TẠO CHẾ PHẨM PROBIOTIC *Bacillus* sp. RGB7.1 VÀ ẢNH HƯỞNG CỦA CHẾ PHẨM ĐẾN TỶ LỆ NUÔI SỐNG VÀ KHỐI LƯỢNG CỦA GÀ

Nguyễn Thị Lâm Đoàn[1*], Hồ Thị Thơm[1]

TÓM TẮT

Một số loài *Bacillus* được ứng dụng rộng rãi trong sản xuất probiotic, chúng có khả năng chịu được điều kiện pH axít dạ dày, sản sinh các enzyme hỗ trợ tiêu hóa thức ăn và ức chế các loại vi khuẩn gây bệnh. Chế phẩm probiotic *Bacillus* góp phần làm giảm việc sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi. Chủng vi khuẩn RGB7.1 được phân lập từ ruột gà và đã được xác định có một số đặc tính probiotic. Nghiên cứu này xác định đặc điểm phân loại của chủng RGB7.1, thời gian lên men, tạo chế phẩm probiotic từ chủng này và bước đầu thử nghiệm đánh giá hiệu quả của chế phẩm lên tỷ lệ nuôi sống và khối lượng trung bình của gà Ai Cập từ 1 ngày đến 9 tuần tuổi. Bằng xác định đặc điểm hình thái khuẩn lạc, tế bào kết hợp với kít API 50 CHB bước đầu đã xác định được chủng RGB7.1 thuộc loài *Bacillus subtilis*, thời gian lên men là 24 giờ. Với chất mang cám gạo, nhiệt độ sấy 40^{0}C, tỷ lệ sống sót của chủng sau sấy là 75,56%, mật độ tế bào trong chế phẩm 3,03×10^9 CFU/g, độ ẩm 8,21%. Chế phẩm probiotic được bổ sung nồng độ 0,3% trong khẩu phần thức ăn của gà Ai Cập đã làm tăng tỷ lệ nuôi sống của gà từ 1 ngày đến 9 tuần tuổi là 2,75% và khối lượng trung bình tăng 155g so với công thức không bổ sung chế phẩm.

Từ khóa: *Bacillus, gà, probiotic, tỷ lệ nuôi sống, khối lượng cơ thể.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, nhu cầu tiêu thụ gà tăng mạnh nên xuất hiện nhiều trang trại gà ở quy mô công nghiệp. Thức ăn luôn là vấn đề quan trọng đối với chăn nuôi nói chung và chăn nuôi gà nói riêng, quyết định trực tiếp đến năng suất, chất lượng và giá thành của gà. Việc lạm dụng các chất kháng sinh, hormone trong quá trình chăn nuôi gà đã dẫn đến mất vệ sinh an toàn thực phẩm ảnh hưởng nghiêm trọng tới sức khỏe con người tiềm ẩn nhiều nguy cơ gây dị ứng, ung thư, rối loạn giới tính, ngộ độc cấp tính… (Đào Huyên, 2002; Dương Thanh Liêm, 2007). Do đó, muốn tạo ra sản phẩm vật nuôi an toàn, bắt buộc phải có thức ăn an toàn, đồng nghĩa với việc loại bỏ kháng sinh, hormone (Lã Văn Kính, 2005). Việc làm này dẫn đến giảm năng suất và lợi nhuận trong chăn nuôi. Hiện nay, trong chăn nuôi việc bổ sung chế phẩm sinh học vào thức ăn được nhiều nhà máy chế biến thức ăn gia cầm và nhiều hộ gia đình lựa chọn (Dương Thanh Liên, 2008). Probiotics trong thức ăn chăn nuôi ra đời và trở thành giải pháp hữu hiệu, toàn diện nhằm nâng cao chất lượng sản phẩm đầu ra ngành chăn nuôi, tăng hiệu quả chuyển hóa thức ăn, nâng cao sức đề kháng, giảm thiểu tỷ lệ gà mắc bệnh, tiết kiệm chi phí đầu tư cho thức ăn, thuốc điều trị… (Phạm Kim Đăng và cs., 2016; Phạm Thị Thanh Huyền, 2017).

Các chủng vi sinh vật sử dụng làm probiotic chủ yếu là các chủng vi khuẩn thuộc chi *Lactobacillus* (Mookiah và cs., 2014), *Bifidobacterium* (Khaksa và cs., 2012) và *Bacillus* (Abdelqader và cs., 2013). Tại Việt Nam, *Bacillus* là nhóm vi khuẩn được sử dụng phổ biến bởi các đặc tính như: có khả năng cạnh tranh với các vi khuẩn gây bệnh qua cơ chế miễn dịch, cạnh tranh vị trí bám dính và sản sinh ra chất kháng khuẩn. Ngoài ra, các loài *Bacillus*, đặc biệt là *B. subtilis* còn có khả năng tiết ra nhiều loại enzyme tiêu hóa giúp cải thiện khả năng hấp thụ thức ăn (Võ Hồng Phượng và cs., 2018). Hơn nữa, *Bacillus* còn được sử dụng nhiều bởi giá thành thấp, chịu được tác động nhiệt tốt trong quá trình sản xuất, dễ pha trộn, bảo quản, hạn sử dụng dài (Barbosa và cs., 2005). Các sản phẩm probiotics nhập khẩu có ở thị trường nước ta nhiều nhưng các tác dụng tích cực nhiều khi chưa được rõ ràng (Nguyễn Thị Huyền và cs., 2014). Các nghiên cứu về sản phẩm probiotics dùng trong chăn nuôi ở nước ta còn hạn chế. Mục đích của nghiên cứu là bước đầu tiến hành xác định đặc điểm

