. Phương pháp phân tích mô bệnh học

Mẫu gan tụy của tôm thí nghiệm được thu khi tôm có dấu hiệu lơ đờ, bỏ ăn, ruột rỗng sau 3 ngày cảm nhiễm với *V. parahaemolyticus*. Ngoài ra, mẫu còn được thu (3 con/bể) khi kết thúc thí nghiệm. Mẫu mô được cố định trong dung dịch Davidson's AFA (theo tỉ lệ 1 phần cơ/10 phần dung dịch Davidson's) khoảng 48 giờ sau đó chuyển sang cồn 70° (Lightner, 1996). Sau khi cố định, mẫu tôm được cắt tia định hướng. Trước khi tiến hành đúc khối mẫu được khử nước lần lượt qua các dung dịch 70%, 80%, 95%, 100% ethyl alcohol và xylene. Sau đó mẫu được cắt ra thành từng băng dài, cho vào nước ở nhiệt độ 45 - 50°C làm cho parafin căng ra và dán lên lam. Tiêu bản sau đó được nhuộm với thuốc nhuộm Haematoxylin và Eosin (H&E), quan sát và chụp ảnh dưới kính hiển vi ở các vật kính 10X, 40X và 100X.

2.2.4. Các chỉ tiêu theo dõi

Tỷ lệ sống của tôm: Tỷ lệ sống được xác định sau 14 ngày cảm nhiễm vi khuẩn *V. parahaemolyticus*. Tỷ lệ sống (%) được tính bằng công thức (TLS%) = (số tôm thu / số tôm thả) × 100%.

Dấu hiệu bệnh lý và khả năng kháng bệnh ở tôm: Sau khi cảm nhiễm, phát hiện tôm có dấu hiệu bệnh lý như lơ đờ, bỏ ăn, màu sắc nhợt nhạt, tiến hành thu mẫu, cố định và phân tích mô bệnh học. Ngoài ra, mẫu được thu định kỳ sau 3 ngày cảm nhiễm và khi

kết thúc thí nghiệm bằng cách thu ngẫu nhiên 3 con tôm mỗi bể để tiến hành phân tích mô bệnh học, đồng thời theo dõi và ghi nhận các dấu hiệu bệnh lý, thời gian tôm chết.

2.2.5. 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 và Tukey 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

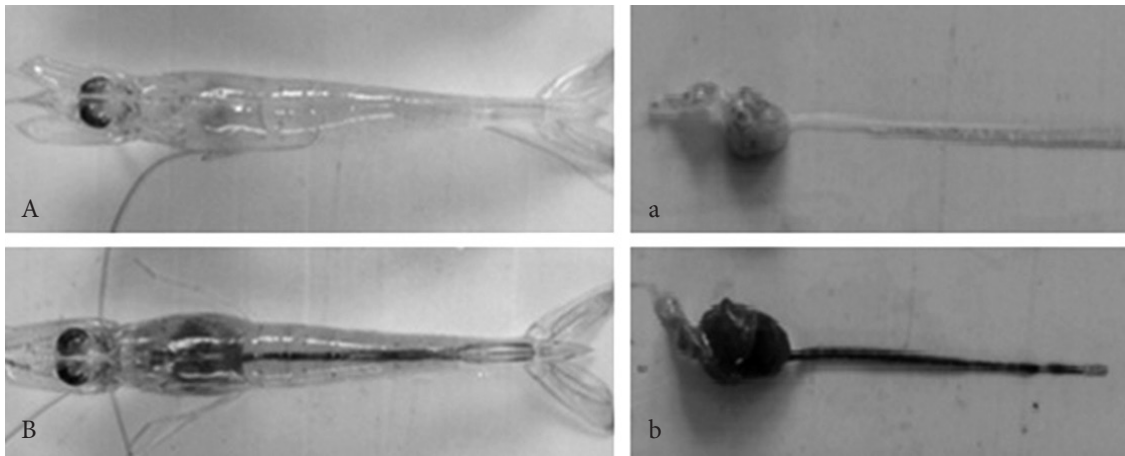
Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 8/2016 đến tháng 2/2017 tại Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Dấu hiệu bệnh lý và tỷ lệ chết của tôm

