



DOI:10.22144/jvn.2017.025

NGHIÊN CỨU SỰ THAY ĐỔI HOẠT TÍNH MỘT SỐ ENZYME TIÊU HÓA CỦA CÁ LÓC ĐEN (*Channa striata*) TỪ GIAI ĐOẠN BỘT ĐẾN 35 NGÀY TUỔI VỚI THỨC ĂN KHÁC NHAU

Ngô Minh Dung¹, Nguyễn Thị Long Châu², Bùi Minh Tâm¹ Phạm Thị Tú Nga¹ và Trần Thị Thanh Hiền¹

¹Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

²Trường Cao đẳng Cộng đồng Đồng Tháp

ABSTRACT

The aim of this study is to describe activities of some digestive enzymes of snakehead larvae from day 1 to day 35 after hatching, feeding with two different diets. In the first treatment, larvae were fed with live feed including *Moina* sp. and marine trash fish; in the second treatment, larvae were still fed with live feed, but live feed was gradually replaced by formulated diet from day 17 onwards. Larvae were sampled at 1; 3; 5; 7; 9; 12; 15; 18; 21; 25; 30 and 35 days after hatching (DAH), before feeding in the morning. The result showed that, amylase activity fluctuated during the research period and reached 3.68 ± 0.17 mU/mg protein in live feed treatment and 5.77 ± 0.14 mU/mg protein in formulated diet treatment at 35 DAH. Proteolytic enzymes were detected at low level as early as hatching and remained constant until 12 DAH. Trypsin activity increased significantly at 21 DAH. The highest pepsin activity was 1.44 ± 0.26 mU/mg protein, recorded at 25 DAH, and the highest trypsin and chymotrypsin activities were 333 ± 19.9 mU/mg protein and $1,773 \pm 62.3$ mU/mg protein respectively, at 35 DAH. Pepsin and trypsin activities of larvae feeding with live feed were significantly higher than those fed formulated diet. However, the higher α -amylase activity was found in larvae fed formulated diet treatment.

TÓM TẮT

Nghiên cứu xác định sự biến đổi về hoạt tính enzyme tiêu hóa của cá lóc đen ở cá lóc bột được tiến hành từ ngày 1 đến ngày thứ 35 sau khi cá nở với 2 chế độ cho ăn khác nhau. Nghiệm thức 1 sử dụng hoàn toàn thức ăn tươi sống là *Moina* và cá tạp (TÁTS), nghiệm thức 2 cá tạp được thay thế bằng thức ăn chế biến từ ngày 17 trở đi (TÁCB). Mẫu được thu vào buổi sáng trước khi cho ăn vào các ngày 1; 3; 5; 7; 9; 12; 15; 18; 21; 25; 30 và 35 để phân tích sự biến đổi của enzyme tiêu hóa. Kết quả cho thấy, hoạt tính enzyme amylase biến động trong suốt giai đoạn phát triển của cá, đạt cao nhất $3,68 \pm 0,17$ mU/mg protein ở nghiệm thức TÁTS và $5,77 \pm 0,14$ mU/mg protein ở nghiệm thức TÁCB vào ngày thứ 35. Trong khi đó, các enzyme tiêu hóa protein được phát hiện với mức thấp ở giai đoạn mới nở và ổn định cho đến ngày 12. Trypsin tăng ý nghĩa ở ngày thứ 21. Hàm lượng pepsin, đạt giá trị cao nhất vào ngày 25 ở nghiệm thức TÁTS với mức $1,44 \pm 0,26$ mU/mg protein. Hoạt tính enzyme trypsin và chymotrypsin đạt mức cao nhất là $333 \pm 19,9$ mU/mg protein và $1.773 \pm 62,3$ mU/mg protein vào ngày 35 ở nghiệm thức TÁCB. Khi so sánh ảnh hưởng của hai loại thức ăn lên hoạt tính của enzyme thì thấy rằng có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Đối với cá ăn thức ăn cá tạp hoạt tính enzyme pepsin và trypsin cao, trong khi đó cá ăn thức ăn chế biến có hàm lượng α -amylase cao hơn.

Trích dẫn: Ngô Minh Dung, Nguyễn Thị Long Châu, Bùi Minh Tâm Phạm Thị Tú Nga và Trần Thị Thanh Hiền, 2017. Nghiên cứu sự thay đổi hoạt tính một số enzyme tiêu hóa của cá lóc đen (*Channa striata*) từ giai đoạn bột đến 35 ngày tuổi với thức ăn khác nhau. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 49b: 84-90.

