

ĐÁNH GIÁ ẢNH HƯỞNG CỦA NẤM MEN (*Kluyveromyces marxianus*) ĐẾN TỐC ĐỘ TĂNG TRƯỞNG, TỶ LỆ SỐNG, HIỆU QUẢ SỬ DỤNG THỨC ĂN VÀ KHẢ NĂNG MIỄN DỊCH CỦA CÁ RÔ PHI VÀN (*Oreochromis niloticus*) GIỐNG

EVALUATION OF DIETARY YEASTS *Kluyveromyces marxianus* ON GROWTH PERFORMANCE, FEED UTILIZATION, IMMUNE RESPONSES AND DISEASE RESISTANCES OF JUVENILE TILAPIA (*Oreochromis niloticus*)

Nguyễn Thị Thủy¹; Nguyễn Như Trí² và Phạm Minh Anh³

¹Khoa Sinh học, Trường ĐH Đồng Tháp; ²Khoa Thủy Sản, Trường ĐH Nông Lâm TP.HCM;

³Trung tâm nghiên cứu Thủy sản Novus

ABSTRACT

This study was carried out to evaluate the effects of yeasts, *K. marxianus* on growth performance, feed utilization, immune responses and disease resistances of juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fish (initial body weight, 6.15g ± 0.10) were randomly distributed into 30 80-L tanks at a stocking density of 20 fish/tank. One of the experimental diets containing 0.0, 0.03, 0.125, 0.5, 2.0% *K. marxianus* or 2.0% *Saccharomyces cerevisiae* was fed to 5 groups of fish to apparent satiation for 10 weeks. At the end of the feeding trial, 10 fish/tank (30 fish/treatment) were challenged with pathogenic *Aeromonas hydrophila* by oral administration. Mortality was observed twice per day, for 21 days. Although, no significant differences were observed in growth performance and feed utilization among experimental groups, but a trend of higher growth rate was registered in juvenile tilapia fed the yeasts supplemented diets. Non-specific immune responses including serum lysozyme, liver SOD activities of fish were not affected by the yeasts. Cumulative survival of fish post-challenged with *A. hydrophila* was significantly higher ($P < 0.05$) in yeasts (*K. marxianus* or *S. cerevisiae*) treatments. The present results indicate that dietary supplementation of *K. marxianus* could improve disease resistances of juvenile tilapia grown from 6.15 to 90 g.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá rô phi có tốc độ tăng trưởng nhanh, thịt ngon và khả năng thích nghi tốt với các điều kiện môi trường nuôi. Cá rô phi được nuôi ở hơn 100 quốc gia (El-Sayed, 2006). Sản lượng cá rô phi tăng từ 233.802 tấn (1990) lên 2,4 triệu tấn vào năm 2008 (FAO, 2010). Ở Việt Nam, cá rô phi được nuôi quanh năm và phổ biến trong cả nước.

Bệnh do vi khuẩn trên cá gây thiệt hại lớn về kinh tế (Kohler, 2000). *Aeromonas hydrophila* là tác nhân gây bệnh trên nhiều loài cá như cá rô phi, trắm cỏ, trê, bống tượng... Loài vi khuẩn này làm giảm tỷ lệ sống và tốc độ tăng trưởng của cá (Đỗ Thị Hòa và ctv., 2004). Để trị bệnh do vi khuẩn, thuốc kháng sinh thường được sử dụng. Tuy nhiên, việc sử dụng kháng sinh quá nhiều có thể dẫn đến sự tồn dư trong thịt cá và kháng thuốc của vi khuẩn (Teuber, 2001) và gây ô nhiễm môi trường nuôi.

Do đó, nâng cao tốc độ tăng trưởng và khả năng đề kháng bệnh của đối tượng nuôi là nhu cầu cấp thiết. Nhiều nghiên cứu đã cho thấy, một số thành phần bổ sung trong thức ăn có thể thúc đẩy tăng trưởng và duy trì sức khỏe cho cá (Li và Gatlin, 2004). Probiotic là một thành phần có vai trò như vậy.

Nấm men đã được nghiên cứu nhiều cho động vật thủy sản như cá hồi (Raa và ctv., 1992), cá rô phi (Abdel – Tawwab và ctv., 2008; Lara – Flores, 2003; Reque và ctv., 2010).

