

# SO SÁNH HIỆU QUẢ SỬ DỤNG CỦA BỘT LÁ KEO DẬU (*Leucaena leucocephala* (Lam.) De Wit.) THAY THẾ CHO BỘT CÁ TRONG THỨC ĂN LÊN TĂNG TRƯỞNG, HOẠT TÍNH ENZYM TIÊU HÓA VÀ ĐỘ TIÊU HÓA THỨC ĂN CỦA TÔM THẺ CHÂN TRẮNG (*Litopenaeus vannamei*)

Trần Thị Phương Lan<sup>1\*</sup>

*COMPARING EFFECTS OF REPLACING FISHMEAL BY LEAF POWER (*Leucaena leucocephala* (Lam.) De Wit.) ON GROWTH, DIGESTIVE ENZYME ACTIVITY AND FEED DIGESTIBILITY OF WHITE SHRIMP (*Litopenaeus vannamei*)*

Tran Thi Phuong Lan<sup>1\*</sup>

**Tóm tắt** – Nghiên cứu so sánh hiệu quả thay thế bột cá bằng bột lá keo dậu (*Leucaena leucocephala*) đến tăng trưởng, hoạt tính enzyme và độ tiêu hóa thức ăn của tôm thẻ (*Litopenaeus vannamei*). Trong thí nghiệm 1, tôm thẻ ( $0,92 \pm 0,05$  g) được nuôi 70 con/ bể  $0,5 \text{ m}^3$ , trong 60 ngày với thức ăn viên, thức ăn không lá keo dậu (0% LLP) và thức ăn 20% LLP. Kết quả cho thấy, tỉ lệ sống (DWG g/ngày), SGR (%/g/ngày), FI (%/tôm/ngày), FCR, PER và PE khác biệt không ý nghĩa ( $p > 0,05$ ) giữa 0% LLP và 20% LLP; tăng trưởng ở tôm ăn thức ăn viên lớn hơn thức ăn 0% LLP và 20% LLP. Giá trị của  $\alpha$ -amylase và pepsin trong dạ dày và chymotrypsin trong ruột khác biệt không có ý nghĩa giữa các nghiệm thức ( $p > 0,05$ ). Tuy nhiên, giá trị  $\alpha$ -amylase trong ruột tôm ở 0% LLP cao hơn và khác biệt có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ) với hai nghiệm thức còn lại. Trong thí nghiệm 2, việc xác định độ tiêu hóa thức ăn, protein, lipid và năng lượng của tôm có kết quả lần lượt là 79,3 – 83,7%, 92,0 – 94,5%, 92,1 – 98,0% và 87,9 – 92,4%, giá trị cao nhất ở nghiệm thức 0% LLP, khác biệt có ý

nghĩa ( $p < 0,05$ ) với hai nghiệm thức còn lại. Độ tiêu hóa thức ăn ở nghiệm thức thức ăn viên và 20% LLP khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

**Từ khóa:** enzyme tiêu hóa, keo dậu, tôm thẻ chân trắng.

**Abstract** – This study compared the efficacy of replacing fishmeal with *Leucaena leucocephala* leaf meal on growth performance, enzyme activity, and feed digestibility of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). In Experiment 1, shrimp ( $0.92 \pm 0.05$  g) was reared at a density of 70 shrimp/ $0.5 \text{ m}^3$  tank, fed with pellets, without *Leucaena leucocephala* leaf (0% LLP), and 20% LLP for 60 days. The results showed that survival, weight gain (DWG g/day), SGR (%/g/day), FI (%/shrimp/day), FCR, PER, and PE were not significantly different ( $p > 0, 05$ ) between 0% LLP and 20% LLP. Shrimp growth results in pellets were greater than feed with 0% LLP and 20% LLP. The values of  $\alpha$ -amylase and pepsin in the stomach and chymotrypsin in the intestine were not significantly different between treatments ( $p > 0.05$ ). However, the value of  $\alpha$ -amylase in shrimp intestine in 0% LLP treatment was higher and significantly different ( $p < 0.05$ ) with the other treatments. In Experiment 2, the apparent digestibility of feed, protein, lipid, and energy in shrimp ranged from 79.3% to 83.7%,

<sup>1</sup>Trường Đại học Trà Vinh, Việt Nam

Ngày nhận bài: 22/3/2023; Ngày nhận bài chỉnh sửa: 09/5/2023; Ngày chấp nhận đăng: 16/5/2023

\*Tác giả liên hệ: [ttplan35@gmail.com](mailto:ttplan35@gmail.com)

<sup>1</sup>Tra Vinh University, Vietnam

Received date: 22<sup>nd</sup> March 2023; Revised date: 09<sup>th</sup> May 2023; Accepted date: 16<sup>th</sup> May 2023

\*Corresponding author: [ttplan35@gmail.com](mailto:ttplan35@gmail.com)

92.0% to 94.5%, 92.1% to 98.0%, and 87.9% to 92.4%, respectively. The highest values were in the 0% LLP diet, which significantly differed ( $p < 0.05$ ) from the other diets. Feed digestibility in pellets and 20% LLP were not significantly different ( $p > 0.05$ ).

**Keywords:** *digestive enzymes, Leucaena leucocephala, Litopenaeus vannamei.*

## I. GIỚI THIỆU

Nuôi trồng thủy sản là ngành phát triển rất nhanh, đặc biệt là giai đoạn từ năm 2000 đến nay. Theo số liệu thống kê của VASEP [1], sản lượng thủy sản Việt Nam tăng từ 6,56 triệu tấn năm 2015 lên 9,05 triệu tấn năm 2022, tăng 38%. Vấn đề này đặt ra một thách thức lớn cho ngành thức ăn thủy sản, cụ thể là áp lực về nguồn nguyên liệu thay thế bột cá. Đây cũng là trở ngại cho ngành nuôi trồng thủy sản trên con đường phát triển bền vững. Hiện nay, nhiều nghiên cứu thay thế bột cá bằng các nguồn protein thực vật rẻ tiền cho kết quả đầy triển vọng. Nghiên cứu sử dụng bột đậu nành hoặc kết hợp bột nành với các nguồn protein khác có thể thay thế bột cá dao động từ 30 đến 75% khi làm thức ăn như cá đù (*Nibeia miichthioides*), cá tráp mõm nhọn (*Diplodus puntazzo*), cá da trơn Nam Mì (*Silurus meridionalis*), cá chỉ vàng (*Lutjanus argentimaculatus*) và cá rô phi vằn giống (*Oreochromis niloticus*) [2–6]. Trên thực tế, đến nay, chỉ các nguồn nguyên liệu đạm thực vật như đậu nành đậm đặc, đậu nành lên men và đậu bắp đậm đặc là những nguyên liệu đáp ứng nhu cầu thay thế một phần bột cá trong thức ăn thủy sản ở quy mô thương mại.