[1] Khoa Công nghệ Thực phẩm, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

Email: nlddoan@vnua.edu.vn

phân loại của *Bacillus* sp. RGB7.1 đã được đánh giá là có đặc tính probiotic (Nguyễn Thị Lâm Đoàn và Nguyễn Hoàng Anh, 2018), tạo chế phẩm probiotic từ chủng này và bước đầu thử nghiệm đánh giá hiệu quả của chế phẩm lên tỷ lệ nuôi sống và khối lượng trung bình của gà.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Chủng RGB7.1 có hoạt tính probiotic (khả năng chịu pH thấp, chịu muối mật, sinh một số enzyme ngoại bào, kháng vi khuẩn gây bệnh) được phân lập từ ruột gà là kết quả nghiên cứu trước của nhóm (Nguyễn Thị Lâm Đoàn và Nguyễn Hoàng Anh, 2018).

Thức ăn cho gà nhãn hiệu Con Cò C200: gồm các thành phần: độ ẩm (%) max: 13; protein thô (%) min: 45; xơ thô (%) max: 7; canxi (%) min - max: 2,5 - 4,0; P tổng số (%) min-max: 1,0 - 2,2; lysine tổng số (%) min: 2,5; methionine + cystine tổng số (%) min: 1,5; năng lượng trao đổi (Kcal/kg) min: 2500.

Môi trường LB (Luria Bentani) lỏng (g/l): cao nấm men - 5,0; tryptone - 10,0; NaCl - 10,0; pH 7,0, môi trường thạch LB 2% agar. Các môi trường này dùng để nuôi cấy *Bacillus* sp. RGB7.1 (Nguyễn Quang Huy và Trần Thúy Hằng, 2012). Môi trường được hấp khử trùng 121°C/15 phút.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xác định một số đặc điểm và phân loại Bacillus sp. RG7.1 *theo kít API 50CHB*

Đặc điểm hình thái khuẩn lạc, tế bào, catalase và khả năng di động được tiến hành theo phương pháp của Nguyễn Lân Dũng và cs. (1972).

Phân loại chủng vi khuẩn theo kit API 50 CHB

Chủng vi khuẩn cấy sau 24 giờ trên thạch nghiêng, lấy 2 - 3 vòng que cấy hoà tan vào nước muối sinh lý, lấy 2 mL từ nước muối sinh lý đã có vi khuẩn *Bacillus* sp. RG7.1 vào môi trường API 50 CHB, lắc đều. Dùng pipet lấy dịch từ môi trường API 50 CHB cho vào các tube, tiếp theo nhỏ parafin khoảng 5 - 6 giọt cho đầy nhằm giữ cho dịch môi trường không tràn và tránh bị lây nhiễm. Nuôi cấy được thực hiện ở 37°C rồi đọc kết quả sau 24 giờ và 48 giờ (Nguyễn Thế Trang và cs., 2012).

2.2.2. Lựa chọn thời gian lên men

pH và nhiệt độ tối thích cho sinh trưởng của chủng *Bacillus* sp. RGB7.1 đã được xác định là pH 7,0, 37°C (Nguyễn Thị Lâm Đoàn và Nguyễn Hoàng Anh, 2018) do đó thí nghiệm lựa chọn thời gian lên men sẽ tiến hành nuôi cấy chủng trong môi trường LB pH 7,0; 37°C ở các thời điểm 0; 6; 12; 18; 24; 30; 36; 42; 48; 54 giờ. Sau đó xác định thời gian lên men thích hợp bằng cách đo OD_{620nm} (Phương Thị Hương và Vũ Văn Hạnh, 2018).

2.2.3. Chế phẩm probiotic Bacillus sp. RGB7.1

Theo một số nghiên cứu đã chỉ ra cám gạo chứa nhiều thành phần dinh dưỡng cơ bản như protein, tinh bột, axit béo, các hợp chất phenolic, vitamin nhóm B, khoáng vi lượng. Ngoài ra, cám gạo rất giàu chất xơ hòa tan, mặc dù không được tiêu hóa trong ruột nhưng nó có nhiều chức năng sinh học khác. Một trong những chức năng quan trọng là kích thích sự phát triển của nhiều loại vi khuẩn có lợi như các vi khuẩn đóng vai trò probiotic (Hoàng Văn Tuấn và cs., 2013). Nghiên cứu này đã sử dụng chất mang là cám gạo.

Quy trình tạo chế phẩm được thực hiện dựa theo Vidhyasekaran và Muthamilan (1995): phân phối chất mang vào các túi nylon (2,5 g/túi) và được khử trùng. Chuẩn bị huyền phù vi khuẩn *Bacillus* sp. RGB7.1: Dùng que cấy lấy khuẩn lạc đơn từ đĩa petri sau khi nuôi 24 giờ cho vào ống Falcon chứa 10 mL môi trường LB, nuôi lắc 150 vòng/phút trong 24 giờ. Sau 24 giờ lấy 1mL huyền phù vi khuẩn cho vào bình tam giác 250 mL có chứa 100 mL môi trường LB và tiếp tục nuôi lắc 150 vòng/phút trong 24 giờ.

