Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ
Phần B: Nông nghiệp, Thủy sản và Công nghệ Sinh học
ISSN 1859-2333 | e-ISSN 2815-5599

DOI:10.22144/ctujos.2024.383

ẢNH HƯỞNG CỦA INULIN VÀ *Lactobacillus plantarum* LÊN TĂNG TRƯỞNG VÀ ĐÁP ỨNG MIỄN DỊCH CỦA CÁ TRA *(Pangasianodon hypophthalmus)* TRONG ĐIỀU KIỆN AO NUÔI

Bùi Thị Bích Hằng*, Trần Tuấn Thanh, Nguyễn Văn Triều và Nguyễn Thanh Phương
Trường Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ
**Tác giả liên hệ (Corresponding author): btbhang@ctu.edu.vn*

Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 11/12/2023
Sửa bài (Revised): 02/02/2024
Duyệt đăng (Accepted): 18/03/2024

Title: *Effect of inulin and Lactobacillus plantarum on growth performance and immune response of cultured striped catfish (Pangasianodon hypophthalmus) in pond*

Author(s): *Bui Thi Bich Hang*, Tran Tuan Thanh, Nguyen Van Trieu and Nguyen Thanh Phuong*

Affiliation(s): *Can Tho University*

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá sự ảnh hưởng của bổ sung Lactobacillus plantarum (10^7 CFU/g thức ăn) và 1% inulin vào thức ăn theo chu kỳ 2 tuần/tháng lên tăng trưởng và đáp ứng miễn dịch cá tra (Pangasianodon hypophthalmus) trong điều kiện nuôi ao. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 nghiệm thức (NT) gồm đối chứng (NT1), bổ sung L. plantarum (NT2) và bổ sung 1% inulin (NT3), mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần. Tiến hành thu mẫu vào tuần thứ 4 và 8 tuần sau khi bổ sung L. plantarum (10^7 CFU/g) và 1% inulin. Các chỉ tiêu miễn dịch bao gồm mật độ tổng hồng cầu, mật độ tổng bạch cầu, định lượng từng loại bạch cầu và hoạt tính lysozyme được phân tích để đánh giá đáp ứng miễn dịch của cá. Kết quả cho thấy các chỉ tiêu tăng trưởng, huyết học và hoạt tính lysozyme ở NT2, NT3 đều cao hơn so với đối chứng sau 8 tuần thí nghiệm. Nghiệm thức NT3 cho kết quả tăng trọng, tăng trưởng tuyệt đối cao nhất lần lượt 42,4 g và 0,61 g/ngày ở 2 đợt thu mẫu và cũng cho thấy cá có đáp ứng miễn dịch tốt nhất.

Từ khoá: *Cá tra, Lactobacillus plantarum, miễn dịch, inulin*

ABSTRACT

The study was conducted to evaluate the effect of Lactobacillus plantarum (10^7 CFU/g feed) and 1% inulin dietary supplementation on the growth performance and immune response of striped catfish (Pangasianodon hypophthalmus). The experiment was randomly designed with 3 treatments including control (NT1), L. plantarum (10^7 CFU/g) 2 weeks interval (NT2), 1% inulin 2 weeks interval (NT3). Alltreatments weretriplicated. Sampling were done in the week 4^{th} and 8^{th} of L. plantarum (10^7 CFU/g) and 1% inulin supplementation. Immune parameters including total erythrocyte cells, total leucocyte cells, the number of each type of leucocyte and lysozyme activity were analyzed to evaluate fish immune response. The results showed that the growth performance, haematology and lysozyme activity in treatment NT2 and NT 3 were higher than those of the control treatment. In the treatment of 1% inulin 2 weeks interval - NT3, the growth performance and daily weight gain showed the highest values (42,42g and 0,61 g/day) in both sampling times and indicated the best immune response of fish.

Keywords: *Lactobacillus plantarum, immune, inulin, striped catfish*

1. GIỚI THIỆU

Nuôi trồng thủy sản là một trong những ngành quan trọng đóng góp đáng kể vào sự phát triển của nền kinh tế Việt Nam, trong đó đồng bằng sông Cửu Long là khu vực có nghề nuôi thủy sản phát triển nhất cả nước. Cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) là một trong những đối tượng thủy sản nuôi và xuất khẩu chủ lực của vùng. Vì nghề nuôi cá tra mang lại nhiều lợi ích về kinh tế và xã hội nên diện tích nuôi cá tra ngày càng mở rộng và mật độ nuôi cũng tăng cao. Mức độ nuôi thâm canh ngày càng cao cùng với những thay đổi bất thường của thời tiết đã tạo điều kiện cho mầm bệnh phát triển và gây bệnh cho cá tra. Việc sử dụng thuốc và hóa chất chưa đúng quy định đã dẫn đến nguy cơ tồn lưu dư lượng trên sản phẩm, tạo ra các dòng vi khuẩn kháng thuốc, phá hủy quần thể vi sinh vật trong môi trường nuôi trồng thủy sản và ức chế hệ thống miễn dịch ở cá (Phú & Phương, 2015).

Việc sử dụng probiotic và prebiotic trong nuôi trồng thủy sản đã được ứng dụng phổ biến nhằm ngăn ngừa dịch bệnh cho các đối tượng thủy sản và tạo nguồn thực phẩm sạch cho người tiêu dùng (Chitmanat et al., 2003). Các probiotic và prebiotic đóng vai trò quan trọng trong việc kiểm soát dịch bệnh do có khả năng kháng vi khuẩn, kháng stress, kích thích tăng trưởng và tăng cường hệ miễn dịch trên cá (Akhter et al., 2015).