Keo đậu (*L. leucocephala* (Lam). De Wit) được gọi là cây bình linh ở Việt Nam. Cây thích nghi tốt với nhiều vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới, đặc biệt là các vùng nhiệt đới khô theo mùa [7]. Keo đậu được sử dụng cho nhiều mục đích như lấy gỗ, làm củi đốt, thức ăn gia súc, phân bón hữu cơ và thức ăn chăn nuôi [8]. Theo Shelton et al. [9], lá keo đậu chứa hàm lượng protein tương đối cao, dao động 25 – 27% với nhiều acid amin cân đối. Ngoài ra, lá keo đậu còn chứa nhiều vitamin và carotenoid nên đã được nghiên cứu làm thức ăn cho nhiều vật nuôi.

Trong thủy sản, keo đậu đã được nghiên cứu sử dụng để thay thế bột đậu nành trong khẩu phần

ăn của cá trê (*Clarias gariepinus*) hay trong thức ăn viên cho cá rô phi (*Oreochromis niloticus*) [10, 11]. Theo nghiên cứu của Nawwar et al. [12], bột lá *L. leucocephala* có thể cung cấp 25% protein trong khẩu phần ăn cho ấu trùng tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*) mà không ảnh hưởng đến hiệu quả sử dụng thức ăn, tăng trưởng và tỉ lệ sống của tôm. Trong chăn nuôi, Man et al. [13] cho rằng *L. leucocephala* mang lại cảm giác ngon miệng nhất so với các loài cây họ đậu khác cho dê (*Capra aegagrus hircus*). Tuy nhiên, thông tin về sử dụng lá keo đậu làm thức ăn trên tôm thẻ chân trắng còn khá hạn chế. Do đó, việc nghiên cứu so sánh hiệu quả sử dụng của việc thay thế bột cá bằng bột lá keo đậu (*L. leucocephala*) trong thức ăn lên tăng trưởng, hoạt tính enzyme tiêu hóa và độ tiêu hóa thức ăn của tôm thẻ chân trắng (*L. vannamei*) có ý nghĩa khoa học và cần thiết thực hiện.

## II. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

Tôm thẻ chân trắng là loài ăn tạp thiên về động vật. Các nghiên cứu về khả năng đáp ứng tốt cho nhu cầu dinh dưỡng của tôm trong môi trường nuôi đã được thực hiện [14]. Về cơ bản, thức ăn nuôi tôm thẻ cần có đủ các dưỡng chất cần thiết như đạm (protein), chất béo (lipid), chất bột đường (carbohydrate), vitamin và khoáng chất, được phối chế theo một tỉ lệ phù hợp.

Tôm thẻ chân trắng có nhu cầu protein thấp hơn so với tôm sú, nằm ở khoảng 30 – 32% trong giai đoạn tôm giống đến cỡ tiền trưởng thành [15, 16]. Cũng giống như nhiều động vật thủy sản khác, tôm thẻ chân trắng sử dụng protein là nguồn năng lượng chính và cần ít nhất 1,8 – 3,8 g protein/kg tôm/ngày để duy trì hoạt động [17]. Tôm lớn nhanh nếu được cung cấp 23,5 g protein/kg tôm/ngày ở giai đoạn nhỏ hoặc 20,5 g protein/kg tôm/ngày ở cỡ 50 – 80 con/kg [18]. Tôm thẻ chân trắng có thể tiêu hóa tốt carbohydrate. Vì thế, lượng tinh bột trong thức ăn có thể lên đến 40% [19]. Hàm lượng lipid có trong thức ăn nuôi tôm thường ở mức 6 – 8%, đủ cho nhu cầu của tôm. Thức ăn có lipid giàu acid béo n-3 HUFA như EPA hoặc DHA sẽ giúp tôm tăng trưởng nhanh [20]. Hàm lượng cholesterol trong thức ăn cần đảm bảo ở mức 0,5 – 1,5% để tôm có thể lột xác đều, phát triển tốt, đặc biệt khi

nuôi trong ao. Tôm cỡ 100 con/kg cần tối thiểu 24 mg triacylglycerols mỗi ngày. Các vitamin C và E được xem là quan trọng đối với tôm thẻ chân trắng [21]. Khi tôm còn nhỏ, lượng vitamin C cần có trong mỗi kg thức ăn là 10 g. Tôm càng lớn, nhu cầu vitamin C càng giảm. Người ta thấy nếu cung cấp vitamin C dạng ascorbyl-2-polyphosphate ở mức 30 mg/kg thì thức ăn sẽ giúp tôm cải thiện sức đề kháng, ít bị bệnh do virus hoặc vi khuẩn *Vibrio*, nhờ đó, tăng tỉ lệ sống trong quá trình nuôi. Hàm lượng vitamin E cần thiết cho tôm thẻ chân trắng là 99 mg/kg thức ăn [14].

Các loại thức ăn công nghiệp hiện nay đều có thể đáp ứng tốt nhu cầu dinh dưỡng cơ bản của tôm nuôi. Nếu có sự bổ sung của các thành phần vi lượng nêu trên vào thức ăn hoặc có thức ăn tự nhiên trong ao nuôi, tôm sẽ phát triển tốt. Hệ số thức ăn (FCR) của tôm thẻ chân trắng thường chỉ ở mức 1,1 – 1,2. Hệ số này phụ thuộc nhiều vào người nuôi hay nói cách khác là cách quản lý cho ăn. Nếu cho ăn bằng máy tự động, có thể giảm thêm được khoảng 10 – 15% hệ số FCR. Tôm thẻ chân trắng bắt mỗi liên tục trong ngày. Theo Lim et al. [22], hơn 40% thay thế protein động vật bằng bột đậu nành (> 28% protein). Điều này làm giảm đáng kể tốc độ tăng trưởng của tôm (*P. vannamei*). Các nghiên cứu cho thấy khả năng sử dụng protein đậu nành khác nhau tùy theo loài và kích thước tôm [23]. *L. vannamei* có hiệu suất tăng trưởng tốt với thức ăn chứa 75% bột đậu nành, nhưng ở tôm *P. duorarum* có mức sử dụng bột đậu nành thấp hơn (30%). Nhìn chung, tôm nhỏ nhạy cảm hơn với mức độ thay thế của bột đậu nành trong khẩu phần so với tôm lớn.

