



DOI:10.22144/ctu.jvn.2022.177

**ẢNH HƯỞNG CỦA VI KHUẨN *Bacillus* CM3.1 VÀ *Lactobacillus* TV3.2 LÊN CHẤT LƯỢNG NƯỚC VÀ TĂNG TRƯỞNG CỦA CÁ TRA (*Pangasianodon hypophthalmus*)**

Phạm Thị Tuyết Ngân\*, Vũ Hùng Hải, Vũ Ngọc Út và Huỳnh Trường Giang

Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Phạm Thị Tuyết Ngân (email: pttngan@ctu.edu.vn)

**Thông tin chung:**

Ngày nhận bài: 15/03/2022

Ngày nhận bài sửa: 03/05/2022

Ngày duyệt đăng: 13/06/2022

**Title:**

Effects of bacteria *Bacillus* CM3.1 and *Lactobacillus* TV3.2 on water quality and growth of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*)

**Từ khóa:**

*Bacillus* CM3.1, *Lactobacillus* TV3.2 chất lượng nước, tăng trưởng, *Pangasianodon hypophthalmus*

**Keywords:**

*Bacillus* CM3.1, *Lactobacillus* TV3.2, growth performance, *Pangasianodon hypophthalmus*

**ABSTRACT**

The study aimed to evaluate the effects of *Bacillus* strain CM3.1 and *Lactobacillus* strain TV3.2 on water quality and growth performance of striped catfish *Pangasianodon hypophthalmus*. The trial consisted of 12 composite tanks containing 400 L of freshwater. Fish (initial weight of  $0.46 \pm 0.01$  g) were stocked at a density of 150 fish per tank and monitored for 30 days. The study was designed in four treatments, each in three replicates: (1) control (without bacteria); (2) oral administration of *Lactobacillus* TV3.2; (3) administration of *Bacillus* CM3.1 in the rearing water, and (4) combination between group (2) and (3). The results showed that an increasing concentration of TAN in bacteria-administrated groups was recorded, whereas  $N-NO_2^-$  và COD concentration decreased significantly in these groups compared to in control group. Growth performance parameters including weight gain, daily weight gain, specific growth rate, biomass and survival rate were considerably improved in fish administrated with *Bacillus* CM3.1 and *Lactobacillus* TV3.2, especially in combination group. Hence, *Bacillus* CM3.1 and *Lactobacillus* TV3.2 have a great potential as probiotic using in intensive catfish farming.

**TÓM TẮT**

Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng lợi khuẩn *Bacillus* CM3.1 và *Lactobacillus* TV3.2 lên chất lượng nước và tăng trưởng của cá tra *Pangasianodon hypophthalmus*. Hệ thống thí nghiệm gồm 12 bể composite chứa 400 L nước ngọt, cá tra (khối lượng ban đầu  $0,46 \pm 0,01$  g) được bố trí mật độ 150 con/bể và theo dõi trong 30 ngày. Nghiên cứu được thực hiện với 4 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần: đối chứng (NT1), không có bổ sung khuẩn; bổ sung khuẩn *Lactobacillus* TV3.2 trong thức ăn (NT2); bổ sung khuẩn *Bacillus* CM3.1 trong nước (NT3) và bổ sung kết hợp cả hai chủng khuẩn (NT4). Kết quả cho thấy ở các nghiệm thức bổ sung khuẩn hàm lượng TAN tăng, trong khi  $N-NO_2^-$  và COD giảm đáng kể so với nghiệm thức đối chứng. Các thông số tăng trưởng bao gồm tăng trọng, tốc độ tăng trọng tuyệt đối, tốc độ tăng trọng tương đối, sinh khối và tỉ lệ sống của cá tra cải thiện đáng kể khi bổ sung các chủng lợi khuẩn *Bacillus* CM3.1 và *Lactobacillus* TV3.2, đặc biệt là nhóm nghiệm thức bổ sung kết hợp. Như vậy, lợi khuẩn *Bacillus* CM3.1 và *Lactobacillus* TV3.2 có tiềm năng phát triển probiotic ứng dụng trong nuôi cá tra thâm canh.

## 1. GIỚI THIỆU

Nghề nuôi cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) ở đồng bằng sông Cửu Long phát triển nhanh từ năm 1996, khi sản xuất giống nhân tạo loài này thành công và được nuôi thâm canh trong ao (Phuong và ctv., 2012). Theo Tổng Cục Thống Kê (2022), sản lượng cá tra trong năm 2021 ước đạt 1490 nghìn tấn, giảm 4,0% so với năm 2020 (1552,6 nghìn tấn). Trong năm 2021, mặc dù chịu ảnh hưởng của đại dịch Covid 19, nhưng giá trị xuất khẩu cá tra của cả năm đạt mức 1,61 tỷ USD, tăng 8,4% so với năm 2020, đặc biệt là thị trường ở Mỹ và các nước trong Hiệp định Đối tác Toàn diện và Tiến bộ xuyên Thái Bình Dương (VASEP, 2022).

Sự phát triển mạnh của nghề nuôi cá tra làm tăng nhu cầu con giống cả về số lượng cũng như chất lượng. Năm 2021, có khoảng 2.000 trại sản xuất giống cá tra cung cấp khoảng 1 tỷ con giống/năm phục vụ cho nuôi thương phẩm. Để đảm bảo cho nuôi thương phẩm đạt hiệu quả cao thì cá giống có chất lượng cao là rất cần thiết. Trong những năm gần đây, nhiều nghiên cứu về cải thiện chất lượng giống cá tra đã được thực hiện như cải thiện tăng trưởng cá tra giống bằng cách bổ sung *Bacillus amyloliquefaciens* 54A và *Bacillus pumilus* 47B (Thy et al., 2017), bổ sung oligochitosan và oligo- $\beta$ -glucan (Nguyen et al., 2017), bổ sung vi khuẩn *Lactobacillus acidophilus* vào thức ăn giúp giảm hệ số FCR và tăng tăng trưởng (Akter et al., 2016). Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu về việc kết hợp vi khuẩn *Bacillus* và *Lactobacillus* lên tăng trưởng và tỉ lệ sống của cá tra. Do vậy, thí nghiệm về ảnh hưởng kết hợp của lợi khuẩn *Bacillus* CM3.1 và *Lactobacillus* TV3.2 lên tăng trưởng và tỉ lệ sống của cá giai đoạn cá hương lên cá giống đã được thực hiện để làm cơ sở để phát triển sản phẩm probiotic phục vụ nuôi trồng thủy sản.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành từ tháng 3/2021 đến tháng 6/2021 tại Bộ môn Thủy sinh học ứng dụng, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ.

