

**SO SÁNH ẢNH HƯỞNG CỦA BỔ SUNG PHYTASE VÀ DICALCI-
PHOSPHATE TRONG THỨC ĂN LÊN TĂNG TRƯỞNG, HIỆU QUẢ SỬ
DỤNG THỨC ĂN VÀ PHOSPHO CỦA CÁ TRA GIỒNG**

(*Pangasianodon hypophthalmus* Sauvage, 1878)

**COMPARE EFFECTS OF SUPPLYING DIETARY PHYTASE AND DICALCI-
PHOSPHATE ON GROWTH PERFORMANCES, FEED UTILIZATION AND
PHOSPHORUS CONTENT OF TRA CATFISH JUVENILE**

(*Pangasianodon hypophthalmus* Sauvage, 1878)

Nguyễn Thị Thành^{*a}, Phạm Minh Anh^c và Lê Thanh Hùng^b

^a*Khoa Sinh học, Trường Đại học Đồng Tháp*

^b*Khoa Thủy sản, Trường Đại học Nông Lâm TP. HCM*

^c*Trung tâm Nghiên cứu Thủy sản Novus*

^{*}*Email: nguyenthanht2@gmail.com*

ABSTRACT

Two experiments were conducted at Novus Aqua. Research Center, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Viet Nam to evaluate the effects of supplying an enzyme phytase (Cibenza-phos) on growth performances, feed utilization and phosphorus content of juvenile tra catfish. Six isonitrogenous (32% crude protein) and isolipidic (6% crude lipid) diets were prepared with graded levels of supplemental phytase (750 FTU/kg and 1500 FTU/kg) and di-calcium phosphate (DCP; 0%, 0.5%, 1.0% and 1.5%).

In the experiment 1, juvenile tra catfish (9.6 ± 0.1 g) were randomly distributed in 48 fiberglass tanks (300L) attached in a recirculation system at a stocking density of 30 fish/tank. Each experimental diet was fed to 8 groups of fish to apparent satiation twice per day for 12 weeks. At the end of the feeding trial, fish fed the diets containing 1.5% DCP, 750 FTU/kg and 1500 FTU/kg had higher final body weight, weight gain and specific growth rate compared to those of fish fed the control and diet containing 0.5% DCP and 1.0% DCP ($P < 0.05$). Lower feed conversion ratio and higher protein efficiency ratio, protein retention and phosphorus retention were observed in fish fed the diet containing 1500 FTU/kg diet.

In the experiment 2, tra catfish (initial body weight, 130 ± 5 g) were randomly distributed in 18 fiberglass tanks (500L) at a stocking density of 25 fish per tank. Experimental diet containing 0.5% Cr_2O_3 as the inert marker was fed to three groups of fish to apparent satiation for 2 weeks. Feces were collected by dissection 4 h after the morning meal. Higher apparent digestibility coefficient (ADC) of phosphorus was observed in fish fed the diet containing 750 FTU/kg and 1500 FTU/kg diet.

The present results indicate that supplementation of phytase (Cibenza-phos) at concentrations of 750 FTU/kg and 1500 FTU/kg could improve growth, feed and phosphorus utilization of juvenile tra catfish fed the diets containing high level of plant protein sources and reduce effluent phosphorus into aquaculture farms.

Keywords: tra catfish, phytase, dicalci-phosphate, phosphorus

ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá tra là loài được nuôi phổ biến ở các tỉnh đồng bằng sông Cửu Long và có giá trị xuất khẩu cao. Theo Hiệp hội Chế biến thủy sản Việt Nam, xuất khẩu cá tra của Việt Nam đang tăng mạnh về số lượng với trên 100 thị trường trên thế giới. Cá tra nuôi thâm canh sử dụng sử

dụng một tỉ lệ nhất định bột cá và một số lượng lớn protein thực vật (Lê Thanh Hùng, 2008). Hiện nay, sản lượng bột cá của thế giới có xu hướng giảm, trong khi nhu cầu bột cá cho sản xuất thức ăn thủy sản gia tăng liên tục. Năm 2006, ngành nuôi trồng thủy sản đã tiêu thụ khoảng 3,724 triệu tấn (68.2%) sản lượng bột cá của thế giới và 0,835 triệu tấn (88,5 %) tổng sản lượng dầu cá của thế giới (Tacon và Metian, 2008) dẫn đến giá bột cá ngày một tăng cao. Vì vậy, khuyến khích giảm tỷ lệ sử dụng bột cá và tìm nguồn nguyên liệu thay thế từ các protein thực vật. Tuy nhiên, các nguyên liệu có nguồn gốc từ thực vật thường chứa một số chất kháng dinh dưỡng như chất ức chế enzyme tiêu hoá, tanin...đặc biệt là phytate dẫn đến mất cân bằng các chất dinh dưỡng đặc biệt là phospho-một chất khoáng cần thiết cho sự sinh trưởng, phát triển bình thường của các đối tượng thủy sản. Để giải quyết vấn đề này, nhà sản xuất phải bổ sung phospho từ các nguồn muối vô cơ hay sử dụng các enzyme phytase (Francis và ctv., 2001; Tacon và Metian, 2008).

Phytase là một enzyme có khả năng phá vỡ các liên kết của phức hệ phytate không tiêu hoá được và giải phóng phospho, calci và các chất dinh dưỡng khác (Debnath và ctv., 2005b; Cao và ctv., 2007). Đã có nhiều nghiên cứu đánh giá việc bổ sung vào các loài thủy sản. Tuy nhiên, hiện tại vẫn còn rất ít thông tin về việc bổ sung phytase vào thức ăn cho cá tra. Xuất phát từ thực tế đã nêu ở trên, chúng tôi thực hiện đề tài nghiên cứu “So sánh ảnh hưởng của bổ sung phytase và Dicalci-phosphate(DCP) lên tốc độ tăng trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn và phospho của cá tra giống (*Pangasianodon hypophthalmus* Sauvage, 1878)”. Đề tài được thực hiện với mục tiêu đánh giá ảnh hưởng của enzyme phytase so sánh với việc bổ sung DCP lên tốc độ tăng trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn và phospho của cá tra (*P. hypophthalmus*).