1 GIỚI THIỆU

Cá lóc đen (*Channa striata*) là loài cá dữ, ăn thịt, có thể nuôi thâm canh và đạt năng suất cao. Trong tự nhiên, thức ăn của cá lóc là động vật. Trong quá trình sản xuất giống, cá lóc bột được cho ăn bằng trứng nước (*Moina*) sau đó chuyển sang cá tạp xay nhỏ, khi nuôi thương phẩm sử dụng cá tạp, ốc bươu vàng. Để chủ động nguồn thức ăn và tăng hiệu quả cho người nuôi việc thay thế thức ăn tươi sống bằng thức ăn viên là rất cần thiết. Chính vì lẽ đó, những năm gần đây đã có một số nghiên cứu thay thế nguồn cá tạp để nuôi cá lóc, trong đó đặc biệt quan tâm đến việc tập cho cá sử dụng thức ăn chế biến. Qin *et al.* (1997) thử nghiệm kết hợp thức ăn chế biến và *Artemia* cho tỷ lệ sống cao. Trần Thị Thanh Hiền và *ctv.* (2011) thử nghiệm phương thức thay thế thức ăn chế biến trong ương cá lóc cho thấy thời điểm thích hợp để cá bột sử dụng hiệu quả thức ăn chế biến là 17 ngày tuổi. Một số nghiên cứu chỉ ra rằng có thể thay thế 50% protein bột cá bằng protein bột đậu nành (Lý Vũ Minh, 2010) hoặc cám gạo (Võ Minh Quốc Châu, 2010) để làm thức ăn chế biến nuôi cá lóc. Trần Thị Thanh Hiền và *ctv.* (2011) nghiên cứu chuyển đổi thức ăn ương cá lóc bông (*Channa micropeltes*) cho thấy phương thức chuyển đổi thích hợp từ thức ăn tươi sống sang thức ăn chế biến là thay thế 10%/ngày ở thời điểm cá đạt 30 ngày tuổi và thay thế 10%/3 ngày khi cá đạt 40 ngày tuổi. Kết quả nghiên cứu cho thấy sau 10 tuần thí nghiệm chuyển đổi thức ăn chế biến ở giai đoạn cá đạt 40 ngày tuổi với phương thức thay thế 10%/3 ngày cho tỷ lệ sống và tăng trưởng tuyệt đối khá tốt, lần lượt là 61,1% và 0,91g/ngày.

Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng hoạt tính của enzyme tiêu hóa phụ thuộc vào loại thức ăn cá ăn vào, và đồng thời có một mối quan hệ giữa quá trình phát triển, hoàn thiện các cơ quan của hệ tiêu hóa với hoạt tính của enzyme (Kuz'mina and Gelman, 1998; Cara *et al.*, 2003; Faulk *et al.*, 2007; Manee *et al.*, 2012). Đối với cá lóc (*Channa striata*) đã có một số nghiên cứu về sử dụng thức ăn chế biến và đánh giá hiệu quả của việc sử dụng thức ăn chế biến (Hien *et al.*, 2016). Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu về sự phát triển của các enzyme tiêu hóa, cũng như ảnh hưởng của việc chuyển đổi thức ăn lên quá trình phát triển của ống tiêu hóa.

Việc chuyển đổi thức ăn cho cá lóc sao cho phù hợp về thành phần dinh dưỡng thức ăn cũng như thời điểm tập ăn là rất quan trọng. Vì vậy, những hiểu biết về sự hình thành, phát triển và hoàn chỉnh các enzyme tiêu hóa từ khi cá nở cho đến giai đoạn cá giống là rất cần thiết.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm gồm 2 nghiệm thức với 3 lần lặp lại, cá lóc bột 1 ngày tuổi được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên trong 6 bể composite (thể tích 1 m³/bể) với mật độ 2.000 con/m³. Nghiệm thức sử dụng thức ăn tươi sống (TÃTS), cá được cho ăn *Moina* và cá tạp biển, bắt đầu từ ngày tuổi thứ 10 *Moina* được thay thế dần bằng cá tạp với tỉ lệ thay thế tăng dần 20% cá tạp/ngày. Đối với nghiệm thức sử dụng thức ăn chế biến (TÃCB), ban đầu cá được cho ăn như nghiệm thức TÃTS, đến ngày tuổi thứ 17 TÃTS được thay thế dần bằng TÃCB với tỉ lệ tăng dần 10% TÃCB/ngày (Trần Thị Thanh Hiền và *ctv.*, 2011). Thành phần thức ăn chế biến trong thí nghiệm được trình bày trong Bảng 1. Các thành phần thức ăn được định lượng, trộn đều và ép qua lưới có mắt kính lưới 1,2 mm sau đó nghiền thành mảnh nhỏ. Thức ăn sau chế biến được sấy khô và bảo quản ở nhiệt độ -20°C trong suốt thời gian thí nghiệm.