### 2.2. Phương pháp chuẩn bị vi khuẩn

Chủng vi khuẩn *Lactobacillus* TV3.2 và *Bacillus* CM3.1 sử dụng trong nghiên cứu được phân lập trước đây trong các nghiên cứu của Giang và ctv. (2020) và Ngân và ctv. (2021) với đặc tính kháng khuẩn và hoạt tính enzyme ngoại bào mạnh. Hai chủng vi khuẩn này đã được khảo sát trong phòng thí nghiệm trong quá trình chọn lọc về khả năng phát triển ở các độ mặn từ 0 đến 50‰. Kết quả cho thấy

chúng có thể phát triển tốt ở độ mặn từ 0 đến 40‰. Do vậy, chúng được tiếp tục thử nghiệm ở các nghiên cứu tiếp theo trên cá tra để mở rộng phạm vi ứng dụng nhiều đối tượng trong nuôi thủy sản.

Chủng *Lactobacillus* TV3.2 và *Bacillus* CM3.1 được phục hồi và lần lượt nuôi trong môi trường dinh dưỡng MRS Broth và TSB. Sau 24 giờ ủ ở 30°C đối với chủng CM3.1 và 38°C đối với chủng TV3.2, tiến hành ly tâm huyền phù ở vận tốc 3.000 vòng/phút trong 10 phút ở 4°C để thu sinh khối tế bào và rửa 2 lần với dung dịch đệm Phosphate Buffered Saline (PBS, pH 7,2) và pha loãng để đạt giá trị OD<sub>600</sub> = 1 tương ứng với mật độ 5×10<sup>8</sup> CFU/mL (Kewcharoen & Srisapoom, 2019). Mật độ vi khuẩn *Lactobacillus* TV3.2 và *Bacillus* CM3.1 được kiểm tra lại trên môi trường *Lactobacillus* MRS agar và TSA bằng phương pháp cấy trải (APHA, 2017).

## 2.3. Phương pháp thí nghiệm

### 2.3.1. Bố trí thí nghiệm

Cá có khối lượng 0,46±0,01 g với kích cỡ đồng đều, khỏe mạnh và bơi lội nhanh được chọn để bố trí vào bể nhựa với thể tích 500 L ương với mật độ 150 con/bể. Thí nghiệm được bố trí gồm 4 nghiệm thức: (i) đối chứng (không bổ sung khuẩn), (ii) bổ sung 10<sup>8</sup> CFU *Lactobacillus* TV3.2/kg thức ăn, (iii) bổ sung 10<sup>3</sup> CFU *Bacillus* CM3.1 CFU/mL nước ương và (iv) bổ sung kết hợp 10<sup>8</sup> CFU *Lactobacillus* TV3.2/kg thức ăn và 10<sup>3</sup> CFU *Bacillus* CM3.1/mL nước ương. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần và theo dõi trong 30 ngày. Cơ sở lựa chọn nồng độ bổ sung dựa vào các nghiên cứu của Giang và ctv. (2020) và Ngân và ctv. (2021).

### 2.3.2. Chăm sóc quản lý

Đối với nghiệm thức bổ sung *Bacillus* CM3.1 sau khi được chuẩn bị xong sẽ bón trực tiếp vào bể với chu kì 3 ngày/lần vào buổi sáng. Ở nghiệm thức bổ sung, *Lactobacillus* TV3.2 khuẩn sẽ được trộn vào thức ăn cho ăn trực tiếp theo phương pháp được mô tả bởi Giang và ctv. (2020) như sau: Thức ăn thí nghiệm được chuẩn bị bằng cách phun đều 0,5 mL dung dịch sinh khối vi khuẩn (OD<sub>600</sub> = 1) lên 1 kg thức ăn và trộn liên tục để đạt nồng độ 10<sup>8</sup> CFU/kg. Sau đó, thức ăn được sấy khô ở nhiệt độ phòng (28–30°C) trong điều kiện vô trùng và trữ trong túi kín khí ở 4°C. Thức ăn thí nghiệm được chuẩn bị sau 5 ngày và kiểm tra mật độ *Lactobacillus* sp. trong thức ăn bằng phương pháp cấy trải (APHA, 2017) trên môi trường thạch MRS. Đối với nghiệm thức đối chứng, thức ăn được chuẩn bị như mô tả ở trên với

dung dịch nước muối sinh lý tiệt trùng (0,9% NaCl) thay cho dịch tế bào vi khuẩn.

Cá được cho ăn 3 lần mỗi ngày (vào 8 giờ, 12 giờ và 17 giờ) bằng thức ăn dạng mảnh (40% đạm thô, công ty Nafatsco) theo khẩu phần 15% khối lượng thân, lượng thức ăn được theo dõi và điều chỉnh mỗi ngày để phù hợp với nhu cầu của cá. Sau khi cho cá ăn khoảng 30 phút, quan sát để vớt lượng thức ăn thừa nhằm hạn chế ảnh hưởng đến chất lượng nước. Các bể thí nghiệm được sục khí liên tục và che lưới giữ nhiệt độ ổn định và tương đồng giữa các nghiệm thức. Cặn ở đáy bể được hút định kỳ 3 ngày/lần và thay nước hàng tuần (khoảng 30%). Lượng vi khuẩn được bổ sung định kỳ nên có thể hạn chế được sự hao hụt vi khuẩn qua thay nước và hút cặn.

