

## ẢNH HƯỞNG CỦA NHỊP BỔ SUNG INULIN VÀO THỨC ĂN LÊN ĐÁP ỨNG MIỄN DỊCH CÁ TRA (*Pangasianodon hypophthalmus*)

Bùi Thị Bích Hằng\* và Nguyễn Thanh Phương

Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Bùi Thị Bích Hằng (email: [btbhang@ctu.edu.vn](mailto:btbhang@ctu.edu.vn))

### Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 05/04/2020

Ngày nhận bài sửa: 25/04/2020

Ngày duyệt đăng: 29/04/2020

### Title:

Effects of dietary inulin supplementary duration on immune responses of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*)

### Từ khóa:

Cá tra, chu kỳ bổ sung, đáp ứng miễn dịch, inulin

### Keywords:

Duration of supplement, inulin, immune response, striped catfish

### ABSTRACT

This study aims to evaluate the effects of inulin supplementary duration on immune parameters of striped catfish. Experiment was randomly designed with 5 treatments including control (NT1); supplemented 1% inulin in the first two weeks (NT2); supplemented 1% inulin with two weeks interval (NT3); supplemented 1% inulin in the first four weeks (NT4); supplemented 1% inulin for eight weeks (NT5). The experiment was conducted for 8 weeks and sampled at week 4<sup>th</sup>, 6<sup>th</sup> and 8<sup>th</sup>. Haematological parameters and lysozyme activity were analyzed for fish immune response. After 8 weeks, fish were challenged with bacteria and observed fish mortality. Results showed that growth performance, haematological parameters and lysozyme activity of treatments NT3, NT4 and NT5 are significantly higher than control. NT3 treatment was significantly increased in the growth performance, haematology, lysozyme activity and decreased fish mortality after infection with *Edwardsiella ictaluri* ( $p < 0,05$ ). Base on the study, it is recommended that supplemented 1% inulin with two weeks interval enhanced growth performance, immune response and against to *E. ictaluri*.

### TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm tìm hiểu ảnh hưởng của nhịp bổ sung inulin vào thức ăn lên một số chỉ tiêu miễn dịch cá tra. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 5 nghiệm thức bao gồm nghiệm thức đối chứng (NT1); bổ sung 1% inulin ở tuần 1, 2 (NT2); 1% inulin ở tuần 1, 2 và 5, 6 (NT3); 1% inulin ở 4 tuần đầu (tuần 1-4) (NT4); 1% inulin ở 8 tuần (tuần 1-8) (NT5). Thí nghiệm thực hiện trong 8 tuần và thu mẫu vào tuần 4, 6 và 8 của thí nghiệm. Các chỉ tiêu huyết học và hoạt tính lysozyme được phân tích để đánh giá đáp ứng miễn dịch của cá. Sau 8 tuần thí nghiệm, cá được cảm nhiễm với *Edwardsiella ictaluri* và theo dõi tỉ lệ chết. Kết quả cho thấy các chỉ tiêu tăng trưởng, huyết học và hoạt tính lysozyme ở các nghiệm thức NT3, NT4, NT5 cao hơn đối chứng. NT3 cho kết quả tăng trưởng, chỉ tiêu huyết học, hoạt tính lysozyme tăng cao và có tỉ lệ chết sau cảm nhiễm thấp. Dựa trên nghiên cứu, đề xuất bổ sung 1% inulin cách nhịp mỗi 2 tuần vào thức ăn cá tra làm cá tăng trưởng tốt, tăng cường miễn dịch và đề kháng với vi khuẩn *E. ictaluri*.

Trích dẫn: Bùi Thị Bích Hằng và Nguyễn Thanh Phương, 2020. Ảnh hưởng của nhịp bổ sung inulin vào thức ăn lên đáp ứng miễn dịch cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 56(2B): 100-109.

## 1 GIỚI THIỆU

Đồng bằng sông Cửu Long có điều kiện thuận lợi cho nghề nuôi thủy sản phát triển. Cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) là một trong những đối tượng nuôi chủ lực ở vùng này vì đây là loài cá dễ nuôi, chất lượng thịt ngon và có giá trị xuất khẩu cao. Tuy nhiên, nghề nuôi cá tra hiện nay gặp không ít khó khăn, ngoài giá đầu ra bấp bênh, nuôi cá tra trong ao với mức độ thâm canh cao, chất lượng con giống ngày càng giảm, môi trường nước xấu cũng làm cho tình hình bệnh trở nên phức tạp, gây ảnh hưởng lớn đến hiệu quả kinh tế của người nuôi (Tư Thanh Dung, 2010). Trong đó, bệnh do hai loài vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* và *Aeromonas hydrophila* là những bệnh phổ biến và gây thiệt hại nghiêm trọng cho nghề nuôi cá tra. Khi cá có dấu hiệu bệnh, người nuôi thường dùng thuốc kháng sinh để hạn chế mầm bệnh. Tuy nhiên, việc sử dụng thuốc kháng sinh bừa bãi sẽ gây hại môi trường, phát sinh các chủng vi khuẩn đa kháng thuốc, tồn lưu trong cơ thịt cá làm giảm chất lượng sản phẩm và đặc biệt là ảnh hưởng đến sức khỏe người tiêu dùng (Smith, 2004).

