

**ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG CỦA SẢN PHẨM NUTRIBULL LÊN TĂNG
TRƯỞNG VÀ CẢI THIỆN TÌNH TRẠNG SỨC KHỎE CỦA
CÁ TRA (*Pangasianodon hypophthalmus*)
EFFECT OF NUTRIBULL ON GROWTH PERFORMANCE AND FISH HEALTH
IMPROVEMENT OF TRA CATFISH (*Pangasianodon hypophthalmus*)**

Lê Thị Nga, Nguyễn Hữu Thịnh, Lê Thanh Hùng
Khoa Thủy Sản, Trường Đại học Nông Lâm TP. HCM

ABSTRACT

Nutribull is a product that consists nucleotides, beta-1,3-1,6 glucan, glucuronolactone and amino acids. They are supplied in pelleted feed to improve growth, feed utilization, disease and stress resistance of fish. Tra catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) ($17,2 \pm 2,92$ g in weight) were used in this study. Fish were fed with three diets including basal diet (NT1), basal diet supplemented with 0,1% (NT2) and 0,2% Nutribull (NT3). The first trial was aimed to evaluate effect of Nutribull on growth performances, feed utilization and non-specific immune response of fish. After ten weeks of feeding, NT3 feed supplied with 0,2% Nutribull increased significantly growth performances, specific growth rate (SGR) ($P < 0,05$). However, Nutribull at levels of 0,1% and 0,2% in basal diets could not improve feed intake and food conversion ratio ($P > 0,05$). Both tested diets enhanced significantly lysozyme activity of sera, one important component of non-specific immune response ($P < 0,05$). The second trial was to evaluate the effect of the Nutribull product on fish health improvement. Fish fed different feed in 10 weeks were challenged with *Edwardsiella ictaluri* by immersion. 14 days after challenge, fish fed NT3 were protected better than those fed other feed. The third trial was done to test stress resistance of tra catfish against high ammonia concentration (150 ppm) and salinity (15‰). Fish fed NT2 and NT3 supplied with 0.1 and 0.2 % of Nutribull, respectively, survived better than those fed basal diet.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngày nay, nuôi thủy sản đã được xác định là một trong những ngành kinh tế mũi nhọn của quốc gia. Nhiều đối tượng có giá trị được đưa vào nuôi với nhiều hình thức nuôi khác nhau, trong đó nghề nuôi cá tra ở đồng bằng sông Cửu Long đã và đang phát triển rất mạnh.

Trong bối cảnh hội nhập hiện nay, thế giới đang rất quan tâm đến việc sản xuất và tiêu thụ các sản phẩm sạch. Những sản phẩm đáp ứng được điều này đang dần chiếm lĩnh thị trường quốc tế với giá trị cao hơn nhiều. Do vậy, việc nâng cao năng suất, tạo nguồn cá sạch là vấn đề sống còn của nghề nuôi thủy sản nước ta. Hiện nay, việc nuôi thâm canh cá tra ngày càng cao và không có quy hoạch dẫn đến thiệt hại do dịch bệnh ngày càng tăng. Mặt khác, trong nuôi trồng thủy sản thì phòng bệnh hơn trị bệnh, do đó cần tập trung vào cải thiện sức khỏe vật nuôi bằng cách đảm bảo môi trường sống thích hợp và tăng cường sức đề kháng cho đối tượng nuôi.

Để tăng sức đề kháng cho đối tượng nuôi người ta thường kích thích hệ miễn dịch tự nhiên của chúng. Đối với động vật thủy sản, các nghiên cứu tập trung vào việc giúp đối tượng nuôi chống lại stress và bệnh một cách tự nhiên thay vì dùng kháng sinh để phòng hoặc điều trị sẽ gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến sản phẩm, con người và môi trường. Ngày nay, các hoạt chất sinh học nhằm kích thích hệ miễn dịch không đặc hiệu được sử dụng trong thức ăn thủy sản ngày càng phổ biến, đặc biệt là các chất kích thích miễn dịch có nguồn gốc từ tự nhiên.

Trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu trong lĩnh vực dinh dưỡng như sử dụng các loại hoạt chất sinh học bổ sung vào thức ăn nhằm cải thiện sức khỏe vật nuôi như beta glucan, nucleotide, mannan oligosaccharide (MOS), ... Các sản phẩm này được đánh giá là có khả năng nâng cao đáp ứng miễn dịch cũng như tăng trưởng và cải thiện tỉ lệ sống của nhiều loài vật nuôi.

Nutribull là sản phẩm chứa thành phần chủ yếu gồm beta glucan, nucleotide, glucuronolactone. Đây là các chất có tác dụng kích thích miễn dịch, giúp cá tăng trưởng nhanh, nâng cao tỉ lệ sống trên động vật thủy sản nói riêng cũng như trên vật nuôi nói chung.

Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm đánh giá hiệu quả của Nutribull lên sự tăng trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn và đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu của cá tra. Đồng thời, ảnh hưởng Nutribull lên khả năng đề kháng của cá tra đối với vi khuẩn *Ewardsiella ictaluri* và khả năng chịu đựng stress do sự thay đổi môi trường (ammonia và độ mặn) cũng được đề cập.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Sản phẩm Nutribull: Sản phẩm Nutribull do công ty Nutriway sản xuất, có thành phần gồm beta glucan, nucleotide, glucuronolactone và các amino acid. Tác dụng chính của sản phẩm giúp kích thích tăng trưởng, tăng tỉ lệ sống, tăng cường đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu và giúp cho đối tượng nuôi chịu đựng tốt hơn với các điều kiện stress do môi trường. Trong thí nghiệm, thức ăn ép đùn chứa 28% protein sẽ được sử dụng. Nutribull sẽ được bổ sung vào thức ăn theo các tỉ lệ 0; 0,1% và 0,2%.