### 2.3.3. Thu thập số liệu

Các chỉ tiêu môi trường như nhiệt độ, pH và hàm lượng oxy hòa tan (DO) được theo dõi mỗi ngày (sáng và chiều) bằng máy đo đa chỉ tiêu HI9828 (Hanna, Rumania). Các chỉ tiêu TAN, N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, BOD<sub>5</sub> và COD được xác định 5 ngày/lần theo phương pháp APHA (2017). Sau 30 ngày theo dõi, cá tra được thu để đánh giá tỉ lệ sống (SR), đo chiều dài, cân khối lượng để đánh giá các chỉ tiêu tăng trưởng như tăng trưởng tuyệt đối và tương đối về chiều dài (DLG, SGRL); tăng trưởng tuyệt đối, tương đối về khối lượng (DWG, SGR) và tăng khối lượng (WG) theo công thức sau:

- Tỷ lệ sống (SR, %) = (số cá cuối thí nghiệm/số cá bố trí ban đầu) × 100%

- Tăng trưởng tuyệt đối về chiều dài (DLG, cm/ngày) = (L<sub>f</sub> - L<sub>i</sub>)/t

- Tăng trưởng tương đối về chiều dài (SGRL, %/ngày) = (Ln(L<sub>f</sub>) - Ln(L<sub>i</sub>))/t × 100

- Tăng trọng (WG, g) = W<sub>f</sub> - W<sub>i</sub>

- Tăng trưởng tuyệt đối về khối lượng (DWG, g/ngày) = (W<sub>f</sub> - W<sub>i</sub>)/t

- Tăng trưởng tương đối theo khối lượng (SGR, %/ngày) = (Ln(W<sub>f</sub>) - Ln(W<sub>i</sub>))/t × 100

Trong đó, L<sub>i</sub> và W<sub>i</sub> là chiều dài và khối lượng ban đầu của cá bố trí, L<sub>f</sub> và W<sub>f</sub> là chiều dài và khối lượng của cá sau thí nghiệm.

## 2.4. Xử lý số liệu

Các số liệu thu thập được tính giá trị trung bình, độ lệch chuẩn và phân tích ANOVA một nhân tố Phần mềm Excel phiên bản 2010 được sử dụng để tính toán số liệu và so sánh các giá trị trung bình giữa các nghiệm thức bằng phần mềm SPSS phiên bản 20.0 ở mức p<0,05 bằng phép thử Duncan.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Biến động của các chỉ tiêu chất lượng nước

#### 3.1.1. Nhiệt độ, pH và oxy hoà tan (DO)

Các thông số nhiệt độ, pH và hàm lượng oxy hòa tan (DO) trong 30 ngày thí nghiệm được trình bày trong (Bảng 1). Nhiệt độ ghi nhận ở các nghiệm thức chênh lệch không đáng kể, trung bình từ 28,2 đến 28,3°C và dao động giữa sáng và chiều không quá 1°C. Theo Boyd (1998), nhiệt độ thích hợp cho sự phát triển của cá nhiệt đới là từ 26 đến 32°C. Cá tra giống có ngưỡng chịu nhiệt rộng khoảng 16,7 - 40,8°C (Yên, 2003) và tối ưu khoảng 25 - 30°C (Long, 2003). pH ở các nghiệm thức dao động trung bình từ 7,3 đến 7,4 và biến động không quá 0,5 đơn vị trong ngày. Theo Lộc (2009), pH trong các ao nuôi đầu vụ dao động khoảng 7,08 - 7,23 và có xu hướng giảm về cuối giai đoạn nuôi từ 6,57 đến 6,95. pH khoảng 6,5 - 9,0 được cho là thích hợp cho sự phát triển của cá (Boyd, 1990). Hàm lượng oxy hoà tan (DO) giữa các nghiệm thức luôn được duy trì ổn định lớn hơn 4 mg/L và không ảnh hưởng đáng kể đến điều kiện sống của loài cá có cơ quan hô hấp khí trời (Browman & Kramer, 1985; Graham, 2011; Podkowa & Goniakowska, 1998). Nhìn chung, các thông số nhiệt độ, pH và DO đều nằm trong ngưỡng thích hợp cho cá và khác biệt không có ý nghĩa giữa các nghiệm thức (p>0,05).

**Bảng 1. Biến động nhiệt độ, pH và oxy hoà tan (DO) trong thí nghiệm**

Thông số	Nghiệm thức			
	Đối chứng	Chủng TV3.2	Chủng CM3.1	Chủng CM3.1 và TV3.2
Nhiệt độ (°C)	28,2±0,2	28,3±0,2	28,3±0,2	28,3±0,2
pH	7,4±0,1	7,4±0,1	7,4±0,1	7,3±0,1
DO (mg/L)	4,6±0,1	4,6±0,1	4,5±0,1	4,5±0,1

Các ký tự (a) giống nhau trên mỗi hàng biểu thị cho sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p>0,05).

#### 3.1.2. Tổng đạm amon (TAN)

Tổng đạm amon (TAN) có xu hướng tích lũy trong khoảng thời gian thí nghiệm (Hình 1). Trong