Trong nuôi cá hiện nay, quản lý tốt sức khỏe cho cá là một trong những khâu quan trọng. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra sử dụng các chất điều biến miễn dịch làm cá tăng trưởng nhanh hơn, kháng bệnh tốt hơn (Christyapita *et al.*, 2007). Inulin là một trong những prebiotic được sử dụng phổ biến trong nuôi trồng thủy sản (Đỗ Thị Thanh Hương, 2014). Một số nghiên cứu cho thấy bổ sung inulin vào thức ăn làm gia tăng đáp ứng miễn dịch và kích thích tăng trưởng tốt trên cá hồi *Salmo salar* (Grisdale-Helland *et al.*, 2008), cá mú báo *Mycteroperca rosacea* (Reyes-Becerril *et al.*, 2014), cá chép *Cyprinus carpio* (Eshaghzadeh *et al.*, 2015, Hoseinifar *et al.*, 2016), cá rô phi *Oreochromis niloticus* (Tientam *et al.*, 2017) và cá tra (Nguyễn Thị Mỹ Hân và Bùi Thị Bích Hằng, 2018),... Tuy nhiên giá thành inulin cũng khá cao, nếu bổ sung inulin liên tục trong suốt quá trình nuôi cá có thể tác động đến giá đầu tư sản xuất cũng như lợi nhuận của người nuôi cá tra. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định chu kỳ bổ sung inulin vào thức ăn phù hợp trong nuôi cá tra, cho cá tăng trưởng tốt, đề kháng dịch bệnh.

## 2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Vật liệu nghiên cứu

Cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) có kích cỡ 10-15 g/con được vận chuyển từ trại cá giống ở Thành phố Cần Thơ về trại thực nghiệm Khoa Thủy

sản và thuần dưỡng trong 2 tuần. Cá được chọn ngẫu nhiên để kiểm tra ký sinh trùng, vi sinh trước khi bố trí thí nghiệm.

**Chuẩn bị thức ăn:** Thức ăn thí nghiệm là thức ăn dạng viên nổi có hàm lượng protein 28% (Grobest). Inulin (I2255, Sigma) được hòa tan với 15 mL nước, phun và trộn đều vào thức ăn (1 kg), để thức ăn khô tự nhiên trong mát khoảng 4 giờ. Sau đó áo một lớp dầu mực (1%) qua thức ăn, tiếp tục phơi thức ăn ở nhiệt độ phòng trong 8 giờ. Thức ăn được trữ ở 4°C trong suốt thời gian thí nghiệm.

### 2.2 Bố trí thí nghiệm

#### 2.2.1 Thí nghiệm xác định chu kỳ bổ sung inulin

Nồng độ bổ sung 1% inulin vào thức ăn cá tra cho hiệu quả tốt nhất lên tăng trưởng, đáp ứng miễn dịch và khả năng kháng bệnh gan thận mũ trên cá tra (Nguyễn Thị Mỹ Hân và Bùi Thị Bích Hằng, 2018), được ứng dụng vào thí nghiệm này. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 5 nghiệm thức (NT) bao gồm NT 1: Đối chứng (không bổ sung inulin); NT 2: bổ sung 1% inulin vào thức ăn trong 2 tuần đầu (tuần 1, 2); NT 3: bổ sung 1% inulin vào thức ăn cách nhịp mỗi 2 tuần (tuần 1, 2 và 5, 6); NT 4: bổ sung 1% inulin vào thức ăn trong 4 tuần đầu (tuần 1, 2, 3, 4); NT 5: bổ sung 1% inulin vào thức ăn trong 8 tuần, mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần. Cá được bố trí 30 cá/bể 250 L, được cho ăn 2 lần/ngày với lượng thức ăn là 3% khối lượng thân. Hàng tuần thay khoảng 50% lượng nước trong bể. Thí nghiệm được thực hiện trong 8 tuần. Thu mẫu được tiến hành vào tuần thứ 4, 6 và 8 kể từ khi bắt đầu thí nghiệm. Mỗi lần, thu mẫu máu của 3 cá/bể để phân tích các chỉ tiêu huyết học (tổng hồng cầu, tổng bạch cầu và định lượng từng loại bạch cầu) và hoạt tính lysozyme và bổ thể. Kết thúc thí nghiệm, cá được cân trọng lượng để phân tích tăng trưởng, cá thí nghiệm cũng được cảm nhiễm với vi khuẩn *E. ictaluri* để đánh giá khả năng kháng bệnh.

#### 2.2.2 Thí nghiệm cảm nhiễm

Vi khuẩn *E. ictaluri* được nuôi tăng sinh trong môi trường Nutrient Broth, ly tâm ở 4.000 vòng/phút trong 15 phút ở 4°C. Mật độ vi khuẩn được xác định bằng máy so màu quang phổ ở bước sóng 610 nm. Nguồn vi khuẩn này được sử dụng để cảm nhiễm cho cá trong thí nghiệm tiếp theo.

Sau 8 tuần bổ sung inulin theo các chu kỳ khác nhau, cá được cảm nhiễm với vi khuẩn *E. ictaluri*. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 6 nghiệm thức bao gồm nghiệm thức đối chứng âm (ĐC-): cá ở NT1 + 0,85% NaCl; nghiệm thức đối

chúng dương (ĐC+): cá ở NT1 + Vi khuẩn; NT2 + Vi khuẩn; NT3 + Vi khuẩn; NT4 +Vi khuẩn; NT5 + Vi khuẩn. Mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần, 10 cá/bể, sục khí liên tục và không thay nước cá. Trong thời gian cảm nhiễm cá được cho ăn bằng thức ăn công nghiệp theo nhu cầu. Thí nghiệm cảm nhiễm được thực hiện bằng phương pháp tiêm vi khuẩn với mật độ  $10^5$  CFU/mL, liều lượng 0,1 mL/cá (Hang *et al.*, 2013). Theo dõi cá trong 2 tuần, ghi nhận những biểu hiện bệnh lý và số lượng cá chết. Mẫu thận trước của cá lờ đờ, sắp chết được thu và trữ trong ethanol để tái định danh vi khuẩn.

