



# ẢNH HƯỞNG CỦA CHẾ PHẨM SINH HỌC CHỨA VI KHUẨN *Pediococcus pentosaceus* LÊN SINH TRƯỞNG, HIỆU QUẢ SỬ DỤNG THỨC ĂN VÀ ENZYME TIÊU HÓA CỦA CÁ DÌA (*Siganus guttatus*, Bloch 1787)

Tôn Thất Chất, Lê Văn Nghĩa, Hoàng Nghĩa Mạnh\*

Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế, 102 Phùng Hưng, Huế, Việt Nam

\* Tác giả liên hệ: Hoàng Nghĩa Mạnh <hoangnghiamanh@huaf.edu.vn>

(Ngày nhận bài: 11-5-2024; Ngày chấp nhận đăng: 27-5-2024)

**Tóm tắt.** Nghiên cứu này nhằm đánh giá ảnh hưởng của việc bổ sung vi khuẩn *Pediococcus pentosaceus* vào thức ăn lên sinh trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn và hoạt tính enzyme tiêu hóa của cá dìa (*Siganus guttatus*, Bloch 1787). Cá giống ( $4,63 \pm 0,41$  g) được cho ăn 3 khẩu phần ăn có bổ sung vi khuẩn ở các mật độ khác nhau, bao gồm *P. pentosaceus* ở  $10^7$  CFU/g (T1),  $10^8$  CFU/g (T2),  $10^9$  CFU/g (T3) và một khẩu phần đối chứng (CT) không bổ sung *P. pentosaceus*. Mỗi khẩu phần được lặp lại 3 lần. Sau 60 ngày nuôi, kết quả cho thấy bổ sung *P. pentosaceus* cải thiện tốc độ sinh trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn và hoạt tính enzyme tiêu hóa của cá. Các chỉ tiêu sinh trưởng như khối lượng cuối (20,06 g), mức tăng khối lượng (331,96%) và tốc độ sinh trưởng (0,25 g/con/ngày) cao nhất được tìm thấy ở T2 và có sự khác biệt so với các nghiệm thức còn lại ( $p < 0,05$ ). Tương tự, hoạt tính enzyme tiêu hóa gồm amylase, lipase và protease có sự tăng lên ở nhóm cá được cho ăn thức ăn có bổ sung chế phẩm so với nhóm đối chứng. Kết quả nghiên cứu này khuyến khích bổ sung vi khuẩn *P. pentosaceus* (mật độ  $10^8$  CFU/g) vào thức ăn để nâng cao sinh trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn và hoạt tính enzyme tiêu hóa của cá dìa.

**Từ khóa:** cá dìa (*Siganus guttatus*), enzyme tiêu hóa, probiotics, *P. pentosaceus*, sinh trưởng

# Effects of probiotics containing *Pediococcus pentosaceus* on growth rate, feed efficiency and digestive enzymes of rabbitfish (*Siganus guttatus*, Bloch 1787)

Ton That Chat, Le Van Nghia, Hoang Nghia Manh\*

University of Agriculture and Forestry, Hue University, 102 Phung Hung St., Hue, Vietnam

\* Correspondence to Hoang Nghia Manh <hoangnghiamanh@huaf.edu.vn>

(Submitted: May 11, 2024; Accepted: May 27, 2024)

**Abstract.** This study was conducted to evaluate the effects of *Pediococcus pentosaceus* supplemented-diets on growth rate, feed efficiency and digestive enzyme activity of rabbitfish (*Siganus guttatus*, Bloch 1787). Fingerlings (size of  $4.63 \pm 0.41$  g) were fed with three *P. pentosaceus* supplemented-diets at different concentrations. Specifically, fish were fed diets supplemented with *P. pentosaceus* at concentration of  $10^7$  CFU/g (T1),  $10^8$  CFU/g (T2),  $10^9$  CFU/g (T3) and a control diet (CT) without *P. pentosaceus* supplementation. Each diet was performed on 3 replicates. After 60 days of culture, the results showed that diets supplemented with *P. pentosaceus* significantly improved the growth rate, feed efficiency and digestive enzyme activity of *Siganus guttatus* compared to the control. Growth parameters such as final weight (20.06 g), weight gain (331.96%) and growth rate (0.25 g/fish/day) were found in T2 and were significant differences compared to the other treatments ( $p < 0.05$ ). Similarly, digestive enzyme activities including amylase, lipase and protease were significantly increased in the group of fish fed with feed supplemented with *P. pentosaceus* compared to the control group. The results indicate that the supplementation of *P. pentosaceus* (specially, at a concentration of  $10^8$  CFU/g) into the diets notably improves the growth rate, feed efficiency, and digestive enzyme activity of rabbitfish.

**Keywords:** digestive enzymes, probiotics, *P. pentosaceus*, growth, rabbitfish (*Siganus guttatus*)

## 1 Đặt vấn đề

Cá diạ (*Siganus guttatus*, Bloch 1787) là một trong những loài cá có giá trị kinh tế cao, thịt thơm ngon và thị trường tiêu thụ tốt. Cá diạ còn là loài rộng muối, có khả năng thích ứng với nồng độ muối từ 1‰ đến 33‰ [1]. Loài cá này sinh trưởng, phát triển tương đối nhanh và có phổ thức ăn rộng. Trong điều kiện nuôi nhốt, cá diạ trở thành loài ăn tạp, chúng ăn tảo và nhiều loại thức ăn khác nhau như cá vụn, thịt trai, tôm và cám gạo và có thể sử dụng thức ăn viên công nghiệp làm cho chúng có thể được nuôi ở quy mô công nghiệp. Tại Việt Nam, nguồn giống cá diạ đưa vào nuôi thương phẩm chủ yếu được thu vớt từ tự nhiên ở vùng đầm phá, cửa sông ven biển các tỉnh Miền Trung (từ Thừa Thiên Huế đến Bình Định) tháng tư đến tháng tám âm lịch hàng năm [2]. Nguồn giống thu vớt từ tự nhiên thường không ổn định, tiềm ẩn nhiều nguy cơ dịch bệnh, thêm vào đó việc ương nuôi ở mật độ cao, trong điều kiện khí hậu khắc nghiệt (mưa, giá lạnh, thay đổi nhiệt độ và độ mặn đột ngột) và sự tích lũy của thức ăn, hóa chất dư thừa trong ao làm ảnh hưởng trầm trọng đến sinh trưởng và tỷ lệ sống sót của cá [3, 4]. Đã có rất nhiều nghiên cứu nhằm tìm ra các giải pháp để nâng cao sinh trưởng, sức khỏe và tỷ lệ sống của cá diạ trong quá trình ương nuôi. Trong đó, việc áp dụng probiotics được xem là giải pháp đơn giản, có tính khả thi và mang lại hiệu quả cao nhất [5].

Probiotics là các chủng vi khuẩn sống, chết hoặc các thành phần của chúng mà khi đưa vào cơ thể ở nồng độ phù hợp sẽ mang lại lợi ích sức khỏe cho đối tượng nuôi [5, 6]. Probiotics cải thiện sự cân bằng vi khuẩn đường ruột của vật chủ, kiểm soát hệ vi sinh vật và tăng hiệu quả sử dụng thức ăn, khả năng kháng bệnh, thúc đẩy tăng trưởng và cải thiện chất lượng nước [7]. Ngoài bổ sung vào thức ăn, probiotics còn có thể được dùng bằng cách cấp trực tiếp vào nước nuôi dưới dạng nuôi cấy hoặc bào tử tinh khiết [8] hoặc trong môi trường tăng trưởng lên men [9, 10]. Các chế phẩm sinh học phổ biến nhất được sử dụng trong nuôi trồng thủy sản bao gồm các vi khuẩn lactic (LAB) như *Pediococcus* sp., *Lactobacillus* sp., *Bacillus* sp., *Enterococcus* sp., và nấm men (*Saccharomyces cerevisiae*) [11–14]. Đặc biệt, loài vi khuẩn *Pediococcus pentosaceus* là một loài vi khuẩn axit lactic, có hình dạng cầu khuẩn, gram dương và không di động. Chúng được phân lập từ thực phẩm lên men, động vật thủy sản, động vật sống, sản phẩm thực vật và phân [15]. Cho đến nay, ngày càng có nhiều bằng chứng thực nghiệm chỉ ra rằng *P. pentosaceus* là một ứng viên probiotics tiềm năng [16]. Nhiều nghiên cứu đã được tiến hành trên các đối tượng thủy sản bằng cách bổ sung lượng vi khuẩn *P. pentosaceus* vào thức ăn của chúng đã thúc đẩy tăng trưởng, đáp ứng miễn dịch, kìm hãm vi khuẩn gây bệnh và có khả năng kháng bệnh, đồng thời thay thế kháng sinh ở tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) [17–20] và cua nuôi (*Scylla paramamosai*) [21]. Ở trên cá có nhiều các thử nghiệm tương tự đã được tiến hành như trên cá giò (*Rachycentron canadum*) [22], cá mú chấm cam (*Epinephellus coioides*) [23], cá tráp đỏ (*Pagrus major*) [24], cá chép (*Cyprinus carpio*) [25, 26], cá Trắm cỏ (*Ctenopharyngodon Idella*) [27] và cá rô phi (*Oreochromis niloticus*) [28]. Kết quả của các nghiên cứu đều báo cáo sự ảnh hưởng tích cực của chế phẩm (*P. pentosaceus*) lên tốc độ tăng trưởng, hệ thống miễn dịch, khả năng chống chịu, kháng bệnh và thúc đẩy tiết các enzyme tiêu hóa hỗ trợ tiêu hóa thức ăn của cá.