Bảng 1. Thành phần của các khẩu phần thức ăn dành cho cá tra ở thí nghiệm 1

Nguyên liệu (%)	NT1 (Đối chứng)	NT2 (0,1% Nutribull)	NT3 (0,2% Nutribull)
Bột cá	5,00	5,00	5,00
Bột đậu nành	27,80	27,80	27,80
Cám gạo	37,60	37,50	37,40
Bột xương thịt	13,70	13,70	13,70
Bột sắn	15,00	15,00	15,00
Dầu cá	0,15	0,15	0,15
Vitamin, khoáng	0,50	0,50	0,50
Methionine	0,25	0,25	0,25
Nutribull	-	0,10	0,20
Tổng	100,00	100,00	100,00

Cá thí nghiệm: Cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) giống có trọng lượng trung bình từ $17,2 \pm 2,92$ g và chiều dài trung bình là $12,1 \pm 0,74$ cm.

Thí nghiệm 1: Thí nghiệm này được thiết lập để so sánh ảnh hưởng của Nutribull lên sự tăng trưởng, tỉ lệ sống, hiệu quả sử dụng thức ăn và khả năng miễn dịch của cá tra ở các nghiệm thức bổ sung Nutribull với tỉ lệ khác nhau (0; 0,1 và 0,2%). Cá tra thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối ngẫu nhiên vào 4 bể xi măng (2 x 3 x 1,5 m). Bố trí 12 giai (1 x 1 x 1 m) trong bốn bể xi măng cho 3 nghiệm thức (NT) với 4 lần lặp lại với mật độ 150 cá/giai.

Trong quá trình thí nghiệm tiến hành thay nước 2 lần/tuần và mỗi lần thay 1/3 lượng nước trong bể kết hợp với xi phông đáy. Cá được cho ăn với thức ăn thí nghiệm trong 10 tuần.

Sau đó cân trọng lượng và đếm số lượng để đánh giá tỉ lệ sống, tăng trọng, hiệu quả sử dụng thức ăn, và đánh giá các chỉ tiêu về đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu của cá (bạch cầu và lysozyme trong huyết thanh).

Thí nghiệm 2: Thí nghiệm 2 được tiến hành nhằm đánh giá ảnh hưởng của Nutribull lên khả năng đề kháng đối với vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri*. Bố trí thí nghiệm gồm 6 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức có 4 lần lặp lại, tương ứng sẽ có 24 bể bố trí ngẫu nhiên theo bảng 2.

Bảng 2. Sơ đồ bố trí thí nghiệm gây cảm nhiễm với vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri*.

Nghiệm thức	Tỉ lệ Nutribull bổ sung (%)	<i>E. ictaluri</i>
NT1 _D	0	Không cảm nhiễm
NT2 _D	0,1	Không cảm nhiễm
NT3 _D	0,2	Không cảm nhiễm
NT1	0	Gây cảm nhiễm
NT2	0,1	Gây cảm nhiễm
NT3	0,2	Gây cảm nhiễm

Cá được cảm nhiễm bằng phương pháp ngâm với *E. ictaluri* trong vòng một giờ. Mật độ vi khuẩn gây nhiễm là 10^7 cfu/mL. Sau khi ngâm, cá sẽ được chuyển vào nuôi trong bể composite (100 lít) để theo dõi tỉ lệ chết trong vòng 14 ngày.

Thí nghiệm 3: Thí nghiệm nhằm đánh giá khả năng chịu đựng của cá ăn thức ăn bổ sung 0,1 và 0,2 % Nutribull đối với ammonia và độ mặn trong nước của bể thí nghiệm.

Thí nghiệm gây sốc bằng ammonia nồng độ cao (150 ppm): Sau 10 tuần thí nghiệm ăn thức ăn thử nghiệm, 15 cá của mỗi giai sẽ được chuyển vào bể composite chứa 60 lít nước có pH được điều chỉnh bằng 7 với nồng độ ammonia 150 ppm . Bố trí thí nghiệm gồm 6 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức có 4 lần lặp lại, tương ứng sẽ có 24 bể bố trí ngẫu nhiên theo bảng 3. Kết quả về tỷ lệ sống của cá được ghi nhận trong vòng 24 giờ sau khi bố trí thí nghiệm.

Bảng 3. Sơ đồ bố trí trong thí nghiệm gây sốc ammonia.

Nghiệm thức	Tỉ lệ Nutribull bổ sung (%)	Gây sốc ammonia
NT1 _D	0	Không gây sốc
NT2 _D	0,1	Không gây sốc
NT3 _D	0,2	Không gây sốc
NT1	0	Gây sốc
NT2	0,1	Gây sốc
NT3	0,2	Gây sốc

Thí nghiệm gây sốc với nồng độ muối cao (15‰): Gây sốc nồng độ muối cao cho cá để đánh giá ảnh hưởng của sản phẩm Nutribull lên sự giảm stress ở cá tra trước sự thay đổi của độ mặn. Bố trí thí nghiệm thành 6 nghiệm thức (bảng 4), mỗi nghiệm thức có 4 lần lặp lại, tương ứng sẽ có 24 bể nhựa. Mật độ là 20 cá/bể. Quan sát và ghi nhận tỷ lệ cá chết sau 24 và 48 giờ.