### 2.2.3 Các chỉ tiêu phân tích

**Tăng trưởng** được tính theo công thức: Khối lượng gia tăng:  $WG = (W_t - W_0)$ ; Tăng trưởng theo ngày về khối lượng:  $DWG (g/ngày) = (W_t - W_0)/T$ ; Tăng trưởng đặc biệt về khối lượng:  $SGR (\%/ngày) = [(LnW_t - LnW_0)/T \times 100]$ . Trong đó,  $W_0$ : Khối lượng cá ở thời điểm ban đầu (g);  $W_t$ : Khối lượng cá ở thời điểm kết thúc thí nghiệm (g); T: Thời gian nuôi (ngày). Hệ số chuyển hóa thức ăn:  $FCR = \text{Lượng thức ăn sử dụng (g)} / \text{Khối lượng cá gia tăng (g)}$

**Định lượng hồng cầu** được thực hiện theo phương pháp của Natt and Herrick (1952), mật độ hồng cầu được xác định bằng buồng đếm Neubauer và tính theo công thức:  $HC = C \times 10 \times 5 \times 200$  (tb/mm<sup>3</sup>) (C: Tổng số hồng cầu trong 5 vùng đếm).

**Định lượng tổng bạch cầu và từng loại bạch cầu** được thực hiện theo phương pháp của Hrubec *et al.* (2000). Trải mẫu máu bằng cách nhỏ một giọt máu lên lame, sau đó dùng lamelle chạm vào giọt máu và đẩy lamelle ngược về phía trước. Mẫu máu sau khi khô được cố định trong methanol 1 phút. Để mẫu khô tự nhiên và nhuộm Wright & Giemsa. Tổng số lượng bạch cầu được tính theo công thức:  $TBC (tb/mm^3) = (\text{Số BC trong } 1.500 \text{ tế bào} \times R) / \text{Số HC trong } 1.500 \text{ tế bào}$  (TBC: mật độ tổng bạch cầu, BC: bạch cầu, R: mật độ hồng cầu, HC: hồng cầu).

Định lượng từng loại bạch cầu trong tổng số 200 tế bào bạch cầu. Tính mật độ từng loại bạch cầu theo công thức:  $\text{Mật độ loại bạch cầu (tb/mm}^3) = (\text{Số lượng mỗi loại bạch cầu} \times TBC) / 200$

**Xác định hoạt tính lysozyme** được phân tích theo phương pháp của Ellis (1990). Dụng cụ chuẩn lysozyme với các nồng độ 0, 2, 4, 8 và 16 µg/mL. Cho 10 µL dung dịch từ các nồng độ pha loãng cho vào đĩa 96 giếng, tiếp theo cho 200 µL/giếng dịch huyền phù *Micrococcus luteus* (Sigma). Đối với mẫu huyết thanh của cá, cho 10 µL huyết thanh vào đĩa 96 giếng, thêm 200 µL/giếng vi khuẩn *M. luteus*. Hỗn hợp được ủ ở nhiệt độ 27 °C và đo ở bước sóng 495 nm. Hoạt tính lysozyme được tính dựa vào đường chuẩn lysozyme.

### Qui trình PCR phát hiện vi khuẩn *E. ictaluri*

Vi khuẩn *E. ictaluri* được phát hiện dựa theo qui trình PCR được mô tả bởi Đặng Thị Hoàng Oanh và Nguyễn Trúc Phương (2009). Mẫu hiện vạch 407 bp là mẫu dương tính với *E. ictaluri*.

### 2.2.4 Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được nhập, tính trung bình bằng phần mềm Excel. Các số liệu được xử lý thống kê ANOVA 1 nhân tố, so sánh sự khác biệt có ý nghĩa giữa các nghiệm thức bằng phép thử Duncan, ở mức ý nghĩa  $p < 0,05$  bằng phần mềm SPSS.

## 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1 Tăng trưởng của cá

Sau 8 tuần thí nghiệm, cá ở các nghiệm thức bổ sung inulin theo các chu kỳ khác nhau đều có khối lượng cao hơn cá ở nghiệm thức đối chứng. Trong đó, NT5 cho kết quả tốt nhất có tăng trọng trung bình đạt 30,0 g, tốc độ tăng trưởng tương đối (DWG) 0,70 g/ngày và tốc độ tăng trưởng tuyệt đối (SGR) đạt 1,27 %/ngày (Bảng 1). Ngoài ra, hệ số FCR của cá ở NT5 đạt 1,42, thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng ( $p < 0,05$ ). Bên cạnh đó, NT3 cho kết quả tăng trưởng khá cao đạt 29,0 g, DWG là 0,69 g/ngày và FCR đạt 1,49, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức khác ( $p < 0,05$ ) nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với NT5 ( $p > 0,05$ ). Riêng NT2 chỉ bổ sung inulin trong 2 tuần đầu của thí nghiệm nên cá có tăng trọng đạt 20,5g, các chỉ tiêu DWG và SGR đều cao hơn so với nghiệm thức đối chứng nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ) (Bảng 1).

**Bảng 1: Tăng trọng WG (g), tốc độ tăng trưởng tuyệt đối DWG (g/ngày) và tốc độ tăng trưởng tương đối SGR (%/ngày) của cá tra sau 8 tuần nuôi**

Nghiệm thức	WG (g)	DWG (g/ngày)	SGR (%/ngày)	FCR
NT1	19,0±1,20 <sup>a</sup>	0,45±0,03 <sup>a</sup>	0,91±0,05 <sup>a</sup>	1,71±0,09 <sup>c</sup>
NT2	20,5±1,83 <sup>a</sup>	0,49±0,04 <sup>a</sup>	0,93±0,05 <sup>a</sup>	1,69±0,09 <sup>c</sup>
NT3	29,0±2,40 <sup>c</sup>	0,69±0,60 <sup>c</sup>	1,23±0,04 <sup>c</sup>	1,49±0,09 <sup>ab</sup>
NT4	24,9±2,04 <sup>b</sup>	0,59±0,05 <sup>b</sup>	1,10±0,05 <sup>b</sup>	1,53±0,10 <sup>b</sup>
NT5	30,0±1,88 <sup>c</sup>	0,70±0,04 <sup>c</sup>	1,27±0,05 <sup>c</sup>	1,42±0,05 <sup>ab</sup>

Ghi chú: các ký hiệu a, b trong cùng một cột giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). NT1: đối chứng, không inulin; NT2: bổ sung 1% inulin tuần 1, 2; NT3: bổ sung inulin tuần 1, 2 và 5, 6; NT4: bổ sung inulin 4 tuần đầu (tuần 1-4); NT5: bổ sung inulin suốt 8 tuần (tuần 1-8).