Hiện nay ở nước ta, chưa có nhiều công bố về sử dụng probiotics trong ương nuôi con giống các loài cá nước lợ, mặt nói chung và cá diếc (*Siganus guttatus*) nói riêng. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của probiotics có chứa vi khuẩn *P. pentosaceus* lên tăng trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn và hoạt tính enzyme tiêu hóa của cá diếc (*Siganus guttatus*).

## 2 Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1 Vật liệu nghiên cứu

#### Nguồn vi khuẩn *Pediococcus pentosaceus*

Vi khuẩn *P. pentosaceus* HN10 sử dụng được cung cấp từ Phòng thí nghiệm Công nghệ enzyme và protein, Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế. Chủng *P. pentosaceus* HN10 được phân lập từ mấm cà đã được định danh và nghiên cứu rõ đặc tính sinh hoá [16].

Chủng vi khuẩn *P. pentosaceus* HN10 được nuôi cấy trên môi trường thạch MRS (de Man, Rogosa & Sharpe) (Merck, Darmstadt, Germany) ở nhiệt độ 30 °C trong 24 giờ. Sau đó, lấy 1 khuẩn lạc rời trên đĩa thạch nuôi cấy tăng sinh trong 5 mL môi trường MRS lỏng trong máy ủ lắc (Kuhner shaker, ISF-1-W, Switzerland) ở nhiệt độ 30 °C, tốc độ 180 vòng/phút trong 24 giờ. Dịch nuôi cấy được cấy chuyển sang bình tam giác 250 mL chứa 50 mL môi trường MRS lỏng với tỷ lệ tiếp giống 10%, tiếp tục nuôi trong 24h ở 30 °C, tốc độ lắc 180 vòng/phút. Dung dịch vi khuẩn thu hoạch được ly tâm với tốc độ 14.000 vòng trong 10 phút bằng máy ly tâm, 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. 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.

#### Chuẩn bị thức ăn thí nghiệm

Khẩu phần ăn được tạo ra dựa trên khẩu phần cơ sở nuôi cá diếc của Ghanawi và cs. và Saoud và cs. [29, 30]. Thức ăn thí nghiệm được chuẩn bị theo phương pháp của mô tả bởi Hong và cs. [18] với một số thay đổi nhỏ như sau: nguyên liệu dùng để phối trộn khẩu phần thức ăn thí nghiệm (Bảng 1) được cân, sau đó được sàng qua màn lưới (kích cỡ mắt lưới 250  $\mu$ m) nhằm loại bỏ các hạt có kích cỡ lớn, tạp chất và đảm bảo độ tinh mịn. Tiếp đến, các nguyên liệu được trộn đều bằng máy (MTD-7,5KW, Việt Nam). Tiếp theo, dầu cá và nước (1,5 L nước/10kg thức ăn) được thêm vào cho đến khi đạt một độ ẩm nhất định (bột có thể tạo thành khối khi nắm lại). Khẩu phần sau đó được đưa qua máy ép viên (MDV-01, Việt Nam) để thu được viên thức ăn có đường kính từ 0,5–1 mm. Các viên tạo ra được sấy khô trong tủ sấy (DK 400; Yamato Scientific, Tokyo, Nhật Bản) ở nhiệt độ 60 °C trong 120 phút để độ ẩm đạt khoảng 11%.

Trong lúc này, vi khuẩn *P. pentosaceus* HN10 thu nhận từ 100 mL môi trường nuôi cấy được tái huyền phù trong 50 mL dung dịch nước muối sinh lý 0,85%. Sau khi xác định mật độ tế bào, dịch huyền phù được pha loãng với nước cất theo tỷ lệ 1:10 để đạt mật độ tế bào  $10^7$  CFU/mL,  $10^8$  CFU/mL và  $10^9$  CFU/mL. Dung dịch sau pha loãng rồi đem trộn đều với 100 g thức ăn (25 mL/100 g thức ăn). Sau khi phối trộn với chế phẩm thức ăn được để khô ở nhiệt độ phòng

**Bảng 1.** Nguyên liệu và thành phần dinh dưỡng của thức ăn thí nghiệm

Nguyên liệu	g/kg
Bột cá	340
Bột đậu nành	260
Bột bắp	160
Cám gạo	150
Dầu cá <sup>1</sup>	60
Hỗn hợp VTM & khoáng chất <sup>2</sup>	24
Chất kết dính <sup>3</sup>	6
Thành phần dinh dưỡng (%)	
VCK	88,9
Protein thô	35,1
Lipid thô	6,2
Khoáng	6,4

*Chú thích:* <sup>1</sup>Dầu cá: Dầu gan cá tuyết Moller'S Tran (Na Uy).

<sup>2</sup>Hỗn hợp vitamin và khoáng chất (khẩu phần kg<sup>-1</sup>): vitamin A, 2,000 IU; vitamin B1 (thiamin), 5 mg; vitamin B2, 5 mg; vitamin B6, 5 mg; vitamin B12, 0,025 mg; vitamin D3, 1,200 IU; vitamin E, 21 mg; vitamin K3, 2,5 mg; folic acid, 1,3 mg; pantothenic acid calcium, 20 mg; inositol, 60 mg; ascorbic acid (35 %), 110 mg; niacinamide, 25 mg. MnSO<sub>4</sub>, 10 mg; MgSO<sub>4</sub>, 10 mg; KCl, 95 mg; NaCl, 165 mg; KI, 1,0 mg; CuSO<sub>4</sub>, 12.5 mg; FeSO<sub>4</sub>, 105 mg; Co, 1.5 mg; Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>, 1,0 mg.

<sup>3</sup>Chất kết dính: CMC: Carboxymethyl cellulose (Trung Quốc).

trong 4 giờ. Hỗn hợp tạo thành được lưu giữ ở nhiệt độ 4 °C cho đến khi sử dụng. Thức ăn được sản xuất 2 tuần/mẻ để duy trì sự sống sót và mật độ của *P. pentosaceus* hiện diện trong thức ăn.

### Con giống thí nghiệm

Cá đũa giống (*Siganus guttatus*) kích cỡ (4,63 ± 0,41 g) được mua từ trại giống tại Thuận An – tỉnh Thừa Thiên Huế. Cá giống được tắm iodine (1 mL/m<sup>3</sup>) để loại bỏ mầm bệnh ký sinh, sau đó cá được nuôi thích nghi với điều kiện phòng thí nghiệm trong hai tuần trước khi tiến hành bố trí thí nghiệm. Các thông số môi trường nước như nhiệt độ, DO và pH được duy trì ở ngưỡng thích hợp 25–29 °C; 4,5–5,7 mg/L và 7,3–8,0 trong thời gian này.