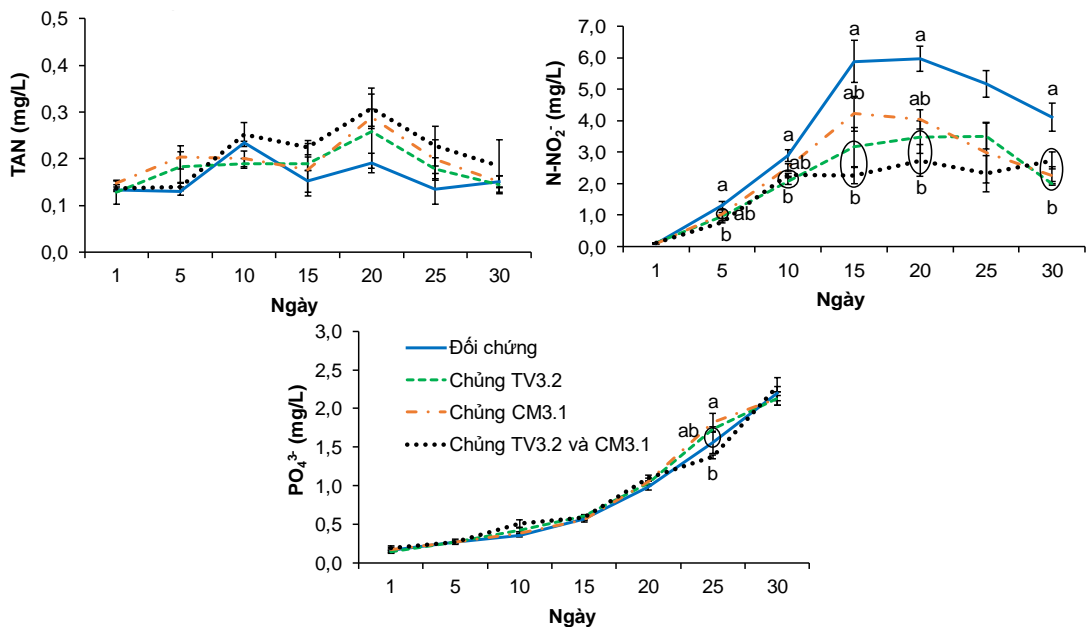
10 ngày đầu, TAN ở các nghiệm thức dao động khoảng 0,128-0,252 mg/L. Tuy nhiên, TAN ở các nghiệm thức bổ sung vi khuẩn từ ngày 15 đến ngày 20 dao động trung bình 0,176-0,308 mg/L và cao

hơn không có ý nghĩa ( $p>0,05$ ) so với nghiệm thức đối chứng (0,152-0,191 mg/L). Cuối giai đoạn thí nghiệm, TAN có xu hướng giảm mạnh ở các nghiệm thức bổ sung khuẩn và sự khác biệt không có ý nghĩa giữa các nghiệm thức ( $p>0,05$ ). Cụ thể, ngày nuôi 30, hàm lượng TAN ghi nhận ở nghiệm thức đối chứng là  $0,151\pm 0,013$  mg/L, trong khi đó kết quả ghi nhận ở các nghiệm thức bổ sung chủng TV3.2, CM3.1 và bổ sung kết hợp lần lượt là  $0,144\pm 0,019$ ,  $0,151\pm 0,012$  và  $0,185\pm 0,056$  mg/L. Trong nuôi tôm, việc bổ sung vi khuẩn *Bacillus* sẽ kích thích nhóm vi khuẩn nitrate hóa (*Nitrosomonas spp.* và *Nitrobacter spp.*) phát triển tự nhiên từ đó dẫn đến giảm hàm lượng  $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$  trong nước (Ngân, 2012). Theo Boyd (1998), hàm lượng TAN trong ao nuôi cao sẽ gây độc đến sinh vật và duy trì trong ngưỡng 0,2 - 2 mg/L là lý tưởng cho các ao nuôi thủy sản. Nhìn chung, hàm lượng TAN giữa các nghiệm thức khác biệt không có ý nghĩa ( $p>0,05$ ) và nằm trong ngưỡng an toàn cho sự sinh trưởng và phát triển của cá tra.

3.1.3. Hàm lượng nitrite ( $\text{N-NO}_2^-$ )

Hàm lượng nitrite ( $\text{N-NO}_2^-$ ) có xu hướng tích lũy theo ngày nuôi. Cụ thể,  $\text{N-NO}_2^-$  tăng mạnh trong 15

ngày đầu thí nghiệm ở các nghiệm thức, dao động trung bình 2,259-4,221 mg/L ở các nghiệm thức bổ sung lợi khuẩn vào ngày 15, đặc biệt là các nghiệm thức bổ sung chủng TV3.2 thấp hơn có ý nghĩa ( $p<0,05$ ) so với đối chứng ( $5,884\pm 0,67$  mg/L). Tuy nhiên, sau đó  $\text{N-NO}_2^-$  ở các nghiệm thức có xu hướng giảm dần về cuối thí nghiệm và có sự khác biệt ý nghĩa ( $p<0,05$ ) giữa nhóm nghiệm thức bổ sung lợi khuẩn và đối chứng. Kết quả ghi nhận ở các nghiệm thức bổ sung dao động trong khoảng 2,007-2,731 mg/L, trong khi đó ở nghiệm thức đối chứng là  $4,117\pm 0,442$  mg/L. Nghiên cứu của Lalloo et al. (2007) cho rằng các chủng *Bacillus* B002 và B003 phân lập từ bùn có khả năng làm giảm hàm lượng nitrite trong nước, hạn chế khả năng tích lũy dạng khí độc này trong nước. Nitrite gây độc đối với thủy sinh vật do khả năng kết hợp với haemoglobin (Hb) thành methemoglobin (MethHb) ức chế quá trình vận chuyển oxy trong máu (Kiese, 1974). Boyd et al. (1998) và Timmons et al. (2002) khuyến cáo hàm lượng nitrite trong ao nuôi thủy sản phải nhỏ hơn 1,0 mg/L hòa tan ( $\text{PO}_4^{3-}$ ).



**Hình 1. Biến động hàm lượng TAN, N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> và PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> trong thời gian thí nghiệm**

Các ký tự giống nhau trên cùng một điểm thì biểu thị cho sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p>0,05$ ).