3.1.1. Dấu hiệu bệnh lý

Kết quả thí nghiệm cho thấy ở các nghiệm thức ĐCD và ĐCD + CNP sau 72 giờ tôm có dấu hiệu lơ ì, hoạt động kém, ăn ít hoặc bỏ ăn, ruột rỗng (Hình 1A/a), gan tụy teo, dai, có màu nhợt nhạt, mòn chủ và phụ bộ, kèm theo đó là những biểu hiện khác như mềm vỏ, giáp đầu ngực có đốm đen. Các dấu hiệu này tương tự như mô tả của Lightner và cộng tác viên (2012) và Flegel (2012) về các dấu hiệu bệnh lý đặc trưng về bệnh hoại tử gan tụy cấp tính. Trong khi đó, các nghiệm thức còn lại tôm có màu sắc tươi sáng, khối gan tụy bình thường, ruột đầy thức ăn (Hình 1B/b).



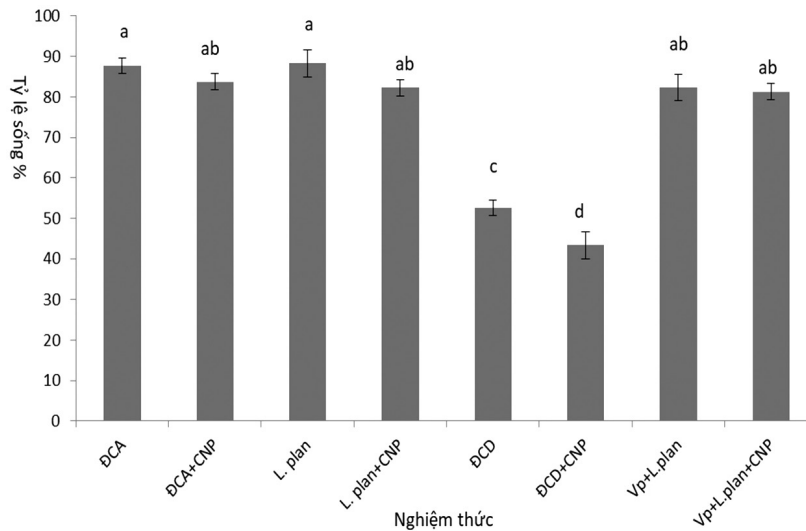
Hình 1. Hình tôm và gan tụy tôm. (A) Tôm nhiễm AHPND, (a) gan tụy tôm nhiễm AHPND (B) Tôm khỏe, (b) gan tụy tôm khỏe

3.1.2. Ảnh hưởng của *L. plantarum* và C, N, P lên tỷ lệ sống và khả năng kháng bệnh hoại tử gan tụy cấp tính trên tôm thẻ chân trắng

- Tỷ lệ sống của tôm thí nghiệm

Nhìn chung, các nghiệm thức có bổ sung C, N, P vào trong môi trường nước thì tỷ lệ sống lại thấp hơn so với các nghiệm thức không bổ sung C, N, P. Kết quả còn cho thấy nghiệm thức khi bổ sung C, N, P và cảm nhiễm *V. parahaemolyticus* đã làm giảm tỷ lệ sống ở mức có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức chỉ cảm nhiễm *V. parahaemolyticus* (ĐCD) thể hiện lần lượt là 52 và 47%. Điều này có thể kết luận rằng việc bổ sung C, N, P làm giảm tỷ lệ sống của tôm thí nghiệm (Hình 2). Ở các nghiệm thức không cảm nhiễm *V. parahaemolyticus* thì tỷ lệ sống của

tôm rất cao từ 82,2 - 88,3%, các nghiệm thức này khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với đối chứng âm. Tuy nhiên, ở các nghiệm thức có cảm nhiễm *V. parahaemolyticus* thì tỷ lệ sống giảm, thấp nhất là ở nghiệm thức bổ sung C, N, P, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại. Chỉ riêng ở nghiệm thức bổ sung *L. plantarum*, có cảm nhiễm *V. parahaemolyticus* và bổ sung C, N, P thì tỷ lệ sống vẫn đạt khá cao và không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng âm. Tóm lại, khi trộn *L. plantarum* vào thức ăn đồng thời bổ sung C, N, P vào môi trường nước trên tôm có cảm nhiễm *V. parahaemolyticus* thì tỷ lệ sống của tôm được cải thiện đáng kể (80%) so với nghiệm thức cảm nhiễm *V. parahaemolyticus* và bổ sung C, N, P (47%).