## 2.2 Phương pháp nghiên cứu

### Thiết kế thí nghiệm

Hiện nay, có rất ít thông tin về việc bổ sung vi khuẩn *P. pentosaceus* vào thức ăn của cá ở mật độ nào là tối ưu. Vì vậy, thí nghiệm được tiến hành trong 12 bể composite (dung tích 300 L), với mật độ thả 50 con/bể, theo phương pháp ngẫu nhiên hoàn toàn gồm 4 nghiệm thức, bao gồm nghiệm thức đối chứng (CT) cá được cho ăn thức ăn không bổ sung chế phẩm probiotic; nghiệm

thức thí nghiệm 1 (T1) cá được cho ăn thức ăn có bổ sung chế phẩm probiotic có chứa vi khuẩn *P. pentosaceus* với mật độ  $10^7$  CFU/g; nghiệm thức thí nghiệm 2 (T2) cá được cho ăn thức ăn có bổ sung chế phẩm probiotic với mật độ vi khuẩn  $10^8$  CFU/g và nghiệm thức thí nghiệm 3 (T3) cá được cho ăn thức ăn có bổ sung chế phẩm probiotic với mật độ vi khuẩn  $10^9$  CFU/g. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần. Thí nghiệm được thực hiện trong 60 ngày.

Nguồn nước thí nghiệm được tạo ra từ nước biển (32‰) sau khi để lắng, được xử lý và pha loãng với nước máy (tỷ lệ 1:1) để tạo ra nước nuôi có độ mặn 15‰. Nước sau khi được cấp vào bể thí nghiệm, bố trí sục khí để duy trì hàm lượng oxy hòa tan trên 5 mg/L. Đồng thời, duy trì các yếu tố môi trường khác như nhiệt độ 25–28 °C; pH 7–8 và  $\text{NH}_3 \leq 0,1$  mg/L. Hệ thống bể được chiếu sáng bằng đèn huỳnh quang cường độ 600 lux và chu kỳ chiếu sáng là 12/12. Cá được cho ăn 4 lần/ngày (7:00, 11:00, 13:00 và 17:00) sử dụng khẩu phần ăn chuẩn bị tương ứng, lượng cho ăn bằng 5% khối lượng cơ thể, thức ăn được phân phối bằng muỗng và được bảo quản riêng biệt tránh sự lây nhiễm. Đáy bể thí nghiệm được vệ sinh hàng ngày bằng cách xi phông hút hết cặn và phân thải của cá. Đồng thời, thay 30% lượng nước trong bể vào buổi sáng. Thức ăn dư thừa được vớt ra khỏi bể thí nghiệm sau 2 giờ cho ăn, sau đó tiến hành sấy khô (dưới 60 °C trong 6 giờ) và cân để xác định lượng thức ăn cá ăn vào (FI).

### Phương pháp xác định các chỉ tiêu chất lượng nước

Nhiệt độ, pH, độ mặn, oxy hòa tan (DO) được đo hàng ngày bằng bút thử chất lượng nước YY-400 H (Hàn Quốc), khúc xạ kế và kiểm tra nhanh Sera (Sera LLC - Đức). Các chỉ tiêu chất lượng nước khác như TAN,  $\text{NO}_2$  và  $\text{NO}_3$  được đo 7 ngày một lần bằng máy đo đa chỉ tiêu multi-spectrophotometers (Hanna Model-HI83099, Romania).

### Phương pháp xác định các chỉ tiêu sinh trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn của cá

Để đánh giá các chỉ tiêu sinh trưởng của cá, 30 cá thể/nghiệm thức được thu ngẫu nhiên 2 tuần một lần. Cá được thu bằng vợt chuyên dụng, tiến hành gây mê bằng Aqui-S với nồng độ 0,25 mL/L. Khối lượng của cá được xác định bằng cân điện tử (Ohaus model- EC6, Mỹ) có độ chính xác 0,001 g. Chiều dài đo bằng thước kẹp caliper có độ chính xác 0,01 cm. Các thông số về khối lượng cuối cùng (FW-g), chiều dài cuối cùng FL-cm), mức tăng khối lượng (WG-%), tốc độ tăng trưởng (DGR-g/con/ngày), tốc độ tăng trưởng đặc trưng (SGR-%/ngày), tỷ lệ sống (SR-%), lượng thức ăn ăn vào (FI-g/cá thể), hệ số chuyển hóa thức ăn (FCR), tỷ lệ tiêu hóa protein (PER-%) và tỷ lệ tiêu hóa lipid (LER-%) được tính theo mô tả bởi Muhammad và cs. [28] và Manh và cs. [31].

$$\text{Mức tăng khối lượng: WG (\%)} = \frac{\text{FW} - \text{IW}}{\text{IW}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{Tốc độ tăng trưởng: DGR (g/con/ngày)} = \frac{\text{FW} - \text{IW}}{t} \quad (2)$$

$$\text{Tốc độ tăng trưởng đặc trưng: SGR (\%/ngày)} = \frac{\text{LnFW} - \text{LnIW}}{t} \times 100 \quad (3)$$

$$\text{Tỷ lệ sống: SR (\%)} = \frac{\text{Nt}}{\text{No}} \times 100 \quad (4)$$

$$\text{Lượng thức ăn vào: FI (g/cá thể)} = \frac{\text{FI}}{\text{SF}} \quad (5)$$

$$\text{Hệ số chuyển hóa thức ăn: FCR} = \frac{\text{FI}}{\text{FW} - \text{IW}} \times 100 \quad (6)$$

$$\text{Tỷ lệ tiêu hóa protein: PER (\%)} = \frac{\text{FW} - \text{IW}}{\text{PI}} \quad (7)$$

$$\text{Tỷ lệ tiêu hóa lipid: LER (\%)} = \frac{\text{FW} - \text{IW}}{\text{LI}} \quad (8)$$

trong đó: FW là khối lượng cơ thể của cá lúc kết thúc thí nghiệm, IW là khối lượng cơ thể cá lúc thả, t là thời gian thí nghiệm, Nt là số lượng cá ở thời điểm kết thúc thí nghiệm, No là số lượng cá lúc thả nuôi thí nghiệm, FI là lượng thức ăn cá ăn vào (tính theo vật chất khô), SF là số lượng cá còn sống sót, PI và LI là lượng protein và lipid cá ăn vào.

### Phương pháp xác định hoạt tính enzyme tiêu hóa

Vào ngày thứ 30 và 60 của thí nghiệm, mỗi nghiệm thức tiến hành thu ngẫu nhiên 9 con và gây mê bằng Aquí-S với nồng độ 0,25 mL/L. Sau đó, cá được mổ và tách lấy phần ruột, ruột từ 9 mẫu cá được trộn đều và lưu giữ trong tủ lạnh sâu (-80 °C) cho đến khi phân tích.

**Hoạt tính protease:** mẫu ruột từ các nghiệm thức được rửa đông sau đó tiến hành nghiên cứu trong dung dịch đệm chứa 50 mM Potassium Phosphate pH 7. 100µL dịch chiết được bổ sung vào 400 µL buffer 50 mM Potassium Phosphate Buffer chứa 0,65% casein (w/v) pH = 7, trộn đều và ủ ở 37 °C. Sau 10 phút, thêm 500 µL thuốc thử TCA (Trichloroacetic acid) vào mỗi ống 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 sang ống eppendorf mới 200 µL dịch nổi + 500 µL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 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 theo mô tả bởi Cupp-Enyard [32].

**Hoạt tính amylase:** Dịch chiết enzyme từ ruột cá được xác định hoạt tính amylase thông qua xác định 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 lắ, phản ứng được dừng lại bằng cách thêm 500 µL axit 3-5-Dinitrosalicylic được mô tả bởi Bernfeeld [33]. 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 (Labomed, Model: UV-2650, Mỹ). 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 1µmol 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 400nm bằng Máy đo quang phổ theo mô tả của Eckel và cs. [34].

### 2.3 Phân tích và xử lý dữ liệu

Kiểm tra tính đồng nhất của dữ liệu bằng cách sử dụng phép thử Kolmogorov-Smirnov. Sau đó, so sánh các giá trị trung bình giữa các nghiệm thức được dựa vào phép phân tích ANOVA và phép thử DUNCAN 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 Student's t-test với sự khác biệt ở mức  $p < 0,05$ .