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Thức ăn dùng cho thí nghiệm

Sáu công thức thức ăn thí nghiệm (ĐC, 0,5 DCP, 1,0 DCP, 1,5 DCP, 750 FTU và 1500 FTU) được thiết kế với hàm lượng protein thô là 32% và lipid thô 6%. Công thức thức ăn của các nghiệm thức được thể hiện ở Bảng 1. Thức ăn của nghiệm thức đối chứng không bổ sung DCP và phytase. Nghiệm thức 0,5 DCP, 1,0 DCP và 1,5 DCP được bổ sung theo thứ tự với 0,5% DCP, 1,0 % DCP và 1,5% DCP vào thức ăn. Hai nghiệm thức còn lại là 750 FTU và 1500 FTU, thức ăn được bổ sung phytase với nồng độ 750 và 1500 FTU/kg thức ăn. Tất cả các nguyên liệu được trộn đều với 50% nước cất bằng máy trộn Hobart Mixer (IP33, Hobart Food Equipments Co. Ltd., Tianjin, China) trong thời gian 45 phút. Sau đó, hỗn hợp trên được cho vào máy ép viên Hobart Meat Chopper (4812, Hobart Corporation, OH, USA). Viên thức ăn tạo thành có đường kính 2 mm và chúng sẽ được sấy khô bằng máy sấy (101-5A, JinHong, China) ở nhiệt độ 60°C trong thời gian 24 giờ. Cuối cùng thức ăn sẽ được bảo quản ở kho lạnh (- 5°C). Thành phần sinh hóa của sáu công thức thức ăn trên được thể hiện ở Bảng 2.

Thí nghiệm 1

Thí nghiệm này được tiến hành để so sánh ảnh hưởng của enzyme phytase (Cibenzaphos) và DCP lên tốc độ tăng trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn và phospho của cá tra. Cá tra giống để bố trí thí nghiệm được mua từ một trại giống ở Quận Củ Chi, TP. Hồ Chí Minh. Sau khi vận chuyển về trung tâm, cá được nuôi thuần hóa trong bể có thể tích 2000 L trong 2 tuần. Sau khi cá đã thích nghi với điều kiện thí nghiệm, tiến hành cân và phân bố ngẫu nhiên 30 con cá (có trọng lượng ban đầu là $9,6 \pm 0,1$ g/con) vào từng bể thí nghiệm có thể tích 300 L/bể trong hệ thống tuần hoàn gồm 48 bể. Hệ thống sục khí được cung cấp vào từng bể nhằm duy trì hàm lượng oxy hòa tan (DO) cao. Nhiệt độ nước, DO và pH được tiến hành đo hàng ngày bằng máy đo DO 3210-WTW và máy đo pH 3210-WTW, USA. Hàm lượng ammonia (NH₃), nitrite và độ kiềm được đo hàng tuần bằng máy đo quang phổ (Spectroflex 6060, WTW,

USA). Mỗi nghiệm thức được lập lại 8 lần. Cá được cho ăn ngày hai lần cho tới khi thỏa mãn trong thời gian thí nghiệm là 12 tuần. Trong quá trình thí nghiệm, sau ba tuần cá sẽ được tiến hành cân một lần cho đến khi kết thúc thí nghiệm. Khi kết thúc thí nghiệm, cá ở mỗi bể đã được cân và đếm để xác định tốc độ tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn.

Khi bắt đầu thí nghiệm, 50 con cá sẽ được bắt ngẫu nhiên dùng làm mẫu cá ban đầu. Khi kết thúc thí nghiệm, từ mỗi bể bắt ra ngẫu nhiên 10 con để làm mẫu phân tích thành phần sinh hóa của cá: protein, lipid, khoáng, phospho và chất xơ. Mẫu cá được bảo quản ở nhiệt độ - 80°C cho tới khi được gửi đi phân tích thành phần sinh hóa.

Bảng 1. Thành phần nguyên liệu của các nghiệm thức trong thí nghiệm 1

Nguyên liệu (%)	Nghiệm thức					
	ĐC	DCP0,5	DCP1,0	DCP1,5	750FTU	1500FTU
Bột đậu nành (48% CP)	50,75	50,75	50,75	50,75	50,25	49,75
Bột cám gạo	11,36	11,36	11,36	11,36	11,36	11,36
Bột bã cải	8,10	8,10	8,10	8,10	8,10	8,10
Bột cá	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Bột khoai mì	11,60	11,10	10,60	10,10	11,60	11,60
Bột mì	9,35	9,35	9,35	9,35	9,35	9,35
Dầu cá	2,64	2,64	2,64	2,64	2,64	2,64
Dầu nành	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
Hỗn hợp khoáng	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Hỗn hợp vitamin	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
DCP	0,0	0,50	1,00	1,50	0,00	0,00
Phytase (Cibenzaphos) ^a	0,0	0,0	0,0	0,0	0,50	1,00
MHA ^b	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Stay C (25%)	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Choline chloride (50%)	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Tổng	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

^b: MHA (methionine hydroxy analogue):

^a: Phytase (Cyberzaphos) 3% được trộn với bánh dầu nành để 0,5% tương đương 750 FTU/kg

Thí nghiệm 2

Thí nghiệm này được tiến hành để đánh giá ảnh hưởng của enzyme phytase (Cibenzaphos) và DCP lên độ tiêu hóa phospho của cá tra. Mỗi nghiệm thức được lập lại 3 lần. Cá (trọng lượng ban đầu là 130 ± 5 g) được chọn và bố trí ngẫu nhiên vào 18 bể composite có thể tích 500 L/bể với mật độ thả là 25 con/bể. Cá được cho ăn ngày 2 lần cho tới khi cá thỏa mãn với thức ăn thí nghiệm bổ sung 0,5% chromic oxide (Cr₂O₃) làm chất đánh dấu trong thời gian 2 tuần. Phân cá được thu bằng phương pháp mổ. Sau khi cho cá ăn được 4 giờ, chúng tôi

tiến hành thu phân cá. Phân cá được giữ lạnh ở nhiệt độ -80°C cho tới khi được gửi đi phân tích thành phần sinh hóa để xác định độ tiêu hóa protein, vật chất khô và phospho.

Các chỉ tiêu phân tích

Mẫu thức ăn, mẫu phân và thành phần cơ thể cá được gửi đi phân tích ở công ty Lareal, Thuận An, Bình Dương, Việt Nam. Các chỉ tiêu protein, phospho, lipid, độ ẩm và chất khoáng được phân tích theo phương pháp chuẩn (AOAC, 2001). Hoạt tính của phytase trong thức ăn của các nghiệm thức thí nghiệm được phân tích theo phương pháp đo quang phổ (ISO 30024, 2009). Hàm lượng chromic oxide trong thức ăn và trong phân cá của các nghiệm thức thí nghiệm đã được phân tích theo phương pháp của Furukawa và Tsukahara (1966).

Phân tích thống kê

Tất cả các số liệu thu thập được sau thí nghiệm sẽ được tính toán bằng phần mềm Excel và xử lý thống kê theo phương pháp phân tích phương sai một yếu tố (one – way ANOVA) bằng phần mềm Minitab 16.0 và sự khác biệt về các chỉ tiêu trong thí nghiệm giữa các nghiệm thức được so sánh bằng trắc nghiệm Tukey với mức ý nghĩa thống kê $P \leq 0,05$.