Tuy nhiên, các nghiên cứu tập trung chủ yếu vào loài *Saccharomyces cerevisiae* và *Debaryomyces hansenii*. *Kluyveromyces marxianus* được đánh giá là một probiotic tiềm năng đối với động vật nuôi (Fonseca và ctv., 2008). Bottona và ctv. (2005) đã báo cáo rằng *K. marxianus* có ảnh hưởng tốt đến tăng trưởng trên heo con cai sữa và ngựa. Nhưng chưa có nghiên cứu về tác động của chúng đối với động vật thủy sản. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của của nấm men (*K. marxianus*) đến tốc độ tăng trưởng, tỷ lệ sống, hiệu quả sử dụng thức ăn và khả năng miễn dịch của cá rô phi vằn (*O. niloticus*) giống.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Cá thí nghiệm

Cá rô phi (*O. niloticus*) trọng lượng trung bình $6,15 \pm 0,1g$ được sử dụng trong nghiên cứu này, có nguồn gốc từ trại cá giống Phú Hữu, quận 9, Tp.HCM. Cá được nuôi trong các bể composite 0,5 m³ bằng thức ăn công nghiệp trong 2 tuần để kiểm soát bệnh. Sau đó, tuyển chọn những cá khỏe, không dị hình, đồng đều để bố trí vào hệ thống thí nghiệm.

Thức ăn thí nghiệm

Sáu nghiệm thức thức ăn thí nghiệm được phối trộn có hàm lượng protein (32%) và chất béo (6%). Nghiệm thức thức ăn 1 không bổ sung nấm men được coi là nghiệm thức đối chứng (1). Nghiệm thức thức ăn 2, 3, 4 và 5 lần lượt được bổ sung 0,03%; 0,125%; 0,5% và 2,0% *K. marxianus* (2, 3, 4 và 5). Nghiệm thức thức ăn 6 (6) được bổ sung 2,0% *S. cerevisiae*.

Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm gồm sáu nghiệm thức, mỗi nghiệm thức được lặp lại 5 lần. Thí nghiệm được tiến hành trong 10 tuần. Cá được bố trí ngẫu nhiên vào 30 bể trong hệ thống tuần hoàn với mật độ 20 cá/bể, thể tích bể 120 lít (khoảng 80 lít nước). Cá được cho ăn ngày 2 lần vào lúc 8 – 9 giờ và 16 - 17 giờ. Siphông vào lúc 13 giờ. Tốc độ dòng chảy điều chỉnh ở 1lít/phút. Tốc độ tăng trưởng của cá thí nghiệm được kiểm tra sau mỗi hai tuần nuôi. Ngừng cho cá ăn 24 giờ trước khi cân.

Khi thí nghiệm bắt đầu, lấy ngẫu nhiên 50 cá trữ ở -80°C để phân tích thành phần cơ thể. Cuối thí nghiệm, thu ngẫu nhiên 8 cá/bể, trong đó 5 cá được lưu giữ ở - 80°C để phân tích thành phần cơ thể và 3 cá để lấy máu phân tích lysozyme, lấy gan để phân tích superoxide dismutase (SOD), mẫu máu và gan được trữ tương ứng ở - 20°C và - 80 °C đến khi phân tích. Số cá còn lại được sử dụng cho thí nghiệm cảm nhiễm với vi khuẩn *A. hydrophila*.

Quản lý chất lượng nước

Oxy hòa tan, nhiệt độ và pH được đo hàng ngày bằng máy DO 3210 (WTW, Mỹ), pH 3210 (WTW, Mỹ); NH₃, NO₂⁻, NO₃⁻, độ kiềm, độ cứng được đo bằng máy quang phổ Spectro Flex 6600 (WTW, Mỹ) một lần trong tuần.

Phân tích thành phần hóa học của thức ăn và cá thí nghiệm; hoạt độ lysozyme và SOD

Hàm lượng protein, chất béo, độ ẩm, chất xơ, tro trong thức ăn và cá thí nghiệm được phân tích theo phương pháp chuẩn của AOAC (2000).

SOD được phân tích bằng bộ kit phân tích SOD (Cayman, Mỹ). Lysozyme được phân tích trên cơ sở xây dựng đường chuẩn theo hoạt độ lysozyme của lòng trắng trứng gà HEWL.

Thí nghiệm cảm nhiễm với vi khuẩn *A. hydrophila*

Kết thúc 10 tuần thí nghiệm, cá thuộc cùng một nghiệm thức thí nghiệm được phân bố ngẫu nhiên vào 3 bể (40 L/bể) với mật độ 10 con/bể. Cá được cảm nhiễm bằng phương pháp ống thông dạ dày với liều 10^{10} CFU/ml.

