

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA VIỆC BỔ SUNG ASTAXANTHIN VÀ β - GLUCAN ĐƯỢC CHIẾT XUẤT TỪ SINH KHỐI NẤM MEN *RHODOSPRIDIUM SP.* VÀO THỨC ĂN CHO CÁ ĐĨA ĐỎ *SYMPHYSODON SP.*

EVALUATE THE EFFECT OF SUPPLEMENTATION ASTAXANTHIN AND β - GLUCAN EXTRACTED FROM YEAST BIOMASS *RHODOSPRIDIUM SP.* ON THE FOOD FOR *SYMPHYSODON SP.*

Trần Quang Vinh^{1,2}, Nguyễn Thị Kim Liên³, Ngô Đại Nghiệp⁴

¹Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn Lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Viện Sinh học nhiệt đới, Viện Hàn Lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Nông nghiệp Công nghệ cao TP.HCM

⁴Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc Gia TP. HCM

Tác giả liên hệ: Nguyễn Thị Kim Liên (Email: lienkimnguyen85@gmail.com)

Ngày nhận bài: 12/06/2019; Ngày phản biện thông qua: 28/09/2019; Ngày duyệt đăng: 29/09/2020

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của astaxanthin và β - glucan được chiết xuất từ sinh khối nấm men *Rhodospiridium sp.* vào thức ăn cho cá đĩa đỏ *Symphysodon sp.* Nghiên cứu gồm hai nội dung: nội dung 1 khảo sát ảnh hưởng của việc bổ sung astaxanthin vào thức ăn lên tăng cường màu sắc ở cá đĩa đỏ *Symphysodon sp.* được thực hiện trên cá có kích thước 6cm. Thí nghiệm gồm có ba nghiệm thức: (1) thức ăn được bổ sung astaxanthin từ chiết xuất với lượng 90 mg/kg thức ăn; (2): thức ăn được bổ sung astaxanthin bán trên thị trường với lượng 90 mg/kg thức ăn và nghiệm thức đối chứng: thức ăn không được bổ sung astaxanthin. Sau 90 ngày thí nghiệm kết quả ghi nhận, cá ở nghiệm thức 2 có màu sắc đậm nhất, kế đến là nghiệm thức 1 và thấp nhất là nghiệm thức đối chứng. Mặc dù cá đĩa ở nghiệm thức 1 có màu sắc nhạt hơn nhưng cá đĩa ở nghiệm thức 1 có thể lưu giữ màu được lâu hơn sau khi dùng cho ăn thức ăn có bổ sung sắc tố so với cá đĩa ở nghiệm thức 2. Như vậy, astaxanthin được chiết xuất từ sinh khối nấm men đã có tác dụng nâng cao màu sắc trên cá đĩa đỏ. Nội dung 2 khảo sát ảnh hưởng của việc bổ sung β - glucan vào thức ăn lên tăng cường sức đề kháng ở cá đĩa đỏ *Symphysodon sp.* được thực hiện trên cá có kích thước 6cm. Thí nghiệm tiến hành gồm 1 nghiệm thức đối chứng (thức ăn không bổ sung β -glucan) và 3 nghiệm thức bổ sung β -glucan vào thức ăn trong thời gian 30 ngày với liều lượng bổ sung là 0,1%, 0,5% và 1%. Sau 30 ngày thí nghiệm kết quả ghi nhận: Ở nghiệm thức cho ăn nồng độ 1% có khả năng kích thích miễn dịch cho cá đĩa thông qua hàm lượng tế bào bạch cầu trên 3500 tế bào trên ul. Ngoài ra cũng cho thấy β -glucan có khả năng kích thích tăng sức đề kháng hơn là trị bệnh.

Từ khóa: astaxanthin, cá đĩa, sinh khối nấm men *Rhodospiridium sp.*, β -glucan

ABSTRACT

The study was aimed to evaluate the effects of astaxanthin and β -glucan extracted from yeast biomass *Rhodospiridium sp.* as the food supplement for Red Discus *Symphysodon sp.* The first experiment examined the effect of astaxanthin supplement in food to enhance the color of Red Discus fish from (around) 6cm in size. The experiment had three treatments: (1) Food supplemented with extracted astaxanthin 90 mg/kg; (2) Food supplemented with astaxanthin from the market with 90 mg/kg dose; (3) Normal food without astaxanthin. After 90 days of the experiment, the result showed that Red Discus in treatment 2 had the darkest color, followed by treatment 1 and the lowest was the control. Although fish in treatment 1 had lighter color than fish from different treatments, the color retained long after the feeding with pigmented food had been stopped in comparison with Red Discus in treatment 2. Moreover, astaxanthin extracted from yeast biomass had the effect on improving the color of Red Discus. The second part of the experiment included investigating the effect

of the supplement of β -glucan on feed to enhance the immunity in Red Discus *Symphysodon* sp. with the size around 6cm per individual. The experiment consisted of 3 treatments with β -glucan supplemented in the food for 30 days with doses of 0.1%, 0, 5% and 1%, respectively with the control was the food without β -glucan. After 30 days, the results illustrated that the feeding diet with 1% β -glucan supplement was able to stimulate the immune system of Red Discus through the white blood cell concentration more than 3500 cell/ul. Besides, β -glucan could improve the immune system of the fish rather than cures the diseases.