KẾT QUẢ

Thí nghiệm 1

Sự biến động của các chỉ tiêu chất lượng nước trong thời gian thí nghiệm như sau: Nhiệt độ nước, 26,7-30,4°C; hàm lượng oxy hòa tan: 4,95-7,69 mg/L; pH: 7,203-7,699; hàm lượng ammonia, 0,0007-0,0022 mg/L; hàm lượng nitrite, 0,02-0,125 mg/L. Như vậy, chất lượng nước của hệ thống thí nghiệm luôn nằm trong khoảng thích hợp cho sự sinh trưởng và phát triển bình thường của cá tra thí nghiệm (Phạm Văn Khánh, 2000; Schreck và Moyle, 1990).

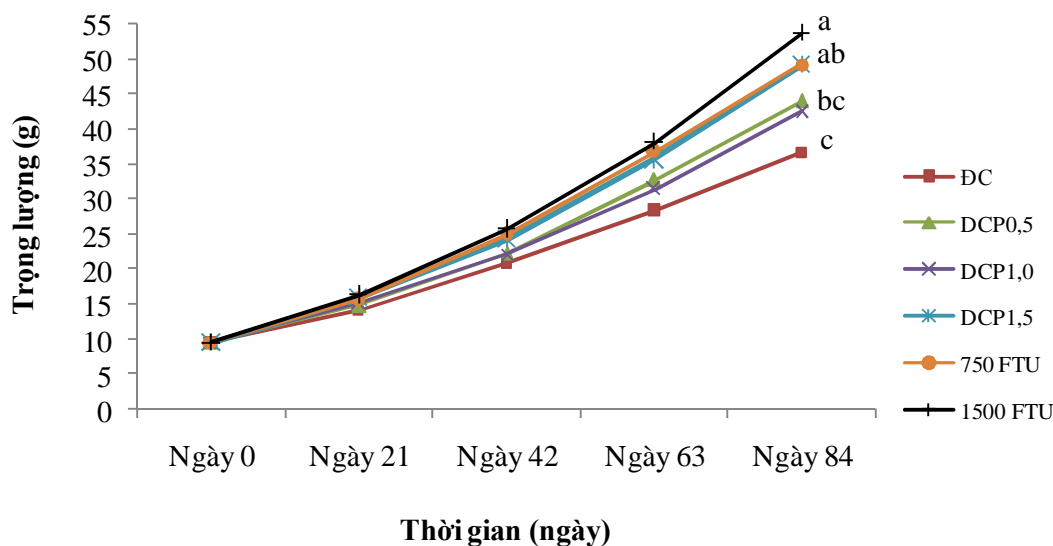
Thành phần sinh hóa của thức ăn thí nghiệm được trình bày ở Bảng 2. Từ kết quả này cho thấy hàm lượng phospho trong thức ăn ở các nghiệm thức bổ sung thêm DCP là cao hơn so với hàm lượng phospho trong thức ăn ở nghiệm thức đối chứng và hai nghiệm thức bổ sung phytase. Hoạt tính của enzyme phytase trong thức ăn của nghiệm thức đối chứng và các nghiệm thức bổ sung DCP là bằng nhau. Nhưng hoạt tính của enzyme phytase trong thức ăn của hai nghiệm thức bổ sung phytase là cao hơn so với các nghiệm thức còn lại. Các thành phần protein, lipid và chất xơ trong thức ăn của các nghiệm thức thí nghiệm là tương đương nhau và đảm bảo đúng mục đích của bố trí thí nghiệm.

Bảng 2. Thành phần sinh hóa của các nghiệm thức thí nghiệm (% vật chất khô)

Thành phần	ĐC	DCP0,5	DCP1,0	DCP1,5	750 FTU	1500 FTU
Độ ẩm (%)	9,04	7,34	7,71	7,43	6,1	7,15
Chất xơ (% , DM)	5,79	5,94	5,88	6,14	5,42	5,40
Chất béo (% , DM)	7,31	7,51	7,30	8,18	7,81	7,40
Phospho (% , DM)	0,76	0,82	0,91	0,98	0,72	0,70
Protein (% , DM)	34,72	34,10	34,04	34,05	34,08	34,59
Khoáng (% , DM)	6,68	6,81	7,30	7,53	6,33	6,24
Phytase (U/g)	0,03	0,03	0,03	0,03	0,66	1,16

Tăng trưởng và tỷ lệ sống của cá tra thí nghiệm

Kết quả tăng trưởng và tỉ lệ sống của cá được trình bày ở Bảng 3 và Đồ thị 1. Sau 42 ngày nuôi, trọng lượng cá của thí nghiệm bắt đầu thể hiện sự sai khác có ý nghĩa ($P < 0,05$). Trọng lượng trung bình của cá ở nghiệm thức bổ sung 1,5% DCP và hai nghiệm thức bổ sung phytase cao hơn có ý nghĩa ($P < 0,05$) so với trọng lượng trung bình của cá ở nghiệm thức đối chứng và đạt giá trị cao nhất ở nghiệm thức bổ sung phytase 1500 FTU/kg.



Đồ thị 1. Trọng lượng trung bình của cá tra thí nghiệm (g/con) qua các lần cân

Từ Bảng 3, chúng tôi nhận thấy tỉ lệ sống của cá ở các nghiệm thức không có sự khác biệt về mặt thống kê ($P > 0,05$). Tuy nhiên, tăng trọng của cá ở nghiệm thức bổ sung 1,5% DCP và nghiệm thức bổ sung phytase lại cao hơn có ý nghĩa ($P < 0,05$) so với tăng trọng của cá ở nghiệm thức đối chứng, 0,5% DCP và 1% DCP. Tăng trọng của cá đạt cao nhất ở nghiệm thức bổ sung phytase (1500 FTU/kg). Từ kết quả này, chúng ta có thể nhận thấy việc bổ sung phytase có tác dụng cải thiện tốc độ tăng trưởng của cá tra.

Bảng 3. Tăng trọng (WG), tốc độ tăng trưởng ngày (SGR) và tỉ lệ sống (SR) của cá thí nghiệm

Nghiệm thức	WG (%)	SGR (%/ngày)	SR (%)
ĐC	282,36 ± 23,68 ^c	1,60 ± 0,08 ^c	99,58 ± 0,76 ^a
DCP0,5	359,51 ± 21,11 ^{bc}	1,83 ± 0,06 ^{bc}	97,50 ± 1,22 ^a
DCP1,0	342,74 ± 21,70 ^{bc}	1,78 ± 0,05 ^{bc}	98,75 ± 0,88 ^a
DCP1,5	413,75 ± 15,45 ^{ab}	1,97 ± 0,04 ^{ab}	98,33 ± 1,09 ^a
750 FTU	413,59 ± 14,66 ^{ab}	1,97 ± 0,03 ^{ab}	100,00 ± 0,63 ^a
1500 FTU	459,71 ± 25,40 ^a	2,07 ± 0,06 ^a	99,58 ± 0,42 ^a

Số liệu trong bảng là giá trị trung bình của 8 lần lặp lại ± SE. Giá trị trong cùng một cột có chỉ số trên khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$).