Cho cá ăn 2 lần/ngày theo đúng nghiệm thức và lượng nước thay hàng ngày là 20%. Tỷ lệ cá chết được theo dõi 2 lần/ngày trong 21 ngày. Thí nghiệm kết thúc khi 2 ngày liên tiếp không còn xuất hiện cá chết trong bể. Tỷ lệ chết tích lũy (%) = $100 \times (\text{tổng số cá chết}/\text{số cá ban đầu})$. Tái định danh vi khuẩn bằng bộ kit Api 20E (Biomérieux, Pháp).

Phương pháp phân tích thống kê

Tất cả các số liệu thu thập được sau thí nghiệm sẽ được phân tích bằng phần mềm Microsoft Excel 2010 và Minitab 16, sử dụng one – way ANOVA, kiểm định sự khác nhau giữa các nghiệm thức bằng trắc nghiệm Tukey với mức ý nghĩa $P < 0,05$.

KẾT QUẢ

Các chỉ tiêu chất lượng nước gồm nhiệt độ ($29,3 \pm 0,9^\circ\text{C}$), oxy hòa tan ($5,28 \pm 0,68$ mg/L), pH ($7,150 \pm 0,137$), ammonia ($0,0015 \pm 0,0009$ mg/L) và độ kiềm (46 ± 17 mg CaCO_3/L) đều trong giới hạn tối ưu đối với cá thí nghiệm.

Thành phần hóa học của thức ăn thí nghiệm được trình bày tại Bảng 1. Protein thô (% vật chất khô) trong cả sáu nghiệm thức đều lớn hơn 34%; chất béo chiếm tỷ lệ dao động trong khoảng từ 6 - 7%; chất xơ nhỏ hơn 6%. Thức ăn thí nghiệm có các thành phần hóa học phù hợp với nhu cầu dinh dưỡng của cá rô phi.

Bảng 1: Thành phần hóa học của thức ăn thí nghiệm (% vật chất khô)

Nghiệm thức	Độ ẩm	Protein	Chất béo	Tro	Xơ
1	5,40	35,25	6,52	7,38	5,38
2	5,14	34,82	6,60	7,41	5,12
3	4,31	34,93	6,59	7,33	5,30
4	4,53	35,01	6,37	7,37	5,06
5	4,72	35,16	7,23	7,44	5,29
6	5,02	36,43	7,84	7,72	5,26

Tỷ lệ sống của các nghiệm thức được trình bày tại Bảng 2. Tỷ lệ sống cao nhất ở nghiệm thức 4 (YE0,5) với $99,0\% \pm 1,0$ và thấp nhất ở nghiệm thức 3 (YE0,125) với $90,0\% \pm 7,6$. Tuy nhiên, tỷ lệ sống của các nghiệm thức không khác nhau có ý nghĩa về mặt thống kê ($P > 0,05$). Tăng trọng trung bình của cá sau 10 tuần thí nghiệm có xu hướng cao hơn ở các nghiệm thức có bổ sung nấm men nhưng chưa có khác biệt về ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).

Kết quả thành phần hóa học cơ thể cá được trình bày tại Bảng 3. Sự khác biệt về tỷ lệ protein, chất béo và tro giữa các nghiệm thức không có ý nghĩa về mặt thống kê ($P > 0,05$). Tỷ lệ protein cao nhất là 60,64% ở nghiệm thức 6 và 59,15% là tỷ lệ thấp nhất thuộc nghiệm thức 5 trong sáu nghiệm thức. Chất béo chiếm tỷ lệ cao nhất ở nghiệm thức 4 (24,18%) và thấp nhất ở nghiệm thức 3 (21,04%). 13,98% và 12,94% là tỷ lệ tro cao nhất và thấp nhất tương ứng với nghiệm thức 3, 4.

Bảng 2: Tỷ lệ sống và tăng trưởng của cá sau 10 tuần thí nghiệm

Nghiệm thức	Tỷ lệ sống (%)	W ₁ (g/cá)	W ₂ (g/cá)	WG (%)	SGR (%/ngày)
1	93,0 ± 5,8 ^a	6,16 ± 0,01 ^a	75,05 ± 2,79 ^a	1118,48 ± 46,06 ^a	3,52 ± 0,05 ^a
2	93,0 ± 1,2 ^a	6,17 ± 0,01 ^a	81,24 ± 4,42 ^a	1216,18 ± 69,23 ^a	3,62 ± 0,07 ^a
3	90,0 ± 7,6 ^a	6,15 ± 0,00 ^a	77,80 ± 2,30 ^a	1165,11 ± 48,72 ^a	3,57 ± 0,05 ^a
4	99,0 ± 1,0 ^a	6,15 ± 0,00 ^a	74,69 ± 2,56 ^a	1114,51 ± 41,66 ^a	3,51 ± 0,05 ^a
5	96,0 ± 1,0 ^a	6,15 ± 0,00 ^a	73,55 ± 2,40 ^a	1095,95 ± 38,94 ^a	3,49 ± 0,04 ^a
6	97,0 ± 2,0 ^a	6,15 ± 0,00 ^a	78,89 ± 1,70 ^a	1182,70 ± 27,66 ^a	3,59 ± 0,03 ^a
Giá trị P	0,67	0,18	0,44	0,45	0,44