## 3 Kết quả nghiên cứu và thảo luận

### 3.1 Chất lượng nước trong quá trình thí nghiệm

Nhiệt độ nước trong suốt thời gian thí nghiệm dao động từ 26,0 đến 28,9 °C và không có sự khác biệt ( $p > 0,05$ ) giữa các nghiệm thức. Tương tự, độ mặn của nước nằm trong khoảng 15,0 đến 16,2‰, hàm lượng oxy hòa tan (DO) dao động từ 4,63 đến 5,90 mg/L và hàm lượng NO<sub>2</sub> từ 0,20–0,31 mg/L và không có sự khác biệt ( $p > 0,05$ ) giữa các nghiệm thức. Ngược lại, giá trị pH (dao động từ 7,30 đến 7,61); tổng nitơ amoniac (TAN) dao động từ 0,40–0,58 mg/L và hàm lượng NO<sub>3</sub> (1,90–2,16 mg/L) có sự khác biệt ở các bể có bổ sung probiotics so với các bể đối chứng (chỉ cho ăn khẩu phần cơ sở) ( $p < 0,05$ ). Tuy nhiên, không có sự khác nhau về hàm lượng các chỉ tiêu chất lượng nước này giữa các nghiệm thức có bổ sung probiotics ( $p > 0,05$ ).

Kết quả cho thấy biên độ dao động của các yếu tố chất lượng nước khá hẹp, không có sự khác biệt đáng kể về nhiệt độ, độ mặn, DO và hàm lượng NO<sub>2</sub> giữa các nghiệm thức và đều nằm

**Bảng 2.** Sự biến động các yếu tố môi trường nước trong quá trình thí nghiệm

Yếu tố môi trường	Nghiệm thức			
	CT	T1	T2	T3
Nhiệt độ (°C)	26,09 ± 0,53 <sup>a</sup>	26,05 ± 0,41 <sup>a</sup>	26,06 ± 0,54 <sup>a</sup>	26,07 ± 0,43 <sup>a</sup>
Độ mặn (‰)	15,25 ± 0,43 <sup>a</sup>	15,16 ± 0,36 <sup>a</sup>	15,14 ± 0,55 <sup>a</sup>	15,20 ± 0,44 <sup>a</sup>
pH	7,51 ± 0,14 <sup>b</sup>	7,42 ± 0,23 <sup>ab</sup>	7,41 ± 0,14 <sup>a</sup>	7,40 ± 0,21 <sup>a</sup>
DO (mg/L)	5,65 ± 0,12 <sup>a</sup>	5,64 ± 0,13 <sup>a</sup>	5,64 ± 0,12 <sup>a</sup>	5,63 ± 0,11 <sup>a</sup>
TAN (mg/L)	0,53 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,48 ± 0,01 <sup>ab</sup>	0,47 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,48 ± 0,01 <sup>a</sup>
NO <sub>2</sub> (mg/L)	0,29 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,29 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,28 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,28 ± 0,01 <sup>a</sup>
NO <sub>3</sub> (mg/L)	2,06 ± 0,08 <sup>b</sup>	1,97 ± 0,09 <sup>a</sup>	1,95 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,96 ± 0,04 <sup>a</sup>

*Ghi chú:* Số liệu được trình bày là Trung bình ± độ lệch chuẩn. Các chữ cái (a, b) khác nhau trên cùng một hàng thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ). CT (đối chứng, khẩu phần không bổ sung vi khuẩn *P. pentosaceus*), T1 (khẩu phần bổ sung chế phẩm với mật độ *P. pentosaceus* 10<sup>7</sup> CFU/g), T2 (khẩu phần bổ sung chế phẩm với mật độ *P. pentosaceus* 10<sup>8</sup> CFU/g), và T3 (khẩu phần bổ sung chế phẩm với mật độ *P. pentosaceus* 10<sup>9</sup> CFU/g).



ngưỡng phù hợp cho sự tồn tại và sinh trưởng của cá dìa [35, 36]. Kết quả này tương tự với phát hiện của Kurdomanov và cs. [37] và Sayed và cs. [38] khi bổ sung chế phẩm sinh học (*Lactobacillus bulgaricus* và *Pediococcus acidilactici*) vào khẩu phần ăn nuôi cá hồi vân (*Oncorhynchus mykiss*) và cá chêm châu Âu (*Dicentrarchus labrax*). Giá trị pH ở các nghiệm thức bổ sung chế phẩm sinh học có xu hướng giảm so với nghiệm thức đối chứng có thể do vi khuẩn *P. pentosaceus* sau khi được cá ăn vào và thải ra môi trường bể nuôi chúng tiến hành lên men sản phẩm hữu cơ (thức ăn dư thừa và phân thải của cá) có trong bể sản sinh ra axit lactic (như acetic, axit butyric, axit propionic), chính hoạt tính của axit lactic đã làm cho pH giảm [39, 40]. Tuy nhiên, giá trị pH trong nghiên cứu này vẫn ở ngưỡng phù hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của hầu hết các loài động vật thủy sản [41]. Sự suy giảm tổng nito (TAN) và hàm lượng  $\text{NO}_3$  ở các bể bổ sung chế phẩm sinh học có thể là do vi khuẩn *P. pentosaceus* được thải ra cùng với phân cá, làm thay đổi quần thể vi khuẩn trong bể tạo ra các loài vi khuẩn có lợi dẫn đến chất lượng nước được cải thiện [42], bằng cách thúc đẩy tốc độ phân hủy chất hữu cơ, loại bỏ ammoniac, cacbon dioxit và sunfua ra khỏi bể nuôi [40]. Đồng thời, có thể trong bể có sự xuất hiện của vi khuẩn nitrat hóa (*Nitrosomonas* và *Nitrobacter*) thực hiện quá trình nitrat hóa giúp loại bỏ nito và amoniac trong nước dẫn đến lượng TAN và  $\text{NO}_3$  thấp hơn các bể đối chứng [43]. Chính vì thế, Hasn và cs. [44] đã khuyến khích sử dụng probiotics trong nuôi cá để giảm tải hàm lượng các bon hữu cơ và nâng cao chất lượng nước cũng như sức khỏe của cá.

### 3.2 Sinh trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá dìa

Nghiệm thức thức ăn có bổ sung chế phẩm sinh học (*P. pentosaceus*) cho tốc độ sinh trưởng của cá cao hơn so với nghiệm thức đối chứng ( $p < 0,05$ ) (Bảng 3). Trong đó, các chỉ tiêu sinh trưởng như FW ( $20,06 \pm 0,41$  g), FL ( $11,50 \pm 0,31$  cm), WG ( $331,96 \pm 4,08\%$ ), DGR ( $0,25 \pm 0,01$  g/ngày) và SGR ( $2,44 \pm 0,02$  %/ngày) cao nhất được tìm thấy ở T2 và có sự sai khác có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại ( $p < 0,05$ ). Tương tự, các chỉ tiêu về hiệu quả sử dụng thức ăn của cá dìa được cải thiện khi cho cá ăn khẩu phần ăn có bổ sung chế phẩm sinh học. Trong đó, lượng thức ăn cá ăn vào (FI =  $26,78 \pm 0,32$  g/cá thể) cao nhất ở T2 và có sự sai khác có ý nghĩa khi so với các nghiệm thức còn lại ( $p < 0,05$ ); giá trị FCR ( $1,74 \pm 0,02$ ) thấp nhất được tìm thấy ở T2 và có sự sai khác có ý nghĩa khi so sánh với nghiệm thức đối chứng ( $p < 0,05$ ), nhưng không có sự sai khác giữa các nghiệm thức có bổ sung chế phẩm sinh học ( $p > 0,05$ ). Trong khi đó, hiệu quả sử dụng protein và lipid của cá cao nhất ở T2 (1,84% và 6,46%) và có sự sai khác so với các nghiệm thức còn lại ( $p < 0,05$ ). Mặc dù, việc bổ sung chế phẩm sinh học vào khẩu phần đã nâng cao sinh trưởng và cải thiện hiệu quả sử dụng thức ăn của cá dìa nhưng không có tác dụng nâng cao tỷ lệ sống của cá ( $p > 0,05$ ). Trong nghiên cứu này, tỷ lệ sống của cá đạt được khá cao dao động từ 85,3% đến 90,0%.