Từ các thông tin tổng hợp nhu cầu dinh dưỡng của tôm thẻ và nghiên cứu nguồn đạm thực vật thay thế cho bột cá cho thấy giải pháp nghiên cứu nguồn nguyên liệu đạm thực vật là một xu hướng thiết yếu trong nuôi thủy sản hiện nay.

### III. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

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

Thí nghiệm được thực hiện từ tháng 10/2021 đến tháng 6/2022 tại Trại Nghiên cứu Thực nghiệm nước mặn, Khoa Nông nghiệp - Thủy sản, Trường Đại học Trà Vinh.

#### B. Nguyên vật liệu nghiên cứu

##### Chuẩn bị bột lá keo đậu *L. leucocephala* (LLP)

Lá keo đậu được thu ở huyện Duyên Hải, tỉnh Trà Vinh. Sau đó, lá được ngâm ngập trong nước qua 24 giờ. Lá được phơi khô dưới nắng mặt trời trong 72 giờ và đem nghiền thành bột. Bột lá LLP được bảo quản ở 4°C cho đến khi sử dụng.

##### Chuẩn bị nguyên liệu xây dựng thức ăn

Các thành phần nguyên liệu sử dụng chế biến thức ăn trong nghiên cứu bao gồm: bột cá (làm từ cá phân mua tại Cảng cá Định An, tỉnh Trà Vinh), đậu nành hạt Mĩ (sấy, nghiền mịn), Soy protein đậu nành (VMCGROUP-VN), Premix vitamin khoáng, dầu mực và đạm thủy phân (Công ty Vemedim-VN), cám gạo và bột mì tinh được mua ở cửa hàng tạp hóa, tỉnh Trà Vinh. Tất cả thành phần trong thí nghiệm được nghiền mịn và phân tích sinh hóa trước khi xây dựng công thức thức ăn có 40% protein (Bảng 1). Tất cả nguyên liệu được trộn theo trình tự: dạng nguyên liệu khô, lipid, dịch thủy phân và nước. Sau đó, nguyên liệu được ép viên bằng máy với kích cỡ hạt 1 – 2 mm. Thức ăn được sấy khô ở 60°C trong 24 giờ và bảo quản trong hộp nhựa cho đến khi sử dụng.

##### Nguồn nước sử dụng

Nguồn nước sử dụng được lấy từ sông vào kênh cấp qua ao lắng sơ cấp – ao lắng phù sa – ao lắng chất lơ lửng – qua túi lọc lên ao bạt – duyệt khuẩn (chlorine 30–45 ppm) – sau từ 2 đến 3 ngày kiểm tra các chỉ tiêu môi trường (độ mặn, pH, độ kiềm, khoáng) trước khi sử dụng.

#### C. Bố trí thí nghiệm

##### Thí nghiệm 1

Tôm thẻ được sản xuất từ Trại Nước mặn, Trường Đại học Trà Vinh, tôm Post 12 (tôm sạch bệnh) được ương trong bể composite 1 m<sup>3</sup> trong 30 ngày trước khi bố trí thí nghiệm. Tôm có trọng lượng 0,92±0,05 g. Thí nghiệm gồm ba nghiệm thức gồm: thức ăn viên (Grobest 41,6% đạm) (ĐC 1), thức ăn 0% LLP (ĐC 2) và nghiệm thức thay thế 20% bột cá bằng bột lá keo đậu (NT 3). Thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên với ba lần lặp lại. Tôm được bố trí trong bể 500 lít có lượng nước 350 lít, độ mặn của nước 19±1,0 ppt. Tôm được thả nuôi với mật độ 70 con/bể.

Bảng 1: Thành phần nguyên liệu của thức ăn (khối lượng khô)

Nguyên liệu	Bột cá (g)	Bột đậu nành (g)	Soy protein Isolate (g)	Cám gạo (g)	Bột lá keo dậu (g)	Dầu mực (g)	Premix* vitamin-khoáng (g)	Bột mì (g)	Dịch thủy phân (g)
0% LLP	37,0	11,5	14,5	28,5	0	2	2	3	1,5
20% LLP	29,60	13,5	16,5	24,5	7,4	2	2	3	1,5

Ghi chú: \* Premix vitamin-khoáng: vitamin A: 1000,000 IU; vitamin D: 2,000,000 IU; vitamin E: 13,300 mg; vitamin B1: 1,500 mg; vitamin B2: 3,000 mg; vitamin B5: 13,340 mg; vitamin B6: 2,000 mg; vitamin K3: 1,000 mg; vitamin C: 12,000 mg; Folic acid: 1,330 mg; Niacin: 7,000 mg; Mn ( $MnSO_4$ ): 150-450 mg; Zn ( $ZnSO_4$ ): 400-850 mg; Mg ( $MgSO_4$ ): 11,000-14,000 mg

Bảng 2: Thành phần sinh hóa của thức ăn viên và thức ăn tự chế biến (khối lượng khô)

Thành phần	Độ khô (%)	Protein (%)	Lipid (%)	Tro (%)	Carbohydrate (%)	Năng lượng (Kj/g)
TĂCN	93,5 <sup>b</sup>	41,6 <sup>b</sup>	5,97 <sup>b</sup>	15,9 <sup>a</sup>	36,5 <sup>a</sup>	18,51 <sup>b</sup>
0% LLP	87,7 <sup>a</sup>	40,3 <sup>a</sup>	5,02 <sup>a</sup>	16,5 <sup>a</sup>	38,2 <sup>a</sup>	18,09 <sup>a</sup>
20% LLP	87,9 <sup>a</sup>	39,9 <sup>a</sup>	6,28 <sup>b</sup>	15,6 <sup>a</sup>	37,4 <sup>a</sup>	18,49 <sup>b</sup>

Ghi chú: Giá trị trung bình  $\pm$  SD (n = 3); các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (P < 0,05)

Sau khi bố trí, tôm được cho ăn 5 lần/ngày (7, 10, 13, 17 và 21 giờ). Thời gian thí nghiệm là 60 ngày. Mỗi ngày nước được thay 20 – 30%/bể. Các thông số môi trường được đo hai lần/ngày (lúc 7 giờ và 14 giờ). Độ mặn được đo bằng khúc xạ kế Master (Atago, Nhật Bản), pH 7-8 đo bằng test pH (Đức), oxy hòa tan và nhiệt độ đo bằng máy đo oxy (SevenGo pro; Mettler Toledo, USA), Ammoniac và độ kiềm bằng bộ kiểm tra bộ test (Đức).