Chú thích: W₁: trọng lượng cá trung bình đầu thí nghiệm (g/cá); W₂: trọng lượng cá trung bình cuối thí nghiệm (g/cá); WG: tăng trọng (%); SGR: tốc độ tăng trưởng đặc biệt (%/ngày). Số liệu được biểu thị dưới dạng số trung bình ± SE (n = 5). Các giá trị trên cùng một cột nếu chứa các ký tự giống nhau thì khác nhau không có ý nghĩa về mặt thống kê (P > 0,05).

Bảng 3: Thành phần cơ thể cá sau 10 tuần thí nghiệm (% vật chất khô)

Nghiệm thức	Độ ẩm	Protein	Chất béo	Tro
1	73,38 ± 0,23 ^a	59,76 ± 0,44 ^a	23,55 ± 1,09 ^a	13,03 ± 0,70 ^a
2	72,80 ± 0,74 ^a	59,33 ± 1,18 ^a	22,73 ± 1,58 ^a	13,43 ± 0,54 ^a
3	73,08 ± 0,63 ^a	59,63 ± 0,74 ^a	21,04 ± 1,72 ^a	13,98 ± 0,50 ^a
4	72,01 ± 0,54 ^a	59,21 ± 0,66 ^a	24,18 ± 0,34 ^a	12,94 ± 0,45 ^a
5	73,08 ± 0,43 ^a	59,15 ± 0,78 ^a	23,07 ± 1,44 ^a	13,80 ± 0,41 ^a
6	73,37 ± 0,53 ^a	60,64 ± 1,02 ^a	22,08 ± 0,55 ^a	13,49 ± 0,26 ^a
Cá đầu thí nghiệm	76,72	64,22	11,34	19,93
Giá trị P	0,51	0,82	0,56	0,63

Số liệu được biểu thị dưới dạng số trung bình ± SE (n = 5). Các giá trị trên cùng một cột nếu chứa các ký tự giống nhau thì khác nhau không có ý nghĩa về mặt thống kê (P > 0,05).

Hiệu quả sử dụng thức ăn của các nghiệm thức không khác nhau (P > 0,05). Tuy nhiên, FCR thấp nhất ở nghiệm thức 6 (1,41), kế tiếp là nghiệm thức 1 (1,46) và các nghiệm thức còn lại là như nhau (Bảng 4).

Bảng 4: Hiệu quả sử dụng thức ăn và khả năng hấp thụ protein của cá sau 10 tuần thí nghiệm

Nghiệm thức	FI (%/ngày)	FCR	PER	PR (%)
1	3,46 ± 0,03 ^{ab}	1,46 ± 0,02 ^a	1,95 ± 0,03 ^a	31,16 ± 0,63 ^a
2	3,67 ± 0,08 ^a	1,53 ± 0,04 ^a	1,88 ± 0,05 ^a	30,41 ± 0,41 ^a
3	3,66 ± 0,07 ^a	1,55 ± 0,06 ^a	1,86 ± 0,06 ^a	29,96 ± 1,32 ^a
4	3,69 ± 0,05 ^a	1,55 ± 0,03 ^a	1,85 ± 0,03 ^a	30,86 ± 0,67 ^a
5	3,68 ± 0,08 ^a	1,55 ± 0,04 ^a	1,84 ± 0,05 ^a	29,40 ± 0,78 ^a
6	3,38 ± 0,06 ^b	1,41 ± 0,03 ^a	1,95 ± 0,04 ^a	31,75 ± 1,04 ^a
Giá trị P	0,004	0,051	0,311	0,456

Số liệu được biểu thị dưới dạng số trung bình ± SE (n = 5). Các giá trị trên cùng một cột nếu chứa các ký tự giống nhau thì khác nhau không có ý nghĩa về mặt thống kê (P > 0,05).