Hiệu quả sử dụng thức ăn của cá tra thí nghiệm

Hiệu quả sử dụng thức ăn của cá thí nghiệm được thể hiện rõ qua các chỉ tiêu: hệ số biến đổi thức ăn (FCR), hiệu quả sử dụng protein (PER), lượng thức ăn sử dụng (FI), hiệu quả tích lũy phospho (PHR) và hiệu quả tích lũy protein (PR). Kết quả được trình bày ở Bảng 4.

Lượng thức ăn sử dụng hàng ngày của cá tra ở sáu nghiệm thức không có sự khác biệt về mặt thống kê ($P > 0,05$). Tuy nhiên, FCR của cá ở nghiệm thức bổ sung DCP và phytase (Cibenza-phos) là thấp hơn có ý nghĩa ($P < 0,05$) so với FCR của cá ở nghiệm thức đối chứng và FCR của cá đạt giá trị thấp nhất ở nghiệm thức bổ sung phytase 1500 FTU/kg thức ăn. PER và PR của cá ở nghiệm thức bổ sung DCP và phytase (Cibenza-phos) là cao hơn có ý nghĩa ($P < 0,05$) so với PER và PR của cá ở nghiệm thức đối chứng và PER, PR đạt giá trị cao nhất ở nghiệm thức bổ sung phytase 1500 FTU/kg thức ăn. Ngoài ra, PHR của cá tra ở các nghiệm thức bổ sung enzyme phytase đạt giá trị cao hơn có ý nghĩa ($P < 0,05$) so với PHR của cá ở nghiệm thức đối chứng và các nghiệm thức bổ sung DCP.

Bảng 4. Hiệu quả sử dụng thức ăn của cá tra thí nghiệm

Nghiệm thức	FCR	PER	FI (%/TL cá/ngày)	PHR (%)	PR (%)
ĐC	1,55 ± 0,06 ^a	1,87 ± 0,07 ^c	2,13 ± 0,02 ^a	30,09 ± 1,24 ^c	26,94 ± 1,01 ^c
DCP0,5	1,40 ± 0,03 ^b	2,11 ± 0,05 ^b	2,12 ± 0,01 ^a	35,46 ± 1,80 ^c	31,07 ± 0,78 ^b
DCP1,0	1,37 ± 0,02 ^{bc}	2,14 ± 0,03 ^{ab}	2,06 ± 0,03 ^a	34,47 ± 0,80 ^c	31,47 ± 0,55 ^b
DCP1,5	1,30 ± 0,03 ^{bc}	2,27 ± 0,04 ^{ab}	2,09 ± 0,02 ^a	36,11 ± 0,78 ^c	33,54 ± 0,70 ^{ab}
750 FTU	1,29 ± 0,03 ^{bc}	2,29 ± 0,06 ^{ab}	2,08 ± 0,03 ^a	46,14 ± 2,02 ^b	33,94 ± 0,95 ^{ab}
1500 FTU	1,24 ± 0,03 ^c	2,35 ± 0,05 ^a	2,06 ± 0,04 ^a	52,53 ± 1,50 ^a	35,49 ± 0,85 ^a

Số liệu trong bảng là giá trị trung bình của 8 lần lặp lại ± SE. Giá trị trong cùng một cột có chỉ số trên khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$).

Thành phần sinh hóa của cá sau thí nghiệm

Kết quả về thành phần sinh hóa của cá thí nghiệm được trình bày ở Bảng 5. Hàm lượng khoáng và phospho của cá đạt giá trị cao nhất ở hai nghiệm thức bổ sung 1,0% và 1,5% DCP và cao hơn có ý nghĩa ($P < 0,05$) so với nghiệm thức đối chứng. Hàm lượng protein thô của cá ở các nghiệm thức bổ sung DCP và phytase khác biệt không có ý nghĩa ($P > 0,05$) so với hàm lượng protein của cá ở nghiệm thức đối chứng.

Bảng 5. Thành phần sinh hóa nguyên con của cá trước và sau thí nghiệm

Nghiệm thức	Độ ẩm (%)	Khoáng (% DM)	Chất béo (% DM)	Phospho (% DM)	Protein thô (% DM)
Ban đầu	76,38	13,51	23,24	2,33	63,00
ĐC	73,23 ± 0,57	8,63 ± 0,39 ^{bc}	35,87 ± 1,24 ^{ab}	1,52 ± 0,06 ^b	54,43 ± 1,23 ^{ab}
DCP0,5	71,84 ± 0,46	8,53 ± 0,24 ^c	37,93 ± 0,93 ^a	1,55 ± 0,04 ^b	52,57 ± 0,86 ^b
DCP1,0	73,75 ± 0,45	9,95 ± 0,21 ^a	32,24 ± 0,80 ^b	1,75 ± 0,03 ^a	56,25 ± 0,82 ^a
DCP1,5	73,47 ± 0,26	10,03 ± 0,14 ^a	32,31 ± 0,78 ^b	1,80 ± 0,02 ^a	55,81 ± 0,53 ^{ab}
750 FTU	73,07 ± 0,38	9,66 ± 0,24 ^{ab}	34,04 ± 1,03 ^{ab}	1,68 ± 0,05 ^{ab}	55,09 ± 0,67 ^{ab}
1500FTU	71,66 ± 0,47	9,38 ± 0,17 ^{abc}	36,09 ± 1,32 ^{ab}	1,67 ± 0,04 ^{ab}	53,31 ± 0,99 ^{ab}

Số liệu trong bảng là giá trị trung bình của 8 lần lặp lại ± SE. Giá trị trong cùng một cột có chỉ số trên khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$). % DM là phần trăm theo trọng lượng khô.

Thí nghiệm 2 (Đo độ tiêu hóa)

Thành phần sinh hóa của thức ăn và phân cá trong thí nghiệm

Kết quả phân tích thành phần sinh hóa của thức ăn và phân cá trong thí nghiệm được thể hiện ở Bảng 6 và Bảng 7.