Bổ sung chủng *Bacillus* vào chất mang: Vi khuẩn sau khi nuôi 24 giờ được xác định mật độ tế bào *Bacillus* bằng cách nuôi cấy trên đĩa thạch để tiến hành cấy vào chất mang. Dựa vào kết quả đó để pha huyền phù *Bacillus* về mật số 10^9 CFU/mL. Kế thừa kết quả nghiên cứu của Đặng Hoài An và cs. (2017) tỷ lệ dịch huyền phù vi khuẩn/chất mang (1 mL/2,5 g chất mang) phối trộn để tế bào vi khuẩn phân bố đều trong chất mang. Các thao tác này được thực hiện trong tủ cấy vô trùng. Sau đó các túi chế phẩm được đưa vào tủ sấy và sấy ở 40°C. Sau mỗi 6 giờ xác định độ ẩm bằng cân sấy ẩm. Chế phẩm sau khi sấy đạt ẩm độ đưới 20% thì đạt yêu cầu (Đặng Hoài An và cs., 2017). Đánh giá mật độ tế bào sống sót sau sấy bằng cách pha loãng mẫu và cấy trang trên bề mặt thạch để đếm số khuẩn lạc và xác định CFU/g. Chế phẩm được bảo quản ở nhiệt độ phòng ($29^0C \pm 2^0C$).

2.2.4. Phương pháp bố trí thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của chế phẩm đến chăn nuôi gà

360 con gà Ai Cập chân đen 1 ngày tuổi được nuôi tại Trại gà Văn Lương, trực thuộc Công ty Thức ăn và Con giống Bình Định, xã Quỳnh Hồng, huyện Quỳnh Lưu, tỉnh Nghệ An đã được sử dụng cho nghiên cứu. Nuôi gà trong chuồng nền xi măng có chất độn chuồng, thông thoáng tự nhiên và theo dõi trong 9 tuần. Gà được bố trí 2 công thức, mỗi công thức gồm 180 con:

- Công thức 1 (CT1): đối chứng (không bổ sung chế phẩm *probiotic*).

- Công thức 2 (CT2): bổ sung chế phẩm probiotics *Bacillus* sp. RG7.1

Gà ở tất cả các công thức đều được chăm sóc, phòng bệnh được thực hiện đồng đều và giống nhau. Tỉ lệ phối trộn chế phẩm ở công thức 2 vào khẩu phần thức ăn cơ sở 0,3% (Phạm Kim Đăng và cs., 2016; Trần Anh Tuyên và cs., 2019).

2.2.5. Các chỉ tiêu phân tích

Theo dõi tỷ lệ nuôi sống

Theo dõi số lượng gà còn sống, chết qua các tuần từ tuần 1 - 9 để tính tỷ lệ nuôi sống (Bùi Hữu Đoàn và cs., 2011).

Theo dõi trung bình khối lượng

Gà được nuôi và định kì đem cân khối lượng từng cá thể vào 7 giờ sáng hàng tuần trước khi cho gà ăn. Tổng thể khối lượng gà cân được chia cho số lượng con để ghi nhận kết quả khối lượng trung bình (Bùi Hữu Đoàn và cs., 2011).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Một số đặc điểm và phân loại chủng *Bacillus* sp. RGB7.1 bằng kít API 50 CHB

Đặc điểm hình thái khuẩn lạc của chủng RGB7.1 màu trắng sữa, dạng tròn lồi, nhẵn bóng, mép răng cưa và hình thái tế bào có dạng hình que, hai đầu tròn, bắt màu tím Gram (+), kích thước 0,4 – 0,7 µm x 1,4 – 2,8 µm, đơn lẻ hoặc thành chuỗi ngắn, catalase (+), di động với các đặc điểm cơ bản trên so sánh với khóa phân loại Bergey's có đặc tính tương ứng với *Bacillus* (Jonh và cs., 1986).

Tuy nhiên, với những đặc điểm trên chưa đủ để kết luận vì vậy chủng RGB7.1 được phân loại đến loài bằng kit chuẩn sinh hóa API 50 CHB. Kit này dùng để phân loại vi khuẩn Gram (+) thuộc các giống vi khuẩn *Bacillus* tương đối đặc hiệu dựa trên khả năng sử dụng 49 loại cơ chất (*Mugg và cs., 2013;* Nguyễn Thế Trang và cs., 2012). Kết quả khả năng sử dụng cơ chất của chủng RGB7.1 được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Khả năng sử dụng cơ chất theo Kit API 50 CHB của chủng vi khuẩn RGB7.1 so sánh với loài trong bảng Index của Kit

STT	Cơ chất	24 giờ	48 giờ	*B. subtilis*	STT	Cơ chất	24 giờ	48 giờ	*B. subtilis*
0	Control	-	-	-	26	Salicin	+	+	+
1	Glycerol	+	+	+	27	Cellobioza	+	+	+
2	Erythritol	-	-	-	28	Maltoza	+	+	+
3	D-Arabinoza	-	-	-	29	Lactoza	-	-	-
4	L- Arabinoza	+	+	+	30	Melibioza	-	-	-
5	Riboza	+	+	+	31	Saccaroza	+	+	+
6	D-Xyloza	+	+	+	32	Trehaloza	+	+	+
7	L-Xyloza	-	-	-	33	Trehaloza	+	+	+
8	Adonitol	-	-	-	34	Melezitoza	-	-	-
9	β - Methyl-xylosit	-	-	-	35	D-Raffinoza	+	+	+
10	Galactoza	-	-	-	36	Amidon	+	+	+
11	D-Glucoza	+	+	+	37	Glycogen	+	+	+
12	D-Fructoza	+	+	+	38	Xylitol	-	-	-
13	D-Mannoza	+	+	+	39	β - Gentiobioza			
14	L-Sorboza	-	-	-	40	D-Turanoza	-	-	-
15	Rhamnoza	-	-	-	41	D-Lyxoza	-	-	-