Các đường chuẩn lysozyme ($y = 0,0437x + 0,00005$ với $R^2 = 0,9797$), protein ($y = 0,0077x + 0,3106$ với $R^2 = 0,9849$) và SOD ($y = 8,0372x + 0,953$ với $R^2 = 0,9968$) đều có hệ số tương quan rất cao và khoảng OD cũng đều nằm trong khoảng xác định được của đường chuẩn. Mặc dù, hoạt độ lysozyme và SOD có khác nhau giữa các nghiệm thức nhưng không có ý nghĩa thống kê (Bảng 5).

Bảng 5: Hoạt độ lysozyme và SOD của cá sau 10 tuần thí nghiệm

Nghiệm thức	Lysozyme ($\mu\text{g/ml}$)	SOD (U/mg protein)
1	$74,69 \pm 16,05^a$	$15,74 \pm 2,14^a$
2	$83,85 \pm 15,43^a$	$13,21 \pm 0,95^a$
3	$69,16 \pm 16,39^a$	$14,48 \pm 1,89^a$
4	$62,81 \pm 8,54^a$	$14,58 \pm 1,11^a$
5	$87,58 \pm 19,08^a$	$13,25 \pm 1,20^a$
6	$62,11 \pm 12,05^a$	$15,33 \pm 1,08^a$
Giá trị P	0,77	0,77

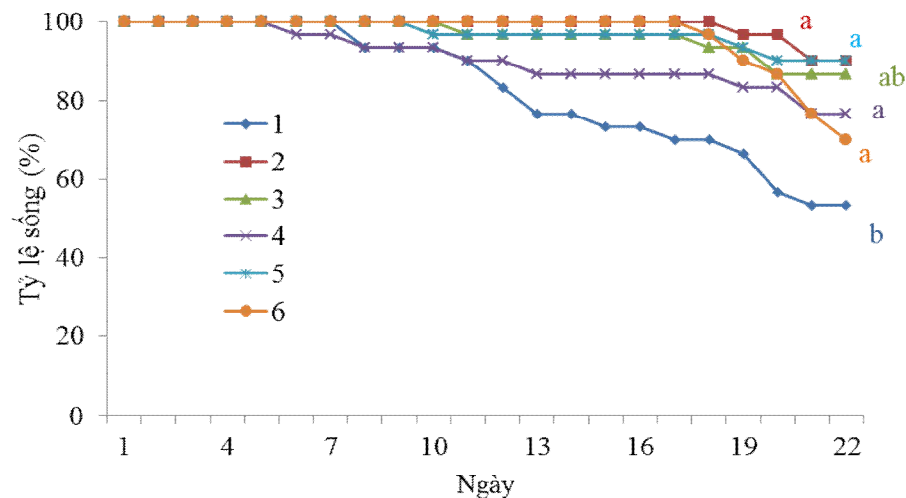
Số liệu được biểu thị dưới dạng số trung bình \pm SE (n = 5). Các giá trị trên cùng một cột nếu chứa các ký tự giống nhau thì khác nhau không có ý nghĩa về mặt thống kê ($P > 0,05$).

Tỷ lệ sống của cá kết thúc thí nghiệm cảm nhiễm với *A. hydrophila* (Bảng 6) thấp nhất ở nghiệm thức 1 (53,33%), cao nhất là 90% thuộc nghiệm thức 2 và 5. Tỷ lệ này giảm dần từ nghiệm thức 3, 4 đến 6. Kết quả phân tích thống kê cho thấy tỷ lệ sống của nghiệm thức 1 thấp hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức 2 và 5 ($P < 0,05$) nhưng không khác biệt so với các nghiệm thức 3, 4 và 6. Tuy nhiên, sự khác biệt giữa nghiệm thức 2, 5 so với 3, 4 và 6 không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).

Bảng 6: Tỷ lệ sống của cá thí nghiệm cảm nhiễm với *A. hydrophila*

Nghiệm thức	Tỷ lệ sống (%)
1	$53,33 \pm 3,33^b$
2	$90,00 \pm 5,77^a$
3	$86,67 \pm 6,67^{ab}$
4	$76,67 \pm 8,82^{ab}$
5	$90,00 \pm 5,77^a$
6	$70,00 \pm 11,55^{ab}$
Giá trị P	0,03

Số liệu được biểu thị dưới dạng số trung bình \pm SE (n = 3). Các giá trị trên cùng một cột nếu chứa các ký tự giống nhau thì khác nhau không có ý nghĩa về mặt thống kê ($P > 0,05$).