Bảng 4. Sơ đồ bố trí thí nghiệm gây sốc độ mặn.

Nghiem thức	Tỉ lệ Nutribull bổ sung (%)	Gây sốc độ mặn 15‰
NT1 _D	0	Không gây sốc
NT2 _D	0,1	Không gây sốc
NT3 _D	0,2	Không gây sốc
NT1	0	Gây sốc
NT2	0,1	Gây sốc
NT3	0,2	Gây sốc

Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

Tất cả dữ liệu thu được về tăng trọng (WG, SGR), hệ số chuyển đổi thức ăn (FCR), tỉ lệ sống được phân tích bằng phần mềm Excel và SAS V.8. Sử dụng trắc nghiệm Turkey để so sánh sự khác nhau có ý nghĩa giữa các nghiệm thức.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Thí nghiệm 1

Tăng trưởng, tỉ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn

Bảng 5. Hệ số chuyển đổi thức ăn và tăng trưởng của cá sau 10 tuần thí nghiệm

Nghiem thức	NT1 (ĐC)	NT2	NT3
Trọng lượng đầu (g)	17,28 ^a ± 0,10	17,26 ^a ± 0,10	17,24 ^a ± 0,10
Trọng lượng cuối (g)	82,43 ^a ± 5,59	89,09 ^{ab} ± 6,79	93,73 ^b ± 2,80
SGR (%/ngày)	2,37 ^a ± 0,10	2,48 ^{ab} ± 0,12	2,56 ^b ± 0,05
FCR	1,17 ^a ± 0,10	1,18 ^a ± 0,08	1,07 ^a ± 0,02
Lượng ăn (g/cá/ngày)	1,15 ^a ± 0,14	1,25 ^a ± 0,10	1,24 ^a ± 0,06
Tỷ lệ sống (%)	97,00 ^{ab} ± 2,8	92,67 ^a ± 3,93	99,17 ^b ± 1,26

Ghi chú: Những giá trị của các nghiệm thức trên cùng một hàng ngang nếu chứa những ký tự giống nhau thì sai khác không có ý nghĩa ở mức độ tin cậy 95% ($P > 0,05$)

Kết quả từ bảng 5 cho thấy, trọng lượng cá tra ban đầu bố trí thí nghiệm khá đồng đều giữa các nghiệm thức ($P > 0,05$). Tuy nhiên, trọng lượng cuối thí nghiệm lại có sự khác biệt rõ rệt. Trong đó, trọng lượng trung bình của cá ở NT3 bổ sung 0,2% Nutribull là lớn nhất (93,73 g/con), và trọng lượng trung bình giảm dần đến NT2 (89,09 g/con) và thấp nhất ở NT1 (82,43 g/con). Tuy nhiên, sự khác biệt giữa NT1 và NT2, giữa NT2 và NT3 là không có ý nghĩa về mặt thống kê ($P > 0,05$). Chỉ có sự khác biệt giữa NT1 và NT3 là có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$).

Về tỷ lệ tăng trưởng đặc biệt (SGR) tăng dần từ NT1 (2,37 %/ngày) đến NT3 (2,56 %/ngày). Tuy nhiên, sự khác biệt về SGR của NT1 so với NT2 và giữa NT2 so với NT3 là không có sự khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê ($P > 0,05$). Còn sự khác biệt giữa NT1 và NT3 lại có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$). Kết quả này cho thấy việc bổ sung Nutribull vào trong thức ăn có khả năng giúp cá tăng trưởng nhanh hơn.

Trong thành phần của Nutribull gồm có beta-1,3-1,6 glucan, nucleotide và glucuronolactone. Tuy nhiên, glucuronolactone chỉ là chất hoạt hóa gan, có vai trò trong việc khử độc và loại thải độc tố ở gan. Do đó, vai trò kích thích tăng trưởng ở cá thí nghiệm có thể

là do tác dụng của nucleotide hay beta glucan. Nucleotide và beta glucan đều giúp cho cá tăng cường quá trình biến dưỡng thức ăn, do đó kích thích sự tăng trưởng của vật nuôi.

Kết quả trên cũng phù hợp với kết quả của Li và ctv. (2007) nghiên cứu ảnh hưởng của hỗn hợp nucleotide tinh khiết lên tăng trưởng và sức khỏe của ấu niên cá đù đỏ (*Sciaenops ocellatus*). Nucleotide được bổ sung vào thức ăn cá với các liều lượng khác nhau, quan sát thí nghiệm trong 4 tuần. Kết quả cho thấy, cá cho ăn thức ăn với các mức độ bổ sung nucleotide giúp nâng cao sự tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn. Burrells (2001) nghiên cứu ảnh hưởng của thức ăn bổ sung nucleotide đến tỷ lệ tăng trưởng của cá hồi Atlantic. Khi bổ sung vào thức ăn cơ bản 0,03% nucleotide, tác giả nhận thấy tỷ lệ tăng trưởng của cá tăng từ 15 – 22% so với cá ăn thức ăn cơ bản. Borda và ctv. (2003) nghiên cứu ảnh hưởng của thức ăn bổ sung nucleotide lên ấu trùng cá tráp biển (*Sparus aurata*), kết quả cho thấy cá được cho ăn thức ăn bổ sung nucleotide có tốc độ tăng trưởng nhanh hơn cá ăn thức ăn đối chứng (trích dẫn bởi Li và ctv., 2007).