Kết thúc thí nghiệm, tôm được xác định tỉ lệ sống, tốc độ tăng trưởng, lượng thức ăn ăn vào (FI%/tôm/ngày), hệ số thức ăn (FCR), hệ số chuyển hóa protein (PER), hiệu suất tích lũy protein (PE), hoạt tính của enzym tiêu hóa.

Thu mẫu enzyme tiêu hóa: Sau 60 ngày thí nghiệm, tôm được ngừng cho ăn sau 24 giờ và tiến hành thu ba tôm/bể để phân tích enzyme tiêu hóa. Tôm được ngâm trong nước đá năm phút, mổ lấy dạ dày và ruột của tôm cho vào ống Ependof. Các mẫu được nghiền nhỏ trong dung dịch đệm (20 mM mono kali photphat và 6 mM natri clorua) ở pH 6,9. Li tâm ở tốc độ 4.200 vòng/phút trong 30 phút và thu phần nổi phía trên sau đó mẫu được bảo quản ở -80°C cho đến khi phân tích. Hàm lượng  $\alpha$ -amylase trong dạ dày và ruột được phân tích theo phương pháp của Bernfeld [24]. Hoạt động của pepsin trong dạ dày và hoạt động của chymotrypsin trong ruột được

phân tích bằng các phương pháp của Worthington [25].

### Thí nghiệm 2

Các nghiệm thức: Thức ăn viên (TĂCN), 0% LLP và 20% LLP được phối trộn với 1%  $Cr_2O_3$  làm chất đánh dấu cho tôm ăn. Tôm được cho ăn bốn lần/ngày trong thời gian hai tuần trước khi tiến hành thu phân.

Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm bố trí các nghiệm thức gồm: TĂCN, 0% LLP và 20% LLP; thí nghiệm được bố trí giống như thí nghiệm 1, khối lượng tôm trung bình là  $10 \pm 0,05$  g/con. Thời gian thu phân khoảng 30 ngày đến khi thu đủ lượng phân phân tích (10 g phân khô).

Chăm sóc và cho ăn: Tôm được cho ăn bốn lần/ngày vào lúc 7, 12, 17 và 21 giờ. Sau một giờ cho ăn, bể tôm nuôi sẽ loại bỏ hết thức ăn dư thừa và bắt đầu thu phân. Phân tôm được thu vào ngày thứ 15. Thức ăn thí nghiệm, phân tôm được phân tích hàm lượng  $Cr_2O_3$ , protein và năng lượng (theo phương pháp của AOAC [26]) để xác độ tiêu hóa thức ăn theo phương pháp của Cho et al. [27].

+ Công thức tính:

- TLS (%) = (số lượng tôm ở cuối thí nghiệm) / (số lượng tôm ban đầu) \* 100

- SGR (%/g/ngày) = (Ln (Wf) - Ln (Wi)/t) \* 100

- DWG (g/ngày) = (Wf - Wi) / t;

- FI (%/tôm/ngày) = thức ăn tiêu thụ /  $(\sqrt{Wf \times Wi \times t})$

- FCR = lượng thức ăn tiêu thụ ở dạng vật chất khô /tăng trọng

- PER = (Wf - Wi) / lượng protein ăn vào

- PR = (Protein của tôm cuối – Protein của tôm đầu) / lượng protein ăn vào.

(Trong đó, Wi: khối lượng trung bình tôm đầu; Wf: khối lượng trung bình tôm cuối; t: thời gian (60 ngày)).

+ Thu mẫu

- Thu mẫu thức ăn:

Thức ăn sau khi phối trộn được mang đi sấy và phân tích các chỉ tiêu ẩm độ, protein, lipid, khoáng, năng lượng, Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ban đầu.

- Thu mẫu phân

Mẫu phân được thu bằng cách siphon đáy. Phân tôm sẽ để lắng và xả ra đáy bể qua vợt lưới. Sau mỗi lần thu, phân được rửa sạch bằng nước cất và sấy khô ở 60°C trong 24 giờ, bảo quản lạnh ở nhiệt độ dưới 4°C. Toàn bộ lượng phân thu được cho vào tủ sấy 105°C trong 24 giờ đến khi đủ khối lượng (10 g phân) để phân tích các chỉ tiêu về độ tiêu hóa, ẩm độ, tro, protein, lipid, năng lượng và Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

+ Phương pháp phân tích Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> được phân tích theo phương pháp của Furukawa et al. [28].

Nồng độ Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>: Được xác định theo phương trình  $y = 0,2089x + 0,0032$ .

Trong đó: y là độ hấp thụ; x là% Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

Tính toán độ tiêu hóa theo các công thức

- Độ tiêu hóa thức ăn: ADCTĂ (%) =  $100 - [100 * (\%A / \%B)]$ .

- Độ tiêu hóa của một số dưỡng chất ADC (protein, năng lượng, lipid):

$ADC(P, NL, L) (\%) = 100 - [100 * (\%A / \%B) * (\%B' / \%A')]$ .

Trong đó, % các chất tính theo khối lượng khô; A: chất đánh dấu có trong thức ăn; B: chất đánh dấu có trong phân; A': chất dinh dưỡng có trong thức ăn; B': chất dinh dưỡng có trong phân.

#### D. Xử lý số liệu

Các số liệu được phân tích bằng phần mềm SPSS 20.0. Nghiên cứu so sánh trung bình hai mẫu độc lập để xác định sự khác biệt giữa các nghiệm thức với mức ý nghĩa  $p < 0,05$ .

### IV. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### A. Môi trường nước nuôi tôm

Kết quả môi trường nước trong thí nghiệm nuôi tôm cho thấy biến động môi trường giữa các nghiệm thức không khác nhau, nguyên do nguồn nước cấp dùng cho thí nghiệm đã được điều chỉnh phù hợp trước khi thay nước vào bể mỗi ngày.

Độ kiềm của nước nuôi tôm trong suốt thời gian thí nghiệm dao động từ 129–130 mg/L CaCO<sub>3</sub> và độ mặn của nước là  $19 \pm 1,0\%$ . Theo QCVN (02-19:2014 /BNNPTNT) [29], độ kiềm thích hợp cho sự phát triển của tôm thẻ chân trắng dao động trong khoảng 60 – 180 mg/L CaCO<sub>3</sub>. Độ mặn tốt nhất để tôm tăng trưởng nhanh là 10 – 30 g/L [16]. Bể nuôi được sục khí liên tục nên mức oxy dao động trong khoảng 4,6 – 5,4 mg/L. Theo Nonwachai et al. [30], khoảng oxy đảm bảo cho tôm sinh trưởng bình thường là > 4 mg/L. Như vậy, các yếu tố môi trường trong thí nghiệm này nằm trong khoảng thích hợp cho tôm tăng trưởng.