Hàm lượng lân hòa tan ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) có xu hướng tích lũy theo thời gian thí nghiệm.  $\text{PO}_4^{3-}$  tăng nhẹ vào giữa giai đoạn thí nghiệm, dao động trung bình 0,556-0,602 mg/L vào ngày 15 và không tìm thấy

được sự khác biệt ý nghĩa thống kê ( $p>0,05$ ) giữa các nghiệm thức. Sau đó,  $\text{PO}_4^{3-}$  ở các nghiệm thức tăng cao vào cuối giai đoạn thí nghiệm đạt giá trị trung bình  $2,183\pm 0,04$  mg/L và khác biệt không có

ý nghĩa ( $p>0,05$ ) giữa các nghiệm thức. Theo Boyd (1998), trong ao có cho ăn, một phần lớn trong thức ăn không được đồng hóa bởi sinh vật nuôi đi vào nước làm tăng năng suất thực vật phù du. Thực vật phù du có thể hấp thu nhanh lân từ trong nước, vì vậy một tỉ lệ lớn của lân cung cấp ao có thể đi vào tế bào thực vật phù du và thúc đẩy sinh trưởng. Khoảng 65% hàm lượng lân cung cấp vào ao nuôi qua phân bón hay thức ăn được tìm thấy trong bùn đáy ao chủ yếu ở dạng lân không hòa tan (Boyd, 2001). Tuy nhiên, trong điều kiện thí nghiệm, bể composit không có sự hiện diện của bùn trong bể do đó lân hòa tan trong nước chỉ bị tiêu hao chủ yếu do sự hấp thụ của thực vật thủy sinh.

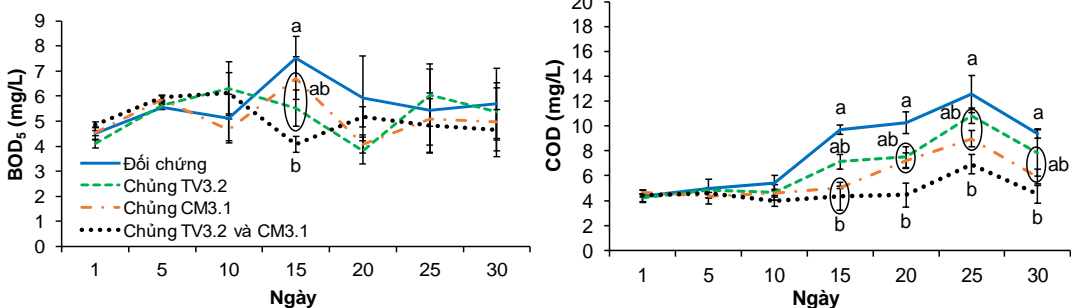
3.1.4. Tiêu hao oxy sinh học ( $BOD_5$ )

Tiêu hao oxy sinh học ( $BOD_5$ ) biến động đáng kể trong quá trình thí nghiệm (Hình 4). Kết quả cho thấy  $BOD_5$  ở nghiệm thức đối chứng đạt giá trị trung bình  $7,507\pm0,874$  mg/L vào ngày 15 và cao hơn có ý nghĩa ( $p<0,05$ ) so với nghiệm thức bổ sung khuẩn kết hợp ( $4,08\pm0,323$  mg/L), trong khi đó  $BOD_5$  ở các nghiệm thức bổ sung chủng TV3.2 và CM3.1 lần lượt là  $5,52\pm0,733$  mg/L và  $6,72\pm0,865$  mg/L, khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức bổ sung kết hợp chủng TV3.2 với CM3.1 ( $p>0,05$ ). Vào cuối giai đoạn thí nghiệm,  $BOD_5$  dao động ổn định trong khoảng 3,827-6,04 mg/L. Nghiên cứu của Reddy et al. (2018) cho thấy hàm lượng BOD giảm hơn 90% khi bổ sung các chủng *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. mojavensis* và *B. cereus*) vào ao nuôi.  $BOD_5$  được sử dụng như một thông số đánh giá mức độ ô nhiễm chất hữu cơ trong nước (Rajan, 2015). Hàm lượng  $BOD_5$  trong nước nhỏ hơn 4 mg/L biểu thị nước sạch, trong khi giá trị BOD lớn hơn 10 mg/L cho thấy mức độ ô nhiễm cao do sự hiện diện của các vật chất hữu cơ phân hủy trong nước cao (McNeely et al., 1979). Theo Boyd (1998), ao nuôi thủy sản điển hình có giá trị  $BOD_5$  từ 5-20 mg/L. Nhìn chung, hàm lượng  $BOD_5$  ở

nghiệm thức đối chứng vào cuối thí nghiệm cao hơn so với các nghiệm thức bổ sung khuẩn, nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p>0,05$ ).

3.1.5. Tiêu hao oxy hoá học (COD)

COD ở các nghiệm thức dao động 3,97-5,4 mg/L trong 10 ngày đầu thí nghiệm và khác biệt không có ý nghĩa ( $p>0,05$ ) giữa các nghiệm thức. Sau đó, COD ở các nghiệm thức có xu hướng tăng đến ngày 25, trong đó nghiệm thức đối chứng cao nhất ( $12,6\pm1,48$  mg/L), khác biệt có ý nghĩa ( $p<0,05$ ) so với nghiệm thức bổ sung kết hợp chủng CM3.1 và TV3.2 ( $6,91\pm0,78$  mg/L). Vào ngày 30, COD ở các nghiệm thức có xu hướng giảm, riêng đối chứng ( $9,37\pm0,35$  mg/L) cao hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức bổ sung kết hợp ( $4,51\pm0,74$  mg/L), nhưng khác biệt không có ý nghĩa ( $p>0,05$ ) so với nghiệm thức bổ sung CM3.1 và TV3.2 (tương ứng với  $5,92\pm0,58$  mg/L và  $7,85\pm1,89$  mg/L). Kết quả nghiên cứu này tương tự nghiên cứu của Ngân (2012). COD cũng được sử dụng để đánh giá mức độ dinh dưỡng của nước ao (Boyd, 1998). Nồng độ COD của nước ao có thể biến động từ 10 đến 20 mg/L, thông thường thì dao động 40 - 80 mg/L. Hàm lượng  $BOD_5$  và COD có xu hướng tích lũy trong suốt giai đoạn thí nghiệm. Hàm lượng COD ở các nghiệm thức bổ sung vi khuẩn thấp hơn không đáng kể so với nghiệm thức đối chứng và nằm trong khoảng dao động thích hợp cho sự phát triển của cá. Trong một báo cáo tổng hợp của Hlordzi et al. (2020), việc bổ sung *Bacillus* giúp cải thiện chất lượng trong nuôi trồng thủy sản dẫn đến  $BOD_5$  và COD thấp hơn so với nghiệm thức đối chứng. Điều này được cho là nhu cầu DO để phân hủy lượng vật chất giảm do khả năng sử dụng thức ăn của cá tốt hơn và có thể khoáng hóa các vật chất hữu cơ bởi nhóm *Bacillus* ở mức DO thấp hơn. Nhìn chung, COD ở các nghiệm thức bổ sung luôn thấp hơn so với nghiệm thức đối chứng, nhưng sự khác biệt có ý nghĩa không được tìm thấy ở các nghiệm thức ( $p>0,05$ ).