Bảng 6. Thành phần sinh hóa của thức ăn trong thí nghiệm đo độ tiêu hóa (% vật chất khô)

Thành phần	ĐC	DCP0,5	DCP1,0	DCP1,5	750 FTU	1500 FTU
Vật chất khô (%)	95,65	95,56	95,41	95,20	95,55	96,02
Protein thô (% DM)	34,16	34,22	34,33	34,30	34,21	34,11
Khoáng (% DM)	7,00	7,40	7,70	8,04	7,05	7,05
Chất xơ (% DM)	4,99	5,27	5,10	4,88	4,99	5,08
Chất béo (% DM)	6,41	6,54	6,67	6,28	6,47	6,58
Phospho (% DM)	0,78	0,76	0,96	1,05	0,78	0,76
Cr ₂ O ₃ (% DM)	0,74	0,76	0,97	0,81	0,74	0,76

Bảng 7. Thành phần sinh hóa của phân cá trong thí nghiệm đo độ tiêu hóa

Nghiệm thức	Vật chất khô (%)	Protein (% DM)	Phospho (% DM)	Cr ₂ O ₃ (% DM)
ĐC	12,52 ± 0,85	23,86 ± 1,86	1,50 ± 0,09	3,27 ± 0,22
DCP 0,5	12,10 ± 0,57	24,74 ± 0,88	1,28 ± 0,15	4,33 ± 0,39
DCP 1,0	13,91 ± 0,65	21,60 ± 2,39	1,05 ± 0,02	4,12 ± 0,43
DCP 1,5	12,19 ± 0,39	22,17 ± 0,76	1,29 ± 0,21	3,70 ± 0,21
750 FTU	12,28 ± 0,59	22,16 ± 1,65	1,38 ± 0,16	5,06 ± 1,24
1500 FTU	12,30 ± 0,20	22,90 ± 3,75	1,17 ± 0,08	4,81 ± 0,55

Số liệu trong bảng là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại ± SE. Tính theo % vật chất khô (DM)

Độ tiêu hóa thức ăn của cá tra thí nghiệm

Kết quả về độ tiêu hóa thức ăn của cá tra thí nghiệm được thể hiện ở Bảng 8. Độ tiêu hóa vật chất khô và protein có xu hướng đạt giá trị cao hơn ở nghiệm thức có bổ sung enzyme phytase. Độ tiêu hóa phospho của cá ở nghiệm thức bổ sung phytase (1500 FTU/kg thức ăn) cao hơn có ý nghĩa ($P < 0,05$) so với độ tiêu hóa phospho của cá ở nghiệm thức đối chứng.

Bảng 8. Độ tiêu hóa (ADC) vật chất khô, phospho và protein của cá

Nghiệm thức	Vật chất khô (%)	Phospho (%)	Protein (%)
ĐC	77,13 ± 1,55 ^a	55,52 ± 5,81 ^b	84,01 ± 1,75 ^a
DCP0,5	82,06 ± 1,59 ^a	70,24 ± 2,58 ^{ab}	86,97 ± 1,48 ^a
DCP1,0	75,97 ± 2,40 ^a	73,64 ± 2,57 ^{ab}	84,86 ± 2,24 ^a
DCP1,5	78,02 ± 1,28 ^a	72,95 ± 4,55 ^{ab}	85,83 ± 0,60 ^a
750 FTU	83,67 ± 3,39 ^a	72,31 ± 4,01 ^{ab}	89,18 ± 2,88 ^a
1500 FTU	83,72 ± 2,01 ^a	74,92 ± 3,71 ^a	88,82 ± 2,65 ^a

Số liệu trong bảng là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại ± SE. Giá trị trong cùng một cột có chỉ số trên khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$).

THẢO LUẬN

Phospho là một thành phần quan trọng của nucleic acid và màng tế bào, là một thành phần chính cấu tạo lên xương và tham gia trực tiếp vào các phản ứng năng lượng của tế bào (NRC, 1993). Từ kết quả của thí nghiệm cho thấy việc bổ sung phytase ở nồng độ 750 FTU/kg và 1500 FTU/kg thức ăn đã cải thiện tốc độ tăng trưởng của cá tra khi cho cá ăn với thức ăn có hàm lượng cao protein từ thực vật. Tốc độ tăng trưởng cao hơn của cá được cho ăn

với thức ăn có hàm lượng cao protein thực vật kết hợp với bổ sung phytase chứng tỏ thức ăn đã đáp ứng được nhu cầu về phospho của cá thí nghiệm mà không cần nguồn phospho bổ sung từ DCP. Nhiều nghiên cứu gần đây cho thấy, phytase có thể cải thiện tốc độ tăng trưởng của nhiều loài cá như cá da trơn Mỹ (Jackson và ctv., 1996), cá trê phi (Van Weerd và ctv., 1999; Nwana và ctv., 2005), *Pangasius pangasius* (Debnath và ctv., 2005^a), cá basa (Trần N.T. Kim, 2005), cá rô phi (Phromkunthong và Gabaudan, 2006; Cao và ctv., 2008; Abo-state và ctv., 2009), cá chép (Phromkunthong và ctv., 2010; Liu và ctv., 2011). Tuy nhiên, cũng có một số tác giả cho rằng việc bổ sung phytase vào thức ăn không có ảnh hưởng tới tăng trọng của một số loài cá khi cho cá ăn với thức ăn có hàm lượng cao protein thực vật như cá hồi vân (Wang và ctv., 2009); cá bơn Nhật Bản (Pham và ctv., 2008); cá da trơn Mỹ (Yan và ctv., 2002). Sự khác biệt về một số kết quả này có thể liên quan tới sự khác biệt của các thành phần trong thức ăn, điều kiện nuôi khác nhau, các loài khác nhau, loại và đặc tính của enzyme phytase bổ sung vào thức ăn. Do phytase được sản xuất từ nhiều nguồn khác nhau như nấm, vi khuẩn, nấm men sẽ có những đặc tính khác nhau. Ngoài ra, hoạt tính của phytase còn bị ảnh hưởng của một số yếu tố khác như pH, nhiệt độ, chất bổ sung vào thức ăn, tỷ lệ giữa Ca và P và phương pháp chế biến thức ăn. Theo Cao và ctv. (2007), phytase thể hiện hiệu quả khác nhau đối với các loài cá khác nhau bởi vì sự khác biệt trong hệ thống tiêu hóa của chúng. Theo Fu và Sun (2005), phytase trung tính có hiệu quả tốt hơn so với phytase axit khi bổ sung vào thức ăn cho cá chép (trích dẫn bởi Cao và ctv., 2007). Bổ sung phytase trung tính có thể thay thế 50% lượng monocalcium phosphate vào thức ăn cho cá chép (Liu và ctv., 2011). Kết hợp axit citric ở nồng độ thấp với phytase đã làm tăng hiệu quả tích cực của phytase (Phromkunthong và ctv., 2010). Từ kết quả nghiên cứu của thí nghiệm này đã cho thấy hoạt tính của enzyme phytase (Cibenza – phos) đã được phát huy tốt trong hệ thống tiêu hóa của cá tra. Vì vậy, việc bổ sung enzyme phytase đã cải thiện tốc độ tăng trưởng của cá tra và bổ sung phytase với nồng độ 1500 FTU/kg thức ăn sẽ cho hiệu quả tốt nhất khi cho cá ăn thức ăn có hàm lượng cao protein từ thực vật.