Một số nghiên cứu ứng dụng bổ sung *Lactobacillus plantarum* vào thức ăn cá cho thấy cải thiện tăng trưởng, tăng cường miễn dịch và kháng lại mầm bệnh trên cá (Giri et al., 2013; VanDoan et al., 2020; 2021). Tương tự, các prebiotic như oligosaccharide, FOS, inulin cũng mang lại nhiều lợi ích cho các đối tượng thuỷ sản (Hân & Hằng, 2018; Hằng & Phương, 2020). Bổ sung prebiotic và probiotic giúp gia tăng hiệu quả cải thiện tăng trưởng, thay đổi thành phần hệ vi sinh đường ruột theo hướng có lợi, tăng cường miễn dịch, vì thế cải thiện sức khỏe của vật nuôi (Wang et al., 2017; Hoseinifar et al., 2020). Nghiên cứu này kế thừa các kết quả nghiên cứu trước đây (Hân & Hằng, 2018; Hang et al., 2022) và ứng dụng triển khai các kết quả nghiên cứu trong điều kiện phòng thí nghiệm sang mô hình nuôi cá tra trong ao nhằm đánh giá lại kết quả nghiên cứu trong điều kiện nuôi thực tế. Kết quả của nghiên cứu cung cấp các thông tin hữu ích làm cơ sở xây dựng biện pháp phòng bệnh cho cá tra nuôi thương phẩm, nâng cao hiệu quả của nghề nuôi cá tra

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được thực hiện tại Trung tâm Nghiên cứu ứng dụng thủy sản công nghệ cao và các mẫu được phân tích tại phòng thí nghiệm Khoa Bệnh học Thủy sản, Trường Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ. Nguồn cá tra giống được sinh sản, ương dưỡng tại trại giống và cung cấp cho thí nghiệm này.

Chuẩn bị thức ăn: Thức ăn thí nghiệm là thức ăn viên công nghiệp có hàm lượng đạm 30% (Công ty Cargill). Inulin (Sigma) và *L. plantarum* (Công ty sinh phẩm Khánh Hòa) được hòa tan vào 15 mL nước theo tỉ lệ tương ứng của mỗi nghiệm thức, phun đều vào 1 kg thức ăn, để khô tự nhiên trong mát khoảng 4 giờ, sau đó áo một lớp dầu mực (0,5%), thức ăn được ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ sau đó được trữ ở 4 ^{o}C trong thời gian thí nghiệm.

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 nghiệm thức (NT), mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần gồm: nghiệm thức đối chứng (NT1) - không bổ sung inulin và *L. plantarum*; nghiệm thức 2 (NT2): bổ sung *L. plantarum* (10^7 CFU/g) và Nghiệm thức 3 (NT3): bổ sung 1% inulin. Inulin và *L. plantarum* được bổ sung vào thức ăn cho cá theo nhịp 2 tuần/tháng. Thí nghiệm được thực hiện nuôi cá trong giai có kích thước (2 × 2 × 2m), mỗi giai bố trí 200 cá tra giống có khối lượng (11,09 ±1,24g). Thí nghiệm được tiến hành trong 8 tuần. Cá được cho ăn 3% trọng lượng thân, 2 lần/ngày. Mẫu máu được thu vào tuần thứ 4 và 8 của thí nghiệm để đánh giá chỉ tiêu huyết học và miễn dịch. Cá được cân khối lượng vào ngày bắt đầu và ngày kết thúc thí nghiệm để tính tăng trưởng. Quan sát và ghi nhận các biểu hiện của cá thí nghiệm mỗi ngày để theo dõi khả năng nhiễm bệnh tự nhiên của cá ở ao nuôi. Các chỉ tiêu môi trường được theo dõi hàng ngày, nhiệt độ: 27,9 ± 2,37 °C, pH: 7,15 ± 0,36, oxy hòa tan: 3,86 ± 0,52 mg/L, phù hợp cho sự phát triển của cá tra.

2.2. Phương pháp thu mẫu

Cá được thu mẫu ngẫu nhiên 5 cá/giai và gây mê bằng 0,1 ppm MS222 (Merck). Sau khi cân khối lượng, dùng kim vô trùng đã tráng heparin (Merck) lấy từ 0,3 đến 0,4 mL máu ở động mạch đuôi của cá cho vào 2 ống Eppendorf 1,5 mL. Một ống được sử dụng để phân tích chỉ tiêu huyết học, 1 ống được ly tâm với tốc độ 7.500 vòng/phút trong vòng 10 phút. Rút lấy phần huyết tương cho vào ống Eppendorf khác, trữ ở -20^{o}C cho đến khi phân tích các chỉ tiêu miễn dịch.

2.3. Phương pháp tính tăng trưởng của cá

Tăng trưởng của cá được tính dựa theo công thức: Tăng trọng: WG= (Wf-Wi); Tăng trưởng theo ngày: DWG (g/ngày) = (Wf-Wi)/t; Tăng trưởng tương đối: SGR (%/ngày) = [(LnWf –LnWi)/t ×100. Trong đó, Wi: Khối lượng cá ở thời điểm ban đầu (g); Wf: Khối lượng cá ở thời điểm kết thúc thí nghiệm (g); t: thời gian nuôi (ngày).

2.4. Phương pháp phân tích các chỉ tiêu huyết học và miễn dịch

Định lượng hồng cầu*:* Mật độ hồng cầu được xác định bằng buồng đếm Neubauer theo phương pháp của Natt & Herick (1952) và tính theo công thức: HC = C × 10 × 5 × 200 (tế bào/mm^3) (C: Tổng số hồng cầu của 5 vùng đếm).

Tổng bạch cầu và từng loại bạch cầu: Được phân tích theo phương pháp của Hrubec et al. (2000). Trải mẫu máu trên lame và nhuộm với Wright & Giemsa. Tổng số bạch cầu được tính theo công thức: TBC (tb/mm^3) = (số BC trong 1.500 tế bào × R)/số HC trong 1.500 tế bào (TBC: mật độ tổng bạch cầu, BC: bạch cầu, R: mật độ hồng cầu, HC: hồng cầu).

Định lượng từng loại bạch cầu: Đếm số lượng từng loại bạch cầu trong tổng số 200 tế bào bạch cầu. Tính mật độ từng loại bạch cầu theo công thức: Mật độ loại bạch cầu (tb/mm^3) = (Số lượng mỗi loại bạch cầu × TBC)/200

Hoạt tính lysozyme: Được phân tích theo phương pháp của Ellis et al. (1990). Hoạt tính lysozyme được tính dựa vào đường chuẩn lysozyme.

Hoạt tính đại thực bào: Xác định hoạt tính đại thực bào dựa theo phương pháp của Siwicki & Anderson (1993). Hoạt tính thực bào được tính dựa trên tổng số tế bào thực bào trong 100 đại thực bào đếm được.