Đối với beta glucan, một số nghiên cứu cho thấy khi cho nhiều loài cá khác nhau ăn thức ăn bổ sung β -1,3-1,6 glucan đã giúp cá cải thiện tăng trưởng và giảm tỷ lệ chết (Raa và ctv., 1990; trích dẫn bởi Raa, 2000). Một nghiên cứu khác của Sung và ctv. (1994) cho thấy rằng, cho tôm ăn β -1,3-1,6 glucan cho tăng trưởng nhanh, giảm tỷ lệ chết và sử dụng thức ăn tốt hơn.

Hệ số chuyển đổi thức ăn (FCR)

Qua kết quả ở bảng 5 cho thấy, hệ số biến đổi thức ăn (FCR) của cá ở NT3 thấp hơn so với 2 NT còn lại, tuy nhiên sự khác biệt này lại không có ý nghĩa về mặt thống kê giữa 3 NT ($P > 0,05$). Điều này chứng tỏ việc bổ sung Nutribull chưa mang lại hiệu quả rõ ràng lên hiệu quả sử dụng thức ăn của cá.

Từ kết quả bảng 5 cho thấy ở NT3 (bổ sung 0,2% Nutribull) có tỷ lệ sống cao nhất (99,17%). Nhưng tỷ lệ sống giữa NT3 và NT1, giữa NT2 và NT1 là không có sự khác biệt về mặt thống kê ($P > 0,05$). Tuy nhiên, cá chết ở các nghiệm thức trên đều do mắc gai vây ngực vào gai trong lúc bơi lội, do đó thức ăn không ảnh hưởng đến tỷ lệ sống của cá tra thí nghiệm.

Số lượng bạch cầu của cá sau thí nghiệm

Máu cá sau 10 tuần ăn thức ăn thức ăn thử nghiệm được thu cho mục đích xác định mật độ bạch cầu trong máu. Chỉ tiêu này được kiểm tra bằng ống trộn bạch cầu và buồng đếm Neubauer. Kết quả về số lượng bạch cầu đếm được trong các mẫu máu cá tra sau 10 tuần thí nghiệm thể hiện qua bảng 6.

Bảng 6. Số lượng bạch cầu đếm được trong các mẫu cá tra thí nghiệm.

Nghiem thức	Số lượng bạch cầu đếm được trong 64 ô (tế bào)	Tổng số lượng bạch cầu ($\times 10^3$ tế bào/mm ³)
NT1 (ĐC)	4308 ^a $\pm$ 592	215,4 ^a $\pm$ 29,6
NT2	5174 ^b $\pm$ 529	258,7 ^b $\pm$ 26,5
NT3	5047 ^{ab} $\pm$ 426	252,4 ^{ab} $\pm$ 21,3

Ghi chú: Những giá trị của các nghiệm thức trên cùng một hàng dọc nếu chứa những ký tự giống nhau thì sai khác không có ý nghĩa ở mức độ tin cậy 95% ($P > 0,05$).

Kết quả cho thấy số lượng bạch cầu đếm được ở NT2 là cao nhất, kế đến là NT3 và thấp nhất ở NT1. Sự khác biệt giữa NT2 và NT1 là có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Còn sự khác biệt giữa NT1 và NT3, giữa NT2 và NT3 là không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$). Điều này chứng tỏ ở mức bổ sung 0,1% Nutribull đã có tác dụng tốt nhất trong việc kích thích và làm gia tăng hoạt động của bạch cầu. Từ đó nâng cao đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu ở cá. Tác dụng hoạt hóa bạch cầu này có thể là do thành phần nucleotide và β -1,3-1,6 glucan có trong sản phẩm Nutribull.

Theo Engstad và Robertsen (1994), β -1,3-1,6 glucan kết hợp đặc biệt với một receptor trên bề mặt bạch cầu. Khi receptor được gắn bởi β -1,3-1,6 glucan, tế bào trở nên hoạt động hơn, tiêu diệt và dung giải tế bào vi khuẩn với cường độ cao hơn. Và cùng lúc đó, chúng tiết ra những phân tử báo hiệu (cytokine) kích thích sự hình thành bạch cầu mới. Các nghiên cứu trên một số loài cá cho thấy có sự gia tăng hoạt động thực bào của đại thực bào và bạch cầu trung tính (neutrophil) khi các hợp chất này được bổ sung vào thức ăn. Tuy nhiên cơ chế phản ứng miễn dịch không đặc hiệu ở cá sau khi bổ sung các chất kích thích miễn dịch này vẫn chưa được nghiên cứu đầy đủ.

Lysozyme

Phân tích lysozyme huyết thanh cá được thực hiện theo phương pháp của Ellis (1990). Trong phân tích này, chúng tôi dựa trên sự tiêu giảm vi khuẩn Gram dương nhạy với lysozyme là *Micrococcus luteus* ATCC 9341, từ đó làm giảm mật độ quang khi đo bằng máy so màu sau 0,5 phút và 4,5 phút ở bước sóng 530 nm. Kết quả thu được thể hiện ở bảng 7.

Bảng 7. Kết quả phân tích lysozyme trong huyết thanh của cá thí nghiệm.