Sinh trưởng của động vật thủy sản nói chung bị ảnh hưởng bởi một số yếu tố bao gồm cấu trúc ruột, hệ vi sinh vật đường ruột và hoạt động của enzyme tiêu hóa. Khi *P. pentosaceus* đi vào ruột, chúng bám vào bề mặt ruột và sử dụng cacbonhydrat để cung cấp cho hoạt động sống và phát triển. Đồng thời, sản xuất ra một lượng lớn enzyme tiêu hóa bao gồm amylase, protease, lipase từ nhung mao [45]. Những enzyme này kết hợp với các enzyme tiêu hóa nội sinh

**Bảng 3.** Sinh trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá địa sau 60 ngày nuôi

Chỉ tiêu	Nghiệm thức			
	CT	T1	T2	T3
IW (g)	4,63 ± 0,41	4,63 ± 0,35	4,64 ± 0,20	4,63 ± 0,30
FW (g)	16,36 ± 0,59 <sup>a</sup>	18,93 ± 0,43 <sup>b</sup>	20,06 ± 0,41 <sup>c</sup>	18,30 ± 0,30 <sup>b</sup>
IL (cm)	4,15 ± 0,31	4,14 ± 0,40	4,14 ± 0,20	4,14 ± 0,23
FL (cm)	10,09 ± 0,22 <sup>a</sup>	11,13 ± 0,43 <sup>c</sup>	11,50 ± 0,31 <sup>d</sup>	10,85 ± 0,37 <sup>b</sup>
WG (%)	252,74 ± 4,68 <sup>a</sup>	308,37 ± 5,33 <sup>b</sup>	331,96 ± 4,08 <sup>c</sup>	294,82 ± 4,27 <sup>b</sup>
DGR (g/ngày)	0,19 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,23 ± 0,05 <sup>b</sup>	0,25 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,22 ± 0,02 <sup>b</sup>
SGR (%/ngày)	2,10 ± 0,03 <sup>a</sup>	2,34 ± 0,01 <sup>b</sup>	2,44 ± 0,02 <sup>c</sup>	2,28 ± 0,01 <sup>b</sup>
SR (%)	85,33 ± 1,76 <sup>a</sup>	88,66 ± 0,66 <sup>a</sup>	90,00 ± 1,15 <sup>a</sup>	88,00 ± 1,15 <sup>a</sup>
FI (g/cá thể)	21,76 ± 0,56 <sup>a</sup>	25,64 ± 0,41 <sup>c</sup>	26,78 ± 0,32 <sup>d</sup>	24,77 ± 0,54 <sup>b</sup>
FCR	1,85 ± 0,02 <sup>b</sup>	1,79 ± 0,06 <sup>ab</sup>	1,74 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,81 ± 0,04 <sup>ab</sup>
PER (%)	1,71 ± 0,06 <sup>a</sup>	1,77 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,84 ± 0,02 <sup>b</sup>	1,75 ± 0,01 <sup>a</sup>
LER (%)	6,01 ± 0,06 <sup>a</sup>	6,21 ± 0,05 <sup>a</sup>	6,46 ± 0,03 <sup>b</sup>	6,14 ± 0,04 <sup>a</sup>

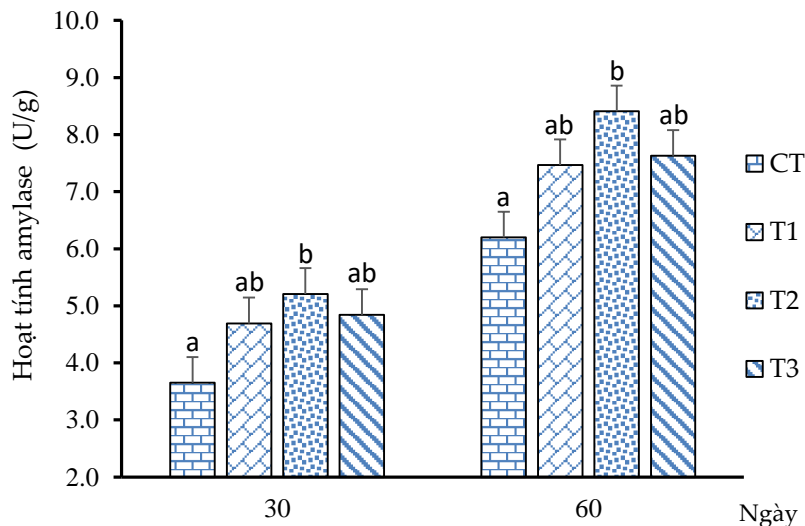
*Ghi chú:* Số liệu được trình bày là Trung bình ± sai số chuẩn (n = 3). Các chữ cái khác nhau (a, b, c, d) trên cùng một hàng thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ). CT (đôi chứng, khẩu phần không bổ sung vi khuẩn *P. pentosaceus*), T1 (khẩu phần bổ sung chế phẩm với mật độ *P. pentosaceus* 10<sup>7</sup> CFU/g), T2 (khẩu phần bổ sung chế phẩm với mật độ *P. pentosaceus* 10<sup>8</sup> CFU/g), và T3 (khẩu phần bổ sung chế phẩm với mật độ *P. pentosaceus* 10<sup>9</sup> CFU/g). IW là khối lượng cá lúc thả, FW là khối lượng cá lúc kết thúc thí nghiệm, IL là chiều dài của cá lúc thả, FL là chiều dài của cá lúc kết thúc thí nghiệm, WG là mức tăng khối lượng, DGR là tốc độ tăng trưởng, SGR là tốc độ tăng trưởng đặc trưng, SR là tỷ lệ sống, FI là lượng thức ăn ăn vào, FCR là hệ số chuyển hóa thức ăn, PER và LER là tỷ lệ tiêu hóa protein và lipid.

giúp quá trình tiêu hóa, chuyển hóa và hấp thu chất dinh dưỡng của cá tốt hơn [46, 47]. Việc tăng cường hoạt động của các enzyme tiêu hóa và tăng cường quần thể vi sinh vật có lợi trong ruột cá giúp cải thiện tiêu hóa và hấp thụ cũng như hiệu quả sử dụng thức ăn ở cá [46, 48, 49]. Điều này giải thích cho các chỉ số sinh trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn ở nhóm cá có bổ sung chế phẩm sinh học vào thức ăn được cải thiện rõ rệt so với nhóm đối chứng [49]. Có rất nhiều nghiên cứu có kết quả tương đồng, Jian-Bin và cs. [23] thử nghiệm bổ sung chế phẩm (*P. pentosaceus*) vào thức ăn của cá mú chấm cam (*E. coioides*) cho thấy mức tăng khối lượng (WG) cao hơn đáng kể so với nhóm đối chứng (80,9%). Bổ sung chế phẩm (*P. pentosaceus*) vào khẩu phần cho cá cá tráp đỏ (*Pagrus major*), sau 56 ngày nuôi có sự gia tăng đáng kể về tăng trưởng (WG, SGR), hiệu quả sử dụng thức ăn (FCR), lượng ăn vào (FI), hiệu quả sử dụng protein (PER), LER cao hơn và tỷ lệ sống được cải thiện so với nhóm đối chứng [24]. Các phát hiện tương tự cũng được tìm thấy ở trên cá giò (*R. canadum*) [22], cá rô phi (*O. niloticus*) [28] đều kết luận việc bổ sung *P. pentosaceus* đã nâng cao tốc độ tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá. Ngoài ra, Ringo và cs. [50] còn cho rằng probiotic còn kích thích sự thèm ăn của cá, làm cá bắt mồi nhiều hơn dẫn đến lượng ăn vào của cá lớn. Điều này, thúc đẩy tốc độ sinh trưởng của cá. Kết quả này cho thấy, cá ở các nghiệm thức có bổ sung chế phẩm sinh học có lượng thức ăn ăn vào (FI) lớn hơn nhóm cá đối

chúng là minh chứng rõ ràng cho giả thuyết này. Bên cạnh đó, ở nghiệm thức T3 cho thấy các chỉ số tốc độ sinh trưởng và sử dụng thức ăn thấp hơn so với T1 và T2, có thể mật độ vi khuẩn  $10^9$  CFU/g (T3) nằm ngoài ngưỡng thích hợp dẫn đến hiệu quả sử dụng thức ăn và sinh trưởng thấp hơn T2 và T1. Điều này phù hợp với khuyến cáo trong sử dụng probiotics khi đưa vào cơ thể ở nồng độ phù hợp sẽ cải thiện hiệu quả sử dụng thức ăn [46, 48, 49] dẫn đến tăng tốc độ sinh trưởng của cá [49] và mang lại lợi ích sức khỏe cho đối tượng nuôi [6, 39]. Như vậy, việc bổ sung chế phẩm *P. pentosaceus* không những cải thiện hiệu quả sử dụng thức ăn mà còn giúp cá sinh trưởng nhanh hơn. Do đó, có thể giúp giảm chi phí thức ăn và thời gian nuôi cá.