**Đồ thị:** Tỷ lệ sống của cá thí nghiệm sau cảm nhiễm với *A. hydrophila*

Kết quả định danh vi khuẩn ở ba cá bị bệnh được trình bày ở Bảng 7. Tất cả các chỉ tiêu kiểm tra như hình dạng và kích thước khuẩn lạc và kiểm tra sinh hóa bằng bộ kit Api20E (Biomérieux, Pháp) đều chứng tỏ vi khuẩn thu được ở mẫu cá cảm nhiễm là *A. hydrophila*.

Bảng 7: Kết quả kiểm tra sinh hóa vi khuẩn* (Whitman, 2004)

Đặc điểm của <i>A. hydrophila</i>		Kết quả kiểm tra sinh hóa
Oxidative/fermentative	+/+	+/+
Gelatinase	+	+
Sodium pyruvate (VP)	+	+
Vận động	+	+
H ₂ S	V	+
Tryptophanase	V	+
2-nitrophenyl-βD-galactopyranoside (ONPG)	+	+
Arginine dihydrolase	V	+
Lysine decarboxylase	V	+
Ornithine decarboxylase	V	-
Triple sugar iron	K/A, A/A**	A/A
Urease	-	-
Tryptophane deaminase (TDA)	V	-
Amygdalin	V	+
Arabinose	V	-
Glucose	+	+
Lactose	V	+
Inositol	V	-
Mannitol	+	+
Melibiose	-	-
Rhamnose	V	-
Sorbitol	V	-
Sucrose	V	+

* Kết quả kiểm tra sinh hóa của ba cá bệnh ở cả thận, vây đuôi, vết lở loét ở da (kết quả giống nhau).

** A = axit; K = kiềm; A/A thể hiện có lên men lactose và/hoặc sucrose; K/A ký hiệu của sự có lên men glucose (Whitman, 2004).

THẢO LUẬN

Nghiên cứu này là thử nghiệm đầu tiên về việc bổ sung *K.marxianus* vào thức ăn cho cá rô phi. Các mức bổ sung *K.marxianus* trong nghiên cứu này từ $10^3 - 10^5$ CFU/g thức ăn và thời gian thí nghiệm là 10 tuần. Theo tổng hợp của Nayak (2010) thì mức bổ sung probiotic trong thủy sản thường trong khoảng $10^6 - 10^{10}$ CFU/g thức ăn và thời gian thí nghiệm từ 1 – 10 tuần. Mặt khác, ba cách sử dụng probiotic trong nuôi thủy sản là phương pháp tắm, phương pháp ngâm và phương pháp cho ăn. Tuy nhiên, cho ăn là phương pháp hiệu quả nhất để phát triển hệ vi sinh vật đường ruột có lợi cho động vật thủy sản (Robertson và ctv., 2000). Như vậy, nghiên cứu này được thiết kế trên cơ sở các nghiên cứu trước về probiotic.

Tỷ lệ sống của các nghiệm thức thí nghiệm đều đạt tỷ lệ cao ($\geq 90\%$) và không có sự sai khác giữa các nghiệm thức, chứng tỏ bổ sung nấm men (*K. marxianus*) không làm ảnh hưởng đến tỷ lệ sống của cá. Kết quả thí nghiệm này giống với kết quả nghiên cứu của Abdel-Tawwab và ctv. (2008) và He và ctv. (2009) khi bổ sung nấm men *S. cerevisiae* vào thức ăn cho cá rô phi vằn; cá rô phi lai (*O. niloticus* x *O. aureus*). Nhưng theo Lara-Flores và ctv. (2003) khi bổ sung *S. cerevisiae* vào thức ăn có thể nâng cao tỷ lệ sống của cá rô phi vằn.

Tốc độ tăng trưởng khác nhau không có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ($P > 0,05$) nhưng xu hướng cao hơn ở các nghiệm thức có bổ sung nấm men (*K. marxianus* hoặc *S. cerevisiae*) trên cá rô phi vằn. Kết quả nghiên cứu này giống với công bố của Andrews và ctv (2010) khi bổ sung *S. cerevisiae* vào thức ăn cho cá *Labeo rohita* giống. Cải thiện tăng trưởng ở cá rô phi vằn khi cho ăn thức ăn có bổ sung nấm men (*K. marxianus* hoặc *S. cerevisiae*) có thể là do sự kích thích tiết các enzyme ngoại bào của hệ vi sinh vật đường ruột (Tovar-Ramírez và ctv., 2002). Nghiên cứu về hệ vi sinh vật đường ruột của cá trước và sau khi cho ăn thức ăn thí nghiệm có bổ sung nấm men có thể giúp hiểu rõ hơn cơ chế tác động của *K. marxianus* lên cá rô phi vằn.