Nghiem thức	Sự giảm mật độ quang ($\times 10^{-3}$)	Hoạt lực của lysozyme (unit/mL)
NT1 (ĐC)	5,0 ^a $\pm$ 0,8	12,5 ^a $\pm$ 2,0
NT2	7,7 ^b $\pm$ 0,5	19,4 ^b $\pm$ 1,2
NT3	10,8 ^c $\pm$ 1,3	26,9 ^c $\pm$ 3,1

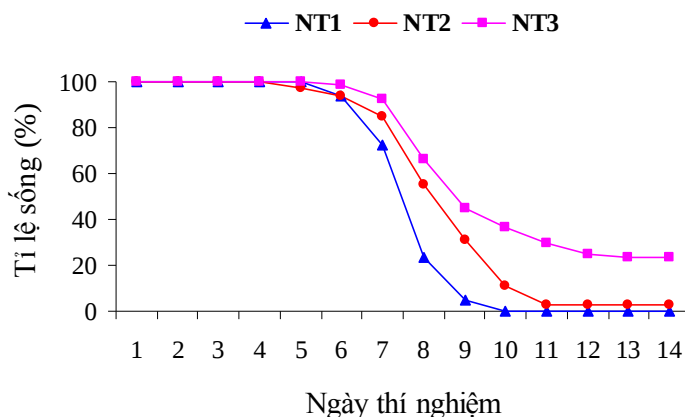
Ghi chú: Những giá trị của các nghiệm thức trên cùng một hàng dọc nếu chứa những ký tự giống nhau thì sai khác không có ý nghĩa ở mức độ tin cậy 95% ($P > 0,05$).

Dựa vào bảng 7 chúng tôi nhận thấy hoạt lực của lysozyme ở các nghiệm thức có sự khác biệt. Hoạt lực này cao nhất ở NT3 (26,9 unit/mL), kế đến là NT2 (19,4 unit/mL) và thấp nhất là nghiệm thức đối chứng (12,5 unit/mL). Sự khác biệt giữa ba nghiệm thức này có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$). Kết quả thí nghiệm cho thấy, việc bổ sung 0,2% Nutribull vào thức ăn cho kết quả kích thích hoạt lực của lysozyme tốt nhất.

Một số nghiên cứu cho thấy, glucan nấm men có khả năng nâng cao hoạt lực của lysozyme ở cá hồi Atlantic, cá hồi vân và cá bơn (Engstad và ctv., 1992; Jørgensen và ctv., 1993; Thompson và ctv., 1995; Baulny và ctv., 1996). Mặt khác, Sakai và ctv. (2001) báo cáo rằng, nucleotide ngoại sinh có thể làm tăng hoạt lực của lysozyme cũng như sự thực bào và sản xuất anion superoxide của thể thực bào thận trên của cá chép (*Cyprinus carpio*) (trích dẫn bởi Heisuke và ctv., 2007). Low và ctv. (2003) báo cáo rằng cá bơn ăn thức ăn bổ sung nucleotide cho thấy thành phần miễn dịch không đặc hiệu như hoạt lực lysozyme tăng lên ở lách và thận nhưng ảnh hưởng này không rõ ràng ở mang.

Thí nghiệm 2

Kết quả cho thấy ở 3 nghiệm thức đối chứng, cá vẫn sống và hoạt động bình thường chứng tỏ các yếu tố môi trường không ảnh hưởng đến cá. Ở các NT1, NT2 và NT3 kết quả cho thấy cá có biểu hiện đặc trưng của bệnh gây ra do *Edwardsiella ictaluri*. Tiến hành phân lập và định danh vi khuẩn cho thấy, chỉ xuất hiện khuẩn lạc của vi khuẩn *E. ictaluri* trên môi trường nuôi cấy BHIA. Điều này chứng tỏ cá chết ở các nghiệm thức là do vi khuẩn này gây ra. Đồ thị 1 thể hiện tỷ lệ sống của cá từ ngày đầu tiên cho đến lúc kết thúc thí nghiệm



Đồ thị 1. Tỷ lệ sống của cá sau khi gây cảm nhiễm bởi *Edwardsiella ictaluri*

Đồ thị 1 cho thấy, từ ngày thứ 5 trở đi, cá bắt đầu chết ở các lô thí nghiệm. Tuy nhiên, ban đầu không thấy có sự khác biệt về tỷ lệ chết giữa các nghiệm thức. Vào ngày thứ 8 đến ngày thứ 10, tỷ lệ cá chết ở các nghiệm thức có sự khác nhau rõ rệt. NT1 có tỷ lệ cá chết cao nhất và chết toàn bộ vào ngày thứ 10, kể đến là NT2 và NT3. Trong đó NT 3 có tỷ lệ cá còn sống sau thí nghiệm cao nhất. Bảng 8 thể hiện tỷ lệ sống trung bình của cá tra sau khi kết thúc thí nghiệm.

Bảng 8. Tỷ lệ sống của cá tra sau 14 ngày gây cảm nhiễm bởi *Edwardsiella ictaluri*.

Nghiệm thức	Tỷ lệ cá sống của cá (%)
NT1 (ĐC)	0,00 ^a ± 0,00
NT2	2,50 ^a ± 2,89
NT3	23,75 ^b ± 9,46

Ghi chú: Những giá trị của các nghiệm thức trên cùng một hàng dọc nếu chứa những ký tự giống nhau thì sai khác không có ý nghĩa ở mức độ tin cậy 95% ($P > 0,05$).