#### B. Sự tăng trưởng và tỉ lệ sống của tôm

Sau 60 ngày thí nghiệm, ở nghiệm thức 0% LLP có giá trị DWG (g/ngày), SGR (%/ngày) và TLS (%) thấp hơn 20% LLP nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) (Bảng 4). Tuy nhiên, các giá trị tăng trưởng ở nghiệm thức 20% LLP có xu hướng gia tăng so với nghiệm thức 0% LLP (ĐC2). Điều này chỉ ra rằng mức độ bột lá keo đậu thay thế 20% bột cá trong thức ăn có sự ảnh hưởng tích cực lên tăng trưởng và tỉ lệ sống của tôm nuôi.

Bảng 3: Các yếu tố môi trường thí nghiệm

Kiểm (mg/L CaCO <sub>3</sub> )	TAN (mg/L)	Nhiệt độ (°C)	pH	Độ mặn (%)	Oxy (ppm)
129-130	0,01-0,07	26,5-28,5	7,9-8,1	19±1,0	4,6-5,4

Bảng 4: Sự tăng trưởng và tỉ lệ sống của tôm với các loại thức ăn khác nhau

NT	W <sub>i</sub> (g)	W <sub>f</sub> (g)	DWG (g/ngày)	SGR (% g/ngày)	TLS (%)
TĂ CN	0,92±0,03 <sup>a</sup>	21,96±1,77 <sup>b</sup>	0,36±0,03 <sup>b</sup>	5,38±0,18 <sup>b</sup>	86,2±6,75 <sup>a</sup>
0% LLP	0,93±0,01 <sup>a</sup>	15,49±0,64 <sup>a</sup>	0,25±0,01 <sup>a</sup>	4,76±0,06 <sup>a</sup>	86,7±4,59 <sup>a</sup>
20% LLP	0,93±0,06 <sup>a</sup>	15,84±0,54 <sup>a</sup>	0,25±0,01 <sup>a</sup>	4,81±0,17 <sup>a</sup>	94,3±2,47 <sup>a</sup>

Kết quả so sánh với TĂCN: Nhìn chung, sự tăng trưởng của tôm ở TĂCN có giá trị cao hơn so với thức ăn xây dựng (0% LLP và 20% LLP). Vì giá trị protein (39,9% và 41,6%) giữa thức ăn công nghiệp và thức ăn xây dựng khác biệt thống kê với nhau (Bảng 2). Kết quả về tăng trưởng ở TĂCN trong nghiên cứu chỉ mang tính so sánh với điều kiện thức ăn nuôi tôm thực tế hiện nay. Bên cạnh đó, tỉ lệ sống của tôm nuôi đạt giá trị từ 86,2 – 94,3%, thấp nhất ở thức ăn công nghiệp và cao nhất ở nghiệm thức 20% LLP. Như vậy, bột lá keo đậu thay thế bột cá 20% có thể giúp tôm thể nuôi tăng trưởng bình thường và không ảnh hưởng đến tỉ lệ sống của tôm. Trong nghiên cứu này, tỉ lệ sống của tôm có giá trị cao hơn ngay cả so với thức ăn viên công nghiệp nuôi tôm hiện nay.

Kết quả này cũng tương tự như nghiên cứu của Nawwar et al. [12] trên tôm càng xanh (*M. rosenbergii*), bột lá *L. leucocephala* (Lam) có thể thay thế bột cá lên đến 25% mà không ảnh hưởng lên tăng trưởng của tôm. Nghiên cứu của Sotolu et al. [31] thay thế bột cá bằng bột hạt *L. leucocephala* (LSM) đối với cá trê giống (*C. gariepinus*) cũng cho thấy rằng không có sự khác biệt đáng kể về tăng trọng, PER, FCR và SGR của cá ăn theo khẩu phần 0% và 25% LSM.

### C. Hiệu quả sử dụng thức ăn

Bảng 5 cho thấy thức ăn thay thế bột cá sẽ làm tôm giảm bắt mồi. Cụ thể là lượng thức ăn ăn vào (FI) của tôm ở 0% LLP từ 2,00 (%/tôm/ngày) giảm còn 1,87 (%/tôm/ngày) ở 20% LLP. Tuy nhiên, sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Các giá trị về hệ số thức ăn (FCR), hiệu quả sử dụng protein (PER), hiệu suất tích lũy protein (PE) ở nghiệm thức 20% LLP có xu

hướng tốt hơn nghiệm thức 0% LLP nhưng không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

Kết quả này cho thấy, mặc dù FI (%/tôm/ngày) ở 20% LLP thấp hơn so với 0% LLP nhưng giá trị chuyển hóa thức ăn được cải thiện. Kết quả này cũng tương tự nghiên cứu của Vogt et al. [10] về việc sử dụng lá *L. leucocephala* ngâm và không ngâm làm thức ăn trên tôm sú (*Penaeus monodon*). Kết quả cho thấy sự tăng trưởng và tỉ lệ sống của tôm ở chế độ ăn *L. leucocephala* được xử lí ngâm vượt trội hơn so với chế độ ăn đậu nành, mặc dù khác biệt không có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ). Nghiên cứu cũng thấy rằng các nguồn dinh dưỡng đa dạng trong nguyên liệu (lá keo đậu) đã hỗ trợ cho tăng trưởng mặc dù khi phân tích các giá trị dinh dưỡng trong thức ăn là tương tự nhau về protein, carbohydrate và lipid trong thức ăn.

LLP làm giảm sự hấp dẫn bắt mồi. Akande et al. [32] cho biết trong lá cây *L. leucocephala* có chứa mimosine (là một loại acid amin phi protein) và tannin. Đây là hai chất kháng dinh dưỡng sẽ làm giảm khả năng bắt mồi và hấp thụ dưỡng chất ở vật nuôi. Tuy nhiên, kết quả cho thấy mức độ tác động protein thực vật trong thức ăn không nhiều (có thể quá trình xử lí lá cây ngâm và phơi khô đã làm chất kháng dinh dưỡng trong lá LLP giảm thấp ở mức thích hợp cho tôm). Hơn nữa, tỉ lệ sống (TLS %) của tôm đạt được giá trị cao nhất (94,3%) ở nghiệm thức 20% LLP trong khẩu phần. Điều này cũng phù hợp với nhận định của Shelton et al. [9] về giá trị dinh dưỡng bột lá *L. leucocephala* bởi hàm lượng protein và carotenoine cao, cân bằng axit amin, chứa nhiều vitamin đã hỗ trợ thuận lợi cho sự hấp thụ và chuyển hóa vật chất dinh dưỡng cho tôm nuôi nên vật chất chuyển hóa trong cơ thể tôm tăng lên.