Bảng 1: Thành phần thức ăn thí nghiệm (% tính theo khối lượng khô)

Nguyên liệu	Tỉ lệ (%)
Bột cá Kiên Giang (65% CP)	55,3
Bột đậu nành ly trích béo (47% CP)	15
Cám	10
Bột mì	12,7
Khoáng và vitamin *	2
Dầu cá	2,95
Chất kết dính	2

*⁴ Vitamin và Mineral mixture (unit/Kg): Vitamin A, 2.000.000 IU; Vitamin D, 400.000 IU; Vitamin E, 6g; Vitamin B₁, 800mg; Vitamin B₂, 800mg; Vitamin B₁₂, 2mg; Calcium D. Panthotenate, 2g; Folic acid, 160mg; Vitamin C, 15g; Cholin Chloride, 100g; Ferrous (Fe²⁺), 1g; Zinc (Zn²⁺), 3g; Manganese (Mn²⁺), 2g; Copper (Cu²⁺), 100mg; Iodine (I), 20mg; Cobalt (Co²⁺), 10mg; DL-Methionin, 60g; L-Lysin, 30g

Bảng 2: Thành phần dinh dưỡng của thức ăn sử dụng trong thí nghiệm (% khối lượng khô)

Thành phần dinh dưỡng (% vật chất khô)	Loại thức ăn sử dụng trong thí nghiệm		
	Moina	Cá biển xay	Thức ăn chế biến
Protein	56,4	81,7	49
Lipid	19,9	2,68	6,81
Khoáng	11,1	5,47	12,5

Ấm độ của *Moina*: 92,7%; Cá biển xay: 76,0%; Thức ăn chế biến: 9,41%

2.2 Chăm sóc và quản lý

Cá được cho ăn theo nhu cầu 4 lần/ngày lúc 7, 11, 13 và 17 giờ. Thức ăn thừa và phân cá được

siphon 1 lần/ngày. Thí nghiệm được thực hiện trong 35 ngày. Các yếu tố môi trường được theo dõi hàng ngày (lúc 7 giờ và 14 giờ) gồm nhiệt độ đo bằng nhiệt kế và pH đo bằng máy đo pH (YSI - Mỹ). Các chỉ tiêu NO₂, TAN được thu 1 tuần/lần và phân tích theo phương pháp Diazonium và Idophenol blue tại Phòng Quản lý chất lượng nước, Bộ môn Thủy sinh học ứng dụng, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ.

2.3 Thu mẫu và các chỉ tiêu phân tích

Mẫu cá được thu ngẫu nhiên vào buổi sáng trước khi cho cá ăn và được thu vào các ngày thứ 1; 3; 5; 7; 9; 12; 15; 18; 21; 25; 30 và 35 sau khi nở.

Từ 1-15 ngày tuổi mẫu được thu nguyên con. Từ ngày thứ 18 trở đi, mẫu ống tiêu hóa được chia thành 2 phần riêng biệt là dạ dày và ruột để phân tích enzyme và so sánh sự khác nhau giữa hai nghiệm thức. Mẫu sau khi thu được rửa sạch bằng nước cất, cho vào ống eppendorf và bảo quản ở -80°C. Khối lượng mẫu cho vào mỗi ống eppendorf là 0,2 g. Khi phân tích, mẫu được rửa đông trong nước đá và nghiền trong dung dịch đệm pH 6,9. Sau đó ly tâm với tốc độ 4.200 vòng ở 4°C trong 30 phút, rút phần dịch trong phía trên trữ trong eppendorf ở -80°C cho đến khi phân tích hoạt tính

của enzyme. Pepsine được phân tích theo phương pháp của Worthington (1982), trypsin theo phương pháp của Tseng *et al.* (1982). Phân tích chymotrypsine theo phương pháp của Worthington (1982), amylase theo phương pháp của Bernfeld (1951) và protein theo phương pháp Bradford (1976). Thức ăn chế biến và thức ăn tươi sống được phân tích thành phần hóa học (âm độ, tro, protein, lipid) theo AOAC (2000).

2.4 Xử lý số liệu

Các số liệu ở các thí nghiệm được tính toán giá trị trung bình, độ lệch chuẩn bằng chương trình phần mềm Microsoft Excel 2010 và SPSS 16.0. So sánh trung bình khác biệt giữa 2 nghiệm thức thức ăn bằng kiểm định biến độc lập (T-test), so sánh trung bình khác biệt về hàm lượng enzyme giữa các ngày bằng phân tích ANOVA và phép thử DUNCAN ở mức ý nghĩa 95%.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Các chỉ tiêu môi trường

Trong suốt quá trình thí nghiệm, pH dao động trong khoảng 7,3-8,3 Nhiệt độ bể thí nghiệm dao động từ 28,1 đến 30,6°C, các chỉ tiêu TAN và NO₂ đều nhỏ hơn 0,1 mg/L.

Bảng 3: Các yếu tố môi trường trong thời gian thí nghiệm

Nghiệm thức	pH		T°C		TAN	NO ₂ ⁻
	Sáng	Chiều	Sáng	Chiều		
TĂTS	7,36±0,23	8,35±0,18	28,13±0,27	30,57±0,61	0,03-0,16	0,06-0,18
TĂCB	7,31±0,15	8,36±0,16	28,07±0,23	30,45±0,33		

Nhìn chung, các yếu tố môi trường không chênh lệch nhiều giữa sáng và chiều, tất cả đều nằm trong khoảng thích hợp cho hoạt động sống của cá và không ảnh hưởng đến kết quả nghiên cứu.

3.2 Hoạt tính của nhóm enzyme phân giải protein

Pepsin

Hoạt tính enzyme pepsin ở cá lóc được tìm thấy ở giai đoạn cá mới nở và tăng chậm trong giai đoạn 1-9 ngày tuổi. Đến ngày thứ 12, hàm lượng pepsin tăng nhanh và đạt giá trị cao nhất vào ngày 25 ở nghiệm thức TĂTS với mức 1,44±0,26 mU/mg protein.