Kết quả của bảng 8 cho thấy, tỷ lệ sống cá sau 14 ngày cảm nhiễm với vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* giữa các nghiệm thức có khác nhau, NT3 có tỷ lệ sống cao nhất (23,75%). Ở NT1 và NT2, tỷ lệ sống của cá rất thấp, lần lượt là 0% và 2,5%. Tỷ lệ sống giữa NT1 và NT2 là không có sự khác biệt về mặt thống kê ($P > 0,05$). Tuy nhiên, sự khác biệt về tỷ lệ sống giữa NT3 so với NT2 và NT1 là có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$). Điều này chứng tỏ, thức ăn có bổ sung 0,2% Nutribull có khả năng giúp cá kháng lại sự cảm nhiễm bệnh do vi khuẩn *E. ictaluri* gây ra tốt hơn nhờ thành phần beta glucan và nucleotide, từ đó nâng cao tỷ lệ sống của cá.

Kết quả trên cũng phù hợp với nghiên cứu trên cá hồi Atlantic (*Salmo salar*), sau khi gây cảm nhiễm với vi khuẩn gây bệnh *Vibrio salmonicida* và *V. anguillarum*, cá được cho ăn thức ăn bổ sung beta glucan. Kết quả nhận thấy, cá được cho ăn thức ăn bổ sung beta glucan

có khả năng chống chịu bệnh tốt hơn. Thí nghiệm khác tiến hành trên cá hồi Atlantic, khi bổ sung beta glucan giúp cá có khả năng chống chịu tốt hơn đối với bệnh hoại tử mô tạo máu gây ra bởi IHNV (Infectious Hematopoietic Necrosis Virus). Tương tự, các loài cá nước ngọt như cá trê và cá nheo Mỹ (*Ictalurus punctatus*), bổ sung beta glucan sẽ giúp gia tăng tính đề kháng đối với các vi khuẩn gây bệnh như *Aeromonas hydrophila*, *Edwardsiella tarda*.

Mặt khác, Burrells và ctv. (2001) tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của thức ăn bổ sung nucleotide trên cá hồi Atlantic. Trước khi cảm nhiễm cá với virus hai tuần, người ta tiến hành cho cá ăn thức ăn bổ sung nucleotide. Quan sát tỉ lệ chết của cá sau 53 ngày cảm nhiễm bằng phương pháp tiêm với virus gây bệnh nhiễm trùng thiếu máu cá hồi (infectious salmon anaemia) kết quả cho thấy nhóm cá ăn thức ăn bổ sung nucleotide có tỉ lệ chết tích lũy là 35,75% so với cá ăn thức ăn cơ bản là 48%. Sự khác nhau về tỉ lệ chết giữa hai nghiệm thức đều có ý nghĩa về mặt thống kê. Leonardi và ctv. (2003) báo cáo rằng tất cả cá hồi vân cho ăn thức ăn bổ sung nucleotide sau 60 ngày sống sót khi tiêm virus IPN, trong khi tất cả cá được tiêm virus nhưng cho ăn thức ăn cơ bản đều chết (trích dẫn bởi Heisuke và ctv., 2007).

Thí nghiệm 3

Thí nghiệm gây sốc ammonia nồng độ cao 150 ppm

Trong quá trình sốc tiến hành thu mẫu nước và đo các chỉ tiêu môi trường. Kết quả các chỉ tiêu môi trường ở các bể thí nghiệm thể hiện ở bảng 9.

Bảng 9. Kết quả phân tích mẫu nước ở thí nghiệm gây sốc ammonia.

Nghiệm thức	Nhiệt độ (°C)	pH	Ammonia tổng (ppm)	NH ₃ (ppm)
Nghiệm thức 1 _D , 2 _D , 3 _D	26,5	7	0,0570	0,0004
Nghiệm thức 1, 2, 3			107	0,6720

Qua bảng 9 nhận thấy, ở các nghiệm thức đối chứng 1_D, 2_D, 3_D có hàm lượng NH₃ là 0,0004 ppm. Với điều kiện nước như trên, không thấy cá chết ở các bể đối chứng. Theo Nguyễn Phú Hòa (2000), hàm lượng NH₃ thích hợp cho cá tôm nên ở mức giới hạn thấp hơn 0,1 mg/L. Do đó, kết quả trên là hợp lý vì với nồng độ NH₃ 0,0004 ppm là rất thấp, phù hợp cho cá sống và hoạt động bình thường, vì thế không ảnh hưởng đến cá tra thí nghiệm.

Đối với các nghiệm thức 1, 2, 3 có hàm lượng NH₃ là 0,6720 ppm. Ở điều kiện trên đã gây độc và chết cá ở tất cả các bể. Kết quả thể hiện ở bảng 10.

Bảng 10. Tỷ lệ cá chết trung bình sau thí nghiệm gây sốc ammonia

Nghiệm thức	Tỷ lệ cá chết sau thí nghiệm (%)
NT1 (ĐC)	61,67 ^a ± 10,00
NT2	33,33 ^b ± 9,43
NT3	16,67 ^b ± 3,85

Ghi chú: Những giá trị của các nghiệm thức trên cùng một hàng dọc nếu chứa những ký tự giống nhau thì sai khác không có ý nghĩa ở mức độ tin cậy 95% ($P > 0,05$).