Key words: astaxanthin, red discus, yeast biomass *Rhodospiridium* sp, β -glucan.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá cảnh đã và đang tạo ra những giá trị kinh tế rất lớn đối với Thành phố Hồ Chí Minh, không chỉ góp phần cho kim ngạch xuất khẩu thủy sản nói chung mà còn phục vụ cho nhu cầu giải trí ngày càng cao của người dân đang sinh sống tại Thành phố [6]. Màu sắc của các loài cá cảnh được quyết định bởi các tế bào sắc tố nằm ngay trên bề mặt da. Trong đó, các tế bào sắc tố đỏ và vàng hầu hết bị ảnh hưởng bởi chế độ dinh dưỡng. Do vậy, cá sống ngoài tự nhiên với nhiều nguồn thức ăn khác nhau nên cá thường có màu sắc rực rỡ, thu hút người xem. Tuy nhiên trong quá trình nuôi nhân tạo thì màu sắc của cá sẽ nhạt dần do vậy để cải thiện và duy trì cho cá có màu sắc đẹp giống như cá ngoài tự nhiên thì việc bổ sung sắc tố vào trong thức ăn cho cá là điều cần thiết. Hiện nay, sắc tố được sử dụng phổ biến trong nuôi cá cảnh là astaxanthin. Trong các nhóm cá cảnh đó thì cá đĩa là loài thường được sử dụng astaxanthin bổ sung vào trong thức ăn để cải thiện màu sắc cá. Đây là đối tượng chủ lực trong định hướng phát triển cá cảnh của Tp và đây cũng là loài có giá trị xuất khẩu trên thị trường cá cảnh. Astaxanthin là dẫn xuất của β -carotenoid, có giá trị dinh dưỡng cao được sử dụng phổ biến trong nuôi trồng thủy sản (bổ sung màu sắc trong cá cảnh, cơ thịt cá hồi), công nghiệp thực phẩm (chất tạo màu tự nhiên), dược phẩm (chất chống oxy hóa, tăng cường miễn dịch và chống ung thư) và thực phẩm chức năng. Astaxanthin có thể được tổng hợp từ con đường hóa học, từ một số loài vi sinh vật như nấm, vi khuẩn, vi tảo. Trong đó, sinh khối nấm men *Rhodospiridium* sp. là nguồn rất có tiềm năng trong sản xuất astaxanthin cần được nghiên cứu nhằm mục tiêu nâng cao khả năng tích lũy astaxanthin và chiết xuất astaxanthin

đạt hiệu suất cao, ứng dụng trong nuôi trồng thủy sản cụ thể trong nghiên cứu này là chiết xuất astaxanthin để bổ sung vào thức ăn cho cá đĩa đỏ. Ngoài nguồn thức ăn chứa astaxanthin cho cá cảnh để kích thích tăng màu sắc thì thức ăn cho cá cũng cần chứa thêm một số hợp chất nhằm tăng cường sức đề kháng, phòng ngừa dịch bệnh, kích thích hệ miễn dịch của cá và có thể thay thế kháng sinh trong đó có β -glucan. β -glucan được chiết xuất từ sinh khối nấm men *Rhodospiridium* sp, nên đây là sản phẩm không có yếu tố gây độc hại cho vật nuôi, thân thiện với môi trường đồng thời có tác dụng phòng bệnh trên đối tượng nuôi. Astaxanthin và β -glucan là hai hợp chất có khả năng đáp ứng yêu cầu vừa tăng màu sắc vừa tăng sức đề kháng này nhưng hiện tại chưa có sản phẩm nào kết hợp hiệu quả cả hai thành phần để bổ sung vào thức ăn cho cá đĩa đỏ. Dựa vào kết quả nghiên cứu của Ngô Đại Nghiệp năm 2017 đã nghiên cứu chiết xuất được astaxanthin và β -glucan từ sinh khối nấm men [2] nên chúng tôi đã sử dụng sản phẩm này để thực hiện “Nghiên cứu ảnh hưởng của việc bổ sung astaxanthin và β -glucan được chiết xuất từ sinh khối nấm men *Rhodospiridium* sp vào thức ăn cho cá đĩa đỏ *Symphysodon* Sp.”

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Thời gian và địa điểm

Thời gian thực hiện: Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 3 đến tháng 12 năm 2017, tại Trung Tâm Nghiên Cứu và Phát Triển Nông Nghiệp Công Nghệ Cao.