Có sự khác biệt về hoạt tính của enzyme của cá ở 2 nghiệm thức thức ăn từ ngày 21 trở đi, ở nghiệm thức TĂTS có hàm lượng pepsin cao hơn so với nghiệm thức cho ăn TĂCB và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Điều này có thể do mức protein cao trong thức ăn (TĂTS 81,7% đạm; TĂCB 49% protein) đã ảnh hưởng đến việc tiết enzyme tiêu hóa hoặc enzyme có sẵn trong thức ăn

tươi sống. Wang *et al.* (2006) cũng cho rằng mức protein trong thức ăn sẽ ảnh hưởng đến hoạt động của enzyme tiêu hóa.

Bảng 4: Hoạt tính enzyme pepsin (mU/mg protein) trên cá lóc đen giai đoạn 1-35 ngày tuổi

Ngày tuổi	TĂTS	TĂCB
1	0,09±0,04 ^a	0,10±0,06 ^a
3	0,08±0,03 ^a	0,09±0,06 ^a
5	0,29±0,09 ^a	0,27±0,12 ^b
7	0,24±0,04 ^a	0,26±0,05 ^b
9	0,17±0,01 ^a	0,18±0,02 ^{ab}
12	0,56±0,06 ^b	0,56±0,07 ^c
15	0,78±0,13 ^c	0,74±0,11 ^d
18	0,89±0,27 ^c	0,61±0,08 ^c
21	1,41±0,10 ^{dB}	0,93±0,05 ^{fA}
25	1,44±0,26 ^{dB}	0,87±0,04 ^{efA}
30	1,28±0,08 ^{dB}	0,78±0,01 ^{deA}
35	1,33±0,04 ^{dB}	1,15±0,03 ^{gA}

Các giá trị trong cùng một cột theo sau bởi các chữ thường khác nhau và các giá trị trong cùng một hàng theo sau bởi chữ in hoa khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

Hoạt tính của pepsin được phát hiện sớm trên cá lóc mới nở trước khi xuất hiện tuyến dạ dày cũng tương tự ở một số loài cá khác như trên cá lãng *Mystus nemurus* (Manee *et al.*, 2009); *Pelteobagrus fulvidraco* (Wang *et al.*, 2006). Perez-Casanova *et al.* (2006) cho rằng việc phát hiện pepsin sớm là do sự xuất hiện của pepsine-like tiếp đến là pepsinogen từ tuyến dạ dày, đây là các acidic proteases thuộc họ pepsine. Điều này cũng phù hợp với các nghiên cứu trước đây khi cho rằng cathepsin (một loại enzyme thuộc họ pepsin) có liên quan đến quá trình hấp thu protein từ khối noãn hoàng (Lazo *et al.*, 2007). Khi cá chưa hình thành dạ dày hoạt tính của enzyme pepsin cũng được tìm thấy ở ruột có thể do enzyme ngoại sinh cung cấp từ thức ăn và một phần từ khối noãn hoàng. Hoạt tính của pepsin ở cá lóc đen tăng nhanh có ý nghĩa từ ngày thứ 12 ($p < 0,05$) sau khi nở. Điều này phù hợp với sự xuất hiện của tuyến dạ dày khi phân tích mô học của cá giai đoạn này. Tương tự, trên loài *Acipenser persicus* (Seyedeh *et al.*, 2011), enzyme pepsin được phát hiện tăng có ý nghĩa ở ngày thứ 9 và kết quả nghiên cứu về mô học trước đó cho thấy ở loài này tuyến dạ dày xuất hiện trong khoảng từ 8 đến 10 ngày tuổi (Pahlevanyaly *et al.*, 2004). Tuyến dạ dày liên quan đến việc phóng thích ra HCl để chuyển hóa pepsinogen thành pepsin tham gia vào quá trình tiêu hóa protein (Darias *et al.*, 2007).

Trypsin

Hoạt tính enzyme trypsin của cá lóc bột tăng ở giai đoạn 1-18 ngày tuổi, sau đó tăng nhanh trong giai đoạn 21 ngày tuổi trở đi và đạt mức cao nhất là $333 \pm 19,9$ mU/mg protein vào ngày 35 ở nghiệm thức TÁCB. Hoạt tính của trypsin ở nghiệm thức TÁCB trong giai đoạn 18-30 ngày tuổi thấp hơn so với nghiệm thức TÁTS ($p < 0,05$). Tuy nhiên, đến ngày thứ 35, ở nghiệm thức TÁCB hoạt tính enzyme trypsin tăng cao hơn so với nghiệm thức TÁTS.

Kết quả tương tự cũng được tìm thấy trên loài *Oreochromis niloticus* L. (Tengjaroenkul *et al.*, 2002), *Pangasianodon hypophthalmus* (Wannapa *et al.*, 2011), *Mystus nemurus* (Manee *et al.*, 2012). Hoạt tính của trypsin được tìm thấy ở giai đoạn cá mới nở có thể đến từ tuyến nở của cá phôi (trypsin là một enzyme tham gia vào quá trình nở) (Noting *et al.*, 1999).