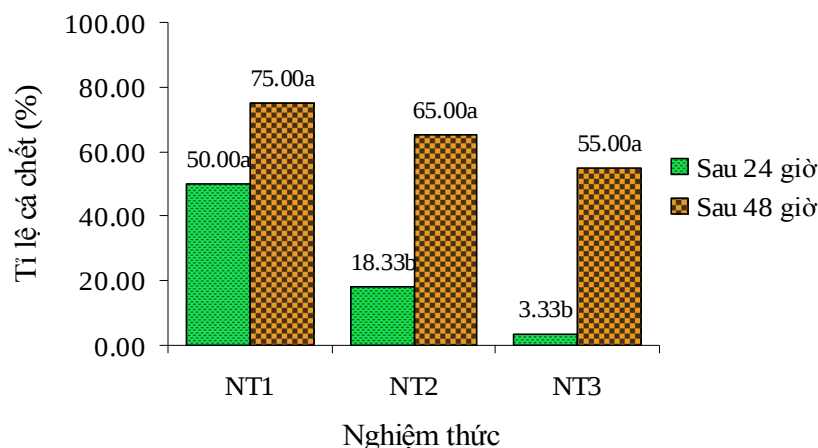
Dựa vào bảng 10 chúng tôi nhận thấy: Tỷ lệ chết ở các nghiệm thức giảm dần từ NT1, kế đến là NT2 và thấp nhất là ở NT3. Kết quả tỷ lệ chết lần lượt là 61,67%; 33,33% và 16,67%. Sự khác biệt về tỷ lệ chết trung bình của cá ở NT1 so với NT2 và NT3 là có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$). Tuy nhiên, tỷ lệ chết trung bình giữa NT2 và NT3 không có sự

khác biệt ($P > 0,05$). Điều này chứng tỏ, thức ăn có bổ sung 0,1 % và 0,2 % Nutribull đều có khả năng giúp cá chống lại sốc do ammonia nồng độ cao.

Theo nghiên cứu của Sheehan và Lewis (1986) ở pH 7,8, nhiệt độ 22°C thì LC_{50} của cá nheo là 0,7 – 2,2 ppm trong vòng 24 giờ. Nhìn chung, hàm lượng ammonia gây độc đối với cá nheo khoảng từ 0,5 – 2 mg/L. Sự thích ứng với hàm lượng ammonia cao của cá nheo thể hiện qua sự tăng hàm lượng cortisol, hàm lượng này đạt cực đại sau 8 giờ và trở về bình thường sau 24 giờ (Tomasso và ctv., 1981). Điều này chứng tỏ ở pH 7, nhiệt độ 26,5°C thì nồng độ NH_3 0,6720 ppm đã gây chết cá với tỷ lệ cao như trong thí nghiệm của chúng tôi là phù hợp.

Thí nghiệm gây sốc độ mặn 15‰ cho cá thí nghiệm

Cá ở các nghiệm thức đối chứng vẫn hoạt động bình thường, điều này chứng tỏ cá tra ở các nghiệm thức còn lại chết không phải là do yếu tố môi trường khác mà là do hóa chất gây sốc. Kết quả về tỷ lệ chết của cá sau khi sốc độ mặn 24 và 48 giờ được thể hiện ở đồ thị 2.



Đồ thị 2. Tỷ lệ cá chết sau 24 và 48 giờ được gây sốc ở độ mặn 15‰.

Qua đồ thị 2 cho thấy sau 24 giờ, tỷ lệ chết ở NT3 (cho ăn thức ăn bổ sung 0,2% Nutribull) là thấp nhất (3,33%), kế đến là NT2 (18,33%) và cao nhất là NT1 (50,00%). Sự khác biệt giữa NT1 so với NT2 và NT3 là có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$). Điều này chứng tỏ cá được ăn thức ăn bổ sung Nutribull (tỷ lệ 0,1% và 0,2%) đều giúp cá chịu đựng với điều kiện stress do độ mặn. Sau 48 giờ, tỷ lệ chết ở các nghiệm thức tăng dần bắt đầu từ NT3 (55,00%), đến NT2 (65,00%) và cao nhất là NT1 (75,00%). Tuy nhiên, sự khác biệt giữa các nghiệm thức là không có ý nghĩa xét về mặt thống kê ($P > 0,05$).

Điều này là hoàn toàn hợp lý vì trong 24 giờ đầu, sức khỏe cá còn tốt nên cá có khả năng chịu đựng với điều kiện độ mặn cao. Do đó, sự khác biệt giữa các nghiệm thức thể hiện rất rõ và chính xác. Tuy nhiên, khi kéo dài điều kiện sốc trong vòng 48 giờ, tất cả cá đều không thể chịu đựng được vì điều kiện sốc kéo dài, sức khỏe cá đã bị giảm theo thời gian. Theo Nguyễn Tuần (2000), ở độ mặn 15‰, cá basa chỉ có thể sống được trong 72 giờ. Do đó, kết quả nghiên cứu của chúng tôi là hoàn toàn phù hợp.

Rõ ràng, khi bổ sung Nutribull vào thức ăn với tỷ lệ 0,1 và 0,2% đã có tác dụng giúp cho cá tra thí nghiệm chịu đựng tốt với các nhân tố gây stress (ammonia và độ mặn). Điều này có thể lý giải do thành phần glucuronolactone trong sản phẩm Nutribull đã kích thích gan tăng cường quá trình bài thải muối và ammonia làm cho cá tra thí nghiệm có khả năng chịu đựng tốt hơn đối với điều kiện gây sốc ammonia nồng độ cao và gây sốc muối nồng độ cao.