Hiệu quả tích cực của phytase cũng được làm rõ hơn thông qua hiệu quả sử dụng thức ăn và phospho của cá khi được cho ăn với các khẩu phần thức ăn của thí nghiệm. Hệ số chuyển đổi thức ăn (FCR) của cá tra cho ăn với thức ăn có bổ sung DCP và phytase thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng ($P < 0,05$). Kết quả này tương tự với một số nghiên cứu trước trên cá da trơn Mỹ (Jackson và ctv., 1996), cá trê lai (Phromkunthong và ctv., 2005), cá basa (Trần N.T. Kim, 2005), cá rô phi (Cao và ctv., 2008; Abo-state và ctv., 2009), cá chép (Phromkunthong và ctv., 2010). Theo Trần N.T. Kim (2005), việc bổ sung phytase vào thức ăn đã cải thiện đáng kể FCR của cá basa và cũng đạt giá trị thấp nhất khi bổ sung phytase với nồng độ 1500 FTU/kg thức ăn. Việc bổ sung phytase ở nồng độ 500 FTU/kg thức ăn cũng như 0,2% phospho đã đem lại hiệu quả cao nhất trong việc cải thiện FCR của cá trê lai (Phromkunthong và ctv., 2005). Jackson và ctv. (1996) đã báo cáo rằng FCR của cá da trơn Mỹ khi được cho ăn với thức ăn có bổ sung phytase thấp hơn so với FCR của cá được cho ăn với thức ăn không bổ sung phytase.

Theo Cao và ctv. (2008), Phospho tồn tại dưới dạng phytate không tiêu hóa được đã được chuyển hóa thành Phospho hữu dụng bằng enzyme phytase và hiệu quả sử dụng phospho đã được cải thiện. Điều này cũng đã được chứng minh ở cá chép, bổ sung phytase ở nồng độ 500 và 1000 FTU/kg thức ăn của cá chép khi cho cá ăn thức ăn có hàm lượng cao bột đậu nành đã giải phóng 20-40% Phospho ra khỏi phức hệ phytate (Schafer và ctv., 1995) và ở cá diếc có thể giải phóng 60-80% phospho (Yu và Wang, 2000). Nghiên cứu này đã cho thấy hiệu quả hấp thu phospho (PHR) của cá tra khi cho cá ăn thức ăn có hàm lượng cao protein từ thực vật kết hợp với bổ sung enzyme phytase cao hơn so với PHR của cá cho ăn với thức ăn của các nghiệm thức khác. Kết quả này cũng tương tự với kết quả của nhiều nghiên cứu đã được tiến hành trên nhiều loài cá khác nhau như cá da trơn Mỹ (Jackson và ctv., 1996), cá trê phi (Van Weerd và ctv., 1999), cá *Pangasius pangasius* (Debnath và ctv. 2005^c), cá rô phi

(Tudkaew và ctv., 2008), cá chép (Schafer và ctv., 1995). Việc bổ sung phytase vào thức ăn cho cá *P. pangasius* đã cải thiện khả năng hấp thụ và sử dụng một số yếu tố chất khoáng, đặc biệt là Phospho và Calci (Debnath và ctv., 2005c). Bổ sung phytase vào thức ăn đã cải thiện đáng kể độ tiêu hóa và hiệu quả hấp thụ phospho của cá trê phi (Van Weerd và ctv., 1999). Theo Jackson và ctv. (1996), bổ sung phytase có nguồn gốc từ vi sinh vật đã cải thiện được hiệu quả sử dụng của phospho khi bổ sung vào thức ăn cho cá hồi. Tudkaew và ctv. (2008) đã báo rằng hiệu quả hấp thụ phospho của cá rô phi hồng chuyên đổi giới tính khi cho cá ăn thức ăn có bổ sung phytase cao hơn so với cá ở nghiệm thức đối chứng, điều này chứng tỏ hiệu quả sử dụng phospho tổng số đã được cải thiện.

Bổ sung phytase vào thức ăn đã có thể cải thiện hiệu quả sử dụng protein của nhiều loài cá. Điều này tùy thuộc vào loài, đặc điểm của nguyên liệu làm thức ăn, cấu trúc hệ tiêu hóa của loài và đặc điểm của enzyme phytase (Baruah và ctv., 2004). Trong thí nghiệm này, hiệu quả sử dụng protein (PER) và hiệu quả hấp thụ protein (PR) của cá cho ăn với thức ăn có bổ sung DCP hoặc phytase đạt giá trị cao hơn có ý nghĩa ($P < 0,05$) so với PER và PR của cá cho ăn thức ăn của nghiệm thức đối chứng. Kết quả này cũng tương tự với nhiều nghiên cứu trước đó trên cá *Pangasius pangasius* (Debnath và ctv., 2005^a), cá trê lai (Phromkunthong và ctv., 2005), cá basa (Trần N.T. Kim, 2005), cá rô phi (Phromkunthong và Gabaudan, 2006), cá chép (Phromkunthong và ctv., 2010). Trần N.T. Kim (2005) đã báo cáo rằng cá basa ăn thức ăn có bổ sung phytase ở nồng độ 1500 FTU/kg thức ăn có giá trị PER và PR cao nhất và cao hơn có ý nghĩa so với PER và PR của cá ở nghiệm thức đối chứng. PER của cá *P. pangasius* được cho ăn với thức ăn có bổ sung phytase (500 FTU/kg thức ăn) đạt giá trị cao nhất (Debnath và ctv., 2005^a). Theo Phromkunthong và ctv. (2005), bổ sung phytase ở nồng độ 500 FTU/kg thức ăn cũng như 0,2% phospho đã giúp cải thiện hiệu quả nhất về PER và PR của cá trê lai. PER của cá rô phi chuyên đổi giới tính cho ăn với thức ăn có bổ sung phytase ở nồng độ 4000 FTU/kg thức ăn và DCP tại hai nồng độ 0,2% và 0,3% là cao hơn so với PER của cá cho ăn với thức ăn bổ sung phytase ở các nồng độ thấp hơn hoặc không bổ sung phytase (Phromkunthong và Gabaudan, 2006). Bổ sung phytase kết hợp với citric acid đã cải thiện PER và PR của cá chép khi cho cá ăn với thức ăn có hàm lượng protein cao thực vật (Phromkunthong và ctv., 2010). Kết quả của nghiên cứu này đã cho thấy việc bổ sung 1,5% DCP hoặc phytase (750 FTU/kg và 1500 FTU/kg thức ăn) đã cải thiện hiệu quả sử dụng thức ăn và phospho của cá tra khi cho cá ăn thức ăn có hàm lượng cao protein thực vật. Đặc biệt, bổ sung phytase với nồng độ 1500 FTU/kg thức ăn đã đem lại hiệu quả cao nhất.