2. Khảo sát ảnh hưởng của việc bổ sung astaxanthin vào thức ăn lên tăng cường màu sắc ở cá đĩa đỏ *Symphysodon* sp.

Cá đĩa đỏ *Symphysodon* sp. thí nghiệm

được nuôi dưỡng trong bể sau đó chọn những cá cùng kích thước để bố trí thí nghiệm, cá có kích thước 6 cm (cá 3 tháng tuổi), khỏe mạnh và không dị tật. Cá được nuôi trong bể kính kích thước $1,2 \times 0,6 \times 0,6$ m. Thí nghiệm được bố trí theo phương pháp hoàn toàn ngẫu nhiên 1 yếu tố, gồm 3 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức nhắc lại 3 lần, mỗi lần lặp lại bố trí 1 bể kính có 30 con cá đĩa đỏ. Nghiệm thức 1: thức ăn được bổ sung astaxanthin từ chiết xuất với lượng 90 mg/kg thức ăn. Nghiệm thức 2: thức ăn được bổ sung astaxanthin bán trên thị trường với lượng 90 mg/kg thức ăn. Nghiệm thức đối chứng: thức ăn không được bổ sung astaxanthin. Astaxanthin sử dụng trong thí nghiệm từ 2 nguồn: astaxanthin được chiết xuất từ sinh khối nấm men *Rhodospiridium* sp có hàm lượng astaxanthin là 2309,17 μ g/l dịch nuôi cấy [2] và sản phẩm trên thị trường có tên thương mại là Carophyll Pink® 10%. Quá trình thí nghiệm được tiến hành với các thông số điều kiện chất lượng nước phù hợp cho nuôi cá đĩa pH = 6,5, nhiệt độ 28 – 30°C, độ cứng nước 8 – 10°dH.

Hàm lượng astaxanthin được bổ sung vào thức ăn như sau: Tim bò được xay nhuyễn, bổ sung thêm các sắc tố bằng cách hòa tan sắc tố vào nước ấm (60°C) sau đó trộn đều hỗn hợp cho tới khi hỗn hợp có màu đỏ cam, ép tim bò thành những miếng mỏng, giữ ở nhiệt độ từ (- 5°C – 0°C) cho cá ăn dần. Trong thời gian thí nghiệm cá được cho ăn 2 lần/ngày với thức ăn có trộn astaxanthin. Lượng thức ăn được kiểm tra và điều chỉnh theo nhu cầu. Thức ăn với nghiệm thức đối chứng bao gồm (tim bò + vitamin tổng hợp). Thời gian thí nghiệm là 90 ngày. Trước khi bắt đầu thí nghiệm, thu mẫu 30 cá/nghiệm thức để đánh giá chỉ số màu sắc. Trong thời gian thí nghiệm cá được đánh giá chỉ số màu sắc 2 tuần/lần. Kết thúc thí nghiệm, so sánh các kết quả thu được từ các nghiệm thức để xác định liều bổ sung hiệu quả nhất của astaxanthin vào thức ăn cho cá đĩa.

Chỉ tiêu theo dõi: Chỉ số màu sắc: 2 tuần / lần, được đánh giá lần đầu tiên trước khi nuôi và sau đó là 2 tuần/lần bằng đánh giá cảm quan dựa vào thang điểm của quạt so màu sắc cho cơ thịt cá hồi.

3. Khảo sát ảnh hưởng của việc bổ sung β -glucan vào thức ăn lên tăng cường sức đề kháng ở cá đĩa đỏ *Symphysodon* sp.

Cá đĩa đỏ *Symphysodon* sp. thí nghiệm được nuôi dưỡng trong bể sau đó chọn những cá cùng kích thước để bố trí thí nghiệm, cá có kích thước 6 cm (cá 3 tháng tuổi), khỏe mạnh và không dị tật. Nhằm đánh giá ảnh hưởng của β -glucan trên cá đĩa, thí nghiệm được bố trí theo phương pháp cho ăn. Cá được bố trí trong bể kính mật độ 30 con/bể kích thước $1,2 \times 0,6 \times 0,6$ m. Quá trình thí nghiệm được tiến hành với các thông số điều kiện chất lượng nước thích hợp, pH = 6,5, DO = 5 – 6 mg/l, nhiệt độ 28 – 30°C, độ cứng nước 3 – 5°dH. Trước khi thử nghiệm β -glucan, cho cá đĩa ăn thức ăn trộn với β -glucan (với liều lượng cao nhất là 1%) nhằm thực hiện thí nghiệm an toàn, xác định β -glucan không ảnh hưởng đến cá. Thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của β -glucan lên số lượng bạch cầu của cá đĩa được tiến hành gồm 1 nghiệm thức đối chứng (thức ăn không bổ sung β -glucan) và 3 nghiệm thức bổ sung β -glucan vào thức ăn trong thời gian 30 ngày với liều lượng bổ sung là 0,1%, 0,5% và 1%. β -glucan sử dụng trong thí nghiệm được chiết xuất từ sinh khối nấm men *Rhodospiridium* sp. có hàm lượng β -glucan là 64,87 %. được xác định bằng kit định lượng β -glucan và xử lý số liệu bằng Megazyme Mega-Calc™ được tải từ Megazyme website (www.megazyme.com) [2]. Trong thời gian thí nghiệm cá được cho ăn 2 lần/ngày với thức ăn có trộn β -glucan. Sau 30 ngày cho ăn, ở mỗi nồng độ cá được chọn ngẫu nhiên để đếm số lượng bạch cầu trong máu ở các nghiệm thực được so sánh để đánh giá mức độ tăng cường miễn dịch.

Phương pháp đếm bạch cầu: Máu cá được lấy từ mang cá sau đó pha loãng 20 lần bằng dung dịch đếm bạch cầu Lazarus gồm có acid acetic, xanh methylene và nước cất. Dung dịch Lazarus có tác dụng làm tan hồng cầu nên dễ xem hơn trên kính hiển vi. Sau khi pha loãng, lắc dung dịch để làm vỡ hồng huyết cầu. Buồng đếm được lau sạch và châm nước buồng đếm chờ 3 phút để bạch cầu lắng xuống và đếm bằng buồng đếm Neubauer.