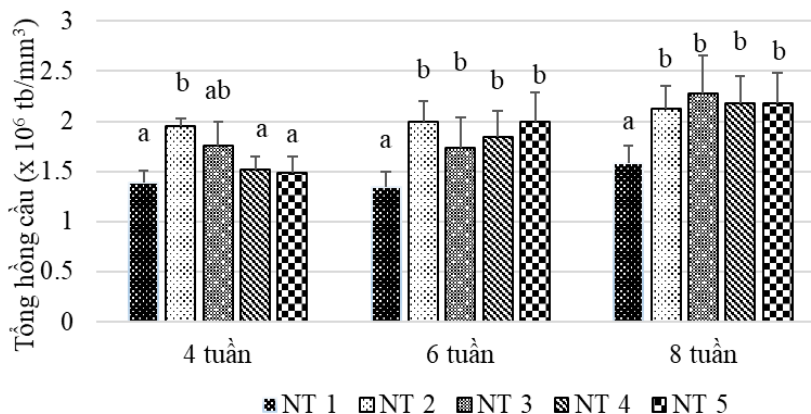
Kết quả của nghiên cứu này tương tự như kết quả nghiên cứu của Akrami et al. (2013) đã bổ sung 0, 1 và 2% fructooligosaccharide (FOS) vào thức ăn của cá tầm sao giống (*Acipenser stellatus*) trong 11 tuần. Kết quả cho thấy cá ở các nghiệm thức bổ sung 1% FOS có chỉ số tăng trọng như WG, SGR cao hơn có ý nghĩa so với các nhóm đối chứng ( $p < 0,05$ ), đồng thời hệ số FCR ở nghiệm thức bổ sung 1% FOS thấp hơn các nghiệm thức khác. Nghiên cứu ảnh hưởng của thức ăn có bổ sung 2% inulin, oligofructose và lactosucrose lên sự tăng trưởng và hệ vi khuẩn đường ruột của cá bơn (*Psetta maxima*) được thực hiện bởi Mahious et al. (2006). Kết quả ghi nhận nhóm cá bổ sung 2% oligofructose có khối lượng cao hơn so với các nghiệm thức khác.

**3.2 Chỉ số huyết học của cá tra thí nghiệm**

**3.2.1 Mật độ tổng hồng cầu**

Sau 4 tuần bổ sung inulin, mật độ hồng cầu ở cá dao động từ 1,39 – 1,95 x 10<sup>6</sup> tb/mm<sup>3</sup> và tiếp tục tăng cao ở tuần thứ 6 và 8. Cụ thể, mật độ hồng cầu ở

nghiệm thức 2, bổ sung inulin trong 2 tuần (1,95 x 10<sup>6</sup> tb/mm<sup>3</sup>) cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng (1,39 x 10<sup>6</sup> tb/mm<sup>3</sup>) ( $p < 0,05$ ). Ở tuần thứ 6, mật độ hồng cầu ở NT5 tăng cao, đạt giá trị 1,99 x 10<sup>6</sup> tb/mm<sup>3</sup> khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng NT1 (1,34 x 10<sup>6</sup> tb/mm<sup>3</sup>) ( $p < 0,05$ ), tuy nhiên khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức khác. Sau 8 tuần, mật độ hồng cầu của các nghiệm thức bổ sung inulin với các chu kỳ khác nhau đều tăng cao hơn so với nghiệm thức đối chứng. Trong đó, mật độ hồng cầu của NT3 (bổ sung inulin với chu kỳ cách nhịp 2 tuần) có giá trị cao nhất (2,28 x 10<sup>6</sup> tb/mm<sup>3</sup>), khác biệt có ý nghĩa thống kê với nghiệm thức đối chứng NT1 (1,58 x 10<sup>6</sup> tb/mm<sup>3</sup>). Nhìn chung sau 3 lần thu mẫu, mật độ hồng cầu ở các nghiệm thức bổ sung inulin theo các chu kỳ khác nhau đều cao hơn có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ) so với đối chứng, tuy nhiên giữa các nghiệm thức bổ sung inulin khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ) (Hình 1).



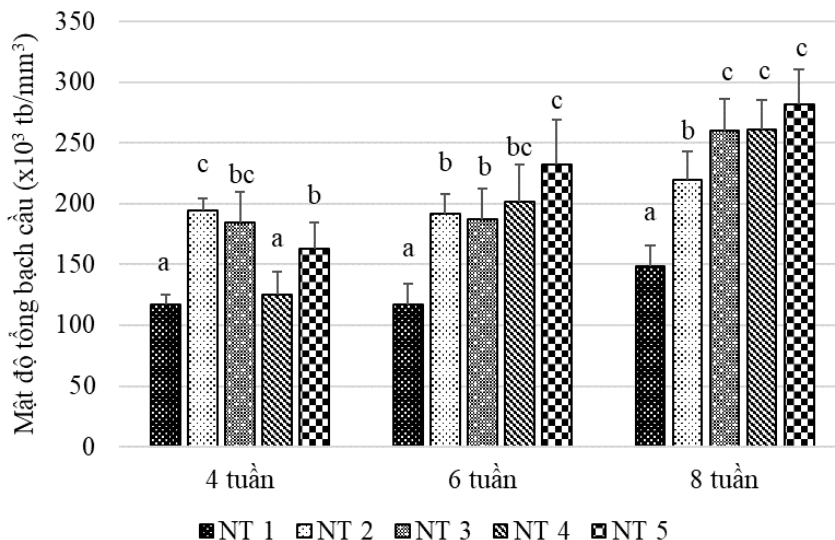
**Hình 1: Mật độ hồng cầu của cá tra được bổ sung 1% inulin theo các chu kỳ khác nhau**