Bảng 5: Hiệu quả sử dụng thức ăn của tôm trên các loại thức ăn

NT	FI (%/tôm/ngày)	FCR	PER	PE
TÁC N	1,70±0,10 <sup>a</sup>	1,07±0,13 <sup>a</sup>	2,44±0,29 <sup>b</sup>	40,8±4,00 <sup>b</sup>
0% LLP	2,00±0,14 <sup>a</sup>	1,54±0,11 <sup>b</sup>	1,85±0,14 <sup>a</sup>	33,23±2,13 <sup>a</sup>
20% LLP	1,87±0,06 <sup>a</sup>	1,42±0,05 <sup>b</sup>	2,01±0,07 <sup>a</sup>	35,0±1,97 <sup>a</sup>

Ghi chú: Giá trị trung bình  $\pm$  SD ( $n = 3$ ); các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ )

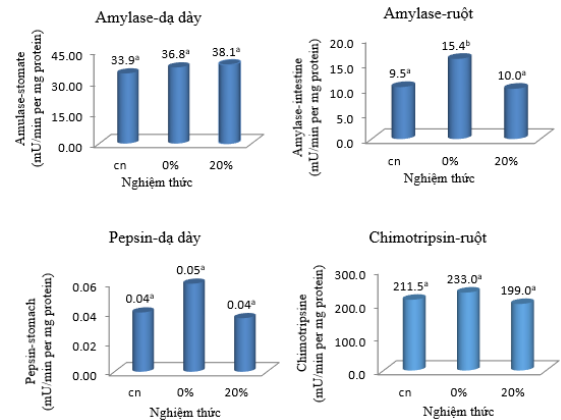
Kết quả nghiên cứu trên một số loài thủy sản khác cũng cho thấy, ở cá trê giống (*C. gariepinus*), khẩu phần ăn thay thế bột cá bằng 0% bột hạt Leucaena (LSM) và 25% LSM không có sự khác biệt đáng kể giữa các mức tăng trưởng, PER, FCR và SGR [31]. Nghiên cứu trên một số loại protein thực vật khác làm thức ăn cho tôm thẻ (*L. vannamei*), Amaya et al. [33] cho rằng tôm (*L. vannamei*) nuôi trong ao có thể thay thế bột cá bằng 39,6% khô đậu nành và 4,8% bột gluten ngô mà không ảnh hưởng đến tăng trưởng, FCR và tỉ lệ sống của tôm. Nghiên cứu của Yun et al. [34] cũng khẳng định tôm thẻ chân trắng được thay thế bột cá bằng bột đậu nành lên đến 33% trong khẩu phần vẫn đảm bảo tăng trưởng của tôm. Vậy, bột keo đậu hoàn toàn có thể thay thế bột cá trong thức ăn cho tôm lên đến 20%.

#### D. Hoạt tính enzyme tiêu hóa

Kết quả phân tích hoạt tính enzyme tiêu hóa ở dạ dày và ruột tôm cho thấy hoạt tính của  $\alpha$ -amylase ở ruột tôm cao nhất ở nghiệm thức không thay thế bột cá (0% LLP), mặc dù giá trị của enzyme này trong dạ dày là tương tự nhau giữa các nghiệm thức.

Hình 1 cho thấy enzyme  $\alpha$ -amylase trong dạ dày không có sự khác biệt nhau giữa các nghiệm thức ( $p > 0,05$ ). Tuy nhiên, ở ruột,  $\alpha$ -amylase ở mức 0% LLP đạt giá trị cao hơn và khác biệt có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ) với 20% LLP và thức ăn viên. Hoạt tính enzyme pepsin trong dạ dày và chymotrypsin trong ruột, giữa các nghiệm thức khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

Roy et al. [35] cũng ghi nhận  $\alpha$ -amylase hiện diện trong ruột tôm tương đối cao hơn so với các cơ quan khác. Song et al. [36] cho rằng nguồn protein có thể ảnh hưởng đến hoạt động của các enzym tiêu hóa trong gan tụy của tôm. Kuz'mina [37] cho rằng hoạt tính enzyme sẽ bị ảnh hưởng khi hoạt động cho ăn và thành



Hình 1: Hoạt tính enzyme tiêu hóa của tôm

phần sinh hóa trong thức ăn thay đổi. Kết quả nghiên cứu cho thấy hoạt tính  $\alpha$ -amylase giảm ở ruột khi LLP trong thức ăn chứa 20% LLP. Vogt et al. [10] nghiên cứu ảnh hưởng của lá *L.leucocephala* lên mô tế bào ruột của ấu trùng tôm sú (*P.monodon*). Nhóm nghiên cứu ghi nhận rằng tế bào R trong ruột tôm sẽ tổn thương khi tôm ăn có mức mimosine vượt 0,25% trong thức ăn.

Như vậy, hoạt tính enzyme tiêu hóa (amylase và chimotripise) của tôm thẻ chân trắng giảm có khả năng chịu tác động của chất kháng dinh dưỡng (mimosine và tannin) lên tế bào niêm mạc ruột, làm giảm hoạt tính tiêu hóa của enzyme trên tôm.

#### E. Độ tiêu hóa thức ăn của tôm với các loại thức ăn khác nhau

Bảng 6 cho thấy độ tiêu hóa thức ăn (ADC-Tã), độ tiêu hóa protein (ADC-protein), độ tiêu hóa lipid (ADC-lipid) và độ tiêu hóa năng lượng (ADC-NL) lần lượt là 79,3 – 83,7%, 92,0 – 94,5%, 92,1 – 98,0% và 87,9 – 92,4%. Giá trị cao nhất ở nghiệm thức thức ăn không thay thế bột

cá (0% LLP) và khác biệt có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ) so với các nghiệm thức TĂCN và thức ăn thay thế bột cá 20% LLP. Ở nghiệm thức TĂCN và thức ăn 20% LLP giá trị ADC-Tă, ADC-protein và ADC-năng lượng không khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Tuy nhiên, *ADC-lipid* ở cả ba nghiệm thức (Bảng 6) đều khác biệt nhau có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ), thấp nhất ở TĂCN và cao nhất ở nghiệm thức 0% LLP.