Hoạt tính bổ thể: Hoạt tính bổ thể được phân tích theo phương pháp của Sunyer & Tort (1995) dựa trên sự phân giải hồng cầu của bổ thể. Hoạt tính bổ thể được tính theo phương pháp Milla et al. (2010).

2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel, xử lý thống kê theo phương sai một nhân tố ANOVA và so sánh sự khác biệt có ý nghĩa bằng phép thử Ducan ở độ tin cậy 95% với phần mềm SPSS.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả thí nghiệm

3.1.1. Tăng trưởng của cá tra sau 8 tuần bổ sung L. plantarum và inulin

Sau 8 tuần thí nghiệm, kết quả cho thấy tăng trọng cá dao động trong khoảng 29,81-42,42g (Bảng 1). Cụ thể, nghiệm thức bổ sung *L. plantarum* (10^7 CFU/g) và 1% inulin có tăng trọng lần lượt 39,03 g và 42,42 g, trong khi tăng trọng của cá ở nghiệm thức đối chứng là 29,81g. Khối lượng trung bình của cá ở các nghiệm thức có bổ sung *L. plantarum* (10^7 CFU/g) và 1% inulin cao hơn có ý nghĩa thống kê so với cá ở nhóm đối chứng lần lượt là 1,42 và 1,51 lần (p<0,05). Tương tự, tốc độ tăng trưởng theo ngày sau 8 tuần thí nghiệm ở các nghiệm thức bổ sung 1% inulin cho kết quả cao nhất (0,61g/ngày), nghiệm thức bổ sung *L. plantarum* (10^7 CFU/g) đạt (0,57g/ngày) cao hơn và có ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng (p<0,05). Tốc độ tăng trưởng tương đối của cá ở các nghiệm thức dao động từ 2,09 đến 2,31 %/ngày, cụ thể ở nghiệm thức bổ sung *L. plantarum* (10^7 CFU/g) đạt 2,22 %/ngày và nghiệm thức bổ sung 1% inulin đạt 2,31 %/ngày cho kết quả cao nhất và cao hơn có ý nghĩa thống kê (p<0,05) so với nghiệm thức đối chứng (2,09 %/ngày).

Bảng 1. Tăng trưởng của cá tra được bổ sung *L. plantarum* và inulin.

Nghiệm thức	Tăng trưởng		
	WG (g)	DWG(g/ngày)	SGR (%/ngày)
Đối chứng	29,8±0,65^a	0,50±0,01^a	2,09±0,03^a
L. plantarum (10^7 CFU/g)	39,0±2,36^b	0,57±0,04^b	2,22±0,04^b
1% Inulin	42,4±3,89^b	0,61±0,06^b	2,31±0,12^b

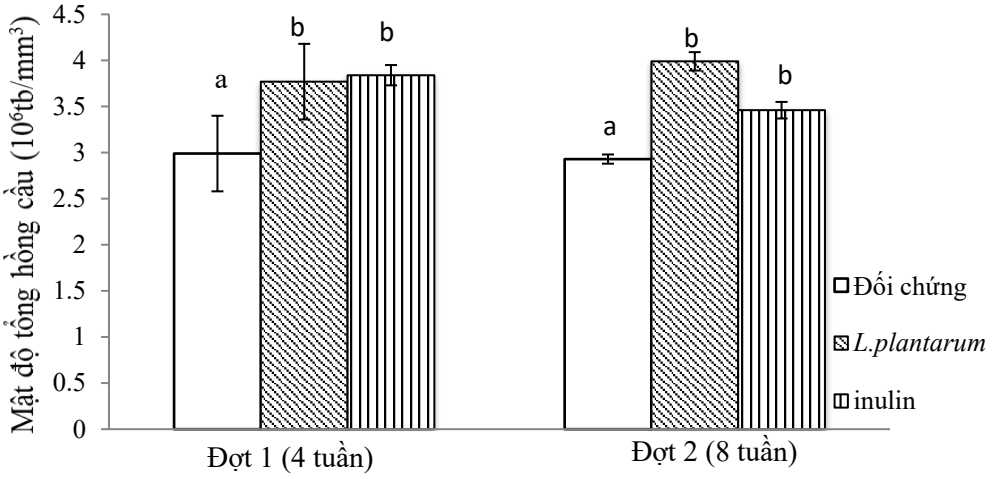
Ghi chú: Các giá trị thể hiện trên bảng là giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn. Các giá trị có ký tự giống nhau trong cùng một cột (a, b) thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p>0,05).

3.1.2. Chỉ tiêu huyết học của cá tra được bổ sung L. plantarum và inulin

Mật độ hồng cầu: Kết quả định lượng hồng cầu cho thấy sau 4 tuần bổ sung *L. plantarum* (10^7 CFU/g) và 1% inulin vào thức ăn, mật độ hồng cầu ở các nghiệm thức bổ sung *L. plantarum* (10^7 CFU/g) và 1% inulin đều cao hơn so với nghiệm thức đối chứng (Hình 1). Cụ thể, mật độ hồng cầu ở nghiệm thức 1% inulin là 3,84 × 10^6 tb/mm^3 đạt giá

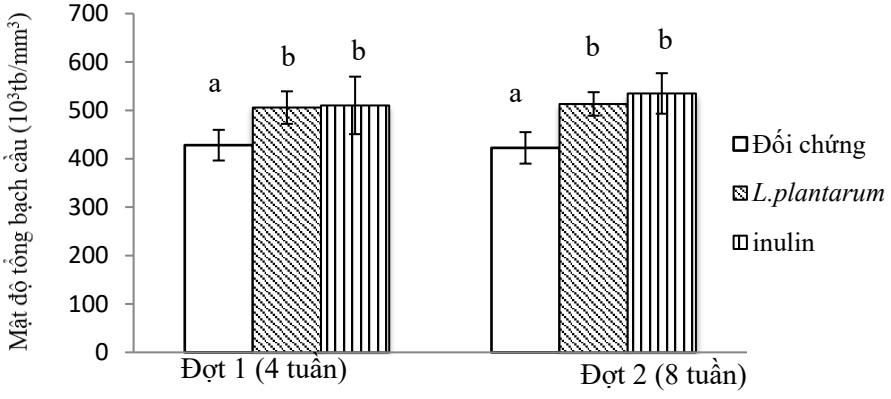
trị cao nhất và mật độ hồng cầu ở nghiệm thức *L. plantarum* (10^7 CFU/g) là 3,77 × 10^6 tb/mm^3, cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng (2,99 × 10^6 tb/mm^3) ($p<0,05$). Sau 8 tuần bổ sung *L. plantarum* (10^7 CFU/g) và 1% inulin, mật độ hồng cầu ở nghiệm thức bổ sung *L. plantarum* và 1% inulin đều cao hơn và có ý nghĩa thống kê so với đối chứng (2,93 × 10^6 tb/mm^3) ($p<0,05$). Cụ thể, mật độ hồng cầu ở nghiệm thức bổ sung *L. plantarum* (10^7 CFU/g) là 3,99 × 10^6 tb/mm^3 đạt giá trị cao nhất và mật độ hồng cầu ở nghiệm thức bổ sung inulin là 3,46 × 10^6 tb/mm^3. Ngoài ra, mật độ hồng cầu của cá ở các nghiệm thức đợt hai (8 tuần) đều tăng cao hơn so với lần thu mẫu đợt một (4 tuần), tuy nhiên không có sự khác biệt thống kê ($p>0,05$) (Hình 1).