Từ ngày thứ 18 có sự khác biệt về hoạt tính của các enzyme ở nghiệm thức TÁTS và TÁCB là do sự tổng hợp của các enzyme tiêu hóa chính ở cá và phụ thuộc vào thức ăn (Suzer *et al.*, 2007). Péres *et al.* (1996) khi cho cá bột *Dicentrarchus labrax* ăn với khẩu phần chứa mức protein khác nhau (từ

30-60% trọng lượng khô) dẫn đến sự gia tăng hoạt tính enzyme trypsin vào ngày 35, tuy nhiên không có sự thay đổi hoạt tính enzyme vào ngày 18 hoặc 28. Từ đó đưa ra giả thuyết rằng cơ chế liên quan đến hoạt động của trypsin xảy ra muộn. Qua nghiên cứu này tác giả cũng khẳng định rằng hoạt tính của trypsin tăng lên trong quá trình phát triển ấu trùng khi được cho ăn do thức ăn có hàm lượng protein cao.

Bảng 5: Hoạt tính enzyme trypsin (mU/mg protein) trên cá lóc đen giai đoạn 1 – 35 ngày tuổi

Ngày tuổi	TÁTS	TÁCB
1	5,35±0,10 ^a	5,30±0,05 ^a
3	53,9±1,32 ^b	52,2±1,32 ^b
5	115±12,5 ^{de}	108±6,11 ^d
7	51,8±4,65 ^b	53,2±3,95 ^b
9	48,9±6,92 ^b	45,9±3,11 ^b
12	53,8±2,52 ^b	50,3±9,65 ^b
15	81,9±16,5 ^c	86,2±12,7 ^c
18	106±19,0 ^{dA}	55,9±5,64 ^{BB}
21	189±0,44 ^{fA}	131±5,25 ^{eB}
25	116±15,1 ^{deA}	78±8,60 ^{eB}
30	136±19,2 ^{eA}	102±4,86 ^{dB}
35	262±23,3 ^{gA}	333±19,9 ^{fB}

Các giá trị trong cùng một cột theo sau bởi các chữ thường khác nhau và các giá trị trong cùng một hàng theo sau bởi chữ in hoa khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

Hoạt tính của trypsin ở nghiệm thức cho ăn thức ăn chế biến trong giai đoạn 18 – 30 ngày tuổi thấp hơn so với nghiệm thức cho ăn bằng cá tạp ($p < 0,05$). Điều này có thể do trong thức ăn chế biến có chứa thành phần bột đậu nành (15%). Một trong những hạn chế khi sử dụng bột đậu nành làm thức ăn cho động vật thủy sản là trong bột đậu nành chứa nhiều yếu tố kháng dưỡng, đặc biệt là các chất ức chế enzyme tiêu hóa protein, chất này sẽ ức chế hoạt tính của enzyme trypsin ở ruột (Lê Thanh Hùng, 2008). Hart *et al.* (2010) nghiên cứu trên cá hồi (*Oncorhynchus mykiss*) cho thấy khi tăng tỉ lệ protein bột đậu nành vượt mức 40% thì khả năng tiêu hóa của cá giảm do sự xuất hiện của chất ức chế trypsin. Nghiên cứu về khả năng thay thế bột cá bằng bột đậu nành trên cá thát lát còm (*Chitala chitala*) cũng kết luận rằng hoạt tính của enzyme trypsin giảm khi tăng tỉ lệ protein bột đậu nành (Nguyễn Thị Linh Đan và *ctv.*, 2013).

Đến ngày thứ 35, ở nghiệm thức sử dụng thức ăn chế biến hoạt tính enzyme trypsin tăng cao hơn so với nghiệm thức sử dụng cá tạp ($333 \pm 19,9$ mU/mg protein so với $262 \pm 23,3$ mU/mg protein) ($p < 0,05$). Kết quả này có thể do sự thích ứng của cá lóc sau một thời gian chuyển đổi thức ăn, tuy

nhiên, vấn đề này cần có những nghiên cứu trên một số loài cá để có kết luận chính xác hơn.

Chymotrypsin

Hoạt tính của enzyme chymotrypsin biến động trong giai đoạn 1-7 ngày tuổi và 15-25, tăng trong giai đoạn 7-15 và 25-35 ngày tuổi. Đặc biệt giai đoạn 25-35 ngày tuổi, hàm lượng enzyme chymotrypsin tăng đáng kể, đạt mức cao nhất vào ngày thứ 35 ở cả 2 nghiệm thức với hàm lượng tương ứng là 1,708±124 mU/mg protein ở nghiệm thức TATS và 1,773±62.3 mU/mg protein ở nghiệm thức TACB (Bảng 6). Không có sự khác biệt về hoạt tính của enzyme chymotrypsin ở hai nghiệm thức thí nghiệm ($p > 0,05$).