Hình 2. Tỷ lệ sống của tôm thẻ chân trắng sau 14 ngày cảm nhiễm

Kết quả thí nghiệm tương đồng với nghiên cứu của Scharifuzzaman và cộng tác viên (2011) khi bổ sung vi sinh vật có lợi vào đường ruột sẽ mang lại hiệu quả về mặt dinh dưỡng, tăng đáp ứng miễn dịch và khả năng đề kháng bệnh của vật nuôi. Tương tự, các nghiên cứu của Nogami và Maeda (1992), Nogami và cộng tác viên (1997) cho biết khi bổ sung *Lactobacillus* vào thức ăn cũng giúp tăng tỷ lệ sống của giáp xác cũng như cải thiện sức khỏe và tăng tỷ lệ sống của cá tằm (*Sparus aurata*) và cá hồi (*Oncorhynchus mykiss*). Kết quả nghiên cứu này cũng phù hợp với với nghiên cứu của Natesan và cộng tác viên 2012, khi cho tôm sú ăn vi khuẩn *Lactobacillus* trong điều kiện có cảm nhiễm vi khuẩn *V. alginolyticus*, tỷ lệ sống cũng được cải thiện từ 20% lên đến 87% trong 10 ngày cảm nhiễm. Ngoài ra, khi cho sinh vật ăn LAB, chúng sẽ làm tăng hệ thống miễn dịch để chống lại mầm bệnh vi sinh vật (Andlid *et al.*, 1995; Balcázar *et al.*, 2006). Các cơ chế này đã chứng minh được vi khuẩn lactic thí nghiệm có khả năng làm tăng tỉ lệ sống của tôm trong môi trường có sự xuất hiện của mầm bệnh hoại tử gan tụy cấp tính.

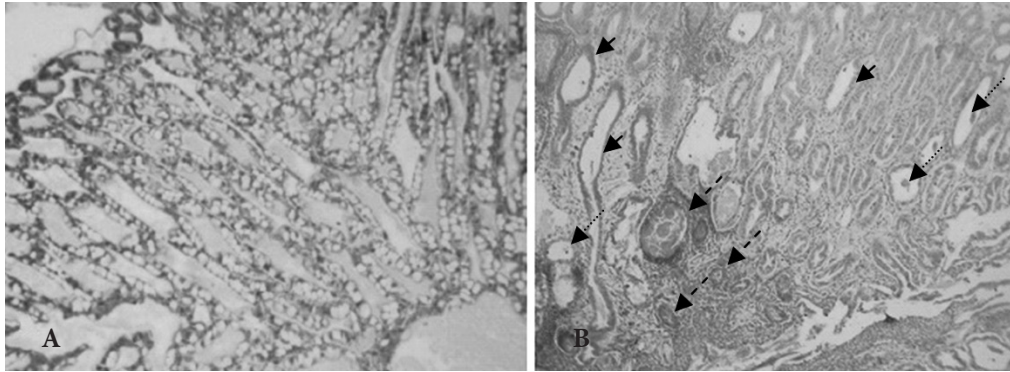
3.2. Kết quả phân tích mô bệnh học

Kết quả phân tích mô học bệnh học cho thấy 100% mẫu tôm trước khi cảm nhiễm và các nghiệm thức không cảm nhiễm *V. parahaemolyticus* đều bình thường với sự hiện diện của số lượng lớn các không bào (tế bào B) và tế bào dự trữ (tế bào R) (Hình 3A). Tôm không có dấu hiệu bệnh lý đặc trưng của bệnh hoại tử gan tụy cấp tính. Trái lại, các nghiệm thức có cảm nhiễm vi khuẩn *V. parahaemolyticus* có sự biến đổi vùng gan tụy với mức độ ảnh hưởng tùy thuộc