Hình 2. Biến động hàm lượng  $BOD_5$  và COD trong thí nghiệm

Các ký tự giống nhau trên cùng một điểm thì biểu thị cho sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p>0,05$ ).

**3.2. Tăng trưởng và tỉ lệ sống của cá tra**

Tăng trưởng và tỉ lệ sống của cá tra sau 30 ngày nuôi được trình bày trong (Bảng 2). Các thông số tăng trưởng về chiều dài của cá tra như gia tăng kích cỡ chiều dài (LG), tốc độ tăng trưởng tuyệt đối (DLG) khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ), cụ thể DLG cao nhất ở nghiệm thức bổ sung kết hợp chủng CM3.1 và TV3.2 và thấp nhất ở nghiệm thức đối chứng. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa về tốc độ tăng trưởng tương đối ( $SGR_L$ ) ( $p > 0,05$ ).

Bên cạnh đó, các thông số về khối lượng như tăng trọng (WG) và tốc độ tăng trưởng tuyệt đối, tương đối về khối lượng (DWG, SGR) khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) giữa các nghiệm thức bổ sung vi khuẩn và đối chứng. Tuy nhiên, giữa các nghiệm thức bổ sung vi khuẩn không khác biệt ý nghĩa ( $p > 0,05$ ). Tốc độ tăng trưởng tương đối về khối lượng (SGR) cao nhất ở nghiệm thức bổ sung kết hợp chủng CM3.1 và TV3.2, trong khi đó thấp nhất ở nghiệm thức đối chứng (Bảng 2).

**Bảng 2. Thông số tăng trưởng và tỉ lệ sống của cá sau 30 ngày nuôi**

Thông số	Nghiệm thức			
	Đối chứng	Chủng TV3.2	Chủng CM3.1	Chủng TV3.2 và CM3.1
Chiều dài ban đầu (cm)	3,13±0,06	3,17±0,03	3,15±0,03	3,15±0,04
Chiều dài thu hoạch (cm)	6,61±0,16 <sup>b</sup>	6,96±0,14 <sup>ab</sup>	6,64±0,1 <sup>b</sup>	7,19±0,1 <sup>a</sup>
LG (cm)	3,48±0,22 <sup>b</sup>	3,79±0,15 <sup>ab</sup>	3,49±0,13 <sup>b</sup>	4,04±0,11 <sup>a</sup>
DLG (cm/day)	0,116±0,007 <sup>b</sup>	0,126±0,005 <sup>ab</sup>	0,116±0,004 <sup>b</sup>	0,135±0,004 <sup>a</sup>
$SGR_L$ (%/day)	2,49±0,14	2,62±0,08	2,49±0,08	2,75±0,07
Khối lượng ban đầu (g)	0,46±0,01	0,46±0,01	0,46±0,01	0,46±0,01
Khối lượng thu hoạch (g)	3,84±0,19 <sup>b</sup>	4,41±0,22 <sup>ab</sup>	4,35±0,13 <sup>ab</sup>	4,55±0,12 <sup>a</sup>
WG (g)	3,38±0,18 <sup>b</sup>	3,93±0,2 <sup>ab</sup>	3,9±0,15 <sup>ab</sup>	4,09±0,11 <sup>a</sup>
DWG (g/day)	0,113±0,006 <sup>b</sup>	0,131±0,007 <sup>a</sup>	0,13±0,005 <sup>a</sup>	0,136±0,004 <sup>a</sup>
SGR (%/day)	7,09±0,12 <sup>b</sup>	7,37±0,08 <sup>a</sup>	7,56±0,19 <sup>ab</sup>	7,62±0,08 <sup>a</sup>
Tỉ lệ sống (%)	83,8±1,9 <sup>b</sup>	86,4±1,9 <sup>b</sup>	87,8±2,1 <sup>ab</sup>	93,3±2,1 <sup>a</sup>
Sinh khối (kg/m <sup>3</sup> )	1,19±0,04 <sup>c</sup>	1,37±0,08 <sup>bc</sup>	1,45±0,04 <sup>ab</sup>	1,62±0,08 <sup>a</sup>

Các ký tự (a, b, c) giống nhau trên cùng một hàng biểu thị sự khác biệt không có ý nghĩa ( $p > 0,05$ ).

So với nghiệm thức đối chứng thì tỉ lệ sống của cá được cải thiện đáng kể ( $p < 0,05$ ) ở các nghiệm thức bổ sung vi khuẩn, đặc biệt là nghiệm thức bổ sung kết hợp chủng CM3.1 và chủng TV3.2. Tương tự, sinh khối cá nuôi ở các nghiệm thức bổ sung vi khuẩn cao hơn có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ) so với nghiệm thức đối chứng và vượt trội ở nghiệm thức bổ sung kết hợp. Theo báo cáo của Haque et al. (2021) khi bổ sung *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis*, và *B. pumilus* ( $10^{10}$  CFU/g) với tỉ lệ 0,2 g/kg thức ăn giúp nâng cao tỉ lệ sống, tốc độ tăng trưởng cũng như hệ vi sinh đường ruột của cá tra từ giai đoạn cá bột lên cá hương. Một nghiên cứu khác của Hien et al. (2014) trên cá basa *Pangasius bocourti* cho thấy các thông số tăng trưởng SGR, hệ số chuyển hóa thức ăn FCR và khả năng kháng *Aeromonas hydrophila* của cá được cải thiện đáng kể sau khi bổ sung kết hợp 2 g hợp chất polysaccharide (LMWA) và  $10^{11}$  CFU/g vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* cho mỗi kg thức ăn. Lợi ích của việc bổ sung các lợi khuẩn được cho là có hoạt tính enzyme do lợi khuẩn sinh ra giúp nâng cao khả năng tiêu hóa và hấp thụ dưỡng

chất trong thức ăn (Bairagi et al., 2002). Do đó, việc bổ sung các chủng khuẩn CM3.1 và TV3.2 không chỉ góp phần cải thiện TAN,  $NO_2^-$ , COD mà còn gia tăng tốc độ tăng trưởng trên cá tra.