Bảng 6: Độ tiêu hóa (ADC-dry) của tôm với các loại thức ăn khác nhau

NT	ADC-Tă (%)	ADC-protein (%)	ADC-lipid (%)	ADC-năng lượng (%)
TĂCN	79,3±1,96 <sup>a</sup>	92,4±1,22 <sup>a</sup>	92,1±0,83 <sup>a</sup>	88,3±1,09 <sup>a</sup>
0%	83,7±0,21 <sup>b</sup>	94,5±0,30 <sup>b</sup>	98,0±0,61 <sup>c</sup>	92,4±0,05 <sup>b</sup>
20%	80,0±1,81 <sup>a</sup>	92,0±0,54 <sup>a</sup>	94,2±0,80 <sup>b</sup>	87,9±1,25 <sup>a</sup>

*Ghi chú: Giá trị trung bình ± SD (n = 3); các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (P < 0,05)*

Kết quả nghiên cứu của Qiu et al. [38] về khả năng tiêu hóa các nguồn thực vật như đậu nành truyền thống, đậu nành pepsoygen, đậu nành NutriVance của tôm (*L. vannamei*) 12 g nuôi trong hệ thống tuần hoàn cho thấy độ tiêu hóa protein dao động từ 77,6 đến 97,03% và độ tiêu hóa năng lượng (62,27 – 82,56%), trong đó, đậu nành truyền thống cho kết quả cao nhất. Tương tự, Yang et al. [39] nghiên cứu độ tiêu hóa của tôm (*L. vannamei*) từ các nguồn nguyên liệu động thực vật khác nhau. Kết quả cho thấy độ tiêu hóa các nguồn protein động vật dao động từ 52,83 đến 71,23%, trong đó, bột cá Peru có độ tiêu hóa cao nhất. Độ tiêu hóa các thành phần nguyên liệu thực vật là 69,98 – 77,23%. Tác giả này nhận thấy protein và lipid từ nguồn thực vật và động vật được tôm thể chân trắng tiêu hóa tốt. Tỷ lệ tiêu hóa protein và lipid lần lượt nằm trong khoảng 87,89 – 93,18% và 91,57 – 95,28% đối với các nguồn nguyên liệu từ thực vật; 75,00 – 92,34% và 83,72 – 92,79% đối với các sản phẩm động vật. Như vậy, kết quả về mức độ tiêu hóa các thành phần dinh dưỡng (protein, lipid và năng lượng) của thức ăn chứa bột lá keo đậu tương tự như độ tiêu hóa các nguồn protein thực vật khác trên tôm (*L. vannamei*).

## V. KẾT LUẬN

Keo đậu thay thế bột cá ở mức 20% LLP trong thức ăn vẫn cho kết quả tốt về tăng trưởng (DWG

g/ngày; SRG %/g/ngày), hiệu quả sử dụng thức ăn (FCR, PER, PE). Tỷ lệ sống của tôm nuôi đạt giá trị từ 86,2 – 94,3%, cao nhất ở nghiệm thức 20% LLP.

Hoạt tính enzyme amylase và pepsin ở dạ dày giữa các nghiệm thức không khác biệt nhau và amylase ở dạ dày cao hơn ruột rất nhiều. Ở ruột hoạt tính amylase và chimotripsine bắt đầu giảm khi mức thay thế bột cá lên 20% LLP.

Kết quả về độ tiêu hóa thức ăn (ADC-Tă), độ tiêu hóa protein (ADC-protein), độ tiêu hóa lipid (ADC-lipid) và độ tiêu hóa năng lượng (ADC-NL) có giá trị cao nhất ở nghiệm thức thức ăn không thay thế bột cá (0% LLP). TĂCN và 20% LLP trong thức ăn có độ tiêu hóa như nhau.

Nhóm tác giả đề xuất cần nghiên cứu thay thế bột lá keo đậu ở các mức độ cao hơn và nghiên cứu sử dụng bột lá keo đậu làm nguyên liệu thức ăn cho nhiều đối tượng thủy sản khác.

## LỜI CẢM ƠN

Kết quả nghiên cứu này được tài trợ bởi Trường Đại học Trà Vinh thông qua Hợp đồng số 306/2020/ĐH.HĐKH&ĐT-ĐHTV.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] VASEP. *Tổng quan ngành thủy sản*. <https://vasep.com.vn/gioi-thieu/tong-quan-nganh> [Ngày truy cập: 25/04/2023]. [VASEP. *Overview of the fisheries industry*. <https://vasep.com.vn/gioi-thieu/tong-quan-nganh> [Accessed 25<sup>th</sup> April 2023].
- [2] Wang Y, Kong LJ, Li C, Bureau DB. Effect of replacing fish meal with soybean meal on growth, feed utilization and carcass composition of cuneate drum (*Nibea miichthioides*). *Aquaculture*. 2006;216: 1307–1313.
- [3] Harnández MD, Martínez FJ, Jover M, García BG. Effect of partial replacement of fish meal by soybean meal in sharpnose seabream (*Diplodus puntazzo*) diet. *Aquaculture*. 2007;263: 159–167.
- [4] LAi Q, Xie X. Effect of replacement of fish meal by soybean meal and supplementation of methionine in fish meausoybean meal-based diets on growth performance of the southern catfish (*Silurus meridionalis*). *National Natural Science Foundation of China*. 2007;30: 498–507.
- [5] Catacutan MR, Pagador GE. Partial replacement of fishmeal by defatted soybean meal in formulated diets for themangrove red snapper, *Lutjanus argentimaculatus* (Forsskal 1775). *Aquaculture Research*. 2004;35: 299–306.