Tổng bạch cầu: Kết quả định lượng tổng bạch cầu cho thấy sau 4 tuần bổ sung *L. plantarum* và inulin, tổng bạch cầu của cá ở 2 nghiệm thức *L. plantarum* (10^7 CFU/g) và 1% inulin tăng cao so với nghiệm thức đối chứng, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$). Tương tự, sau 8 tuần cho ăn thức ăn bổ sung *L. plantarum* (10^7 CFU/g) và 1% inulin, tổng bạch cầu của nghiệm thức bổ sung inulin vào thức ăn tăng cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức bổ sung *L. plantarum* (10^7 CFU/g) và nghiệm thức đối chứng ($p<0,05$). Cụ thể, mật độ tổng bạch cầu của nghiệm thức bổ sung *L. plantarum* (10^7 CFU/g) là 513,29 × 10^3 tb/mm^3 và mật độ của tổng bạch cầu của nghiệm thức bổ sung 1% inulin là 534,95 x 10^3 tb/mm^3 đạt giá trị cao nhất so với các nghiệm thức còn lại (Hình 2).



Hình 1. Mật độ hồng cầu của cá tra được bổ sung *L. plantarum* và inulin

Ghi chú: Các giá trị thể hiện trên hình là giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn. Các ký hiệu giống nhau trong cùng một đợt thu mẫu (a, b, c) thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p>0,05).



Hình 2. Mật độ tổng bạch cầu của cá tra được bổ sung *L. plantarum* và inulin

Ghi chú: Các ký hiệu giống nhau trong cùng một đợt thu mẫu (a, b) thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p>0,05).

Sự biến động của tế bào đơn nhân: Sau 4 tuần bổ sung *L. plantarum* (10^7CFU/g) và 1% inulin vào thức ăn cá tra, mật độ tế bào bạch cầu đơn nhân ở các nghiệm thức bổ sung *L. plantarum* (10^7CFU/g) và inulin tăng cao so với nghiệm thức đối chứng, dao động từ $37,96 \times 10^3$ - $45,74 \times 10^3$ tb/mm^3 (Bảng 2) trong đó nghiệm thức bổ sung inulin có mật độ bạch cầu đơn nhân ($45,74 \times 10^3$ tb/mm^3) tăng cao nhất, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại ($p<0,05$). Sau 8 tuần thí nghiệm, nghiệm thức bổ sung *L. plantarum* (10 CFU/g) và inulin tiếp tục tăng cao, lần lượt đạt giá trị $46,45 \times 10^3$ và $47,52 \times 10^3$ tb/mm^3, cao hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng ($40,49 \times 10^3$ tb/mm^3) ($p<0,05$).

Sự biến động của tế bào trung tính: Sau 4 tuần bổ sung *L. plantarum* (10^7CFU/g) và 1% inulin, mật độ tế bào trung tính của cá nằm trong khoảng $40,34 \times 10^3$ đến $47,6 \times 10^3$ tb/mm^3 (Bảng 2). Cá ở nghiệm thức bổ sung inulin có mật độ tế bào trung tính tăng cao nhất ($47,6 \times 10^3$ tb/mm^3) khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$). Sau 8 tuần thí nghiệm, các nghiệm thức bổ sung *L. plantarum* (10^7CFU/g) và inulin vẫn cho mật độ bạch cầu trung tính cao hơn nghiệm thức đối chứng, lần lượt đạt giá trị $49,32 \times 10^3$ tb/mm^3 ở nghiệm thức bổ sung *L. plantarum* (10^7CFU/g)) và $49,43 \times 10^3$ tb/mm^3 ở nghiệm thức bổ sung 1% inulin.

***Sự biến động của tế bào lympho*:** Sau 4 tuần sử dụng thức ăn có bổ sung *L. plantarum* (10^7 CFU/g) và 1% inulin, số lượng tế bào lympho ở các nghiệm thức bổ sung *L. plantarum* và inulin tăng cao, cụ thể nghiệm thức bổ sung *L. plantarum* (10^7 CFU/g) có mật độ lympho là $368,45 \times 10^3$ tb/mm^3, nghiệm thức bổ sung inulin đạt $374,02 \times 10^3$ tb/mm^3, cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng. Trong đó, nghiệm thức bổ sung inulin có mật độ lympho cao nhất ($374,02 \times 10^3$ tb/mm^3), nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức bổ sung *L. plantarum* (10^7 CFU/g). Tương tự, các nghiệm thức bổ *L. plantarum* (10^7 CFU/g) và 1% inulin có mật độ lympho cao hơn nghiệm thức đối chứng sau 8 tuần thí nghiệm lần lượt nghiệm thức bổ sung *L. plantarum* (10^7 CFU/g) đạt ($375,49 \times 10^3$ tb/mm^3), nghiệm thức bổ sung inulin đạt (391,11 tb/mm^3). Trong đó, nghiệm thức bổ sung inulin có mật độ lympho cao nhất, tuy nhiên không có sự khác biệt thống kê so với nghiệm thức bổ sung *L. plantarum* (10^7 CFU/g; Bảng 2).