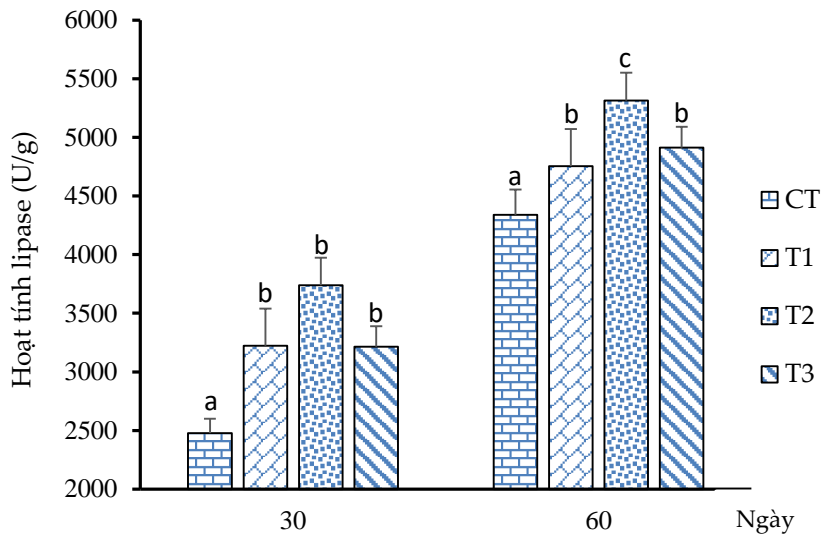
### 3.3 Hoạt tính enzyme tiêu hóa

Kết quả phân tích cho thấy, sau 30 và 60 ngày hoạt tính enzyme tiêu hóa (amylase, lipase và protease) ở các nhóm được cho ăn thức ăn có bổ sung chế phẩm sinh học cao hơn ( $p < 0,05$ ) so với nhóm cá ở nghiệm thức đối chứng (Hình 1–3). Mặt khác, kết quả còn chỉ ra sau 60 ngày nuôi hoạt tính enzyme tiêu hóa của cá có sự gia tăng rõ rệt ( $p < 0,05$ ) so với 30 ngày. Sau 30 ngày nuôi, nhóm cá ở T2 có hoạt tính enzyme amylase và lipase cao nhất và sai khác có ý nghĩa so với nhóm cá ở CT ( $p < 0,05$ ). Tuy nhiên, không có sự sai khác so với nhóm cá ở T1 và T3 ( $p > 0,05$ ). Trong khi đó, hoạt tính enzyme protease cao nhất được tìm thấy ở nhóm T3 và có sai khác so với nhóm cá ở CT ( $p < 0,05$ ). Xu hướng tương tự, sự biến động hoạt tính các enzyme tiêu hóa của cá còn được quan sát ở ngày nuôi thứ 60. Khi phân tích sự biến động hoạt tính enzyme lipase ở 60 ngày ghi nhận có sự khác biệt ( $p < 0,05$ ) giữa nhóm cá ở T2 so với T1 và T3, nhưng không khác biệt có ý nghĩa khi so sánh giữa T1 và T3 ( $p > 0,05$ ).



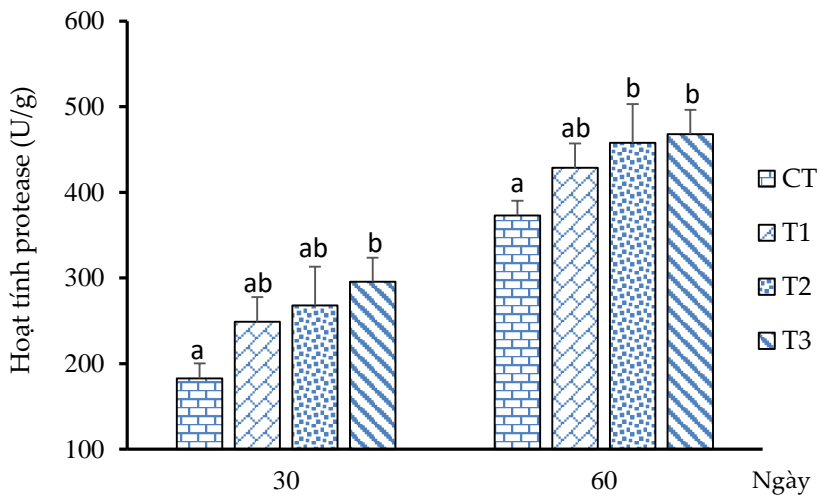
**Hình 1.** Hoạt tính của enzyme amylase của cá diều ở ngày 30 và 60

*Chú thích:* Giá trị được trình bày là Trung bình  $\pm$  độ lệch chuẩn ( $n = 9$ ). Các chữ cái (a, b, c) khác nhau thể hiện sự sai khác ở mức  $p < 0,05$ .



**Hình 2.** Hoạt tính của enzyme lipase của cá dìa ở ngày 30 và 60.

*Chú thích:* Giá trị được trình bày là Trung bình ± độ lệch chuẩn (n = 9). Các chữ cái (a, b, c) khác nhau thể hiện sự sai khác ở mức  $p < 0,05$ .



**Hình 3.** Hoạt tính của enzyme protease của cá dìa ở ngày 30 và 60

*Chú thích:* Giá trị được trình bày là Trung bình ± độ lệch chuẩn (n = 9). Các chữ cái (a, b, c) khác nhau thể hiện sự sai khác ở mức  $p < 0,05$ .

Một trong những tác dụng có lợi của chế phẩm sinh học sử dụng trong nuôi trồng thủy sản cải thiện khả năng tiêu hóa và hấp thu dinh dưỡng của tôm, cá bằng cách kích thích vật chủ tiết ra các enzyme tiêu hóa. Trong nghiên cứu này, cá được cho ăn thức ăn có bổ sung *P. pentosaceus* cho hoạt tính enzyme amylase, lipase, protease cao hơn so với nhóm đối chứng. Điều

này được cho là vi khuẩn *P. pentosaceus* xâm nhập vào ruột, chúng bám vào bề mặt ruột và sử dụng cacbohydrat để phát triển và sản xuất một lượng lớn enzyme tiêu hóa bao gồm amylase, protease, lipase từ nhung mao ruột [45]. Có rất nhiều nghiên cứu cho nhận định và kết quả tương đồng. Nghiên cứu của Amir và cs. [51] bổ sung chế phẩm *P. acidilactici* vào khẩu phần cá ngựa vằn (*Danio rerio*) gia tăng đáng kể hoạt tính amylase, lipase và protease từ đó nâng cao tốc độ tăng trưởng và hệ số chuyển hóa thức ăn của cá. Nghiên cứu bổ sung chế phẩm *L. acidophilus* vào thức ăn cho cá tra (*P. hypophthalmus*) ở nồng độ  $10^7$  CFU/g gia tăng đáng kể hoạt tính amylase, protease và lipase và tác động tích cực đến tốc độ tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá [52]. Hoạt tính enzyme tiêu hóa ở cá chép (*C. carpio*) được cải thiện khi bổ sung chế phẩm *P. pentosaceus* và có sự khác biệt lớn khi bổ sung với mật độ  $10^8$  CFU/g, kết quả nâng cao tốc độ tăng trưởng của cá [25]. Ngoài ra, khi so sánh hoạt tính enzyme tiêu hóa giữa ngày 30 với ngày 60 cho thấy sự khác biệt đáng kể ở tất cả các nhóm. Điều này có thể do vi khuẩn sống được bổ sung từ thức ăn trong hầu hết trường hợp sẽ bị mất khỏi đường tiêu hóa trong vòng vài ngày sau khi dùng ăn. Lợi khuẩn không tồn tại mãi mãi trong ruột cá, chúng sẽ chết đi và cần có sự tích lũy số lượng trong thời gian dài. Balaczar và cs. [42] cho rằng probiotics có thể xâm chiếm hệ tiêu hóa khi sử dụng trong thời gian dài, đồng thời sản sinh protease, amylase và lipase điều đó làm tăng hoạt tính của enzyme tiêu hóa theo thời gian [45]. Trong nghiên cứu này, bổ sung vi khuẩn *P. pentosaceus* ở mật độ  $10^8$  CFU/g vào thức ăn của cá cho hoạt tính của enzyme tiêu hóa cao hơn (Hình 1–3) so với T1 (*P. pentosaceus* ở mật độ  $10^7$  CFU/g) và T3 (*P. pentosaceus* ở mật độ  $10^9$  CFU/g) có thể do đây là nồng độ tối ưu trong các mức mật độ nghiên cứu. Điều này phù hợp với các nhận định khi sử dụng probiotics với nồng độ tối ưu sẽ giúp cải thiện sức khỏe [5, 6], hiệu quả sử dụng thức ăn [46, 48, 49] dẫn đến tăng tốc độ sinh trưởng của cá tốt hơn [46, 49].