Số lượng bạch cầu = $(10/4 \times 20) \times n = 50 \times n$

Trong đó: 10 là chiều cao của buồng đếm; 4 là diện tích của 25 khu vực đếm; n là tổng số bạch cầu đếm được trong 4 khu vực

Sau 30 ngày cho cá ăn thức ăn có bổ sung β -glucan, vi khuẩn *Aeromonas hydrophila* nồng độ 10^5 cfu/ml được cảm nhiễm vào cá. Phương pháp gây cảm nhiễm: *Aeromonas hydrophila* được dùng để gây cảm nhiễm bằng cách tiêm vào bụng cá 0,1 ml vi khuẩn ở nồng độ 10^5 cfu/ml (dựa vào luận cứ Yang và cộng sự năm 2014 khi nghiên cứu ảnh hưởng của β -glucan lên hệ miễn dịch của tôm khi cho tôm ăn thức ăn có chứa 0,1% trong vòng 28 ngày, tổng số tế bào trong máu tăng lên so với mẫu đối chứng [10]). Cá đối chứng được tiêm bằng nước muối sinh lý (do vi khuẩn được hòa vào nước muối sinh lý để tiêm cho cá nên ở nghiệm thức đối chứng tiêm nước muối sinh lý để để chứng minh nước muối sinh lý không tác động đến quá trình gây bệnh). Sau khi cảm nhiễm, 2 nghiệm thức được thực hiện gồm NT1: cá tiếp tục được cho ăn thức ăn có bổ sung β -glucan và NT2: cá được cho ăn thức ăn bình thường không có bổ sung β -glucan. Tỷ lệ cá sống được theo dõi trong thời gian từ 7 – 10 ngày thì kết thúc thí nghiệm. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần.

Chỉ tiêu theo dõi: Số lượng bạch cầu và tỷ lệ sống cá thí nghiệm.

Tất cả các số liệu thu thập được sau thí nghiệm được tính toán bằng chương trình Excel và xử lý thống kê theo phương pháp phân tích phương sai ANOVA bằng phần mềm thống kê Minitab 16, sự khác biệt giữa các chỉ tiêu trong thí nghiệm giữa các nghiệm thức được so sánh bằng trắc nghiệm Tukey với mức ý nghĩa 95%.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

1. Khảo sát ảnh hưởng của việc bổ sung astaxanthin vào thức ăn lên tăng cường màu sắc ở cá đĩa đỏ *Symphysodon* sp.

Kết quả ảnh hưởng astaxanthin lên màu sắc của cá đĩa được đánh giá thông qua điểm số màu sắc thể hiện ở Bảng 1. Sau ba tháng thí nghiệm, kết quả cho thấy màu sắc của cá đĩa đỏ ở các nghiệm thức khác biệt có ý nghĩa thống

kê. Dựa vào kết quả về điểm số màu sắc trung bình và phân tích thống kê ANOVA một yếu tố của Bảng 1 thì cá đĩa có màu sắc đậm nhất ở nghiệm thức 2 (astaxanthin trên thị trường) với số điểm trung bình là 28,25; kế đến là nghiệm thức 1 (astaxanthin được chiết xuất từ sinh khối nấm men); nghiệm thức đối chứng không sử dụng astaxanthin cho kết quả màu sắc trên da cá đĩa nhạt nhất với 20,48 điểm. Điều này có thể do sản phẩm chiết xuất từ sinh khối nấm men có nguồn gốc tự nhiên nên tác dụng lên màu cho cá đĩa diễn ra chậm hơn theo một cơ chế tác động nhiều giai đoạn, còn sản phẩm astaxanthin trên thị trường được tổng hợp bằng con đường hóa học nên có tác động nhanh hơn. Theo đánh giá cảm quan từ nhóm nghiên cứu, cá đĩa khi được cho ăn thức ăn là tim bò chế biến có bổ sung astaxanthin chiết xuất từ sinh khối nấm men có thể lưu giữ màu được lâu hơn sau khi dừng cho ăn thức ăn có bổ sung sắc tố so với cá đĩa được cho ăn thức ăn bổ sung astaxanthin từ thị trường. Như vậy, astaxanthin được chiết xuất từ sinh khối nấm men có tác dụng cải thiện màu sắc trên cá đĩa đỏ.