theo từng nghiệm thức. Tôm ở nghiệm thức có cảm nhiễm *V. parahaemolyticus* (ĐCD); nghiệm thức cảm nhiễm *V. parahaemolyticus* và bổ sung C, N, P (ĐCD + CNP); nghiệm thức cảm nhiễm *V. parahaemolyticus* và bổ sung *L. Plantarum* (VP + plan); và nghiệm thức cảm nhiễm *V. Parahaemolyticus*, bổ sung *L. plantarum* và C, N, P (VP + plan + CNP) sau khi cảm nhiễm *V. parahaemolyticus* 3 ngày đã xác định được lần lượt có 7/9, 8/9, 2/9 và 3/9 mẫu gan tụy tôm có những dấu hiệu bệnh tích điển hình của AHPND tương tự mô tả của Lightner và cộng tác viên (2012) trên tôm bệnh hoại tử gan tụy cấp tính như: là cấu trúc của mô gan tụy bị biến đổi, ống gan tụy không có tế bào B, F và R và các tế bào gan thoái hóa và rơi vào lòng ống, xuất hiện hiện tượng melamin hóa ở vùng gan hoại tử và xuất hiện của các tế bào máu quanh các cụm vi khuẩn trong vùng bị hoại tử (Hình 3B). Sau lần thu mẫu thứ nhất, khi phát hiện tôm có dấu hiệu lơ đờ, bỏ ăn và màu sắc nhạt màu, tiến hành thu mẫu và phân tích mô bệnh học. Kết quả đã cho thấy rằng 60% mẫu tôm thu được ở nghiệm thức có cảm nhiễm *V. Parahaemolyticus* và nghiệm thức cảm nhiễm *V. parahaemolyticus* và bổ sung C, N, P có dấu hiệu bệnh hoại tử gan tụy cấp tính như ống gan tụy teo, giảm số lượng tế bào B, R, F, các tế bào gan thoái hóa và rơi vào lòng ống. Tương tự, ở các nghiệm thức cảm nhiễm *V. parahaemolyticus* và bổ sung *L. plantarum*, và nghiệm thức cảm nhiễm *V. Parahaemolyticus* bổ sung *L. palntarum* và C, N, P cũng cho thấy rằng có 0, 10% mẫu gan tụy tôm có dấu hiệu tương tự. Tuy nhiên, đến khi kết thúc thí nghiệm thì hầu hết mẫu gan tụy tôm khi phân tích mô bệnh học đều có dấu hiệu bình thường ngoại trừ 1 mẫu gan tụy ở nghiệm thức cảm nhiễm

V. parahaemolyticus và bổ sung C, N, P (ĐCD + CNP) còn có biểu hiện giảm số lượng tế bào B, R, F, các tế bào gan cũng bị thoái hóa và rơi vào lòng ống. Tóm lại, ở các nghiệm thức cho ăn *L. plantarum* và cảm

nhiễm *V. parahaemolyticus* thì gan tụy tôm ít bị ảnh hưởng của sự cảm nhiễm AHPND ngay khi có sự bổ sung C, N, P vào môi trường nước.



Hình 3. Hình kết quả mô học gan tụy tôm

Hình A: Gan tụy tôm khỏe. Hình B: gan tụy tôm nhiễm vi khuẩn *V. parahaemolyticus* (—>) ống gan tụy teo, giảm số lượng tế bào B, R, F (--->) tế bào thoái hóa rơi vào lòng ống, (-.->) tế bào máu tập trung xung quanh ống gan tụy, melanin hóa

Xét về mối tương quan giữa tỷ lệ sống và khả năng kháng bệnh hoại tử gan tụy cấp tính khi bổ sung *L. plantarum* vào thức ăn, đồng thời cảm nhiễm *V. parahaemolyticus* đã cho thấy *L. plantarum* khi được bổ sung vào thức ăn đã làm tăng tỷ lệ sống của tôm ngay khi có sự cảm nhiễm *V. parahaemolyticus*. Thêm vào đó, khi bổ sung C, N, P vào môi trường nước thí nghiệm thì đã làm tăng tỷ lệ nhiễm AHPND. Kết quả này cũng tương đồng với Al-Ani (1980) cũng cho thấy khi bổ sung đường trehalose, acid glutamic, KH_2PO_4 và K_2HPO_4 vào môi trường thí nghiệm đã thúc đẩy sự phát triển của *V. Parahaemolyticus*. Tuy nhiên, khi bổ sung *L. plantarum* vào thức ăn thì kết quả về tỷ lệ sống đã được cải thiện đáng kể và tỷ lệ nhiễm bệnh giảm đi. Kết quả thí nghiệm này cũng tương đồng với Đỗ Thị Thanh Dung và cộng tác viên (2017) cũng đã xác định *L. plantarum* có khả năng kháng với *V. parahaemolyticus*. Felipe và cộng tác viên (2016) đã sử dụng *L. plantarum* trộn vào thức ăn cho tôm thẻ chân trắng đã làm tăng chất lượng và hệ thống miễn dịch của tôm đồng thời tỷ lệ sống được cải thiện đáng kể từ 74,65% ở nghiệm thức không bổ sung *L. plantarum* lên 83,02% ở nghiệm thức bổ sung *L. plantarum*.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Khi bổ sung acid glutamic, đường trehalose, KH_2PO_4 , K_2HPO_4 theo tỷ lệ C, N, P: 15; 1; 0,1 vào môi trường nước thí nghiệm đã làm tăng tỷ lệ chết