Hoạt tính của enzyme chymotrypsin được phát hiện ngay cả khi cá chưa mở miệng là vì sự hiện diện của tuyến tụy (Ma *et al.*, 2005). Trong khi đó, Walford and Lam (1993) cho rằng lượng nhỏ enzyme tìm thấy ở giai đoạn sau khi cá nở có thể đến từ hoạt động của lysosome tham gia vào quá trình tiêu hóa protein trong các biểu mô của ruột sau.

Bảng 6: Hoạt tính enzyme chymotrypsin (mU/mg protein) trên cá lóc đen thí nghiệm

Ngày tuổi	TATS	TACB
1	100±2,17 ^{ab}	119±11,6 ^a
3	216±1,68 ^b	223±7,47 ^{ac}
5	116±12,7 ^{ab}	103±14,3 ^a
7	86,7±7,88 ^a	94,9±14,2 ^a
9	222±28,2 ^b	213±36,4 ^b
12	352±42,7 ^c	346±12,6 ^c
15	556±48,4 ^d	543±18,8 ^c
18	342±25,5 ^c	404±13,4 ^{cd}
21	420±12,5 ^c	450±8,06 ^d
25	591±58,5 ^d	583±49,2 ^c
30	1.379±290 ^e	1.257±144 ^f
35	1.709±125 ^f	1.773±62,3 ^g

Các giá trị trong cùng một cột theo sau bởi các chữ thường khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

Trypsin và chymotrypsin là hai loại enzyme của tuyến ruột giữ vai trò quan trọng nhất giúp cho việc tiêu hóa thức ăn có nguồn gốc đạm (Hofer and Schiemer, 1981; Munilla – Moran *et al.*, 1990). Hoạt tính của enzyme chymotrypsin giữa nghiệm thức sử dụng TATS và TACB không có sự khác biệt chứng tỏ thức ăn tươi sống và thức ăn nhân tạo không có ảnh hưởng đến chymotrypsin. Tương tự, Lazo *et al.* (2000) đã nghiên cứu trên ấu trùng cá *Sciaenops ocellatus* cũng cho thấy hoạt tính của chymotrypsin không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi cá được cho ăn thức ăn tự nhiên và

thức ăn viên nhân tạo. Trên loài *Dicentrarchus labrax* không tìm thấy sự khác biệt nào về ảnh hưởng của các enzyme tuyến tụy khi được cung cấp thức ăn nhân tạo (Kolkovski *et al.*, 1997).

3.2.1 *Hoạt tính enzyme amylase*

Hoạt tính của enzyme α -amylase ở cá lóc được phát hiện ở ngày thứ 1 sau khi cá nở. Tương tự kết quả được tìm thấy trên các loài cá *Sciaenops ocellatus* (Lazo *et al.*, 2000), *Dentex dentex* (Gisbert *et al.*, 2009), *Pangasianodon hypophthalmus* (Wannapa *et al.*, 2011). Hoạt tính enzyme amylase biến động trong suốt giai đoạn phát triển của cá, tăng từ ngày thứ nhất đến ngày thứ 9 (1,42±0,05mU/mg protein và 1,43±0,12 mU/mg protein) sau đó giảm ở giai đoạn 15 đến 18 ngày tuổi. Giai đoạn 21 đến 35 ngày tuổi, đạt 3,68±0,17 mU/mg protein ở nghiệm thức TATS và 5,77±0,14 mU/mg protein ở nghiệm thức TACB vào ngày thứ 35 ở (Bảng 7).

Bảng 7: Hoạt tính enzyme α -amylase (mU/mg protein) trên cá lóc đen giai đoạn 1-35 ngày tuổi

Ngày tuổi	TATS	TACB
1	0,66±0,13 ^{ab}	0,64±0,10 ^a
3	0,47±0,06 ^a	0,48±0,04 ^a
5	0,67±0,01 ^{ab}	0,65±0,04 ^a
7	0,46±0,02 ^a	0,46±0,01 ^a
9	1,42±0,05 ^c	1,43±0,12 ^b
12	2,54±0,12 ^c	2,67±0,15 ^c
15	3,24±0,24 ^f	3,16±0,17 ^d
18	0,90±0,06 ^{bA}	1,46±0,07 ^{bB}
21	1,53±0,13 ^{cdA}	2,80±0,16 ^{cB}
25	2,66±0,27 ^{eA}	3,86±0,23 ^{cB}
30	1,72±0,03 ^{dA}	4,07±0,10 ^{eB}
35	3,68±0,17 ^{gA}	5,77±0,14 ^{fB}

Các giá trị trong cùng một cột theo sau bởi các chữ thường khác nhau và các giá trị trong cùng một hàng theo sau bởi chữ in hoa khác nhau khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