Bảng 1. Điểm số màu sắc của cá đĩa đỏ ở các nghiệm thức

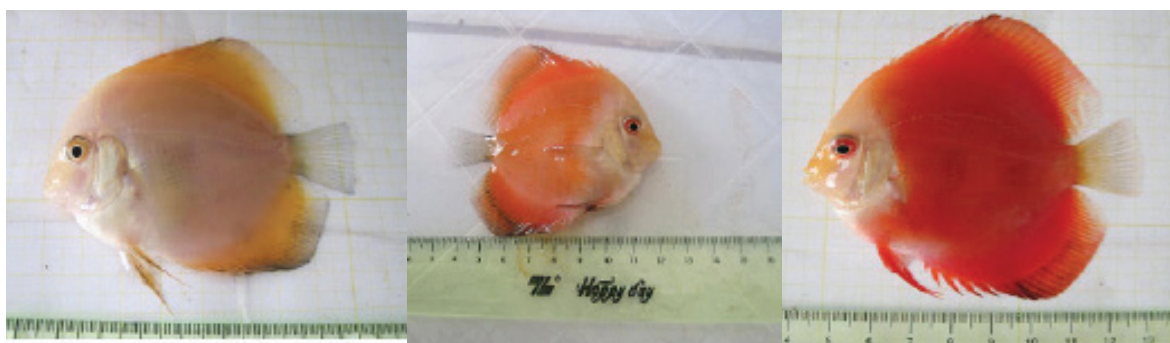
Nghiệm thức	Điểm số
ĐC	20,48 ^c ± 0,10
NT1	26,23 ^b ± 0,20
NT2	28,25 ^a ± 0,21

Ghi chú: Điểm số của mỗi lần lặp là trung bình cộng của 3 người tham gia đánh giá dựa vào bảng điểm của quạt số màu ± độ lệch chuẩn. Các chữ cái trên cùng một cột khác nhau là sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$).

Mặc dù dựa vào kết quả đánh giá cảm quan của nhóm nghiên cứu về sự lưu giữ màu sắc trên cá đĩa thí nghiệm nhưng kết quả cũng cho thấy astaxanthin có nguồn gốc tự nhiên có một ảnh hưởng nhất định và hiệu quả đến màu sắc của cá đĩa đỏ. Điều này đã được Eaton và cộng sự năm 2016 kiểm chứng khi tiến hành thí nghiệm về ảnh hưởng của astaxanthin tổng hợp và astaxanthin tự nhiên lên cá Anh Đào *Puntius titteya*. Thí nghiệm thực hiện trong 12 tuần với hai liều astaxanthin mỗi loại, 20 và 40 mg/kg, được bổ sung vào thức ăn. Astaxanthin tự nhiên được sản xuất bằng phương pháp lên men vi khuẩn *Paracoccus carotinifaciens*.

Khẩu phần ăn có chứa 20 mg/kg astaxanthin tự nhiên hay tổng hợp làm tăng màu đỏ của vây hậu môn và phân lưng phía trước cá đực. Trong khi đó, thức ăn đối chứng lại làm giảm màu đỏ trên cá Anh Đào. Đặc biệt, kết quả nghiên cứu cho thấy chỉ có liều 20 mg/kg astaxanthin tự nhiên làm thay đổi màu sắc trên cá cái [4]. Cá cũng như các loài động vật khác không thể tổng hợp mới carotenoid [5]. Màu sắc của chúng chủ yếu dựa vào carotenoid từ thức ăn [8]. Các loài thủy sản nuôi áp dụng bổ sung sắc tố trong thức ăn như: Các loài cá biển: họ cá hồi biển (Salmonid), cá hồi vân, cá vược đỏ; Cá nước ngọt: họ cá chép, cá rô phi, cá vàng; Giáp xác: tôm biển và tôm nước ngọt. Tương tự, Lovatelli và ctv năm 2009 cũng báo cáo rằng astaxanthin là sắc tố đã được sử dụng từ lâu để sản xuất thức ăn cho các ngành công nghiệp nuôi cá hồi [7]. Sự hấp thụ 2 loại sắc tố astaxanthin và canthaxanthin phụ thuộc vào loài [3]. Carotenoid trong khẩu phần thức ăn cung cấp có thể cải tiến và gia tăng màu sắc của da như ở cá cảnh. Điều này đặc biệt có ý nghĩa quan trọng với các loài cá cảnh. Sắc tố của cá vàng và cá koi được cải tiến bởi việc bổ sung carotenoid và những loài cá này có khả năng chuyên hóa zeaxanthin thành astaxanthin. Tuy nhiên, cá vàng thiếu khả năng chuyển hóa lutein và giới hạn khả năng chuyển đổi β -carotene thành astaxanthin. Tippawan Paripatananont và ctv năm 1999, đã thực hiện thí nghiệm để xác định liều tối ưu của astaxanthin đối với cá vàng (*Carassius auratus*). Cá vàng được cho ăn các khẩu phần có chứa 0, 25, 50, 75 và 100 mg astaxanthin/kg trong 4 tuần. Sự hình thành sắc tố trên da cá được đo bằng cách đánh giá