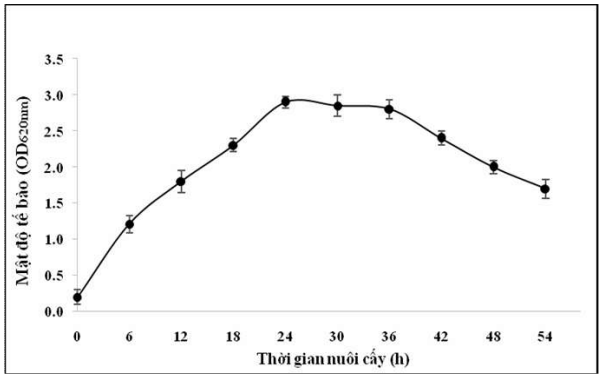
16	Dulcitol	-	-	-	42	D-Tagatoza	-	-	-
17	Inositol	+	+	+	43	D-Fucoza	-	-	-
18	Mannitol	+	+	+	44	L-Fucoza	-	-	-
19	Sorbitol	+	+	+	45	D-Arabitol	-	-	-
20	α - Methyl-D-mannosit	-	-	-	46	L-Arabitol	-	-	-
21	α Methyl-D-glucosit	+	+	+	47	Gluconat	-	-	-
22	N Acetyl glucosamin	+	+	+	48	2 ceto-gluconat	-	-	-
23	Amygdalin	+	+	+	49	5 ceto - gluconat	-	-	-
24	Arbutin	+	+	+					
25	Esculin	+	+	+					

Ghi chú: - không có phản ứng (+). Có phản ứng

Kết hợp với các đặc điểm hình thái theo khoá phân loại vi khuẩn của Bergey's, và đối chiếu kết quả này với API profile index cho thấy chủng vi khuẩn RGB7.1 thuộc *Bacillus subtilis* được ký hiệu là *B. subtilis* RGB7.1

3.2. Lựa chọn thời gian lên men

Việc lựa chọn các yếu tố về điều kiện lên men bao gồm nhiệt độ, pH, thời gian trong phòng thí nghiệm trước khi áp dụng vào sản xuất trên quy mô công nghiệp là cần thiết nhằm tiết kiệm chi phí, mang lại sản phẩm probiotic chất lượng, có lợi cho cả người sản xuất và tiêu dùng (Bajagai và cs., 2016). Thời gian lên men là một trong những thông số được các nhà sản xuất quan tâm hàng đầu vì nó liên quan trực tiếp tới quá trình vận hành máy móc, thiết bị và nhân công. Ngoài ra thời gian lên men phải đảm bảo cho sinh khối thu được với tỷ lệ cao là các tế bào sinh dưỡng trẻ, khỏe. Kết quả ở hình 1 cho thấy mật độ tế bào đạt cao nhất tại 24 giờ lên men và giảm dần khi kéo dài thời gian lên men 54 giờ.



Hình 1. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy đến sinh trưởng của chủng *B. subtilis* RGB7.1

Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu khác khi lựa chọn thời gian sinh trưởng thích hợp các chủng thuộc *B. subtilis* đều được lên men trong khoảng thời gian từ 20-24 giờ (Han và cs., 2014; Nguyen và Nguyen, 2014). Kết quả nghiên cứu của Phương Thị Hương và Vũ Văn Hạnh (2018) cho rằng chủng *B. subtilis* BSVN15 cũng có thời gian sinh trưởng mạnh nhất ở 24 giờ.

3.3. Chế phẩm *Bacillus subtilis* RGB7.1

Các bước tạo chế phẩm được thực hiện như ở mục 2.2.3. với phương pháp sấy là chế độ sấy nhiệt bằng thiết bị tủ sấy thông thường trong phòng thí nghiệm (Binder) để phù hợp với giá thành và quy mô sản xuất lớn. Chế phẩm được xác định độ ẩm, mật độ và tỷ lệ tế sống sót sau sấy. Kết quả đã chỉ ra dịch vi khuẩn sau khi bổ sung vào chất mang tạo chế phẩm trước sấy mật độ tế bào là 4,01 x 10^9 CFU/g. Sau quá trình sấy, chế phẩm thu được với mật độ vi khuẩn là 3,03 x 10^9 CFU/g độ ẩm là 8,21% như vậy tỷ lệ sống sót là 75,56%. Mật độ tế bào của chủng giảm sau khi kết thúc quá trình sấy có thể do độ ẩm giảm thấp không nằm trong mức ẩm phù hợp cho sự sinh trưởng của chúng, những tế bào kém thích nghi hơn sẽ bị tiêu diệt, tuy nhiên tỉ lệ sống sót của *B. subtilis* RGB7.1 vẫn ở mức cao so với nhóm vi khuẩn khác như vi khuẩn lactic. Theo nghiên cứu của Nguyễn Thị Lâm Đoàn và Đặng Thảo Yến Linh (2018) khi sử dụng chất mang là cám gạo và nhiệt độ sấy 40^{0}C tạo chế phẩm probiotic từ *Lactobacillus* và *Pedioccoccus* tỷ lệ sống sót 45,57% và 43,29%, tương ứng. Như vậy, *B. subtilis* RGB7.1 có tỷ lệ sống sót cao hơn do chủng này có nhiệt độ nuôi cấy tối ưu 37^{0}C nên khi sấy ở 40^{0}C ít ảnh hưởng. Ngoài ra *B. subtilis* RGB7.1