Khi chuyển đổi sang thức ăn chế biến (từ ngày 17) thì hoạt tính của enzyme amylase ở nghiệm thức TACB cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức TATS ($p < 0,05$) (Bảng 7). Kết quả này là do trong TACB có chứa carbohydrate cao hơn hẳn trong nghiệm thức cho ăn cá tạp. Carbohydrate sẽ kích thích hoạt động tiết enzyme α – amylase ở cá lóc. Hoạt tính của amylase cũng cao hơn khi cho cá bột ăn với khẩu phần ăn bổ sung 25% glucid so với chỉ bổ sung 5% glucid (Henning *et al.*, 1994), tương tự hoạt tính của amylase ở cá chêm bột khi được cho ăn kết hợp với một mức cao tinh bột ở ngày tuổi 18 sẽ cao hơn so với thức ăn không có sự kết hợp ở ngày tuổi thứ 35 (Cahu and Infante, 2001). Sự gia tăng hoạt tính của α –

amylase có thể do sự phát triển của hệ tiêu hóa (Chakrabarti *et al.*, 2006) và sự thích ứng của cá bột trong việc chuyển hóa carbohydrate (Chakrabarti and Rathore, 2009). Bởi vậy, việc sử dụng carbohydrate như một nguồn cung cấp năng lượng rẻ tiền có thể sẽ là phương pháp tiếp cận để giảm giá thành thức ăn.

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

4.1 Kết luận

Sự phát triển của ống tiêu hóa có liên quan đến sự biến đổi của các enzyme tiêu hóa của cá lóc (*Channa striata*). Các enzyme tiêu hóa protein: pepsin, trypsin và chymotrypsin đều được tìm thấy ở ngay giai đoạn mới nở. Hoạt tính của hầu hết enzyme tiêu hóa tăng chậm ở giai đoạn 1 – 9 ngày và sau đó tăng nhanh ở giai đoạn 12 – 35 ngày ngoại trừ trypsin với mức tăng ý nghĩa ở ngày thứ 21. Có sự khác biệt về hoạt tính của enzyme tiêu hóa khi chuyển đổi từ TĂTS sang TĂCB. Đối với nghiệm thức TĂTS thì cho hoạt tính enzyme pepsin và trypsin cao, trong khi đó nghiệm thức sử dụng TĂCB cho hàm lượng α -amylase cao hơn. Không có sự khác biệt về hoạt tính của enzyme chymotrypsin khi chuyển đổi thức ăn chế biến cho cá lóc.

4.2 Đề xuất

Nên chuyển đổi thức ăn cho cá lóc vào ngày 17 khi hệ thống enzyme của cá đã hoàn chỉnh.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi dự án Aquafish Innovation Lab (USAID CA / LWA số EPP-A-00-06-0012-00).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

AOAC. 2000. Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists Arlington, VA, USA

Bernfeld, P., 1951. Enzymes of starch degradation and synthesis. *Advan. Enzymol.* 12: 379-428.

Bradford, M.M., 1976. A rapid sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry.* 72: 248-254.

Cahu, C.L., Infante, J.L., 2001. Ontogeny of the gastrointestinal tract of marine fish larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology.* 130: 477-487.

Chakrabarti, R., Rathore, R.M., 2009. Ontogenic changes in the digestive enzyme patterns and characterization of proteases in Indian major carp *Cirrhinus mrigala*. *Aquaculture Nutrition.* 16(6) : 569-581.

Darias, M. J., Ortiz-Delgado, J.B., Sarasquete, C., Martínez-Rodríguez, G., Yúfera, M., 2007. Larval organogenesis of *Pagrus pagrus* L., 1758 with special attention to the digestive system development. *Histol Histopathol.* 22: 753-768.

Gisbert, E., Giménez, G., Fernández, I., Kotzamanis, Y., Estévez, A., 2009. Development of digestive enzymes in common dentex *Dentex dentex* during early ontogeny. *Aquaculture.* 287: 381-387.

Hart, S.D., Bharadwaj, A.S., Brown, P.B., 2010. Soybean lectins and trypsin inhibitors, but not oligosaccharides or the interactions of factors, impact weight gain of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture.* 306: 310-314.

Henning, S.J., Rubin, D.C., Shulman, R.J., 1994. Ontogeny of the intestinal mucosa. *In Physiology of Gastrointestinal Tract.* pp. 571-610. Edited by L.R. Johnson. Raven Press, New York.

Hofer, R., Schiermer, F., 1981. Proteolytic activity in the digestive tract of several species of fish with different feeding habits. *Oecologia.* 48: 342-345.

Hien, T.T.T., Trung, N.H.D., Tâm, B.M., Chau, V.M.Q., Huy, N.H., Lee, C.M., Bengtson, D.A., 2016. Replacement of freshwater small-size fish by formulated feed in snakehead (*Channa striata*) aquaculture: Experimental and commercial-scale pond trials, with economic analysis. *Aquaculture Reports.* 4: 42-47.

Kolkovski, S., Tandler, A. and Izquierdo, M.S. 1996. The effects of live food and dietary digestive enzymes on the efficiency of microdiets for seabass *Dicentrarchus labrax* larvae. *Aquaculture.* 148: 313-322.

Lazo, J.P., Holt, G.J., Arnold, C.R., 2000. Ontogeny of pancreatic enzymes in larval red drum *Sciaenops ocellatus*. *Aquaculture Nutrition.* 6: 183-192.