- [6] El-Saidy DSD, Gaber MA. Complete replacement of fish meal by soybean meal with dietary l-lysine supplementation for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) fingerlings. *World Aquaculture Society*. 2002;33: 297–306.
- [7] ISSG. *Global invasive species database species profile: Leucaena leucocephala*. 2010. <http://www.iucngisd.org/gisd/> [Accessed: 20/03/2022].
- [8] Olckers T. Biological control of *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit (Fabaceae) in South Africa: a tale of opportunism, seed feeders and unanswered questions. *African Entomol.* 2011;19(1): 356–365.
- [9] Shelton HM, Brewbaker JL. *Leucaena leucocephala* the most widely used forage tree legume. In: RC Gutierrez and HM Shelton (Eds). *Forage tree legumes in tropical agriculture*. Wallingford, UK: CAB International; 1994. p.1–13.
- [10] Vogt G, Quito ET, Pascual FP. *Leucaena leucocephala* leaves in formulated feed for *Penaeus monodon*: a concrete example of the application of histology in nutrition research. *Aquaculture*. 1986;59(3–4): 209–234.
- [11] Wee KL, Wang SS. Nutritive value of *Leucaena* leaf meal in pelleted feed for Nile tilapia. *Aquaculture*. 1987;62(2): 97–108.
- [12] Man MD, Mamat NZ, Affendi ISM, Nih S, Nadzri A. Partial replacement of fish meal by white lead-tree meal (*Leucaena leucocephala* Lam.) in diets for juveniles of Giant River Prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879). *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*. 2017;5(2): 154–157.
- [13] Van Man N, Van Hao N, Minh Tri V. Biomass production of some leguminous shrubs and trees in Vietnam. *Livestock Research for Rural Development*. 1995;7(2): 1–5.
- [14] Cuzon G, Addison L, Gaxiola G, Rosas C, Guillaume J. Nutrition of *Litopenaeus vannamei* reared in tank or in ponds. *Aquaculture*. 2004;235(1–4): 513–551.
- [15] Colvin LB, Brand CW. The protein requirement of penaeid shrimp at various life-cycle stages in controlled environment systems. *World Aquaculture Society. Journal of World Aquaculture Society*. 1977;8(1-4): 821–840.
- [16] Kungvankij P, Tiro Jr LB, Pudadera Jr BJ, Potestas IO, Corre KG, Borlongan EL, et al. *Shrimp hatchery design, operation and management*. Bangkok, Thailand: Network of Aquaculture Centres in Asia; 1986.
- [17] Guillaume J, Kaushik S, Bergot P, Metailler R. *Nutrition and feeding of fish and crustaceans*. Chichester, UK: Praxis Publishing. 1999.
- [18] Kureshy N, Davis DA. Protein requirement for maintenance and maximum weight gain for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*. 2002;204(1-2): 125–143.
- [19] Cruz-Suárez LE, Ricque-Marie D, Pinal-Mansilla JD, Wesche-Ebellling P. Effect of different carbohydrate sources on the growth of *Penaeus vannamei*: Economical impact. *Aquaculture*. 1994;30: 349–360.
- [20] González F, Aslafer G. Floret development and spike growth as affected by photoperiod during stem elongation in wheat. *Field Crops Research*. 2003;81(1): 29–38.
- [21] He H, Lawrence AL. Vitamin E requirement of *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*. 1993;118(3–4): 245–255.
- [22] Lim C, Dominy M. Evaluation of soybean meal as a replacement for marine animal protein in diets for shrimp (*Penaeus vannamei*). *Aquaculture*. 1990;87(1): 53–63.
- [23] Akiyama DM, Coelho SR, Lawrence AL, Robinson EH. Apparent digestibility of feedstuffs by the marine shrimp *Penaeus vannamei* Boone. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*. 1988;55(1): 91–98.
- [24] Bernfeld P. Enzymes of starch degradation and synthesis. *Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology*. 1951;12: 379–428.
- [25] Worthington TM. *Enzyme and Related Biochemicals*. NJ, USA: Biochemical Products Division, Worthington Diagnostic System, Freehold; 1982: 215–226.
- [26] AOAC. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 20<sup>th</sup> ed. USA: AOAC International; 2016.
- [27] Cho CY, Kaushik SJ. Nutritional energetics in fish: energy and protein utilization in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *World Review Nutritional Diet*. 1990;61: 132–72.
- [28] Furukawa, Tsukahara. On the acid digestion method for the determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of fish diet. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*. 1966;36(2): 502–508.
- [29] Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn. *Thông tư ban hành quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về điều kiện nuôi thủy sản. 22/2014/TT-BNNPTNT*. Việt Nam: Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn; 2014 [Ministry of Agriculture and Rural Development of Vietnam. *Circular on issuing national technical standards on aquaculture conditions. 22/2014/TT-BNNPTNT*. Vietnam: Ministry of Agriculture and Rural Development of Vietnam; 2014].
- [30] Nonwachai T, Purivirojku W, Chuchird N, Limsuwan C. Effects of dissolved oxygen levels on growth, survival and immune response of juvenile Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Fisheries and Environment*. 2011;35(3): 1–10.
- [31] Sotolu A, Faturoti E. Growth performance and hematological effects of varying dietary processed *Leucaena leucocephala* seed meal in *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) juvenile. *African Journal of Food Agriculture Nutrition and Development*. 2011;11(1): 4546–4557.
- [32] Akande K, Doma U, Agu H, Adamu H. Major antinutrients found in plant protein sources: their effect

- on nutrition. *Pakistan Journal of Nutrition*. 2010;9: 827–832.
- [33] Amaya EA, Davis DA, Rouse DB. Replacement of fish meal in practical diets for the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) reared under pond conditions. *Aquaculture*. 2007;262(2): 393–401.
- [34] Yun H, Shahkar E, Hamidoghli A, Lee S, Won S, Bai SC. Evaluation of dietary soybean meal as fish meal replacer for juvenile white leg shrimp, *Litopenaeus vannamei* reared in biofloc system. *International Aquatic Research*. 2017;9: 11–24.
- [35] Roy S, Kumar V, Mitra A, Manna RK. Amylase and protease activity in shrimps and prawn of Sundarbans. West Bengal, India. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*. 2018;47(01): 53–59.
- [36] Song HL, Tan BP, Chi S, Liu Y, Chowdhury MAK, Dong XH. The effects of a dietary protease-complex on performance, digestive and immune enzyme activity, and disease resistance of *Litopenaeus vannamei* fed high plant protein diets. *Aquaculture Research*. 2017;48(5): 2550–2560.
- [37] Kuz'mina VV. Influence of age on digestive enzyme activity in some freshwater eleosts. *Aquaculture*. 1996;10: 25–37.
- [38] Qiu XL, Nguyen DA, Davis. Apparent digestibility of animal, plant and microbial ingredients for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Nutrition*. 2017;24(3): 1–10.
- [39] Yang O, Zhou X, Zhou O, Tan B, Chi S, Dong X. Apparent digestibility of selected feed ingredients for white shrimp *Litopenaeus vannamei*, Boone. *Aquaculture Research*. 2009;41: 78–86.