## 5 Kết luận

Sau 60 ngày nuôi thử nghiệm kết quả của nghiên cứu này cho thấy, việc bổ sung vi khuẩn *P. pentosaceus* vào thức ăn đã nâng cao tốc độ tăng trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn và hoạt tính enzyme tiêu hóa của cá diạ so với nghiệm thức đối chứng. Do đó, việc bổ sung chế phẩm (*P. pentosaceus*) là một giải pháp đơn giản và có hiệu quả cao trong ương nuôi cá diạ. Trong đó, bổ sung vi khuẩn *P. pentosaceus* với mật độ  $10^8$  CFU/g vào thức ăn là mức mật độ tối ưu giúp cải thiện sinh trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá.

## Lời cảm ơn

Để tiến hành nghiên cứu này nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn sự tài trợ kinh phí của Bộ Giáo dục và Đào tạo, Việt Nam thông qua đề tài Cấp Bộ mã số: B2023-DHH-23.

### Tài liệu tham khảo

1. Binh, M. N., Dan, V. T., Thuy, T. N. T., Tram, N. D. Q., Chat, T. T., Dan, L. V., and Agosto E. S. (2022), Effect of dietary lysine level on the growth performance of orange-spotted rabbitfish (*Siganus guttatus*) fingerlings, *The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh*, 74, 1–13. Doi.org/10.46989/001c.36170.
2. Lê Văn Dân, Lê Đức Ngoan (2006), Nghiên cứu sự phát triển tuyến sinh dục cá Dìa (*Siganus guttatus* Bloch, 1787) ở vùng đầm phá Thừa Thiên Huế, *Tạp chí Nông nghiệp và phát triển nông thôn*, 2, 61–64.
3. Nguyễn Tý và Hoàng Lê Thùy Lan (2018), Một số kí sinh trùng nội ngoại kí sinh trên cá Dìa (*Siganus guttatus*). Giai đoạn nuôi thương phẩm nuôi ở đầm phá Tam Giang, Thừa Thiên Huế, *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học sư phạm, Đại học Huế*, 4(48), 75–83.
4. Lin, W., Li, L., Chen, J., Li, D., Hou, J., Guo, H. (2018), Long-term crowding stress causes compromised nonspecific immunity and increases apoptosis of spleen in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), *Fish & Shellfish Immunology*, 80, 540–545. Doi: 10.1016/j.fsi.2018.06.050.
5. Zhang, Y., Ji, T., Jiang, Y., Zheng, C., Yang, H., and Liu, Q. (2022), Long-term effects of three compound probiotics on water quality, growth performances, microbiota distributions and resistance to *Aeromonas veronii* in crucian carp *Carassius auratus gibelio*, *Fish and Shellfish Immunology*, 120, 233–241. Doi: 10.1016/j.fsi.2021.11.036.
6. Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., and Pot, B. (2014), The International Scientific Association of Probiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic, *Nature Reviews Gastroenterol Hepatol*, 11, 506–514. Doi: 10.1038/nrgastro.2014.66.
7. Rengpipat, S., Rueangruklikhit, T., and Piyatiratitivorakul, S. (2008), Evaluations of lactic acid bacteria as probiotics for juvenile seabass *Lates calcarifer*, *Aquaculture Research*, 39(2), 134–143. Doi.org/10.1111/j.1365-210.2007.01864.
8. Ringø, E. (2020), Probiotics in shellfish aquaculture, *Aquaculture and Fisheries*, 5, 1–27. Doi: 10.1016/j.aaf.2019.12.001.
9. Tsai, C. Y., Chi, C. C., and Liu, C. H. (2019), The growth and apparent digestibility of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, are increased with the probiotic, *Bacillus subtilis*, *Aquaculture Research*, 50, 1475–1481. Doi: 10.1111/are.14022.
10. Wang, Y. C., Hu, S. Y., Chiu, C. S., and Liu, C. H. (2019), Multiple-strain probiotics appear to be more effective in improving the growth performance and health status of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, than single probiotic strains, *Fish and Shellfish Immunology*, 84, 1050–1058. Doi: 10.1016/j.fsi.2018.11.017.
11. Dawood, M. A. O., Koshio, S., Abdel-Daim, M. M. & Van Doan, H. (2019), Probiotic application for sustainable aquaculture, *Reviews in Aquaculture*, 11(3), 907–924. Doi.org/10.1111/raq.12272.

12. Giatsis, C., Sipkema, D., Ramiro-Garcia, J. (2016), Probiotic legacy effects on gut microbial assembly in tilapia larvae, *Scientific Reports*, 6, 33965. Doi.org/10.1038/srep33965.
13. Kumar, V., Roy, S., Meena, D. K. & Sarkar, U. K. (2016), Application of probiotics in shrimp aquaculture: Importance, mechanisms of action, and methods of administration, *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 24(6), 342–368. Doi:10.1080/233084249.2016.1193841.
14. Sánchez-Ortiz, A., Luna, G. A., Campa, C. Á., Escamilla, M. R., Flores, M. M., Mazónuástegui, J. (2015), Isolation and characterization of potential probiotic bacteria from pustulose ark (*Anadara tuberculosa*) suitable for shrimp farming, *Latin American Journal of Aquatic Research*, 43, 123–136. Doi: 10.3856/vol43-issue1-fulltext-11.
15. Barros, R. R., Carvalho, M. G., Peralta, J. M., Facklam, R. R., and Teixeira, L. M. (2001), Phenotypic and genotypic characterization of *Pediococcus* strains isolated from human clinical sources, *Journal of Clinical Microbiology*, 39(4), 1241–1246. Doi: 10.1128/JCM.39.4.1241-1246.2001.
16. Thao, T. T. P., Thoa, L. T. K., Ngoc, L. M. T., Lan, T. T. P., Phuong, T. V., Truong, H. T. H., Khoo, K. S., Manickam, S., Hoa, T. T., Tram, N. D. Q., Show, P. L., and Huy, N. D. (2021), Characterization of halotolerant lactic acid bacteria *Pediococcus pentosaceus* HN10 and in vivo evaluation for bacterial pathogens inhibition, *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, 168, 108576. Doi.org/10.1016/j.cep.2021.108576.
17. 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(6), 1401–1409. Doi: 10.1111/anu.12515.
18. 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. Doi.10.3389/fmicb.2022.
19. Leyva-Madriz, K. Y., Luna-González, A., Escobedo-Bonilla, C. M., Fierro-Coronado, J. A., and Maldonado-Mendoza, I. E. (2011), Screening for potential probiotic bacteria to reduce prevalence of WSSV and IHNV in whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) under experimental conditions, *Aquaculture*, 322, 16–22.
20. Won, S., Hamidoghli, A., Choi, W., Bae, J., Jang, W. J., and Lee, S. (2020), Evaluation of potential probiotics *Bacillus subtilis* WB60, *Pediococcus pentosaceus*, and *Lactococcus lactis* on growth performance, immune response, gut histology and immune-related genes in whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*, *Microorganisms*, 8, 2–15. Doi: 10.3390/microorganisms8020281.
21. Qiuhua, Y., Yongling, L., and Zhang, M. (2019), Lactic acid bacteria, *Enterococcus faecalis* G11, improved growth performance, and immunity of mud crab (*Scylla paramamosain*), *Fish & Shellfish Immunology*, 93, 135–143. Doi.org/10.1016/j.fsi.2019.07.05.