Gan là nơi xảy ra sự chuyển hóa glucose khởi đầu bởi các enzyme. Tiền chất của glucuronolactone là D-glucuronic acid (ở dạng UDP-glucuronic acid) được tạo ra ở gan của nhiều loài động vật. Thành phần này sẽ kết hợp với độc tố giúp hòa tan và pha loãng độc tố. Từ đó giúp cho việc bài thải chất độc hiệu quả.

Một số nghiên cứu khác cũng cho thấy, cá ăn thức ăn bổ sung nucleotide có khả năng chống chịu tốt hơn với các tác nhân stress như chất lượng nước kém, nuôi mật độ cao, cá bị nhốt giữ (Burrells và ctv., 2001; Low và ctv., 2003). Thức ăn bổ sung nucleotide có khả năng tác động lên hệ miễn dịch của cá bằng cách hạn chế cortisol tiết ra khi cá bị stress. Burrells và ctv. (2001) đưa ra giả thuyết rằng thức ăn bổ sung nucleotide có thể nâng cao khả năng chịu đựng stress và cung cấp một số bằng chứng bằng cách so sánh khả năng điều chỉnh thẩm thấu và sự tăng trưởng của cá hồi Atlantic cho ăn thức ăn bổ sung nucleotide với nhóm đối chứng sau khi gây stress. Giả thuyết này không được chứng minh đầy đủ cho đến khi Leonardi và ctv. (2003) chứng minh rằng cho cá ăn thức ăn bổ sung nucleotide giúp làm giảm mức độ cortisol huyết thanh trên cá hồi vân sau 90 – 120 ngày cho ăn (trích dẫn bởi Heisuke và ctv., 2007).

KẾT LUẬN

Thức ăn bổ sung 0,2% Nutribull ảnh hưởng tốt lên tăng trưởng và đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu (tăng cường hoạt lực của lysozyme,), giúp nâng cao khả năng đề kháng của cá tra đối với *E. ictaluri*, giúp cá chịu đựng tốt hơn với stress do ammonia và độ mặn cao. Các tỷ lệ bổ sung Nutribull 0,1 và 0,2 % vào thức ăn không có tác dụng rõ ràng lên lượng ăn, hệ số chuyển đổi thức ăn và tỉ lệ sống của cá tra thí nghiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nguyễn Phú Hòa, 2000. *Bài giảng Chất lượng nước trong nuôi trồng thủy sản*. Khoa Thủy sản, Đại học Nông Lâm, TP. Hồ Chí Minh.
- Nguyễn Tuấn, 2000. *Cơ sở sinh học sinh sản nhân tạo cá Basa (Pangasius bocourti Sauvage, 1880)*. Luận án tiến sĩ sinh học, Viện nghiên cứu nuôi trồng Thủy Sản II, TP. Hồ Chí Minh.
- 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 response of turbot *Scophthalmus maximus*. *Dis. Aquat. Org.* 26: 139–147.
- Burrells C., Williams P. D., Forno P. F., 2001. Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds: 1. Effects on resistance to disease in salmonids. *Aquaculture* 199: 159-169.
- Engstad R. E. and Robertsen B., 1994. Specificity of a β -glucan receptor on macrophages from Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Developmental and Comparative Immunology* 18 (5): 397-408.
- Ellis, A.E. (1990). Lysozyme assays. *Techniques in Fish Immunology*, Volume 1. SOS Publication, 43 DeNormandie Ave, Fair Haven, NJ 07704-3303 USA, pp. 101-103
- Engstad R. E., Robertsen B., Frivold E., 1992. Yeast glucan induces increase in activity of lysozyme and complement-mediated haemolytic activity in Atlantic salmon blood. *Fish Shellfish Immunol.* 2: 287–297.
- Heisuke N., Minoru S., Delbert M. Gatlin, 2007. *Dietary Supplements for the Health and Quality of Cultured Fish*. CABI Publisher, 244 pages.

- Jørgensen J. B., Lunde H., Robertsen B., 1993. Peritoneal and head kidney cell response to intraperitoneally injected yeast glucan in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *J. Fish Dis.* 16: 313–325.
- Li P., Gatlin D. M., Neill W. H., 2007. Dietary supplementation of a Purified nucleotide mixture transiently enhanced growth and feed utilization of juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus*. *Journal of the World Aquaculture Society* 38 (2): 281-286.
- Low C., Wadsworth S., Burells C., Secombes C. J., 2003. Expression of immune genes in turbot (*Scophthalmus maximus*) fed a nucleotide-supplemented diet. *Aquaculture* 221: 23-40.
- Raa J., 2000. The use of immune-stimulants in fish and shellfish feeds. In: *Avances en Nutrición Acuicola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuicola*, pp. 47-56.
- Sheehan R. J. and Lewis W. M., 1986. Influence of pH and ammonia salts on ammonia toxicity and water balance in young channel catfish. *American Fisheries Society* 115: 891 - 899.
- Thompson K. D., Cachos A., Inglis V., 1995. Immunomodulating effects of glucans and oxytetracycline in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, on serum lysozyme and protection. *Diseases in Asian Aquaculture* 11: 433–439.
- Tomasso J. R., Goudie B. A., Simco B. A. and Davis K. B., 1980. Effects of environment pH and calcium on ammonia toxicity in channel catfish. *Transactions of the American Fisheries Society* 109: 229 -234.