cảm quan và đếm các tế bào sắc tố được sinh ra trong tế bào hạ bì của da cá. Cả hai cách đều cho thấy 36 – 37 mg/kg astaxanthin là liều tối ưu để kích thích màu sắc ở cá. Tiếp tục quan sát cá trong 4 tuần sau thí nghiệm cho thấy cá được kích thích bởi chế độ ăn astaxanthin có màu sắc ổn định. Vì vậy, cho ăn thức ăn có bổ sung astaxanthin có thể là một cách thích hợp đối với những nhà sản xuất cá vàng để kích thích màu sắc ở cá trường thành được nuôi trong môi trường không có tảo. Bên cạnh đó, tỷ lệ sống của cá được cải thiện đáng kể khi trong khẩu phần thức ăn có bổ sung sắc tố astaxanthin so với nghiệm thức đối chứng. Tuy nhiên tác dụng của astaxanthin đối với tăng trọng của cá thì không đáng kể [9]. Một nghiên cứu của Trịnh Thị Lan Chi năm 2010 về thử nghiệm bổ sung sắc tố astaxanthin và canthaxanthin vào thức ăn cho cá chép Nhật (cá chép Koi – *Cyprinus carpio*) nhằm duy trì màu sắc cá cho thấy: Với hàm lượng bổ sung > 25 mg/kg thức ăn, astaxanthin có tác dụng tích cực trong việc cải thiện màu sắc ở cá chép Nhật, trong đó hàm lượng hiệu quả nhất là $78,22 \pm 5,84$ mg/kg thức ăn. Định kỳ 3 tháng / lần cho cá ăn thức ăn có bổ sung astaxanthin với hàm lượng $78,22 \pm 5,84$ mg/kg liên tục trong 2 tháng sau đó ngưng 1 tháng rồi lại tiếp tục lặp lại chu kỳ trên. Hoặc cho cá ăn thức ăn có bổ sung astaxanthin với hàm lượng 80 mg/kg trong 2 tháng, sau đó giảm còn $51,5 \pm 13,86$ mg/kg thức ăn để duy trì màu sắc của cá. Tương tự như astaxanthin, với hàm lượng bổ sung > 25 mg/kg, canthaxanthin có tác dụng cải thiện màu sắc của cá chép Nhật và hàm lượng hiệu quả nhất là $137,97 \pm 7,20$ mg/kg [1].



Hình 1. Màu sắc của cá đĩa khi cho ăn thức ăn có astaxanthin ở các nghiệm thức.

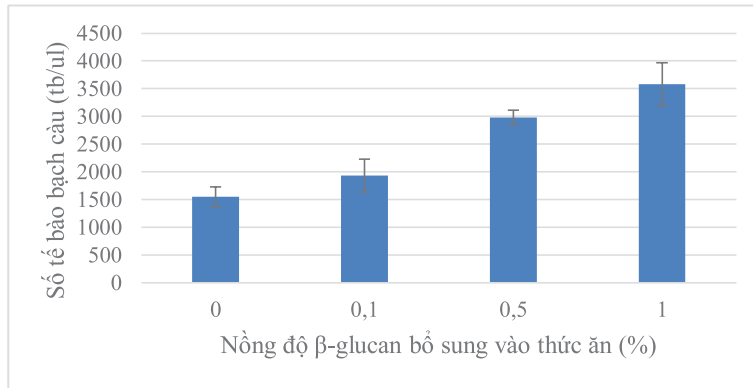
2. Khảo sát ảnh hưởng của việc bổ sung β -glucan vào thức ăn lên tăng cường sức đề kháng ở cá đĩa đồ

2.1 Kết quả ảnh hưởng β -glucan đến số lượng bạch cầu của cá đĩa

Sau 30 ngày cho cá ăn thức ăn có bổ sung β -glucan với các nồng độ khác nhau 0,1%,

0,5% và 1 %, mang cá ở nghiệm thức cho ăn ở nồng độ 1% và 0,5% có màu đỏ tươi và lượng máu nhiều hơn so với nghiệm thức đối chứng do bên trong sợi mang chứa nhiều tế bào hồng cầu hơn.

Theo kết quả đếm lượng bạch cầu trong Hình 2, lượng bạch cầu ở nghiệm thức cho ăn



Hình 2. Tổng số tế bào bạch cầu sau khi bổ sung β -glucan.

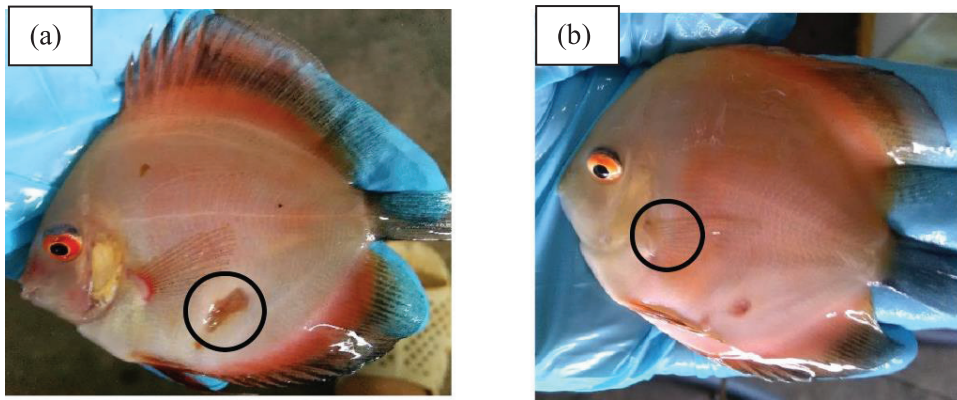
thức ăn có bổ sung 1% β -glucan là cao nhất $3,58 \pm 0,39 \times 10^3$ tb/ul, cao hơn nhiều so với nghiệm thức đối chứng là $1,55 \pm 0,18 \times 10^3$ tb/ul. Ở nghiệm thức bổ sung 0,5% β -glucan số lượng bạch cầu tăng $2,98 \pm 1,26 \times 10^3$ tb/ul và ở nghiệm thức 0,1% β -glucan số lượng bạch cầu là $1,93 \pm 0,29 \times 10^3$ tb/ul, tăng không đáng kể so với nghiệm thức đối chứng. Đồng thời, qua kết quả đếm lượng bạch cầu cũng cho thấy tổng số tế bào bạch cầu trong máu có sự thay đổi so với nghiệm thức đối chứng không bổ sung β -glucan. Kết quả này cũng tương tự như kết quả nghiên cứu của Yang và cộng sự năm 2014 khi nghiên cứu ảnh hưởng của β -glucan lên hệ miễn dịch của tôm khi cho tôm ăn thức ăn có chứa 0,1% trong vòng 28 ngày, tổng số tế bào trong máu tăng lên so với mẫu đối chứng [10]. Đồng thời, qua kết quả đếm lượng bạch cầu cũng cho thấy tổng số tế bào bạch cầu trong máu có sự thay đổi so với nghiệm thức đối chứng không bổ sung β -glucan. Do đó β -glucan có tác động lên cá thể khỏe mạnh làm tăng số lượng bạch cầu trong máu từ đó hệ miễn dịch của cá có thể được tăng cường.