**4. KẾT LUẬN**

Bổ sung lợi khuẩn CM3.1 và TV3.2 giúp cải thiện được hàm lượng TAN,  $N-NO_2^-$ , đặc biệt là nghiệm thức bổ sung kết hợp chủng CM3.1 và TV3.2. Bên cạnh đó, hàm lượng COD có xu hướng giảm ở các nghiệm thức bổ sung vi khuẩn.

Tốc độ tăng trưởng tuyệt đối của chiều dài và tốc độ tăng trưởng tuyệt đối, tương đối về khối lượng, tỉ lệ sống và sinh khối cá được cải thiện đáng kể ở nghiệm thức bổ sung kết hợp chủng khuẩn CM3.1 và TV3.2.

**LỜI CẢM Ạ**

Đề tài này được tài trợ bởi Dự án Nâng cấp Trường Đại học Cần Thơ VN14-P6 bằng nguồn vốn vay ODA từ Chính phủ Nhật Bản.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Akter, M. N., Sutriana, A., Talpur, A. D., & Hashim, R. (2016). Dietary supplementation with mannan oligosaccharide influences growth, digestive enzymes, gut morphology, and microbiota in juvenile striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus*. *Aquaculture International*, 24, 127-144. <https://doi.org/10.1007/s10499-015-9913-8>
- APHA, WEF, & WWA. (2017). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 23rd Edition*. American Public Health Association. Washington DC 2005.
- Bairagi, A., Ghosh, K. S., Sen, S. K., & Ray, A. K. (2002). Enzyme producing bacterial flora isolated from fish digestive tracts. *Aquaculture International*, 10, 109-121. <https://doi.org/10.1023/A:1021355406412>
- Boyd, C. E. (1990). *Water quality for pond aquaculture*. Birmingham Publishing Company, Birmingham, Alabama, 269pp.
- Boyd, C. E. (1998). *Water quality for ponds Aquaculture*. Research and Development Series No. 43, August 1998, Alabama, 37pp.
- Boyd, C. E. (2001). Water quality standards: Total phosphorus. *Global Aquaculture Advocate* 4(2):70-71
- Browman, M. W., & Kramer, D. L. (1985). *Pangasius sutchi* (Pangasiidae), an air-breathing catfish that uses the swimbladder as an accessory respiratory organ. *Copeia*, (4), 994-998. <https://doi.org/10.2307/1445253>
- Duy, N. N., Phu, D. V., Quoc, L. A., Lan N. T. K., Hien N. Q., Hai P. D., & Nguyen, N. V. (2017). Effect of oligochitosan and oligo- $\beta$ -glucan supplementation on growth, innate immunity, and disease resistance of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 64(4), 564-571. <https://doi.org/10.1002/bab.1513>
- Giang, H. T., Uyên, N. H. N., Hải, V. H., Ngân, P. T. T., & Út, V. N. (2020). Đánh giá hoạt tính của vi khuẩn *Lactobacillus* từ ruột tôm thẻ chân trắng có tiềm năng probiotic để bổ sung vào thức ăn tôm. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 56(1), 102-111. <https://doi.org/10.22144/ctu.jsi.2020.012>
- Graham, J. (2011). The Biology, Diversity, & Natural History of Air-Breathing Fishes: An Introduction. In A. P. Farrell (Ed.), *Encyclopedia of Fish Physiology: From genome to environment* (1850-1860). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374553-8.00044-7>
- Haque, M. M., Hasan, N. A., Eltholth, M. M., Saha, P., Mely, S. S., Rahman, T., & Murray, F. J. (2021). Assessing the impacts of in-feed probiotic on the growth performance and health condition of pangasius (*Pangasianodon hypophthalmus*) in a farm trial. *Aquaculture Reports*, 20, 100699. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100699>
- Hien, D. V., Doolgindachbaporn, S., & Suksri, A. (2014). Effects of low molecular weight agar and *Lactobacillus plantarum* on growth performance, immunity, and disease resistance of basa fish (*Pangasius bocourti*, Sauvage 1880). *Fish & Shellfish Immunology*, 41(2), 340-345. doi:10.1016/j.fsi.2014.09.015
- Hlrdzi, V., Kuebutornye, F. K. A., Afriyie, G., Abarike, E. D., Lu, Y., Chi, S., & Anokyewaa, M. A. (2020). The use of *Bacillus* species in maintenance of water quality in aquaculture: A review. *Aquaculture Reports*, 18, 100503. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100503>
- Kewcharoen, W., & Srisapoom, P. (2019). Probiotic effects of *Bacillus* spp. from Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) on water quality and shrimp growth, immune responses, and resistance to *Vibrio parahaemolyticus* (AHPND strains). *Fish & Shellfish Immunology*, 94, 175-189. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.09.013>
- Kiese, M. (1974). *Methaemoglobinemia: A Comprehensive Treatise, 1<sup>st</sup> edition*. CRC Press, Cleveland, OH.
- Laloo, R., Ramchuran, S., Ramduth, D., Görgens, J., & Gardiner, N. (2007). Isolation and selection of *Bacillus* spp. as potential biological agents for enhancement of water quality in culture of ornamental fish. *Journal of Applied Microbiology*, 103, 1471-1479. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03360.x>
- Liêm, P. T., Tuấn, N. A., Tâm B. M., & Long D. N. (2016). Công nghệ sản xuất giống cá tra: động lực quan trọng của sự phát triển. Trong: Phương N.T. & Tuấn N. A (chủ biên). *Nuôi cá tra (Pangasianodon hypophthalmus): Thành công và thách thức trong phát triển bền vững*. Nhà xuất bản Đại học Cần Thơ, 109-136.
- Lộc, N.H. (2009). *Sự biến đổi chất lượng trong hệ thống nuôi cá tra (Pangasianodon hypophthalmus) thâm canh ở các quy mô khác nhau*. (Luận văn Thạc sĩ). Trường Đại học Cần Thơ.
- Long, D. N (2003). *Kỹ thuật nuôi thủy sản nước ngọt*. Trường Đại học Cần Thơ.
- McNeely, R. N., Neimanis, V. P., & Dwyer, L. (1979). *Water quality sources book. A guide to water quality parameters*. Environment Canada, Inland Waters Directorate, Water Quality Branch.