22. Chen-Fu, X., Hung-His, H., and Jian-Bin, H. (2013), Diet supplementation of *Pediococcus pentosaceus* in cobia (*Rachycentron canadum*) enhances growth rate, respiratory burst and resistance against photobacteriosis, *Fish & Shellfish Immunology*, 35(4), 1122–1128. Doi.org/10.1016/j.fsi.2013.07.021.
23. Jian-Bin, H., Yu-Chi, W., and Shau-Chi, C. (2014), Dietary supplementation of *Pediococcus pentosaceus* enhances innate immunity, physiological health and resistance to *Vibrio anguillarum* in orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*), *Fish & Shellfish Immunology*, 39, 196–205. Doi.org/10.1016/j.fsi.2014.05.003.
24. Dawood, M.A.O., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S. (2015), Effects of dietary inactivated *Pediococcus Pentosaceus* on growth performance, feed utilization and blood characteristics of red sea bream, *Pagrus major* juvenile, *Aquaculture Nutrition*, 22(4), 923–932. Doi.org/10.1111/anu.12314.
25. Ahmadifa, T., Toba, H. S., Mahmoud, A.O., and Dawood, T. (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. Doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734656.
26. Ahmadifar, E., Moghadam, M.S., Dawood, M.A.O., and Hoseinifar, S.H. (2019), *Lactobacillus fermentum* and/or ferulic acid improved the immune responses, antioxidative defence and resistance against *Aeromonas hydrophila* in common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings, *Fish Shellfish Immunology*, 94, 916–923. Doi: 10.1016/j.fsi.2019.10.019.
27. Liang, G., Haocheng, H., and Dongjie, L. (2019), A New Isolate of *Pediococcus pentosaceus* (SL001) With Antibacterial Activity Against Fish Pathogens and Potency in Facilitating the Immunity and Growth Performance of Grass Carps, *Frontiers in Microbiology*, 10, 1384. Doi.org/10.3389/fmicb.2019.00138.
28. Muhammad, Z., Anjum, M., Akhter, S., Irfan, M., Amin, S., Jamal, Y., Khalid, S., Ghazanfar, S. (2022), Effect of *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus pentosaceus* on the Growth Performance and Morphometry of the Genetically Improved Farmed Tilapia (*Oreochromis niloticus*), *Zoological Society of Pakistan*, 3, 78–82. Doi.org/10.17582/journal.pjz/20220703220755.
29. Ghanawi, J., Roy, L., Davis, D. A., and Saoud, I. P. (2011), Effects of dietary lipid levels on growth performance of marbled spinefoot rabbitfish *Siganus rivulatus*, *Aquaculture*, 310, 395–400. Doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.11.012.
30. Saoud, I., Ghanawi, J., Lebbos, N., and Davis, A. (2010), The Effect of Linseed Oil and Kelp Meal 767 in Diets on Fatty Acid Profile of Rabbitfish *Siganus rivulatus*, *Mediterranean Aquaculture*, 3(1), 36–44. Doi.10.21608/maj.2010.2673.
31. Manh, H. N., Suong, T. T. T., Lan, P. T. P., Tram, N. D. Q. (2024), Effect of Inclusion of Fresh or dried black soldier fly larvae in Diets on Snakehead Fish's Growth Performance and Chemical Composition (*Channa sp.*), *Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh (0792-156X)*, 76(1). ISSN: 0792-156X. Doi.org/10.46989/001c.92338.



32. Cupp-Enyard, C. (2008), Sigma's non-specific protease activity assay-casein as a substrate, *Journal of Visualized Experiments*, 19(19). Doi:10.3791/899.
33. Bernfeeld, P. (1988), Amylases Alpha and Beta methods in Enzymology, *Methods in Enzymology*, 1, 149–158. Doi.org/10.1016/0076-6879(55)01021.
34. Eckel, R. H., Robbins, R. J. (1984), Lipoprotein lipase is produced, regulated, and functional in rat brain, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 81(23), 7604–7607. Doi.10.1073/pnas.81.23.7604.
35. Carbone, D., Faggio, C. (2016), Importance of prebiotics in aquaculture as immunostimulants. Effects on immune system of *Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax*, *Fish & Shellfish Immunology*, 54, 172–178. Doi: 10.1016/j.fsi.2016.04.011.
36. Ruth, F. F., Craig, W., Denise, P., and Deborah, B. P. (2022), *Ammonia in Aquatic Systems*, IFSAS Extension University of Florida. Doi.org/10.32473/edis-fa031-2022.
37. Kurdomanov, A., Sirakov, I., Stoyanova, S., Velichkova, K., Nedeva, I., and Staykov, Y. (2019), The effect of diet supplemented with Proviotic on growth, blood biochemical parameters and meat quality in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) cultivated in recirculation system, *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation*, 12(2), 404–412. <http://www.bioflux.com.ro/aac>.
38. El-Sayed, E., Baghdady, E., Gaafar, A., El-Badawi, A., Bazina, W., Al-Kareem, O., El-Hamed, N. (2022), Assessing the Influence of Dietary *Pediococcus acidilactici* Probiotic Supplementation in the Feed of European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L.) (Linnaeus, 1758) on Farm Water Quality, Growth, Feed Utilization, Survival Rate, Body Composition, Blood Biochemical Parameters, and Intestinal Histology, *Aquaculture Nutrition*, 202, 1–11. Doi.10.1155/2022/5841220.
39. Sokooti, R., Chelema 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. Doi.org/10.1111/are.16032.
40. 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.
41. Jayashree, L. (2015), Importance of water quality in mariculture, *Central Marine Fisheries Research Institute*, Kochi. <http://eprints.cmfri.org.in/10674>.
42. Balcazar, I., Blas, I., Ruizzarzueta, D., Cunningham, D., and Muzquiz, J. (2006), The role of probiotics in aquaculture, *Veterinary Microbiology*, 114(3–4), 173–186. Doi:10.1016/j.vetmic.2006.01.009
43. Dong, S., Li, Y., Huang, F., Lin, L., Li, Z., Li, J., Zhang, Y., Zheng, Y. (2022), Enhancing effect of *Platymonas* addition on water quality, microbial community diversity and shrimp

- performance in biofloc-based tanks for *Penaeus vannamei* nursery, *Aquaculture*, 554, 738057. Doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738057.
44. Hasan, K. N., and Banerjee, G. (2020), Recent studies on probiotics as beneficial mediator in aquaculture: A review, *The Journal of Basic and Applied Zoology*, 81, 1–16. Doi .org/10.1186/s41936-020-00190.
  45. 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 and Shellfish Immunology*, 117, 36–52. Doi://org/10.1016/j.fsi.2021.07.007.
  46. Assan, D., Kofi, F., Kuebutornye, A., Hlordzi, V., Chen, H., Mraz, J., Mustapha, U. F., and Abarike, E. D. (2022), Effects of probiotics on digestive enzymes of fish (finfish and shellfish); status and prospects: A mini review, *Comparative Biochemistry and Physiology B*, 257, 110653. Doi.org/10.1016/j.cbpb.2021.110653.
  47. Haroun, E., Goda, A., and Kabir, M. (2006), Effect of dietary probiotic Biogen supplementation as growth promoter on growth perfor-mance and feed utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.), *Aquaculture Reseach*, 37(14), 1473–1480. Doi:10111/j.1365-2109.2006.01584.
  48. Ghanei- Motlagh, R., Mohammadian, T., Gharibi, D., Khosravi, M., Mahmoudi, E., Zarea, M., El- Matbouli, M., and 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, 735874. Doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735874.
  49. Suzer, C., Çoban, D., Kamaci, H. O., Saka, S., and Firat, K. (2008), *Lactobacillus spp.* bacteria as probiotics in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) larvae: Effects on growth performance and digestive enzyme activities, *Aquaculture Research*, 280, 140–145. Doi:10.1016/j.aquaculture.2008.04.020.
  50. Ringø, E., Van Doan, H., Lee, S.H., Soltani, M., Hoseinifar, S.H., Harikrishnan, R. and Song, S. K. (2020), Probiotics, lactic acid bacteria and bacilli: interesting supplementation for aquaculture, *Journal of Applied Microbiology*, 129, 116–136. Doi.org/10.1111/jam.14628
  51. Amir, P. S., Seed, K., Omid, S. (2019), Dietary supplementation effects of *Pediococcus acidilactici* as probiotic on growth performance, digestive enzyme activities and immunity response in zebrafish (*Danio rerio*), *Aquaculture Nutrition*, 25, 854–861. Doi.org/10.1111/anu.12904.
  52. Nahid, A., Amalia, S., Roshada, H., and Nor, S. A. (2021), Effect of *Lactobacillus acidophilus* supplementation on growth performances, digestive enzyme activities and gut histomorphology of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus* Sauvage, 1878) juveniles, *Aquaculture Research*, 50, 786–797. Doi.org/10.1111/are.13938.