có thể có khả năng sinh bào tử nên khi nâng cao nhiệt độ nuôi cấy hay môi trường dinh dưỡng bị cạn kiệt thì chủng vẫn giữ được một mức ổn định nhất định về mật độ tế bào, đây cũng là một trong những ưu thế lớn của các chủng *B. subtilis* trong ứng dụng sản xuất probiotic (Phương Thị Hương và Vũ Văn Hạnh, 2018). Theo nghiên cứu của Shah (2000) chế phẩm probiotic có tỷ lệ tế bào sống sót càng cao càng tốt và nên ≥ 30%, mật độ tế bào nên ≥ 10^6 CFU/g chế phẩm.

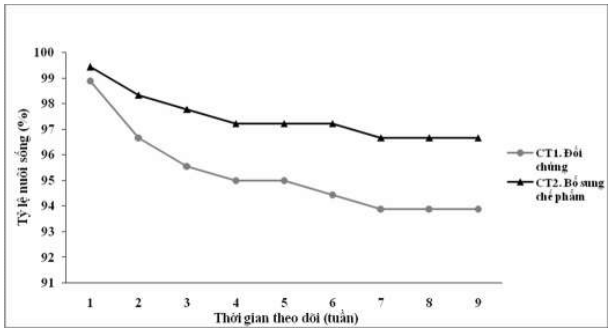
3.4. Bước đầu khảo sát ảnh hưởng của chế phẩm đến tỷ lệ nuôi sống và khối lượng của gà trong quá trình nuôi

Hiện nay bên cạnh những giống gà hướng thịt, các giống gà hướng trứng cũng ngày càng được quan tâm chú trọng đầu tư phát triển. Gà Ai Cập là một trong những giống gà sinh sản có chất lượng trứng tốt, thơm và ngon, tỷ lệ lòng đỏ đạt từ 31,5-32,0%, vỏ trứng màu trắng hồng phù hợp với thị hiếu người tiêu dùng (Trần Kim Nhàn và cs., 2010). Sự phát triển gà Ai Cập được chia thành 3 giai đoạn, giai đoạn 1 gà con (0 - 9 tuần tuổi) sẽ tập trung chăm sóc để gà đạt khối lượng yêu cầu. Ở giai đoạn này, gà được cho ăn tự do, không hạn chế về thời gian và thức ăn. Giai đoạn 2 là giai đoạn gà dò, gà hậu bị (10 - 21 tuần tuổi) liên quan chặt chẽ đến khả năng sinh sản. Giai đoạn 3 là giai đoạn sinh sản (Viện Chăn nuôi, Trung tâm Nghiên cứu Gia cầm Thụy Phương, 2002). Vì vậy, bước đầu nghiên cứu tiến hành thử nghiệm ảnh hưởng của chế phẩm probiotic *Bacillus subtilis* RGB7.1 đến tỷ lệ nuôi sống, khối lượng trung bình cơ thể gà Ai Cập trong giai đoạn 1 ngày tuổi đến 9 tuần tuổi.

3.4.1. Đánh giá tỷ lệ nuôi sống

Tỷ lệ nuôi sống là một chỉ tiêu quan trọng, phán ánh thể chất của đàn gà và khả năng thích nghi của chúng với điều kiện ngoại cảnh, khả năng chống đỡ bệnh. Ngoài ra, sức sống của gia cầm còn đặc trưng cho từng giống, từng dòng, từng cá thể (Trần Kim Nhàn và cs., 2010).

Tỷ lệ nuôi sống từ tuần 1 đến tuần 6 ở cả 2 công thức CT1 (không bổ sung chế phẩm) và CT2 (bổ sung chế phẩm) đều giảm đặc biệt trong những tuần đầu. Sau đó có xu hướng ổn định từ tuần 7 đến tuần 9 (Hình 2). Kết quả này tương tự như kết quả nghiên cứu của Lê Thị Thắm và cs. (2016) chỉ ra gà Đông Tảo từ tuần đầu đến tuần 6 tỷ lệ nuôi sống biến động nhiều hơn so với tuần 7 đến tuần 24. Ở giai đoạn tuần đầu sức đề kháng của gà còn yếu, đặc biệt rất nhạy cảm với điều kiện bên ngoài, do đó các bệnh hô hấp và tiêu hóa dễ phát sinh vì vậy ảnh hưởng rất lớn đến tỷ lệ nuôi sống (Viện Chăn nuôi, Trung tâm Nghiên cứu Gia cầm Thụy Phương, 2002). Kết thúc quá trình theo dõi 9 tuần, số lượng gà còn lại ở CT2 có bổ sung chế phẩm có tỷ lệ nuôi sống là 96,67%, cao hơn 2,78 % so với CT1 đối chứng (93,89%).