Ghi chú: các ký hiệu a, b trong cùng một đợt thu mẫu giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). NT1: đối chứng, không inulin; NT2: bổ sung 1% inulin tuần 1, 2; NT3: bổ sung inulin tuần 1, 2 và 5, 6; NT4: bổ sung inulin 4 tuần đầu (tuần 1-4); NT5: bổ sung inulin suốt 8 tuần (tuần 1-8).

Kết quả này hoàn toàn phù hợp với các nghiên cứu trước đây, biến động của mật độ tế bào hồng cầu ở cá nước ngọt dao động 1- 3,5 x 10<sup>6</sup> tb/mm<sup>3</sup> (Glomski and Pica, 2006). Mật độ hồng cầu ở cá tra khỏe cũng ghi nhận đạt 2,27 x 10<sup>6</sup> tb/ mm<sup>3</sup> (Từ Thanh Dung, 2010) hoặc 2,05 x 10<sup>6</sup> tb/ mm<sup>3</sup> (Nguyễn Thị Thúy Liễu và ctv., 2011). Tương tự, nghiên cứu bổ sung inulin và củ cúc vu (*Helianthus tuberosus*) vào thức ăn cá rô phi (*Oreochromis niloticus*) giai đoạn giống cho thấy cá ở nghiệm thức bổ sung 0,5% inulin có mật độ tế bào hồng cầu tăng cao hơn có ý nghĩa so với cá ở nghiệm thức đối chứng (p<0,05)(Tiengtam et al., 2017). Đỗ Thị Thanh Hương (2014) đã nghiên cứu bổ sung 0, 0,5, 1,0, 1,5 và 2,0% FOS vào thức ăn cho cá tra giống (*P. hypophthalmus*) trong 90 ngày. Kết quả nghiên cứu đã ghi nhận mật độ hồng cầu cá tra tăng cao ở các nghiệm thức có bổ sung FOS. Nghiệm thức bổ sung 1,0% FOS cho kết quả mật độ hồng cầu tăng cao nhất, đạt 2,99 x 10<sup>6</sup> tế bào/mm<sup>3</sup>. Nhìn chung, kết quả nghiên cứu đã chỉ ra mật độ hồng cầu cá tra được bổ sung inulin theo các chu kỳ khác nhau đều tăng cao hơn nhóm đối chứng. Chức năng chính của hồng cầu là vận chuyển oxy và chất dinh dưỡng cung cấp cho tế bào ở các cơ quan khác nhau trong cơ thể. Do vậy, việc gia tăng mật độ hồng cầu của cá sẽ tác động tốt đến tăng trưởng và phát triển của cá vì định lượng mật độ hồng cầu cũng là một phương pháp để đánh giá tình trạng sức khỏe của cá (Bhaskar and Rao, 1985).

### 3.2.2 Mật độ tổng bạch cầu

Sau 4 tuần thí nghiệm, các nghiệm thức bổ sung inulin với các chu kỳ khác nhau đều có mật độ tổng bạch cầu cao hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng (p<0,05). Ngoại trừ NT4 có mật độ hồng cầu đạt 124,86 x 10<sup>3</sup> tb/mm<sup>3</sup>, cao hơn không có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng NT1 (116,64 x 10<sup>3</sup> tb/mm<sup>3</sup>) (p>0,05). Sau 6 và 8 tuần thí nghiệm, mật độ tổng bạch cầu của các nghiệm thức tiếp tục tăng cao trong cùng 1 nghiệm thức so với đợt thu mẫu ở tuần thứ 4. Ở tuần thứ 6, tổng bạch cầu của cá ở các nghiệm thức bổ sung inulin theo các chu kỳ khác nhau dao động trong khoảng 186,96 – 232,45 x 10<sup>3</sup> tb/mm<sup>3</sup>, cao hơn có ý nghĩa so với đối chứng (p<0,05). Trong đó, mật độ tổng bạch cầu của cá ở NT4 đạt 201,69 x 10<sup>3</sup> tb/mm<sup>3</sup> và NT5 đạt 232,45 x 10<sup>3</sup> tb/mm<sup>3</sup>, cao nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng NT1 (117,4 x 10<sup>3</sup> tb/mm<sup>3</sup>) (p<0,05). Ở tuần thứ 8, mật độ tổng bạch cầu của cá ở đa số các nghiệm thức đều tăng cao, cụ thể NT5 đạt giá trị cao nhất (281,47 x 10<sup>3</sup> tb/mm<sup>3</sup>), lần lượt NT4 và NT3 đều có mật độ tổng bạch cầu tăng cao có ý nghĩa so với cá ở nghiệm thức đối chứng NT1 (148,57 x 10<sup>3</sup> tb/mm<sup>3</sup>) (p<0,05). Đặc biệt, tổng bạch cầu của cá ở các nghiệm thức NT3, NT4 và NT5 đều đạt giá trị cao và khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức này (Hình 2) (p>0,05).