Bảng 2. Mật độ các loại bạch cầu của cá tra được bổ sung *L. plantarum* và inulin

Nghiệm thức	Đợt 1 (4 tuần)	Đợt 2 (8 tuần)
Bạch cầu đơn nhân ($\times 10^3$ tb/mm^3)		
Đối chứng	37,96±4,58^a	40,49±2.77^a
L. plantarum (10^7 CFU/g)	46,73±3,54^b	46,45±3,42^b
1% Inulin	45,74±2,58^b	47,52±4,2^b
Bạch cầu trung tính ($\times 10^3$ tb/mm^3)		
Đối chứng	40,34±2,9^a	38,61±2,46^a
L. plantarum (10^7 CFU/g)	48,98±2,16^b	49,32±3,73^b
1% Inulin	47,6±3,4^b	49,43±3,46^b
Tế bào lympho ($\times 10^3$ tb/mm^3)		
Đối chứng	316,06±23,84^a	308,71±25,47^a
L. plantarum (10^7 CFU/g)	368,45±27,49^b	375,49±17,13^b
1% Inulin	374,02±51,47^b	391,11±39,19^b
Tiểu cầu ($\times 10^3$ tb/mm^3)		
Đối chứng	33,71±6,04^a	34,66±5,65^a
L. plantarum (10^7 CFU/g)	40,03±6,42^{ab}	42,02±7,97^b
1% Inulin	43,54±7,78^b	46,88±3,36^b

Ghi chú: Giá trị thể hiện là giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn. Các giá trị trong cùng 1 chỉ tiêu, cùng một cột mang cùng chữ cái thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$).

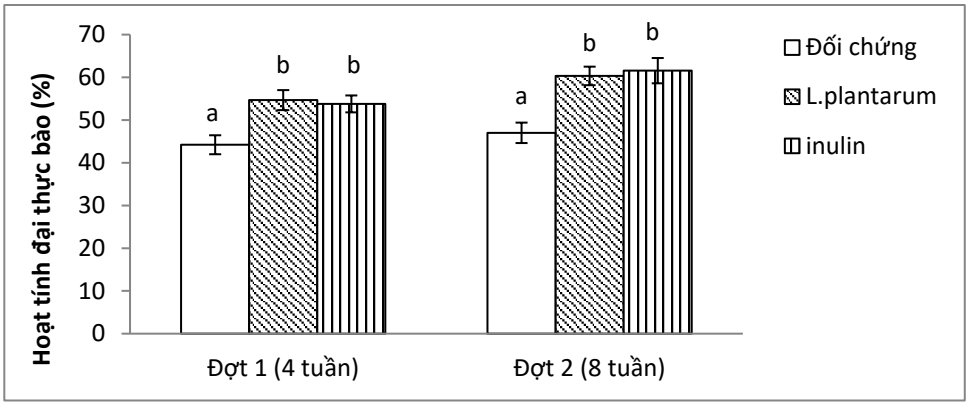
Sự biến động của tế bào tiểu cầu: Sau 4 tuần thí nghiệm, mật độ tiểu cầu của nghiệm thức bổ sung *L. plantarum* (10^7 CFU/g) đạt $40,03 \times 10^3$ tb/mm^3, nghiệm thức bổ sung inulin đạt $43,54 \times 10^3$ tb/mm^3 và nghiệm thức đối chứng $33,71 \times 10^3$ tb/mm^3. Trong đó, nghiệm thức bổ sung 1% inulun có mật độ tiểu cầu tăng cao nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với đối chứng ($p<0,05$). Nghiệm thức bổ sung *L. plantarum* (10^7 CFU/g) cho kết quả mật độ tiểu cầu cao nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với đối chứng ($p>0,05$). Sau 8 tuần, mật độ tiểu cầu tiếp tục tăng cao ở các nghiệm thức bổ sung *L. plantarum* (10^7 CFU/g) có mật độ tiểu cầu đạt $42,02 \times 10^3$ tb/mm^3; nghiệm thức bổ sung 1%

inulin có mật độ tiểu cầu cao nhất đạt 46,88 × 10^3 tb/mm^3, tăng cao có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng (p<0,05)

3.1.3. Chỉ tiêu miễn dịch của cá tra được bổ sung L. plantarum và inulin

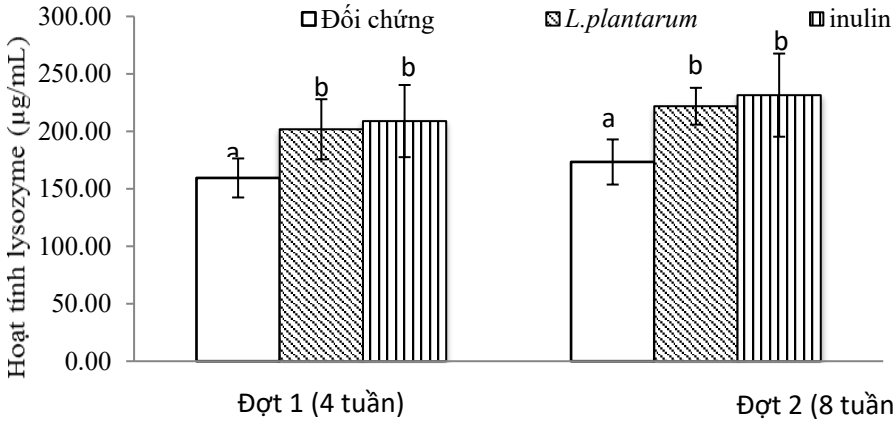
Hoạt tính đại thực bào: Sau 4 tuần thí nghiệm, hoạt tính đại thực bào của cá tra ở các nghiệm thức bổ sung *L. plantarum* và inulin đều tăng cao so với đối chứng. Lần lượt, nghiệm thức bổ sung *L. plantarum* đạt 54,67%, nghiệm thức bổ sung inulin đạt 53,78% và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng (44,22%) (p<0,05). Sau 8 tuần bổ sung *L. plantarum* và inulin, hoạt tính đại thực bào của cá ở các nghiệm thức bổ sung *L. plantarum* và inulin tiếp tục tăng cao (lần lượt đạt 60,33% và 61,56%) và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng (47,01%) (p<0,05) (Hình 3).