Nghiên cứu này đã cho thấy hàm lượng khoáng và phospho của cá được cho ăn với thức ăn có bổ sung 1% DCP và 1,5% DCP cao hơn có ý nghĩa so với cá ở nghiệm thức đối chứng ($P < 0,05$). Hàm lượng khoáng và phospho của cá ăn thức ăn có bổ sung phytase cũng biểu hiện xu hướng cao hơn so với cá ở nghiệm thức đối chứng. Kết quả này có thể là do hàm lượng phospho hữu dụng trong thức ăn cao từ việc bổ sung DCP và phytase vào thức ăn, do phytase có khả năng thủy phân phytate giải phóng phospho dẫn tới làm tăng tính hữu dụng của phospho. Kết quả về thành phần sinh hóa của cơ thể cá trong thí nghiệm này cũng tương tự với kết quả nghiên cứu trên cá basa. Trần N.T. Kim (2005) đã báo cáo rằng không có sự khác biệt về hàm lượng khoáng và phospho trong cơ thể cá basa khi cho cá ăn thức ăn có bổ sung DCP, phytase và nghiệm thức đối chứng. Tuy nhiên, chỉ tiêu này cũng có xu hướng cao hơn ở nghiệm thức bổ sung phytase. Từ kết quả của thí nghiệm này đã cho thấy, việc bổ sung phytase hoặc DCP có thể làm tăng hàm lượng khoáng và phospho trong cơ thể cá tra.

Độ tiêu hóa (ADC) cũng là một chỉ tiêu chính để đánh giá ảnh hưởng của phytase lên hiệu quả sử dụng thức ăn của cá tra. Phytate-P được chuyển thành P hữu dụng bởi phytase và khi tồn tại ở dạng này Phospho có thể được sử dụng trực tiếp bởi động vật thủy sản. Vì vậy, hiệu quả sử dụng phospho được cải thiện đáng kể bởi phytase và ADC của phospho được xem là một trong những chỉ tiêu nhạy cảm nhất để đánh giá ảnh hưởng của phytase lên việc sử

dụng P. Kết quả đo độ tiêu hóa của nghiên cứu này đã cho thấy cá tra cho ăn với thức ăn có bổ sung phytase (1500 FTU/kg thức ăn) có độ tiêu hóa phospho cao hơn có ý nghĩa ($P < 0,05$) so với cá cho ăn thức ăn của nghiệm thức đối chứng. Kết quả này cũng tương tự với nhiều nghiên cứu trên cá basa (Trần N.T. Kim, 2005), cá *Pangasius pangasius* (Debnath và ctv., 2005^c), cá rô phi (Cao và ctv., 2008), cá bơn Nhật Bản (Pham và ctv., 2008). Trần N.T. Kim (2005) đã báo cáo rằng việc bổ sung phytase vào thức ăn đã cải thiện độ tiêu hóa phospho của cá basa. Theo Debnath và ctv. (2005^c), bổ sung phytase đã làm gia tăng hiệu quả hấp thu phospho ở cá *P. pangasius*. Độ tiêu hóa phospho của cá *P. pangasius* đã được cải thiện từ 55,9% ở nghiệm thức không bổ sung phytase lên 72,7% ở nghiệm thức bổ sung phytase (350 FTU/kg thức ăn). ADC protein và phospho của cá bơn Nhật Bản cho ăn với thức ăn có bổ sung phytase đạt giá trị cao hơn so với nghiệm thức đối chứng (Pham và ctv., 2008). Độ tiêu hóa phospho của cá rô phi đã được cải thiện khi dùng phytase để xử lý nguyên liệu thô trước khi chế biến thức ăn (Cao và ctv., 2008). Từ kết quả về độ tiêu hóa phospho của thí nghiệm này có thể kết luận rằng việc bổ sung phytase vào thức ăn có khả năng làm tăng độ tiêu hóa phospho của cá tra khi cho cá ăn với thức ăn có hàm lượng cao protein từ thực vật.

Độ tiêu hóa vật chất khô và protein của cá cho ăn thức ăn có bổ sung phytase đã thể hiện xu hướng cao hơn so với cá ở nghiệm thức không bổ sung phytase. Kết quả này chứng tỏ rằng phytase có thể làm tăng hiệu quả sử dụng của protein và các acid amin. Thực vậy, việc bổ sung phytase vào thức ăn cho cá có những thay đổi khác nhau về ADC của protein tùy theo những loài cá khác nhau (Cao và ctv., 2007) bởi vì đặc tính khác nhau của các nguyên liệu làm thức ăn và cấu trúc khác nhau của hệ thống tiêu hóa (Baruah và ctv., 2004). Theo Yan và ctv. (2002), việc bổ sung phytase ở nồng độ 8000 FTU/kg thức ăn đã không cải thiện độ tiêu hóa protein của cá da trơn Mỹ khi cho cá ăn với thức ăn có nguồn gốc protein hoàn toàn từ thực vật. Ngược lại, một số nghiên cứu khác đã báo cáo rằng việc bổ sung phytase vào thức ăn có hàm lượng cao protein từ thực vật đã cải thiện được độ tiêu hóa protein như ở cá *P. pangasius* (Debnath và ctv., 2005^a), cá bơn Nhật Bản (Pham và ctv., 2008). Từ kết quả về hiệu quả sử dụng và hấp thu protein, độ tiêu hóa protein của thí nghiệm này đã cho thấy việc bổ sung phytase vào thức ăn cho cá tra có thể cải thiện được hiệu quả sử dụng protein của cá tra khi cho cá ăn với thức ăn có hàm lượng cao protein từ thực vật.

KẾT LUẬN

Bổ sung Dicalci-phosphate (1,0 và 1,5%) và bổ sung enzyme phytase ở nồng độ 750 FTU/kg và 1500 FTU/kg thức ăn không ảnh hưởng đến tỷ lệ sống nhưng lại giúp cải thiện tốc độ tăng trưởng của cá tra, cải thiện hiệu quả sử dụng thức ăn, hiệu quả sử dụng protein và phospho của cá tra. Khi đo độ tiêu hóa cho thấy bổ sung phytase giúp cải thiện khả năng tiêu hóa phospho của cá tra và đạt hiệu quả cao nhất ở nồng độ bổ sung phytase là 1500 FTU/kg thức ăn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt

Lê Thanh Hùng, 2008. *Thức ăn và dinh dưỡng thủy sản*. Nhà xuất bản Nông Nghiệp TP. HCM, 299 trang.