Hệ số chuyển đổi thức ăn (FCR) nằm trong khoảng 1,41 – 1,55 và không khác nhau có ý nghĩa về mặt thống kê giữa các nghiệm thức. Kết quả của nghiên cứu này khác với các nghiên cứu về probiotic khác có thể là do sự khác nhau về thành phần nguyên liệu làm thức ăn. Các nghiên cứu khác dùng bột cá là thành phần cung cấp protein chính (36,60 – 54,23% bột cá: Lara-Flores và ctv., 2003; 55 – 57,9% bột cá: Li và ctv., 2003) hay hàm lượng protein trong thức ăn cao hơn nghiên cứu của chúng tôi (45% protein: Abdel-Tawwab và ctv., 2008). Trong khi đó, bột đậu nành là nguồn cung cấp protein chính trong thí nghiệm này (46,7%).

Trong nghiên cứu này, hoạt độ lysozyme không khác nhau giữa các nghiệm thức ($P > 0,05$) và có sự biến động lớn giữa các cá thể trong cùng nghiệm thức. Kết quả này giống với nghiên cứu của Li và Gatlin III (2004) khi bổ sung *S. cerevisiae* vào thức ăn cho cá *Morone chrysops* x *M. saxatilis*. Lysozyme là chỉ tiêu quan trọng để đánh giá khả năng miễn dịch của cá chống lại các loài vi khuẩn gây bệnh. Cá khỏe có khả năng miễn dịch tốt thường có hoạt độ lysozyme cao hơn cá yếu có khả năng miễn dịch yếu khi bị vi khuẩn xâm nhập. Vì vậy, phân tích hoạt độ lysozyme ở cá sau khi cảm nhiễm với *A. hydrophila*.

Trong thí nghiệm này, tỷ lệ sống của cá sau 21 ngày cảm nhiễm với *A. hydrophila* bằng phương pháp ống thông dạ dày ở các nghiệm thức có nấm men (*K. marxianus* hoặc *S. cerevisiae*) cao hơn so với đối chứng ($P < 0,05$). Kết quả này thống nhất với nhận định của Taoka và ctv (2006) Abdel – Tawwab và ctv (2008) và Andrews và ctv. (2010). Theo Baulny và ctv. (1996) và Rodríguez và ctv. (2003), có thể là probiotic đã kích thích hoạt động của đại thực bào và tăng hoạt động sản sinh lysozyme giúp cá có khả năng kháng bệnh tốt hơn khi bị cảm nhiễm với vi khuẩn gây bệnh.

KẾT LUẬN

Kết quả của nghiên cứu này chứng tỏ *K. marxianus* có thể nâng cao khả năng kháng bệnh của cá rô phi vằn với vi khuẩn *A. hydrophila* nhưng không ảnh hưởng đến tăng trưởng của cá. Chúng tôi chưa phân tích được các chỉ tiêu miễn dịch tự nhiên của cá sau khi cảm nhiễm với *A. hydrophila* nên chưa đánh giá được của *K. marxianus* đến miễn dịch tự nhiên của cá rô phi vằn.