***Hoạt tính lysozyme*:** Sau 4 tuần, hoạt tính lysozyme trong huyết thanh cá tra của các nghiệm thức bổ sung *L. plantarum* và nghiệm thức bổ sung inulin đều tăng cao so với đối chứng. Nghiệm thức bổ sung *L. plantarum* đạt 201,78 µg/mL, inulin đạt 208,94 µg/ml và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng (159,44 µg/mL) (p<0,05). Sau 8 tuần thí nghiệm, các nghiệm thức bổ sung *L. plantarum* và inulin vẫn tăng cao và có ý nghĩa thống kê so với đối chứng (173,33 µg/mL) (p<0,05). Cụ thể, hoạt tính lysozyme của nghiệm thức bổ sung inulin đạt giá trị cao nhất 231,50 µg/mL và nghiệm thức *L. plantarum* đạt giá trị là 221,84 µg/mL (Hình 4).



Hình 3. Hoạt tính đại thực bào của cá tra sau 8 tuần bổ sung *L. plantarum* và inulin

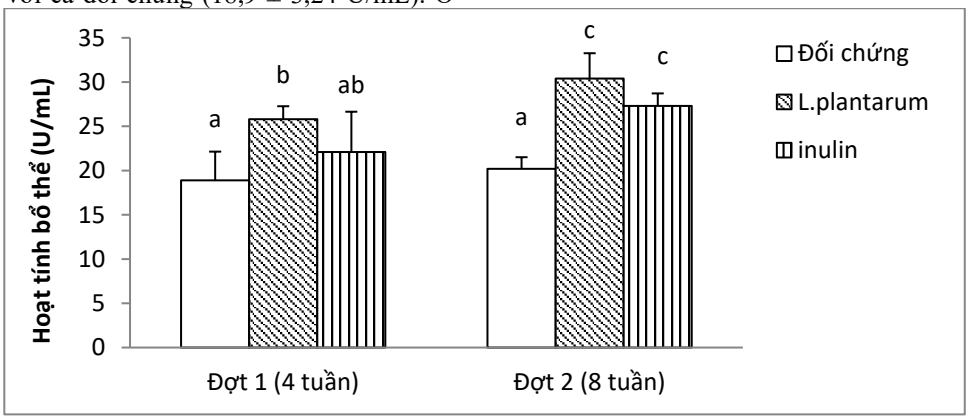
Ghi chú: Giá trị thể hiện là giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn. Các giá trị ký hiệu giống nhau trong cùng một đợt thu mẫu (a, b, c) thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p>0,05).



Hình 4. Hoạt tính lysozyme của cá tra sau 8 tuần bổ sung *L. plantarum* và inulin

Ghi chú: Giá trị thể hiện là giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn. Các giá trị ký hiệu giống nhau trong cùng một đợt thu mẫu (a, b, c) thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p>0,05).

Hoạt tính bổ thể: Ở tuần thứ 4, hoạt tính của bổ thể cá ở nghiệm thức bổ sung *L. plantarum* và inulin tăng cao hơn so với đối chứng, tuy nhiên chỉ có nghiệm thức bổ sung *L. plantarum* cho kết quả hoạt tính bổ thể (25,8 ± 1,47 U/mL) khác biệt có ý nghĩa thống kê với cá đối chứng (18,9 ± 3,24 U/mL). Ở tuần thứ 8 thí nghiệm, hoạt tính bổ thể của cá được bổ sung *L. plantarum* và inulin tiếp tục tăng cao, lần lượt đạt giá trị 30,4 ± 2,86 U/mL và 27,3 ± 1,42 U/mL, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng (20,2 ± 1,31 U/mL).



Hình 5. Hoạt tính bổ thể của cá tra sau 8 tuần bổ sung *L. plantarum* và inulin

Ghi chú: Giá trị thể hiện là giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn. Các giá trị ký hiệu giống nhau trong cùng một đợt thu mẫu (a, b, c) thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p>0,05).

3.2. Thảo luận

Kết quả thí nghiệm cho thấy cá được cho ăn có bổ sung *L. plantarum* và inulin có tăng trọng cao hơn cá ở nghiệm thức đối chứng. Nhiều nghiên cứu trước đây cho thấy chế phẩm vi sinh được sử dụng trong nuôi thủy sản như chất kích thích tăng trưởng cho đối tượng nuôi. Bổ sung *Bacillus pumilus* vào thức ăn cá chim vây vàng (*Trachinotus ovatus*) giai đoạn giống cũng ghi nhận cá tăng trưởng cao hơn nhóm cá đối chứng (Liu et al., 2020). Tương tự, bổ sung đơn lẻ hoặc kết hợp 2 nhóm vi khuẩn có lợi *Bacillus megaterium* và *Pediococcus pentosaceus* cũng cải thiện tốc độ tăng trưởng trên cá da trơn *Clarias* sp. (Hamka et al., 2020). VanDoan et al. (2020) báo cáo chế phẩm vi sinh có khả năng cải thiện tốc độ tăng trưởng của cá là do tăng tiết enzyme tiêu hóa trong ống tiêu hóa của cá, giúp sản sinh nhiều vitamin, phân giải tốt các thành phần khó tiêu hóa, cải thiện cấu trúc mô của ruột cá.