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

Lý Vũ Minh, 2010. Nghiên cứu nâng cao hiệu quả sử dụng bột đậu nành chế biến thức ăn nuôi cá Lóc (*Channa striata* Bloch, 1793) giống. Luận văn tốt nghiệp cao học ngành Nuôi trồng Thủy sản. Đại học Cần Thơ, Cần Thơ.

Ma, H., Cahu, C., Zambonino, J., Yu, H., Duan, Q., Gall, M.M.L., Mai, K., 2005. Activities of selected digestive enzymes during larval development of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). *Aquaculture.* 245: 239-248.

Manee, S., Tantikitti, C., Vantanakul, V., Musikarune, P., 2012. Digestive enzyme activities during ontogenetic development and effect of live feed in green catfish larvae (*Mystus nemurus* Cuv. & Val.). *Songklanakarin Journal of Science and Technology.* 34(3): 247-254.

Munilla-Moran, R., Stark, J.R., Barbour, A., 1990. The role of exogenous enzymes in digestion in cultured turbot larvae *Scophthalmus maximus* L. *Aquaculture.* 88: 337-350.

- Nguyễn Thị Linh Đan, Trần Thị Thanh Hiền, Trần Lê Cẩm Tú và Lam Mỹ Lan, 2013. Đánh giá khả năng thay thế bột cá bằng bột đậu nành làm thức ăn cho cá thát lát còm (*Chitala chitala* Hamilton, 1822). Tạp chí khoa học Trường Đại học Cần Thơ, phần B: Nông nghiệp, Thủy sản và Công nghệ sinh học, 29:109-117.
- Noting, M., Ueberchar, B., Rosenthal, H., 1999. Trypsin activity and physiological aspects in larval rearing of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) using live prey and compound diets. Journal of Applied Ichthyology. 15: 138-142.
- Pahlevanyaly, M., Mojaziamiri, B., Posty, A., Bahmani, M., 2004. Study of histological development in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) during early ontogeny. Iran Fisheries J. 2: 33-50.
- Péres, C.L., Cahu, J.L., Zambonino, M., Infante, M., Gall, L., Quazuguel, P., 1996. Amylase and trypsin responses to intake of dietary carbohydrate and protein depend on the developmental stage in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. Fish Physiology and Biochemistry. 15: 237-242.
- Babaei, S.S., Kenari, A.A., Nazari, R., Gisbert, E., 2011. Developmental changes of digestive enzymes in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) during larval ontogeny. Aquaculture. 318(1): 138-144.
- Suzer, C., Aktulun, S., Coban, D., Kamac, H.O., Saka, S., Firat, K., Alpbaz, A., 2007. Digestive enzyme activities in larvae of sharpnose seabream (*Diplodus puntazzo*). Comp. Biochem. Physiol. 148A: 470-477.
- Tengjaroenkul, B., Smith, B.J., Smith, S.A., Chatreewongsin, U., 2002. Ontogenic development of the intestinal enzymes of cultured Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* L. Aquaculture. 211: 241-251.
- Trần Thị Thanh Hiền, Ngô Minh Dung, Bùi Minh Tâm. 2011. Phương thức thay thế thức ăn chế biến trong ương cá lóc đen (*Channa striata*). NXB Nông nghiệp, 381-394.
- Tseng, H.C., Grendell, J.H., Rothman, S.S., 1982. Food, deodenal extracts, and enzyme secretion by the pancreas. American Journal of Physiology, 243: 304–312.
- Trần Thị Thanh Hiền, Bùi Minh Tâm, Trần Lê Cẩm Tú, Nguyễn Hoàng Đức Trung, Bùi Vũ Hội, Trịnh Mỹ Yên, 2011. Giai đoạn cho ăn thích hợp của phương thức thay thế cá tạp bằng thức ăn chế biến trong ương cá lóc bông *Channa micropeltes*. Tạp chí khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 22a: 261-268.
- Võ Minh Quế Châu, 2010. Nghiên cứu sử dụng cám gạo làm thức ăn cho cá lóc (*Channa striata*). Luận văn tốt nghiệp cao học ngành Nuôi trồng Thủy sản. Đại học Cần Thơ, Cần Thơ.
- Wang, C.F., Xie, S.Q., Zhu, X.M., Wu, L., Yang, Y.X., Liu, H.K., 2006. Effects of age and dietary protein level on digestive enzyme activity and gene expression of *Pelteobagrus fulvidracolarvae*. Aquaculture. 254(1-4): 554–562.
- Walford, J., Lam, T.J., 1993. Development of the digestive tract and proteolytic enzyme activity in sea bass (*Lates calcarifer*) larvae and juveniles. Aquaculture. 109: 187-205.
- Wannapa, R., Nontawith, A., Ruangvit, Y., 2012. Digestive enzyme activities during larval development of Striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage, 1878). Kasetsart Journal. 46: 217-228.
- Worthington, T.M., 1982. Enzymes and Related Biochemicals. Biochemical Products Division, Worthington Diagnostic System, Freehold, NJ, USA.