Hình 2. Tỷ lệ nuôi sống của gà Ai Cập từ 1 đến 9 tuần tuổi

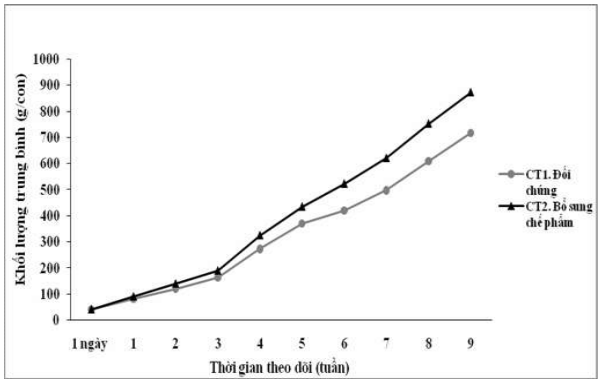
Như vậy, việc sử dụng chế phẩm đã làm giảm đáng kể lượng con giống chết đi. Điều này cho thấy có sự ảnh hưởng tích cực của chế phẩm probiotic *B. subtilis* RGB7.1 đến tỷ lệ nuôi sống của gà Ai Cập. Theo nghiên cứu của Trần Anh Tuyên và cs. (2019) khi nghiên cứu bổ sung chế phẩm probiotic ở nồng độ 0,3% chế phẩm vào thức ăn cho gà ri thấy tỷ lệ nuôi sống của công thức bổ sung chế phẩm cao hơn so với đối chứng là 3,33%. Sự khác nhau này một phần có thể do tỷ lệ nuôi sống ở mỗi giống gà khác nhau cũng sẽ khác nhau. Nguyễn Chí Thành và cs. (2009) cho biết tỷ lệ nuôi sống từ tuần 1 - 8 của gà Hồ là 90,79%; gà Đông Tảo 92,00% và gà Mía 76,37%.

3.4.2. Khối lượng trung bình của gà

Một trong những chỉ tiêu đánh giá chất lượng gà là khối lượng. Khối lượng gà ảnh hưởng trực tiếp đến giá thành và lợi nhuận trong chăn nuôi gà.

Kết quả được chỉ ra ở hình 3 cho thấy giai đoạn từ 1 ngày đến 3 tuần tuổi khối lượng trung bình của gà tăng chậm do gà ở giai đoạn này bộ máy tiêu hóa chưa hoàn thiện, men tiêu hóa chưa đầy đủ khả năng hấp thu thức ăn chưa tốt (Viện Chăn nuôi, Trung tâm Nghiên cứu Gia cầm Thụy Phương, 2002). Khối lượng gà bắt đầu thí nghiệm là gần tương đương nhau ở cả hai công thức CT1 (41,12 g) và CT2 (41,09 g) đến tuần thứ ba CT1 (163 g) còn CT2 (190 g). Giai đoạn từ 4 - 9 tuần tuổi, khối lượng trung bình của gà

tăng nhanh CT1 (273,2 g lên 718 g) CT2 (325,2 lên 873 g). Như vậy sau khi kết thúc thí nghiệm ở 9 tuần tuổi khối lượng gà khác nhau rõ rệt: gà ở CT2 có khối lượng cao hơn CT1 không bổ sung chế phẩm 155 g.



Hình 3. Khối lượng cơ thể gà Ai Cập từ 1 đến 9 tuần tuổi

Sở dĩ kết quả như vậy do ảnh hưởng của probiotic có vai trò rất lớn cải thiện hệ vi sinh vật có lợi trong đường ruột, làm cho quá trình trao đổi chất được diễn ra triệt để hơn, ức chế sự phát triển của vi sinh vật gây bệnh… Do vậy làm tăng hiệu quả sử dụng thức ăn ở gia cầm đồng thời tăng miễn dịch giảm chứng viêm ruột nâng cao hiệu quả kinh tế (Fumiaki và Norio, 1995). Trần Anh Tuyên và cs. (2019) khi nghiên cứu bổ sung chế phẩm probiotic ở nồng độ 0,3% chế phẩm vào thức ăn cho gà ri sau 16 tuần thấy trung bình khối lượng gà tăng hơn so với đối chứng là 304,91 g. Giống gà ri là nhóm gà nuôi lấy thịt và thường có khối lượng lớn hơn và tăng trưởng mạnh.

4. KẾT LUẬN

Chủng RGB7.1 có hoạt tính probiotic được phân lập từ ruột gà đã được xác định là *Bacillus subtilis*, thời gian lên men để thu sinh khối là 24 giờ. Với chất mang là cám gạo tỷ lệ sống sót của chủng sau sấy là 75,56%, mật độ *B. subtitilis* trong chế phẩm $3,03\times10^9$ CFU/g, độ ẩm 8,21%. Chế phẩm probiotic được bổ sung nồng độ 0,3% trong khẩu phần thức ăn của gà Ai Cập đã tăng tỷ lệ nuôi sống của gà Ai Cập từ 1 ngày tuổi đến tuần 9 lên 2,75% và khối lượng trung bình tăng 155 g so với công thức không bổ sung chế phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đặng Hoài An, Nguyễn Thị Phi Oanh và Nguyễn Đắc Khoa (2017). Tuyển chọn chất mang để tồn trữ vi khuẩn *Bacillus aerophilus* đối kháng với vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* gây bệnh cháy bìa lá lúa. Tạp chí Khoa học - Trường Đại học Cần Thơ 52: 8-15.