2.2. Kết quả ảnh hưởng của β -glucan lên tỉ lệ sống của cá bị nhiễm khuẩn

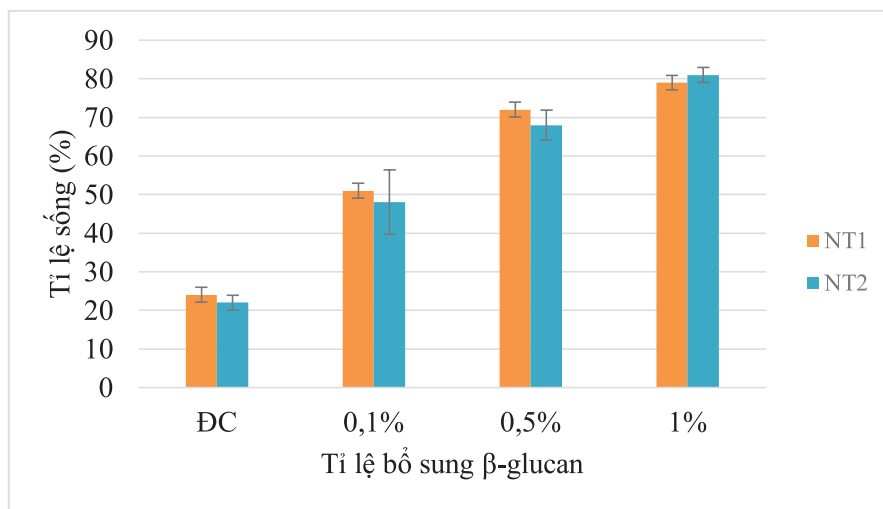
Sau khi cho cá ăn ở nồng độ có trộn 1% β -glucan, quan sát thấy cá khỏe vẫn ăn thức ăn

như bình thường, chứng tỏ chế phẩm β -glucan an toàn cho cá đĩa. Sau 30 ngày, nồng độ vi khuẩn 10^5 cfu/ml được tìm vào toàn bộ cá ở các nghiệm thức và cá tiếp tục được cho ăn thức ăn có trộn chế phẩm với ba nồng độ khác nhau. Sau khi tiêm khuẩn, cá vẫn ăn thức ăn có trộn chế phẩm nhưng lượng ăn ít hơn trước khi tiêm khuẩn. Sau 10 ngày, ở nghiệm thức 1 cho cá tiếp tục ăn thức ăn có bổ sung β -glucan, cá chết nhiều với tỉ lệ trên 50%. Đối với nghiệm thức không cho ăn β -glucan (NT đối chứng) và nghiệm thức trộn β -glucan với nồng độ 0,1%, tỉ lệ chết của cá tương đương với tỉ lệ chết của cá ở nghiệm thức 2 khi không cho cá ăn thức ăn có bổ sung β -glucan sau khi tiêm khuẩn vào cá. Ở nghiệm thức đối chứng và nghiệm thức bổ sung 0,1% β -glucan, sau khi tiêm khuẩn, 1 số cá có biểu hiện lở loét ở vị trí tiêm và có dấu hiệu xuất huyết ở vùng mang và miệng.

Ở nghiệm thức bổ sung 0,5%, số lượng cá còn sống ở cả 2 nghiệm thức tiếp tục cho ăn và không cho ăn β -glucan không có sự thay đổi, tỉ lệ sống đều cao trên 50%, lần lượt là $67,78 \pm 3,85\%$ và $72,2 \pm 1,92\%$. Ở nghiệm thức bổ sung β -glucan cao nhất 1%, tỉ lệ sống của cá đạt khoảng $81,1 \pm 1,92\%$ và không có sự khác biệt giữa việc tiếp tục cho cá ăn β -glucan và không cho cá ăn β -glucan.



Hình 2. Cá đĩa bị xuất huyết ở vùng miệng và mang ở NT đối chứng (a) và cá bị lở loét ở vị trí tiêm ở NT bổ sung 0,1% β -glucan (b).