Ngoài ra, kết quả cũng ghi nhận bổ sung *L. plantarum* và inulin vào thức ăn cá tra làm gia tăng một số chỉ tiêu huyết học. Mật độ hồng cầu trên cá tra trong thí nghiệm cũng hoàn toàn phù hợp với nghiên cứu của Glomski & Pica (2006) về biến động của mật độ tế bào hồng cầu ở cá nước ngọt. Sự thay đổi mật độ tế bào máu bao gồm hồng cầu, bạch cầu của cá cũng là một chỉ tiêu quan trọng để đánh giá tình trạng sức khỏe của cá (Basusta, 2005). Thí nghiệm nghiên cứu bổ sung fructooligosaccharide (FOS) vào thức ăn cho cá tra giống (*P. hypophthalmus*) với nhiều nồng độ khác nhau (0%, 0,5%, 1,0%, 1,5% và 2% FOS) đã ghi nhận mật độ hồng cầu cá tra tăng cao ở các nghiệm thức bổ sung FOS, cá ở nghiệm thức 1,0 % FOS có mật độ hồng cầu tăng cao nhất sau 90 ngày thí nghiệm (Hương, 2014). Bạch cầu là một trong những tế bào quan trọng tham gia vào quá trình đáp ứng miễn dịch của động vật, chúng giữ chức năng quan trọng trong việc nhận diện, thực bào các kháng nguyên bảo vệ cơ thể tránh sự xâm nhập của các vật lạ (Oanh và ctv., 2022). Kết quả mật độ bạch cầu ở cá tra được bổ sung *L. plantarum* và inulin tăng cao hơn cá đối chứng. Nghiên cứu bổ sung inulin vào thức ăn cá tầm (*Huso huso*) giống trong 8 tuần cũng cho thấy cá được bổ sung inulin có mật độ bạch cầu tăng cao, đặc biệt nghiệm thức bổ sung 1% inulin cho thấy số lượng bạch cầu tăng lên cao nhất và có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức bổ sung 2% và 3% inulin (Ahmdifar et al., 2011). Guilherme et al., (2014) nghiên cứu ảnh hưởng của *B. subtilis* (5×10^7 CFU/g) lên chỉ tiêu miễn dịch không đặc hiệu của cá rô phi trong 84 ngày cho thấy mật độ tế bào bạch cầu, đặc biệt tế bào trung tính và lympho của cá tăng cao ở các nghiệm thức bổ sung *B. subtilis*. Ngoài ra, Hằng và ctv. (2022) nghiên cứu bổ sung *B. subtilis* và FOS vào thức ăn cá điêu hồng trong 4 tuần cũng ghi nhận mật độ tổng bạch cầu và bạch cầu trung tính tăng cao nhất ở nghiệm thức bổ sung 0,5% FOS + 10^7 CFU/g *B. subtilis*. Bên cạnh đó, nghiên cứu

này cũng ghi nhận bổ sung *L. plantarum* (10^7 CFU/g) và inulin vào thức ăn có khả năng điều biến miễn dịch của cá tra thông qua việc gia tăng một số chỉ tiêu miễn dịch không đặc hiệu như gia tăng tế bào bạch cầu, hoạt tính đại thực bào, hoạt tính lysozyme và bổ thể. Lysozyme là một protein có vai trò quan trọng trong hệ miễn dịch. Protein này có khả năng phá vỡ vách tế bào vi khuẩn và được tìm thấy trong dịch nhầy, máu và các cơ quan có chứa tế bào bạch cầu của cá (Lie et al*.,* 1989). Tương tự, nghiên cứu bổ sung *L. plantarum* và *Bacillus velezensis* cũng làm tăng hoạt tính lysozyme, bổ thể, peroxidase và hoạt tính thực bào ở cá rô phi (VanDoan et al., 2021). Liu et al. (2020) nghiên cứu bổ sung *B. pumilus* vào thức ăn cá chim vây vàng (*Trachinotus ovatus*) cũng ghi nhận hoạt tính lysozyme và tổng protein trong máu cá tăng cao, giúp cá nâng cao sức khỏe, đề kháng bệnh tốt hơn.

4. KẾT LUẬN

Bổ sung *L. plantarum* (10^7 CFU/g) và 1% inulin vào thức ăn cá tra theo chu kỳ 2 tuần/tháng trong điều kiện nuôi ao cho thấy có sự kích thích đáp ứng miễn dịch cá tra thông qua gia tăng tế bào bạch cầu, hoạt tính lysozyme, hoạt tính đại thực bào và hoạt tính bổ thể. Ngoài ra, sau 8 tuần thí nghiệm, cá được sử dụng thức ăn có bổ sung *L. plantarum* (10^7 CFU/g) và 1% inulin cho kết quả tăng trưởng tốt. Nghiệm thức bổ sung 1% inulin cho cá tăng trưởng tối ưu nhất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Ahmdifar, E., Akrami, R., Ghelichi, A., & Zarejabad, A. M. (2011). Effect of different dietary prebiotic inulin levels on blood serum enzymes, hematologic, and biochemical parameters of great sturgeon (*Huso huso*) juveniles. *Comparative Clinical Pathology, 20*, 15 – 21. https://doi.org/10.1007/s00580-010-1017-2

Akhter, N., Wu, B., Memon, A. M., & Mohsin, M. (2015). Probiotics and prebiotics associated with aquaculture: A review. *Fish & Shellfish Immunology*, *45*(2), 733-741. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.05.038

Basusta, G. A. (2005). Fish Hematology and Hematological Techniques. In: Karatas, M., Ed., *Research Techniques in Fish Biology* (pp. 275-300). Nobel Publications, Ankara.

Chitmanat, C., Tongdonmuan, K., Khanom, P., Pachontis, P., & Nunsong, W. (2005). Antiparasitic, antibacterial, and antifungal activities derived from a *terminalia catappa* solution against some tilapia (*Oreochromis niloticus*) pathogens. *Acta Hortic. 678*, 179-182. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2005.678.25

Ellis, A. E. (1990). Lysozyme Assays. In: Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Roberson, B.S. and Van Muiswinkel, W.B., (Editors). *Techniques in Fish Immunology Fair Haven* (pp. 101-103). SOS Publications, Fair Haven,

Giri, S. S., Sukumaran, V., & Oviya, M. (2013) Potential probiotic *Lactobacillus plantarum* VSG3 improves the growth, immunity, and disease resistance of tropical freshwater fish, *Labeo rohita*. *Fish & Shellfish Immunology*, *34*(2), 660-666. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.12.008

Glomski, C. A., & Pica, A. (2006). *Erythrocyte of the poikilothrems: A phylogensis odyssey*. Foxwell & Davies (UK) Ltd.