2. Nguyễn Lân Dũng, Đoàn Xuân Mượu, Nguyễn Phùng Tiến, Đặng Đức Thạnh và Phạm Văn Ty (1972). Một số phương pháp nghiên cứu vi sinh vật học. NXB Khoa học Kỹ thuật.

3. Phạm Kim Đăng, Nguyên Đình Trình, Nguyễn Hoàng Thịnh, Nguyễn Thị Phương Giang và Nguyễn Bá Tiếp (2016). Ảnh hưởng của probiotics *Bacillus* dạng bào tử chịu nhiệt đến năng suất, vi khuẩn và hình thái vi thể biểu mô đường ruột gà thịt lông màu. Tạp chí Khoa học Kỹ thuật chăn nuôi 213: 40-46.

4. Bùi Hữu Đoàn, Nguyễn Thị Mai, Nguyễn Thanh Sơn và Nguyễn Huy Đạt (2011). Các chỉ tiêu dùng trong nghiên cứu chăn nuôi gia cầm. NXB Nông nghiệp Hà Nội.

5. Nguyễn Thị Lâm Đoàn và Nguyễn Hoàng Anh (2018). *Bacillus* có tiềm năng probiotic từ ruột gà (2018). Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam 16 (7): 689 - 697.

6. Nguyễn Thị Lâm Đoàn, Đặng Thảo Yến Linh (2018). Các đặc điểm phân loại và tạo chế phẩm probiotic của vi khuẩn lactic phân lập từ ruột gà. Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam 8 (93): 67 - 74.

7. Phương Thị Hương và Vũ Văn Hạnh (2018). Lựa chọn điều kiện lên men cho sự sinh trưởng chủng *Bacillus subtilis* Bsvn15 ứng dụng sản xuất chế phẩm probiotic trong chăn nuôi. Tạp chí Công nghệ Sinh học 16 (1): 167 - 172.

8. Nguyễn Quang Huy và Trần Thúy Hằng (2012). Phân lập các chủng *Bacillus* có hoạt tính tạo màng sinh vật (biofilm) và tác dụng kháng khuẩn của chúng. Tạp chí Sinh học 34(1): 99 - 106.

9. Nguyễn Thị Huyền, Nguyễn Thị Thu Hường, Trịnh Thị Thùy Linh, Nhữ Thị Hà, Trịnh Thị Hảo, Nguyễn Thành Linh và Đặng Xuân Nghiêm (2014). Khảo sát thành phần vi sinh và các đặc tính probiotic của các sản phẩm men tiêu hóa trên thị trường. Tạp chí Khoa học và Phát triển, 12 (1): 65 - 72.

10. Phạm Thị Thanh Huyền (2017). Nghiên cứu sản xuất chế phẩm sinh học có hoạt tính probiotic từ phụ phẩm trong sản xuất bia làm thức ăn bổ sung

trong chăn nuôi gà thịt tại tỉnh Phú Thọ. Báo cáo kết quả đề tài nghiên cứu khoa học tại tỉnh Phú Thọ.

11. Đào Huyên (2002). Vấn đề sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi. Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Chăn nuôi 6: 23 - 27.

12. Lã Văn Kính (2005). An toàn thức ăn gia súc để an toàn thực phẩm. Đặc san Khoa học Kỹ thuật thức ăn chăn nuôi 1(6): 6-9.

13. Dương Thanh Liêm (2007). Cảnh báo việc sử dụng kháng sinh và hợp chất kích thích trong thức ăn chăn nuôi. Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Chăn nuôi 2: 35 - 36.

14. Dương Thanh Liêm (2008). Thức ăn dinh dưỡng gia cầm. Nhà xuất bản Nông nghiệp 5 - 20

15. Trần Kim Nhàn, Phạm Công Thiếu, Vũ Ngọc Sơn, Hoàng Văn Tiệu, Diêm Công Tuyên, Nguyễn Thị Thuý và Nguyễn Thị Hồng (2010). Năng suất và chất lượng trứng của gà lai giữa gà VCN-G15 với gà Ai Cập. Tạp chí Khoa học Công nghệ Chăn nuôi 26: 27 - 34

16. Võ Hồng Phượng, Võ Thị Hậu, Nguyễn Thái Hồng Ngọc, Lê Hồng Phước, Nguyễn Hoàng Tuấn, Nguyễn Hồng Lộc và Lê Thị Bích Thủy (2018). Khảo sát đặc tính đối kháng của *Bacillus licheniformis* (B1) đối với *Vibrio parahaemolyticus* gây bệnh teo gan tụy cấp tính trên tôm (AHPND) trong điều kiện thí nghiệm. Tạp chí Khoa học - Trường Đại học Cần Thơ 54(2): 91 -100.

17. Nguyễn Chí Thành, Lê Thị Thuý, Đặng Vũ Bình và Trần Thị Kim Anh (2009). Đặc điểm sinh học, khả năng sản xuất của 3 giống gà địa phương: gà Hồ, gà Đông Tảo và gà Mía. Tạp chí KHKT Chăn nuôi 4(22): 2 - 9.