Hình 3. Tỉ lệ sống của cá 10 ngày theo dõi sau khi gây nhiễm.

Như vậy, β -glucan có ảnh hưởng đến tỉ lệ sống của cá đĩa khi cá bị nhiễm khuẩn. Kết quả có thể do β -glucan làm tăng khả năng miễn dịch của cá, giúp cá có khả năng kháng lại với vi khuẩn gây bệnh *Aeromonas hydrophila*. Điều này chứng tỏ, β -glucan có khả năng giúp cá phòng bệnh do vi khuẩn *Aeromonas hydrophila*. Liều bổ sung thích hợp cho cá khi kết hợp với β -glucan là 1%, đồng thời việc tiếp tục bổ sung β -glucan sau khi cá bị nhiễm khuẩn không có thay đổi nhiều so với nghiệm thức không bổ sung β -glucan sau khi cá bị nhiễm khuẩn. Từ kết quả thử nghiệm trên cá, xác định được chế phẩm bổ sung cho thức ăn cho cá có thể làm đậm màu của cá và làm tăng hệ miễn dịch để phòng bệnh với hàm lượng astaxanthin và β -glucan lần lượt là 90mg/kg thức ăn và 10g/

kg thức ăn. Từ đây có thể tạo ra chế phẩm chứa hỗn hợp cả hai chất bổ sung thức ăn cho cá đĩa có chứa đồng thời astaxanthin và β -glucan như hàm lượng trên.

IV. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

1. Kết luận

Kết quả nghiên cứu ghi nhận: Astaxanthin được chiết xuất từ sinh khối nấm men có tác dụng cải thiện màu sắc trên cá đĩa do *Symphysodon* sp ở liều 90 mg/kg thức ăn sau khi cho cá ăn trong ba tháng. Sau 30 ngày cho cá ăn thức ăn có bổ sung β -glucan ở nồng độ 1% có khả năng kích thích miễn dịch cho cá đĩa thông qua hàm lượng tế bào bạch cầu trên 3500 tế bào trên μ l và tỉ lệ sống của cá đạt 81,1%. Từ kết quả thử nghiệm trên đã xác định được

chế phẩm bổ sung vào thức ăn cho cá để làm tăng màu sắc và sức đề kháng của cá đĩa với hàm lượng astaxanthin và β -glucan lần lượt là 90mg/kg thức ăn và 10g/kg thức ăn.

2. Kiến nghị

Tiếp tục nghiên cứu đánh giá khả năng sử dụng trực tiếp sinh khối nấm men để bổ sung vào thức ăn cho cá.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt

1. Trịnh Thị Lan Chi. 2010. *Thử nghiệm bổ sung sắc tố astaxanthin và canthaxanthin vào thức ăn cho cá chép Nhật (cá chép koi - Cyprinus carpio)*. Đề tài cấp thành phố. Sở Khoa Học và Công nghệ Tp.HCM.
2. Ngô Đại Nghiệp, 2017. *Nghiên cứu quy trình sản xuất astaxanthin và β -glucan để bổ sung vào thức ăn cho cá đĩa đỏ*. Đề tài cấp thành phố. Sở Khoa Học và Công nghệ Tp.HCM.

Tiếng Anh

3. Buttle, L., Crampton, V., & Williams, P. 2001. The effect of feed pigment type on flesh pigment deposition and colour in farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquaculture Research*, 32 (2): 103 – 111.
4. Eaton, L., Clezy, K.; Snellgrove, D.; Sloman, K. (2016), The behavioural effects of supplementing diets with synthetic and naturally sourced astaxanthin in an ornamental fish (*Puntius titteya*), *Applied Animal Behaviour Science* 182, pp. 94–100.
5. Gupta, S. K., Jha, A. K., Pal, A. K., and Venkateshwarlu, G., (2007), Use natural carotenoid for pigment in fish, *Natural product radiance*, Vol 6(1), pp. 46-49, Central Institute of Fisheries Education, Marhashtra, Indian.
6. Le Thanh Hung, Vu Cam Luong and L. Weschen, 2005. Current state and potential of ornamental fish production in Hochiminh City. Sterling University Newsletter No. 2.
7. Lovatelli Alessandro and Chen Jiixin., 2009. *Use of environmental friendly feed additives and probiotics in Chinese aquaculture*. Yellow Sea Fisheries Research Institute, China.
8. Torrissen, O.J., Hardy, R.W., Shearer, K.D., Scott, T.M., Stone, F.E., (1990), Effects of dietary canthaxanthin level and lipid level on apparent digestibility coefficients for canthaxanthin in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Aquaculture* 88, pp. 351–362.
9. Tippawan Paripatananont, Jirasak Tangtrongpariroi, Achariya Sailasuta and Nantarika Chansue, 1999. *Effect of astaxanthin on the pigmentation of goldfish Carassius auratus*. In: Journal of the world aquaculture Society 30 (4), pp. 454 – 460.
10. Yang CC, Chen SN, Lu CL, Chen S, Lai KC, et al. (2014) *Effect of Mushroom Beta Glucan (MBG) on Immune and Haemocyte Response in Pacific White Shrimp (Litopenaeus vannamei)*. J Aquac Res Development 5: 275