của tôm đồng thời cũng làm gia tăng khả năng bùng phát bệnh hoại tử gan tụy cấp tính trên tôm thẻ. Tuy nhiên, việc bổ sung *L. plantarum* vào thức ăn thì đã làm giảm đáng kể tỷ lệ chết cũng như tỷ lệ nhiễm AHPND ngay khi có sự hiện diện của C, N, P. Vậy *L. plantarum* có thể sử dụng trong phòng AHPND trên tôm nuôi.

4.2. Đề nghị

Thử nghiệm xác định khả năng kháng bệnh hoại tử gan tụy cấp tính của các chủng *L. plantarum* trong các ao nuôi tôm thẻ thâm canh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Đỗ Thị Thanh Dung, Võ Đình Quang và Phan Thị Phương Trang, 2017. Phân lập và tuyển chọn *Lactobacillus* spp. Kháng với *V. parahaemolyticus* gây hội chứng tôm chết sớm tại Sóc Trăng. *Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ*, 5-15pp.
- Nguyễn Thị Trúc Linh, Nguyễn Trọng Nghĩa, Đặng Thị Hoàng Oanh, Trương Quốc Phú, 2017. Ảnh hưởng của việc bổ sung vi khuẩn lactic 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.
- Tổng cục Thủy sản, 2015. Báo cáo tổng hợp quy hoạch nuôi tôm nước lợ vùng Đồng bằng Sông Cửu Long đến năm 2020, tầm nhìn 2030. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn - Viện Kinh tế và Quy hoạch Thủy sản. 139pp.