- Ngân, P. T.T. (2012). *Nghiên cứu quần thể vi khuẩn chuyển hóa đạm trong bùn đáy ao nuôi tôm sú (Penaeus monodon)*. Luận án tiến sĩ, khoa Thủy sản, trường Đại học Cần Thơ, 159 trang.
- Ngân, P. T. T., Hải, V. H., Út, V. N., & Giang, H. T. (2021). 2021. Chọn lọc vi khuẩn *Bacillus* sp. từ ao nuôi tôm quảng canh có khả năng phân hủy hữu cơ và kháng *Vibrio parahaemolyticus* gây bệnh trên tôm thẻ. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 57(3), 191-199.  
<https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2021.101>
- Phuong, N. T. (2012). *Giáo trình Nuôi Trồng Thủy Sản*. Trường Đại học Cần Thơ.
- Phuong, N. T., Đức P. M., Sơn, V. N., Bùi, T. V., & Nguyệt, Á.T.A. (2004). Ứng dụng công nghệ nhằm nâng cao chất lượng và hạ giá thành sản phẩm thủy sản (tôm càng xanh, cá tra, basa và rô phi) ở tỉnh An Giang. Kỷ yếu hội thảo khoa học. Ứng dụng tiến bộ khoa học kỹ thuật để nâng cao chất lượng và hạ giá thành các mặt hàng nông nghiệp, thủy sản An Giang, UBND tỉnh An Giang 6/2004.
- Podkowa, D., & Goniakowska, L. W. (1998). The structure of the airbladder of the catfish *Pangasius hypophthalmus* Roberts and Vidhayanon 1991 (previously *P. sutchi* Fowler 1937). *Folia Biologica Krakow*, 46, 189-196.
- Putra, A. N., Syamsunarno, M. B., Ningrum, W., Jumyanah, & Mustahal (2020). Effect of the administration of probiotic *Bacillus* NP5 in the rearing media on water quality, growth, and disease resistance of African catfish (*Clarias gariepinus*). *Biodiversitas*, 21 (6), 2566-2575. DOI: 10.13057/biodiv/d210629.
- Rajan, D. S. (2015). An Assessment of the Biological Oxygen Demand of Thekkumbhagam creek of Ashtamudi estuary. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 2, 395 - 397.
- Reddy, K. V., Reddy, A. V. K., Babu, B. S., & Lakshmi, T. V. (2018). Applications of *Bacillus* sp in aquaculture waste water treatment. *International Journal of Recent Scientific Research. Tech*, 4, 1806-1812.
- Tâm, B. M., Lam, P. T., Ingram, B. A., Thuy, N. T. T., Gooley, G. J., Nguyen, Hao, N. V., Phuong N.T., De-Silva, S. S. (2010). Seed production practices of striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* in the Mekong Delta region, Vietnam. *Aquaculture*, 306(1-4), 92–100.  
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.06.016>
- Thy, T., Tri, H. T., Quy, N. N., Fotedar, O. M. R., Kannika K., Unajak, S., & Areechon, N. (2017). Effects of the dietary supplementation of mixed probiotic spores of *Bacillus amyloliquefaciens* 54A, and *Bacillus pumilus* 47B on growth, innate immunity and stress responses of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Fish and Shellfish Immunology*, 60, 391-399.
- Timmons, M. B., James, M. E., Fred, W. W., Steven, T. S., & Brian, J. V. (2002). *Recirculating aquaculture systems (2nd Ed)*. NRAC Publication No. 01-002.
- Tổng Cục Thống Kê. (2022). *Sản lượng cá tra phục hồi trong quý IV/2021*.  
<https://www.gso.gov.vn/du-lieu-va-so-lieu-thong-ke/2022/01/san-luong-ca-tra-phuc-hoi-trong-quy-iv-2021/>
- VASEP. (2022). *Xuất khẩu cá tra Việt Nam năm 2021 với nhiều cố gắng ngoài sức tưởng tượng*.  
<https://vasep.com.vn/san-pham-xuat-khau/ca-tra/xuat-nhap-khau/xuat-khau-ca-tra-viet-nam-nam-2021-voi-nhieu-co-gang-ngoai-suc-tuong-tuong-23704.html>
- Yên, D. T. (2003). *Khảo sát một số tình trạng, hình thái, sinh trưởng và sinh lý của cá Basa (Pangasianodon bocourti), cá tra (Pangasianodon hypophthalmus) và con lai của chúng*. (Luận văn Thạc sĩ). Trường Đại học Cần Thơ.
- Nguyen, N. D., Van Dang, P., Le, A. Q., Nguyen, T., Pham, D. H., Van Nguyen, N., & Nguyen, Q. H. (2017). Effect of oligochitosan and oligo-β-glucan supplementation on growth, innate immunity, and disease resistance of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Biotechnology and applied biochemistry*, 64(4), 564–571.