ĐỀ NGHỊ

Tỷ lệ sống và tốc độ tăng trưởng cao ở nghiệm thức có mức bổ sung *K. marxianus* thấp (0,03 và 0,125g/100g thức ăn) cho thấy hiệu quả của *K. marxianus* có thể cao hơn khi bổ sung với nồng độ thấp. Do vậy, nghiên cứu bổ sung *K. marxianus* vào thức ăn cho cá rô phi với các hàm lượng thấp hơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Abdel-Tawwab M., Abdel-Rahman A. M. and Ismael N.E.M., 2008. Evaluation of commercial live bakers' yeast, *Saccharomyces cerevisiae* as a growth and immunity promoter for fry Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) challenged *in situ* with *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture* 280: 185–189.
- Andrews S.M., Sahu N.P., Pal A.K., Mukherjee S.C. and Kumar S., 2010. Yeast extract, brewer's yeast and spirulina in diets for *Labeo rohita* fingerlings affect haemato-immunological responses and survival following *Aeromonas hydrophila* challenge. *Veterinary Science* (in press).
- Baulny M. O. D., Quentel C., Fournier V., Lamour F., Gouvello R. L., 1996. Effect of long-term oral administration of β -glucan as an immunostimulant or an adjuvant on some non-specific parameters of the immune responses of turbot *Scophthalmus maximus*. *Diseases Aquatic Organisms* 26: 139 – 147.
- Bottona E., Parisi G., and Zilli M., 2005. Valutazione del lievito lattico *Kluyveromyces marxianus fragilis* B03999 ai sensi delle linee guida del Min. della Salute Dic 2005 All 1. (doc. depositato presso il Ministero della Salute). February 9th 2011 <<http://www.agrilife.net/research/humans/expertise-valutazione-del-lievito-lattico-kluyveromyces-marxianus-fragilis-b03999-ai-sensi-delle-linee-guida-del-min-della-salute-dic-2005-all-1-doc-depositato-presso-il-ministero-della-salute>>
- Đỗ Thị Hòa, Bùi Quang Tề, Nguyễn Hữu Dũng và Nguyễn Thị Muội, 2004. *Bệnh học thủy sản*. NXB. Nông Nghiệp Tp. Hồ Chí Minh, trang 218–230.
- El-Sayed A.-F.M., 2006. *Tilapia culture*. CAB International, Wallingford, UK, 277 pages.
- FAO, 2010. *The state of world fisheries and aquaculture 2010*. Fisheries and Aquaculture Department, FAO, Rome, 197 pages.
- Fonseca G.G., Heinze E., Wittmann C. and Gombert A.K., 2008. The yeast *Kluyveromyces marxianus* and its biotechnological potential. *Applied Microbiology and Biotechnology* 79: 339–354.
- He S., Zhou Z., Liu Y., Shi P., Yao B., Ringø E. and Yoon I., 2009. Effects of dietary *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product (DVAQUA[®]) on growth performance, intestinal autochthonous bacterial community and non-specific immunity of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* ♀ × *O. aureus* ♂) cultured in cages. *Aquaculture* 294 (1–2): 99–107.
- Kohler C.C., 2000. Striped bass and hybrid striped bass culture. In: *Encyclopedia of Aquaculture* (Eds. Tickney R.R.). Wiley, New York, USA, pp. 898– 907.
- Lara-Flores M., Olvera-Novoa M.A., Guzman-Méndez B.E. and López-Madrid, W., 2003. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 216: 193–201.
- Li P. and Gatlin III D.M., 2003. Evaluation of brewers yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as a feed supplement for hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*). *Aquaculture* 219: 681–692.
- Li P. and Gatlin III D.M., 2004. Dietary brewers yeast and the prebiotic GroBiotic[™] AE influence growth performance, immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. *Aquaculture* 231: 445–456.
- Nayak S. K., 2010. Probiotics and immunity: A fish perspective. *Fish & Shellfish Immunology* 29: 2 – 14.
- Raa J., Røstad G., Engstad R. and Robertsen B., 1992. The use of immunostimulants to increase resistance of aquatic organisms to microbial infections. In *Diseases in Asian*

Aquaculture I, Proceedings of the First Symposium on Diseases in Asian Aquaculture (Eds. Shariff M., Subasinghe R.P. and Arthur J.R.), 26–29 November 1990. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, pp. 39–50.

Reque V.R., Moraes de. J.R.E., Andrade Belo de. M.A. and Moraes de, F.R., 2010. Inflammation induced by inactivated *Aeromonas hydrophila* in Nile tilapia fed diets supplemented with *Saccharomyces cerevisiae*. *Aquaculture* 300: 37–42.

Robertson P. A. W., O'Dowd C., Burrells C., Williams P., Austin B., 2000. Use of *Carnobacterium* sp. as a probiotic for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Aquaculture* 185: 235 – 243.

Rodríguez A., Cuesta J., Ortunõ M. A., Esteban J. M., 2003. Immunostimulant properties of a cell wall-modified whole *Saccharomyces cerevisiae* strain administered by diet to seabream (*Sparus aurata* L.) *Veterinary Immunology and Immunopathology* 96: 183 – 192.

Taoka Y., Maeda H., Jo J.-Y., Kim S.-M., Park S., Yoshikawa, T. and Sakata, T., 2006. Use of live and dead probiotic cells in tilapia *Oreochromis niloticus*. *Fisheries Science* 72:755 – 766.

Teuber M., 2001. Veterinary use and antibiotic resistance. *Current Opinion in Microbiology* 4: 493–499.

Tovar – Ramírez D., Zambonino J., Cahu C., Gatesoupe F. J., Vázquez-Juárez R., Lésel R., 2002. Effect of live yeast incorporation in compound diet on digestive enzyme activity in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Aquaculture* 204: 113 – 123.

Whitman K. A., 2004. *Finfish and shellfish bacteriology manual techniques and procedures*. Iowa state press, USA: pages 129, 135, 136, 141, 142, 152.