- Al-Ani, F.Y., Z.M. Al-Khafaji**, 1980. Minimal growth requirements for *Vibrio parahaemolyticus* strain 12. *Iraqi J. Sci.* Vol. 21, No.1, 1-13.
- Andlid T., R. Vazque-Juarez, L. Gustafsson**, 1995. Yeast colonizing the intestine of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and turbot (*Scophthalmus maximus*). *Microb. Ecol.* 30, 321-334.
- Ashenafi M., Busse M.**, 1991. Growth potential of *Salmonella infantis* and *Escherichia coli* in fermenting tempeh made from horsebean, pea and chickpea and their inhibition by *Lactobacillus plantarum*. *J Sci Food Agric* 1991; 55: 607-615.
- Balcázar J. L., IgnaciodeBlas, ImanolRuiz-Zarzuola, David Cunningham, DanielVendrell, José LuisMúzquiz**, 2006. The role of probiotic in aquaculture. *Veterinary Microbiology*, Volume 114 (2006), Issues 3-4, pages 173-186.
- Cebeci A, Gurakan C.**, 2003. Properties of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. *Food Microbiol*; 20: 511-518.
- Felipe N. V., Adolfo, J, José L.P.M., Celso C.B.N., Jairo S.S. Walter Q.S., Mariana S., Luis A.V.**, 2016. Use of probiotic-supplemented diet on a Pacific white shrimp farm. *R. Bras. Zootec.*, 45(5): 203-207.
- Flegel T.W.**, 2012. Historic emergence, impact and current status of shrimp pathogens in Asia. *Journal of Invertebrate Pathology* 110: 166-173.
- Lightner D. V.**, 1996. Viral diseases. In *A Handbook of Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases of Penaeid Shrimp* ed. McVey, A: 1-72. Baton Rouge, LA: World Aquaculture Society.
- 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, L. Nunan, R. M. Redman, L. L. Mohney, C. R. Pantoja, K. Fitzsimmons, D. V. Lightner**, 2013. Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp. *Diseases of aquatic organisms*, 105: 45-55.
- Natesan Sivakumar, Muthuraman Sundararaman and Gopal Selvakumar**, 2012. Probiotic effect of *Lactobacillus acidophilus* against Vibriosis in juvenile shrimp (*Penaeus monodon*). *African Journal of Biotechnology*, Vol. 1191. PP. 15811-15818.
- Nogami K. and M. Maeda**, 1992. Bacteria as Biocontrol agents for rearing larvae of the crab *Portunus trituberculatus*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1992, 49(11): 2373-2376.
- Nogami K., K. Hamasaki, M. Maeda, K. Hirayama**, 1997. Biocontrol method in aquaculture for rearing the swimming crab larvae *Portunus trituberculatus*. *Hydrobiologia*, Volume 358, Issue 1-3, pp 291-295.
- OIE**, 2006. Manual of diagnostic test for aquatic animal, 2006. *White spot disease*. <https://www.oie.int/doc/ged/D6505.PDF>.
- Scharifuzzaman S.M., A. Abbass, J. W. Tinsley, B. Austin**, 2011. Subcellular components of probiotics *Kocuria SM1* and *rhodococcus SM2* induce protective immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) against *Vibrio anguillarum*. *Fish shellfish Immunology*: 30, 347-353.
- 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.
- Zorriehzahra M.J., Banaederakhshan, R.**, 2015. Early Mortality Syndrome (EMS) as new Emerging Threat in Shrimp Industry. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 3: 64-72.

Effect of *Lactobacillus plantarum* supplementation and C, N, P on the survival rate and resistance to acute hepatopancreatic necrosis disease in white leg shrimp

Nguyen Thi Truc Linh, Tran Thi Hong To,
Duong Hoang Oanh, Nguyen Thi Hong Nhi,
Phan Thi Thanh Truc, Dang Thi Hoang Oanh, Truong Quoc Phu

Abstract

This study aimed to evaluate the survival rate and acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) resistant ability of white leg shrimp (*Litopenaeus vanamei*) as supplemented *Lactobacillus plantarum* in feed and C, N, P (trehalose, acid glutamic, KH_2PO_4 , K_2HPO_4) with the ratio at 10 : 1 : 1 in water environment. The result indicated that the survival rate of shrimp in experiment with C, N, P were lower than that in experiment without C, N, P. In experiment without *V. parahaemolyticus* challenge, shrimp did not have principle signs of AHPND and the survival rates were very high (82,23 - 88.3%). Histopathology of shrimp hepatopancreas in this experiment also did not show unnormal signs of hepatopancreatic structure. However, 4 experiments with *V. parahaemolyticus* challenge showed that the survival

rates in positive control experiments with and without C, N, P supplementation were 47% and 52%, respectively. Besides, treatment with *L. plantarum* without C, N, P and treatment with *L. plantarum* and C, N, P provided survival rates 83% and 80%, respectively. Histopathology indicated that signs of AHPND in hepatopancreas in experiment with *V. parahaemolyticus* challenge and *L. plantarum* and experiment with *V. parahaemolyticus* challenge, *L. plantarum* and C, N, P supplementation were 11.11 and 21.66%, respectively in comparison with positive control experiments with and without C, N, P supplementation (68,89% and 74,44%, respectively).