Guilherme, S., Santos, M. A., Gaivao, I., & Pacheco, M. (2014b) DNA and chromosomal damage induced in fish (*Anguilla anguilla .L*) by aminomethylphosphonic 10 aicd (AMPA)- the major environmental breakdown product of glyphosate. *Environ Sci Pollut Res Int*, *21*(14), 8730-9. https://doi.org/10.1007/s11356-014-2803-1

Hamka, M. S., Meryandini, A., & Widanarni, W. (2020). Growth performance and immune response of catfish Clarias sp. given probiotics *Bacillus megaterium* PTB 1.4 and *Pediococcus pentosaceus* E2211. *Journal Akuakultur Indonesia*, 19. 50-60. https://doi.org/10.19027/jai.19.1.50-60

Hân, N. T. M., & Hằng, B. T. B. (2018). Ảnh hưởng của inulin và fructooligosaccharides lên tăng trưởng, một số chỉ tiêu miễn dịch và khả năng kháng khuẩn của cá tra *(Pangasianodon hypophthalmus)*. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, *54*(2), 125-134. https://doi.org/10.22144/ctu.jsi.2018.045

Hằng, B. T. B., & Phương, N. T. (2020). Ảnh hưởng của nhịp bổ sung inulin vào thức ăn lên đáp ứng miễn dịch cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, *56*(2B), 100-109. https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2020.036

Hang, B. T. B., Balami, S., & Phuong, N. T. (2022). Effect of *Lactobacillus plantarum* on growth performance, immune responses, and disease resistance of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). *AACL Bioflux*, *15*(1), 174-187.

Hằng, B. T. B., Hạnh, G. N., Duyên, T. T. M., Thy, D. T. M., & Hoa, T. T. T. (2022). Ảnh hưởng

của việc bổ sung fructooligosaccharides và vi khuẩn *Bacillus subtilis* vào thức ăn lên đáp ứng miễn dịch và khả năng kháng bệnh của cá điêu hồng (*Oreochromis* sp.). *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, *20*(2), 201-212.

Hoseinifar, S. H., Shakouri, M., Yousefi, S., Van Doan, H., Shafiei, S., Yousefi, M., Mazandarani, M., Torfi, M. M., Tulino, T.M., & Faggio, C. (2020). Humoral and skin mucosal immune parameters, intestinal immune related genes expression and antioxidant defense in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed olive (*Olea europea* L.) waste. *Fish & Shellfish Immunology*, *100,* 171-178. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.02.067

Hrubec, T. C., Cardinale, J. L., Smith, S. A. (2000). Heamtology and plasma chemistry reference intervals for culture tilapia (*Oreochromis hybrid*). *Vet Clin Pathol.*, 29, 7-12. https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2000.tb00389.x

Hương, D. T. T. (2014). Ảnh hưởng của fructooligosaccharide trong thức ăn lên một số chỉ tiêu sinh lý, enzyme tiêu hóa, tăng trưởng và khả năng chịu stress của cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) giống. *Báo cáo tổng kết đề tài khoa học và công nghệ cấp Trường đại học Cần Thơ.*

Lie, O., Evensen, O., Sorensen, A., & Froysadal, E., 1989. Study of lysozyme activity in some fish species. *Dis Aquat Org., 6*, 1-5. https://doi.org/10.3354/dao006001

Liu, S., Wang, S., Cai, Y., Erchao, L., Zhuling, R., Yue, W., Weiliang, G., Yun, S., & Yongcan, Z. (2020). Beneficial effects of a host gut-derived probiotic, *Bacillus pumilus*, on the growth, non-specific immune response and disease resistance of juvenile golden pompano, *Trachinotus ovatus*. *Aquaculture*, *514*, 734446. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734446

Milla, S., Mathieu, C., Wang, N., Lambet, S., Nadzialek, S., & Kestemont, P. (2010). Spleen immune status is affected after acute handling stress but not regulated by cortisol in Eurasian perch, *Perca fluviatilis*. *Fish & Shellfish Immunology*, 28, 931–941. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2010.02.012

Natt, M. P., & Herrick C. A. (1952). A new blood diluent for counting erythrocytes and leukocytes of the chicken. *Poultry Science*, *31,* 735-738. https://doi.org/10.3382/ps.0310735

Oanh, D. T. H., Dung, N. N., & Hằng, B. T. B. (2022). *Miễn dịch học thủy sản đại cương*. Nhà xuất bản Đại học Cần Thơ.

Siwicki, A. K., & Anderson, D. P. (1993) Nonspecific defence mechanisms assay in fish: Phagocytic index, adherence and phagocytic ability of neutrophils (NBT test) and myeloperoxidase activity test. In: Siwicki A. K., Anderson D. P., Waluga J. (eds), *Disease diagnosis and prevention methods* (pp. 95-104). FAO-Project GCP/INT/JPA, IFI, Olsztyn.

Sunyer J. O., & Tort L. (1995). Natural haemolytic and bactericidal activities of sea bream *Sparus aurata* serum are effected by the alternative complement pathway. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, *45*, 333-345. https://doi.org/10.1016/0165-2427(94)05430-Z

Phú, T. M., & Phương, N. T. (2015). Quản lý sức khỏe cá trong ao nuôi và tình hình sử dụng thuốc và hóa chất trong ao nuôi cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*). Trong: Nguyễn Thanh Phương và Nguyễn Anh Tuấn (chủ biên). *Nuôi cá tra (Pangasianodon hypophthalmus) ở Đồng bằng sông Cửu Long: Thành công và thách thức trong phát triển bền vững,* (Trang: 224-239). Nhà xuất bản Đại học Cần Thơ.

VanDoan, H., Hoseinifar, S. H., Naraballobh, W., Paolucci, M., Wongmaneeprateep, S., Charoenwattanasak, S., Dawood, M.A.O., & Abdel-Tawwab, M. (2021). Dietary inclusion of watermelon rind powder and *Lactobacillus plantarum*: Effects on Nile tilapia's growth, skin mucus and serum immunities, and disease resistance. *Fish Shellfish Immunol.*, *116,* 107-114. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.07.003

VanDoan, H., Hoseinifar, S. H., Tapingkae, W., Seel, A. M., Jaturasitha, S., Dawood, M. A. O., Wongmaneeprateep, S., Thu T. T. T. N. & Esteban M. A. (2020). Boosted growth performance, mucosal and serum immunity, and disease resistance Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings using corncob-derived xylooligosaccharide and *Lactobacillus plantarum* CR1T5. *Probiotics Antimicrobial Proteins, 12*, 400-411. https://doi.org/10.1007/s12602-019-09554-5

Wang, T., Cheng, Y., Chen, X., Liu, Z., & Long, X. (2017). Effects of small peptides, probiotics, prebiotics, and synbiotics on growth performance, digestive enzymes, and oxidative stress in orange-spotted grouper, *Epinephel coioides*, juveniles reared in artificial seawater. *Journal of Oceanology and Limnology*, *35*, 89-97. https://doi.org/10.1007/s00343-016-5130-1