Phạm Văn Khánh, 2000. *Kỹ thuật nuôi cá tra và basa trong bè*. Viện nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản 2. Nhà xuất bản Nông Nghiệp TP. HCM, 40 trang.

Trần Ngọc Thiên Kim, 2005. *Khảo sát ảnh hưởng của phytase lên sự tăng trưởng và khả năng tiêu hoá của cá basa (Pangasius bocourti)*. Luận văn tốt nghiệp kỹ sư thủy sản, Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam.

Tiếng Anh

- Abo-state H.A., Tahoun A.M. and Hammouda Y.A., 2009. Effect of replacement of soybean meal by DDGS combined with commercial phytase on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings growth performance and feed utilization. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.* 5 (4): 473-479.
- Baruah K., Sahu N.P., Pal A.K. & Debnath D., 2004. Dietary Phytase: An ideal approach for a cost effective and low-polluting aquafeed. *NAGA, World Fish Center Quarterly* 27: 15-19.
- Cao L., Wang W., Yang C., Yang Y., Diana J., Yakupitiyage A., Luo Z. & Li D., 2007. Application of microbial phytase in fish feed. *Enzyme And Microbial Technology* 40 (4): 497-507.
- Cao L., Yang Y., Wang W.M., Yakupitiyage A., Yuan D.R. & Diana J.S., 2008. Effects of pretreatment with microbial phytase on phosphorous utilization and growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Nutrition* 14: 99-109.
- Debnath D., Pal A.K. & Sahu N.P., 2005^a. Effect of dietary microbial phytase supplementation on growth and nutrient digestibility of *Pangasius pangasius* (Hamilton) fingerlings. *Aquacult. Res.* 36: 180-187.
- Debnath D., Sahu N.P., Pal A.K., Baruah K., Yengkokpam S. & Mukherjee S.C., 2005^b. Present Scenario and Future Prospects of Phytase in Aquafeed. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 18: 1800-1812.
- Debnath D., Sahu N.P., Pal A.K., Jain K.K., Yengkokpam S. & Mukherjee S.C., 2005^c. Mineral status of *Pangasius pangasius* (Hamilton) fingerlings in relation to supplemental phytase: absorption, whole-body and bone mineral content. *Aquaculture research* 36: 326-335.
- Francis G., Makkar H.P.S. & Becker K., 2001. Antinutritional factors present in plant - derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture* 199: 197-227.
- Jackson L.S., Li M.H. & Robinson E.H., 1996. Used of microbial phytase in channel catfish *Ictalurus punctatus* diets to improve utilization of phytate phosphorus. *J. World Aquaculture Soc.* 27: 309-313.
- Liu L.W., Su J. & Luo Y., 2011. Effect of partial replacement of dietary monocalcium phosphate with neutral phytase on growth performance and phosphorus digestibility in gibel carp, *Carassius auratus gibelio* (Bloch). *Aquaculture Research*, in press.
- NRC (National Research Council), 1993. *Nutrient Requirement of fish*. National Academy Press, Washington, DC, USA.
- Nwanna L.C., Fagbenro O.A. & Adeyo A.O., 2005. Effects of different treatments of dietary soybean meal and phytase on the growth and mineral deposition in African catfish *Clarias gariepinus*. *Journal Of Animal And Veterinary Advance* 4: 980-987.
- Pham M.A., Lee K.J., Dang T.M., Lim S.J., Ko G.Y., Eo J. & Oh D.H., 2008. Improved Apparent Digestibility Coefficient of Protein and Phosphorus by Supplementation of Microbial Phytase in Diets Containing Cottonseed and Soybean Meal for Juvenile Olive Flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 21: 1367-1375.
- Phromkunthong W. and Gabaudan J., 2006. Used of microbial phytase to replace inorganic phosphorus in sex-reversed red tilapia: 1 dose response. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 28 (4): 731-743.
- Phromkunthong W., Musakopat A. & Nakachart D., 2005. Effects of phytase on enhancement of phosphorus utilisation from plant materials in hybrid catfish [*Clarias macrocephalus*

- (Guenther) x *Clarias gariepinus* (Burchell)]. *Songklanakarinn Journal Science and Technology* 27: 171-185.
- Phromkunthong W., Nuntapong N. & Gabaudan J., 2010. Interaction of phytase RONOZYME®P(L) and citric acid on the utilization of phosphorus by common carp (*Cyprinus carpio*). *Songklanakarinn J. Sci. Technol.* 32: 547-554.
- Schafer A., Koppe W.N., Megerburgdorff K.H. & Gunther K.D., 1995. Effects of a microbial phytase on the utilization of native phosphorus by carp in a diet based on soybean meal. *Water Sci. Technol.* 31: 149-155.
- Schreck C.B. & Moyle P.B., 1990. *Methods for fish biology*. American Fisheries Society Bethesda, Maryland, USA, pp 645–649.
- Tacon A.G.J. & Metian M., 2008. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture* 285: 146–158.
- Tudkaew J., Gabaudan J. and Phromkunthong W., 2008. The supplementation of phytase RONOZYME P on the growth and the utilisation of phosphorus by sex-reversed red tilapia (*Oreochromis niloticus* Linn.). *Songklanakarinn J. Sci. Technol.* 30 (1): 17-24.
- Van Weerd J.H., Khalaf K.H., Aartsen E.J. & Tijssen P.A., 1999. Balance trials with African catfish *Clarias gariepinus* fed phytase-treated soybean meal-based diets. *Aquaculture Nutrition* 5: 135–142.
- Wang F., Yang Y., Han Z., Dong H., Yang C. & Zou Z., 2009. Effects of phytase pretreatment of soybean meal and phytase-sprayed in diets on growth, apparent digestibility coefficient and nutrient excretion of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Aquacult Int.* 17: 143–157.
- Yan W., Reigh R.C. & Xu Z., 2002. Effects of Fungal Phytase on Utilization of Dietary Protein and Minerals, and Dephosphorylation of Phytic Acid in the Alimentary Tract of Channel Catfish *Ictalurus punctatus* fed an All-Plant-Protein Diet. *Journal of the World Aquaculture Society* 33: 10-22.
- Yu F.N. & Wang D.Z., 2000. The effects of supplemental phytase on growth and the utilization of phosphorus by crucian carp *Carassius carassius*. *J. Fish Sci. Chin.* 7: 106–109.