Keywords: White leg shrimp, C, N, P, *L. plantarum*, *V. parahaemolyticus*

Ngày nhận bài: 3/5/2019
Ngày phản biện: 12/5/2019

Người phản biện: PGS. TS. Phạm Minh Đức
Ngày duyệt đăng: 14/6/2019

ĐẶC ĐIỂM DINH DƯỠNG CÁ ÚC CHẤM PHÂN BỐ DỌC THEO HẠ LƯU SÔNG HẬU

Tô Thị Mỹ Hoàng¹, Võ Thành Toàn¹, Trần Đắc Định¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu đặc điểm dinh dưỡng cá úc chấm (*Arius maculatus*) được thực hiện từ tháng 11 năm 2017 đến tháng 11 năm 2018. Mẫu được thu bằng lưới cào với chu kỳ 2 tháng thu 1 lần dọc theo cửa sông Hậu từ Cái Cui đến Trần Đề và Định An. Phổ thức ăn được xác định thông qua chỉ số mức độ quan trọng tương đối (Index of Relative Importance - IRI) theo địa điểm, thời gian thu mẫu và kích cỡ cá. Mẫu cá nhỏ và cá thành thục được thu để phân tích thành phần thức ăn trong ruột cá, 25 mẫu cho mỗi giai đoạn. Thành phần thức ăn khác nhau sẽ được ghi nhận từ dạ dày cá trong thời gian nghiên cứu. Cá úc chấm là loài ăn tạp thiên về động vật, thức ăn chủ yếu của chúng gồm: giáp xác lớn, giáp xác chân chèo, hai mảnh vỏ, ốc, giun nhiều tơ và cá con. Trong đó, thành phần thức ăn chiếm ưu thế của cá là giáp xác lớn như tôm, cua chiếm tỷ lệ 64,35% với chỉ số IRI là 22,91% và giáp xác chân chèo chiếm 18,81% với IRI là 28,58%. Hai mảnh vỏ, ốc, giun nhiều tơ và cá con là những thức ăn chiếm tỷ lệ thấp. Ngoài ra, cá ở giai đoạn nhỏ ($L_m < 12$ cm) thì thức ăn đa dạng hơn cá trưởng thành ($L_m \geq 12$ cm).

Từ khóa: Cá úc chấm, *Arius maculatus*, dinh dưỡng, sông Hậu, cửa sông, Đồng bằng sông Cửu Long

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá úc chấm có tên khoa học là *Arius maculatus* (Thunberg, 1792) thuộc họ Ariidae, bộ cá da trơn Siluriformes (Tran Duc Dinh *et al.*, 2013). Cá úc chấm *A. maculatus* được khai thác ở vùng biển Malaysia chủ yếu là nước mặn hoặc nước lợ và đôi khi cũng xuất hiện trong vùng nước ngọt. Loài này phân bố nhiều ở vùng nước nhiệt đới và cận nhiệt đới. Thành phần thức ăn chính của loài này chủ yếu là sinh vật đáy và giáp xác (Mazlan *et al.*, 2008). Ở biển đông Nam Phi, thành phần thức ăn của loài cá úc *Galeichthys feliceps* bao gồm côn trùng (27%) và động vật thân mềm (17%). Tại các cửa sông thì thức ăn chủ yếu của chúng là tôm, cua, giáp xác hai chân và động vật có xương sống.

Thức ăn và môi trường sống của cá có thể được xem là đặc điểm quan trọng hàng đầu, bởi chúng cho biết được vai trò chức năng cần thiết cho vòng đời của cá trong một hệ sinh thái. Thức ăn và môi trường dinh dưỡng là rất cần thiết trong quá trình tiêu thụ năng lượng cho tất cả các hoạt động trao

đổi chất theo nhiều cách khác nhau như hỗ trợ phát triển, cung cấp năng lượng, sinh tồn và sinh sản (Manikandarajan *et al.*, 2014). Thông tin về thức ăn và tập tính ăn của bất kỳ loài cá nào cũng quan trọng bởi chúng rất hữu ích trong nghiên cứu đặc điểm sinh học cá. Tuy nhiên, ở Việt Nam các nghiên cứu về dinh dưỡng các loài cá úc còn rất hạn chế, đặc biệt là loài cá úc chấm. Chính vì vậy, xác định tính ăn của cá úc chấm theo vùng phân bố và theo mùa là rất quan trọng, từ đó làm cơ sở cho những nghiên cứu tiếp theo về đối tượng có giá trị kinh tế này ở vùng ĐBSCL và có thể phát triển thành đối tượng nuôi quan trọng trong tương lai, đồng thời góp phần vào việc phát triển ngành thủy sản vùng cửa sông Việt Nam.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Dụng cụ nghiên cứu bao gồm: Mẫu cá, bộ dụng cụ giải phẫu cá, cân điện tử, máy chụp ảnh, túi nylon, kính hiển vi, bộ thước đo và bộ giải phẫu cá. Ngư

¹Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