**Hình 2: Mật độ tổng bạch cầu cá tra bổ sung inulin 1% theo các chu kỳ khác nhau (x 10<sup>3</sup> tb/mm<sup>3</sup>)**

Ghi chú: các ký hiệu a, b giống nhau trong cùng một đợt thu mẫu thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p>0,05). NT1: đối chứng, không inulin; NT2: bổ sung 1% inulin tuần 1, 2; NT3: bổ sung inulin tuần 1, 2 và 5, 6; NT4: bổ sung inulin 4 tuần đầu (tuần 1-4); NT5: bổ sung inulin suốt 8 tuần (tuần 1-8).

### 3.2.3 Sự biến động của tế bào đơn nhân

Sau 3 đợt thu mẫu, mật độ tế bào đơn nhân của các nghiệm thức bổ sung inulin với các chu kỳ khác nhau đều tăng cao so với nghiệm thức đối chứng NT1. Cụ thể ở tuần thứ 4, mật độ tế bào đơn nhân của cá ở NT2 có giá trị cao nhất ( $6,26 \times 10^3$  tb/mm<sup>3</sup>) khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng ( $p < 0,05$ ). Đến tuần thứ 6 và 8, bạch cầu đơn nhân ở NT5 có giá trị cao nhất khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng ( $p < 0,05$ ). Nhìn chung, mật độ tế bào đơn nhân tăng cao trong cùng 1 nghiệm thức giữa các đợt thu mẫu. Tuy nhiên, mật độ tế bào đơn nhân ở NT2 ở tuần thứ 8 giảm so với tuần thứ 6 và tuần thứ 4 (Bảng 3).

### 3.2.4 Sự biến động của tế bào trung tính

Sau 4 tuần bổ sung inulin, mật độ tế bào trung tính của cá ở các nghiệm thức bổ sung inulin theo các chu kỳ khác nhau dao động trong khoảng  $2,62 - 3,76 \times 10^3$  tb/mm<sup>3</sup>. Trong đó, NT5 đạt giá trị cao nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng NT1 ( $p < 0,05$ ). Ở tuần thứ 6, mật độ tế bào trung tính của các nghiệm thức bổ sung inulin theo các chu kỳ khác nhau đều cao hơn và khác biệt so với các nghiệm thức đối chứng. Sau 8 tuần thí nghiệm, mật độ tế bào trung tính của cá ở NT3, NT4 và NT5 đều tăng cao và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng, trong đó NT5 ( $5,2 \times 10^3$  tb/mm<sup>3</sup>) có giá trị cao nhất so với các nghiệm thức còn lại. Riêng tế bào trung tính của cá ở NT2 có giá trị lớn hơn nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng NT1 ( $p > 0,05$ ) (Bảng 3).

### 3.2.5 Sự biến động của tế bào lympho

Sau 4 tuần thí nghiệm, mật độ tế bào lympho của các nghiệm thức bổ sung inulin theo các chu kỳ khác nhau đều tăng cao hơn so với nghiệm thức đối chứng, trong đó NT2 có mật độ tế bào lớn nhất ( $55,77 \times 10^3$  tb/mm<sup>3</sup>) và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng NT1 ( $19,16 \times 10^3$  tb/mm<sup>3</sup>). Ở tuần thứ 6, mật độ lympho ở NT4 và NT5 tăng cao nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng ( $p < 0,05$ ). Ngoài ra, mật độ lympho ở các nghiệm thức đều tăng cao so với lần thu mẫu ở tuần thứ 4, riêng NT2 có giá trị  $48,86 \times 10^3$  tb/mm<sup>3</sup>, giảm hơn so với lần thu mẫu trước đó. Ở tuần thứ 8, mật độ lympho của các nghiệm thức được bổ sung inulin đều tăng cao hơn so với nghiệm thức đối chứng. Trong đó, mật độ lympho ở NT3, NT4 và NT5 đạt giá trị cao nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng ( $p < 0,05$ ) (Bảng 3).

### 3.2.6 Sự biến động của tế bào tiểu cầu

Sau 4 tuần thí nghiệm, mật độ tế bào tiểu cầu ở các nghiệm thức dao động trong khoảng  $94,85 - 111,04 \times 10^3$  tb/mm<sup>3</sup>. Trong đó, NT3 ( $111,04 \times 10^3$  tb/mm<sup>3</sup>) tăng cao và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng NT1 ( $p < 0,05$ ). Sau 6 tuần, mật độ tiểu cầu ở các nghiệm thức bổ sung inulin với các chu kỳ khác nhau đều tăng cao hơn có ý nghĩa so với đối chứng. Cụ thể, NT2 ( $133,89 \times 10^3$  tb/mm<sup>3</sup>) có mật độ tiểu cầu tăng cao nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức NT1 ( $p < 0,05$ ). Vào tuần thứ 8, mật độ tiểu cầu ở các nghiệm thức bổ sung inulin lần lượt tăng cao so với 2 đợt thu mẫu trước. Mật độ tiểu cầu ở NT2, NT3, NT4 và NT5 đạt giá trị cao và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức NT1 ( $p < 0,05$ ) (Bảng 2).