18. Lê Thị Thắm, Ngô Xuân Thái, Vũ Văn Thắng, Đào Thị Hiệp, Đoàn Văn Soạn, Vũ Đình Tôn và Đặng Vũ Bình (2016). Khả năng sinh trưởng, năng suất và chất lượng thịt của gà Đông Tảo. Tạp chí KH Nông nghiệp Việt Nam 14(11): 1716 – 1725.

19. Nguyễn Thế Trang, Nguyễn Thị Đà và Trần Đình Mấn (2012). Nghiên cứu tuyển chọn vi khuẩn ưa nhiệt sinh α-amylaza bền nhiệt phân lập ở Việt Nam. Tạp chí Khoa học và Công nghệ 50: 219 – 229.

20. Hoàng Văn Tuấn, Phạm Hương Sơn, Nguyễn Thị Hiền, Nguyễn Thị Lài (2013). Nghiên cứu ảnh hưởng của dịch chiết cám gạo đến hoạt tính của vi khuẩn probiotics. Tạp chí Sinh học 35 (3): 195-199.

21. Trần Anh Tuyên, Nguyễn Thị Quyên, Nguyễn Xuân Việt và Hoàng Thị Phương Thúy (2019). Sử dụng chế phẩm probiotics bổ sung trong thức ăn chăn nuôi gà thịt. Tạp chí Khoa học và Công nghệ -Trường Đại học Hùng Vương 16(3): 3–9

22. Viện Chăn nuôi, Trung tâm Nghiên cứu Gia cầm Thụy Phương (2002). Hướng dẫn kỹ thuật nuôi gà gia cầm. Nhà xuất bản Nông nghiệp.

23. Abdelqader A., Irshaid R., and Al - Fataftah A (2013). Effects of dietary probiotic inclusion on performance, eggshell quality, cecal microflora composition and tibia traits of laying hens in the late phase of production. Tropical Animal Health and Production 45(4): 1017 – 1024.

24. Bajagai Y., Klieve A., Dart P., and Bryden W (2016). Probiotics in animal nutrition. Production, impact and regulation. H. Makkar. Rome. FAO Animal Production and Health Paper: 179.

25. Barbosa T. M., Cláudia R. S., Roberto, M., La R., Martin, J. W., and Adriano O. H (2005). Screening for *Bacillus* isolates in the broiler gastrointestinal tract. Applied and Enviromental Microbiology 71(2): 968 – 978.

26. Fumiaki A., and Norio I (1995). Effects of administration of Bifidobacteria and lactic acid bacteria to newborn calves and piglets. Journal Dairy Science 78:2838 – 2846.

27. John G. H., Noel R. K., Peter H. A. S., James T. S., and Stanley T. W (1986). Bergey's manual of Systematic Bacteriology. 9th Edition.

28. Khaksar V., Golian A., and Kermanshahi H (2012). Immune response and ileal microflora in broilers fed wheat-based diet with or without enzyme Endofeed W and supplementation of thyme essential oil or probiotic PrimaLac. African Journal of Biotechnology 11(81): 14716 -14723.

29. Mugg P., Seymour S., and Clark S (2013). A new method for identification of *Bacillus* spp. and related specied involved in food poisoning and spoilage. Microgen Bioproducts Ltd, Camberley, Surrey, UK.

30. Nguyen T and Nguyen T (2014). Optimization of the fermentation medium to receive the highest biomass yield by *Bacillus subtilis* Natto and the initial test of nattokinase Yield. IOSR Journal of Engineering 4(12): 35 - 40.

31. Vidhyasekaran, P., and Muthamilan M (1995). Development of formulation of *Pseudomonas fluorescens* for control of chickpea wilt. Plant disease. 79(8): 782-786.

PREPARATION PROBIOTIC *Bacillus* sp. RGB7.1 AND THE EFFECTS OF THE PREPARATION ON CHICKEN LIVING RATIO AND WEIGHT

Nguyen Thi Lam Doan, Ho Thi Thom

Summary

Some *Bacillus* species are widely used in probiotic production. They are able to tolerate stomach acidic pH conditions, produce enzymes that aid in digesting food, and inhibit pathogenic bacteria. *Bacillus* probiotic inoculants contribute to reducing the use of antibiotics in livestock. Bacterial strain RGB7.1 was isolated from gut chickens and has been identified with a number of probiotic characteristics This research identified taxonomic characteristics of RGB7.1 strain, determined the fermentation time, made probiotic inoculants from this strain, and initially tested to evaluate the effect of the inoculant on survival rate and average weight of Ai Cap chickens from 1 day to 9 weeks old. By morphological characteristics of colonies, cells associated with API 50 CHB kit have identified strain RGB7.1 belong to *Bacillus subtilis*. Fermentation time is 24 hours. With rice bran carrier and dried at temperature 40°C, the survival rate of the strain after drying was 75.56%, cell density in the product 3.03×10^9 CFU/g, humidity 8.21%. The probiotic inoculants was supplemented with 0.3% concentration in Ai Cap chicken diets. The data have showed that the survival rate of chickens from 1 day to 9 weeks old have increased 2.75% and average weight increased 155 g compared to the formula does not include inoculants.

Keywords: *Bacillus, chicken, probiotic, survival rate, body weight.*

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Văn Đức
Ngày nhận bài: 5/3/2021
Ngày thông qua phản biện: 5/4/2021
Ngày duyệt đăng: 12/4/2021