Kết quả của thí nghiệm cho thấy mật độ tổng bạch cầu ở cá tra được bổ sung inulin theo các chu kỳ khác nhau có giá trị cao hơn so với cá ở nghiệm thức đối chứng. Ngoài ra, giá trị ghi nhận cao hơn kết quả của các nghiên cứu trước đây  $101 \times 10^3$  tb/mm<sup>3</sup> (Tư Thanh Dung, 2010) và  $112,9 \times 10^3$  tb/mm<sup>3</sup> (Bùi Thị Bích Hằng và *ctv.*, 2017). Một nghiên cứu khác ghi nhận mật độ bạch cầu tăng lên đáng kể ở nghiệm thức bổ sung 1% inulin và khác biệt có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ) so với các nghiệm thức bổ sung 0%, 2% và 3% inulin vào thức ăn cá tầm (*Huso huso*) giai đoạn cá giống trong 8 tuần (Ahmdifar *et al.*, 2011). Theo Supranee *et al.* (1991), bạch cầu tham gia vào quá trình đáp ứng miễn dịch của vật chủ chống lại sự xâm nhập của các tác nhân gây bệnh và các nhân tố bất lợi khác, mỗi loại bạch cầu sẽ đảm nhiệm chức năng khác nhau. Ở động vật có xương sống, bạch cầu đơn nhân phát triển trở thành đại thực bào có kích thước lớn và có khả năng thực bào các vật lạ xâm nhập (Lê Thị Hoàng Mỹ, 2007). Nghiên cứu trên cũng thể hiện sau 8 tuần bổ sung inulin vào thức ăn với nhiều chu kỳ khác nhau làm tăng mật độ tế bào đơn nhân, bạch cầu trung tính, tế bào lympho và tiểu cầu ở cá tra ngoại trừ nghiệm thức 2, chỉ bổ sung inulin trong 2 tuần đầu của thí nghiệm. Nghiên cứu của Ahmadifar *et al.* (2010) cũng cho thấy bổ sung 1% inulin làm gia tăng tổng bạch cầu và tế bào lympho cá tầm giống. Akrami *et al.* (2013) kết luận bổ sung 1% FOS trên cá tầm sao giống (*Acipenser stellatus*) kích hoạt gia tăng mật độ tế bào lympho so với cá sử dụng thức ăn không bổ sung FOS. Tế bào lympho có vai trò quan trọng trong đáp ứng miễn dịch đặc hiệu sau khi liên kết với các mô của cơ quan đích, bảo vệ cơ thể bằng miễn dịch dịch thể và miễn dịch tế bào. Ngoài ra,

bạch cầu trung tính có chức năng thực bào những vật thể lạ, chúng sẽ tập trung ở những nơi bị viêm để tiêu diệt vi khuẩn và các mảnh vụn tế bào (Hrubec

et al., 2000). Việc gia tăng tế bào bạch cầu của cá tra sẽ giúp cá tăng sức đề kháng, chống lại các tác nhân gây bệnh cho cá.

**Bảng 2: Mật độ bạch cầu đơn nhân, trung tính, lympho và tiểu cầu của cá tra bổ sung inulin theo các chu kỳ khác nhau (x 10<sup>3</sup> tb/mm<sup>3</sup>)**

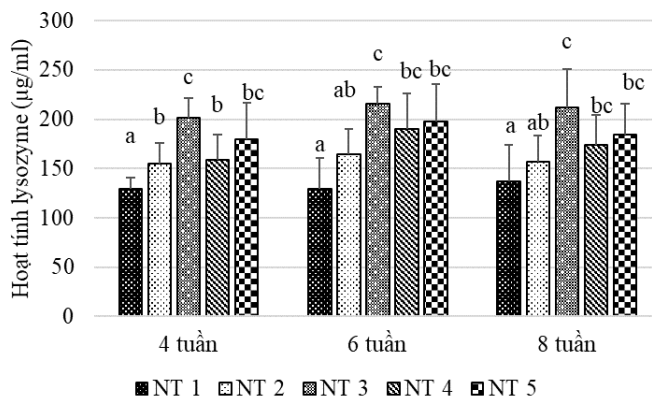
Nghiệm thức	Đơn nhân	Trung tính	Lympho	Tiểu cầu
<b>Sau 4 tuần bổ sung inulin</b>				
NT1	1,82±0,48 <sup>a</sup>	0,83±0,25 <sup>a</sup>	19,16±1,8 <sup>a</sup>	94,85±7,8 <sup>a</sup>
NT2	6,26±1,00 <sup>d</sup>	3,57±0,85 <sup>bc</sup>	55,77±7,15 <sup>c</sup>	100,35±11,7 <sup>ab</sup>
NT3	5,92±1,00 <sup>d</sup>	2,86±1,21 <sup>bc</sup>	49,72±9,67 <sup>c</sup>	111,04±16,7 <sup>b</sup>
NT4	3,67±0,53 <sup>b</sup>	2,62±0,77 <sup>b</sup>	33,53±5,82 <sup>b</sup>	106,91±13,9 <sup>ab</sup>
NT5	4,74±0,68 <sup>c</sup>	3,76±0,43 <sup>c</sup>	49,59±9,06 <sup>c</sup>	106,5±12,1 <sup>ab</sup>
<b>Sau 6 tuần bổ sung inulin</b>				
NT1	2,08±0,73 <sup>a</sup>	0,93±0,37 <sup>a</sup>	18,59±2,53 <sup>a</sup>	95,79±14,86 <sup>a</sup>
NT2	6,71±1,47 <sup>b</sup>	2,45±0,74 <sup>b</sup>	48,86±5,12 <sup>b</sup>	133,89±11,48 <sup>b</sup>
NT3	8,00±2,65 <sup>b</sup>	2,14±0,98 <sup>b</sup>	45,86±15,97 <sup>b</sup>	130,95±46,75 <sup>b</sup>
NT4	12,67±2,88 <sup>c</sup>	2,46±0,83 <sup>b</sup>	61,04±10 <sup>c</sup>	125,52±20,82 <sup>b</sup>
NT5	14,39±2,63 <sup>c</sup>	4,27±0,96 <sup>c</sup>	73±13,8 <sup>c</sup>	140,78±20,4 <sup>b</sup>
<b>Sau 8 tuần bổ sung inulin</b>				
NT1	2,98±0,74 <sup>a</sup>	1,48±0,89 <sup>a</sup>	21,17±4,11 <sup>a</sup>	122,94±12,94 <sup>a</sup>
NT2	5,84±1,64 <sup>a</sup>	1,51±0,95 <sup>a</sup>	50,62±8,67 <sup>b</sup>	162,07±23,59 <sup>b</sup>
NT3	10,48±3,87 <sup>b</sup>	3,27±2,00 <sup>b</sup>	67,77±13,47 <sup>c</sup>	178,77±28,13 <sup>b</sup>
NT4	15,32±3,27 <sup>c</sup>	4,46±1,9 <sup>bc</sup>	67,46±11,5 <sup>c</sup>	173,56±32,29 <sup>b</sup>
NT5	19,33±5,08 <sup>d</sup>	5,2±1,18 <sup>c</sup>	96,13±17,26 <sup>d</sup>	160,79±21,68 <sup>b</sup>

Ghi chú: các giá trị có ký tự (a,b,c,d) trong cùng một cột và đợt thu mẫu giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p<0,05). NT1: đối chứng, không inulin; NT2: bổ sung 1% inulin tuần 1, 2; NT3: bổ sung inulin tuần 1, 2 và 5, 6; NT4: bổ sung inulin 4 tuần đầu (tuần 1-4); NT5: bổ sung inulin suốt 8 tuần (tuần 1-8).

**3.3 Hoạt tính lysozyme của cá tra**

Sau 4 tuần, hoạt tính lysozyme trong huyết thanh cá tra ở các nghiệm thức bổ sung inulin theo các chu kỳ khác nhau có giá trị dao động từ 155,33 – 201,44 µg/mL, các nghiệm thức NT3, NT4, NT5 có hoạt tính lysozyme cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng (129,56 µg/mL)

(p<0,05). Sau 6 tuần thí nghiệm, hoạt tính lysozyme của các nghiệm thức đều tăng, trong đó cao nhất là NT3 (215,67 µg/mL) khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng (p<0,05). Ở tuần thứ 8, hoạt tính lysozyme của NT3 (211,94 µg/mL) có giá trị lớn nhất và khác có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng (p<0,05) (Hình 3).



**Hình 3: Hoạt tính lysozyme của cá tra sau 4, 6 và 8 tuần sau khi bổ sung inulin**

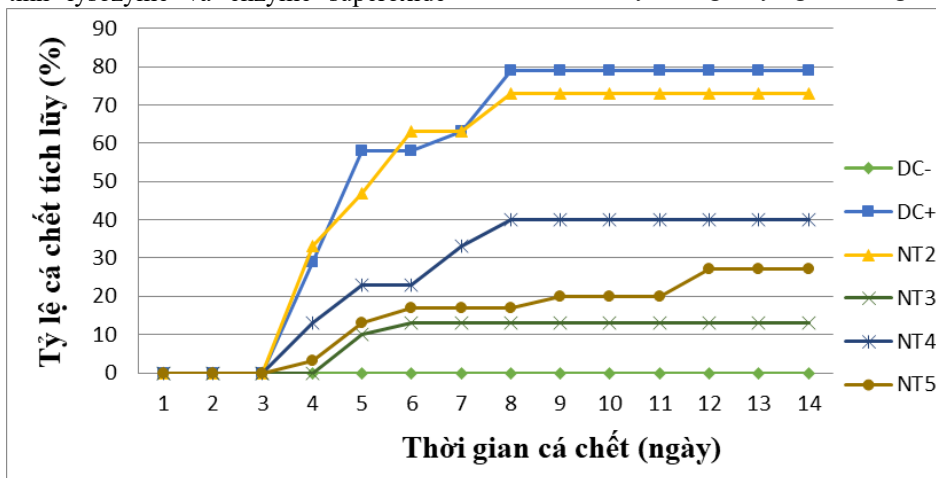
Ghi chú: các giá trị có ký tự (a,b,c) giống nhau trong cùng một cột thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p>0,05). NT1: đối chứng, không inulin; NT2: bổ sung 1% inulin tuần 1, 2; NT3: bổ sung inulin tuần 1, 2 và 5, 6; NT4: bổ sung inulin 4 tuần đầu (tuần 1-4); NT5: bổ sung inulin suốt 8 tuần (tuần 1-8).

Tương tự với kết quả nghiên cứu này, Ibrahim *et al.* (2010) ghi nhận hoạt tính lysozyme của cá tráp đờ gia tăng khi bổ sung inulin (0,5%) vào thức ăn trong 2 tháng. Nghiên cứu bổ sung FOS vào thức ăn của cá dầy (*Rutilus rutilus*) giai đoạn cá bột đã được Soleimani *et al.* (2012) tiến hành trong 7 tuần cho thấy các nghiệm thức bổ sung 1%, 2% và 3% FOS đều làm tăng hoạt tính lysozyme trong huyết thanh của cá. Bổ sung inulin và củ cúc vu (*Helianthus tuberosus*) vào thức ăn của cá rô phi vằn (*Oreochromis niloticus*) giai đoạn giống cho thấy nghiệm thức bổ sung 0,5% inulin có hàm lượng lysozyme tăng cao khác biệt có ý nghĩa thống kê so với đối chứng ( $p < 0,05$ ) (Tientgam *et al.*, 2017). Một nghiên cứu khác đã bổ sung 1% FOS vào thức ăn cá tằm sao giống (*Acipenser stellatus*) trong 11 tuần cho thấy có sự gia tăng hàm lượng lysozyme trong huyết thanh của cá và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức bổ sung 0% và 2% FOS ( $p < 0,05$ ) (Akrami *et al.* 2013). Tuy nhiên, nghiên cứu của Zhang *et al.* (2013) ghi nhận kết quả ngược lại, hoạt tính lysozyme và enzyme superoxide

dismutase (SOD) đều không bị ảnh hưởng khi bổ sung FOS vào thức ăn cho cá vền (*Megalobrama terminalis*). Trong nghiên cứu này, hoạt tính lysozyme tăng cao nhất khi bổ sung inulin theo chu kỳ cách nhịp 2 tuần. Lysozyme là một trong những yếu tố miễn dịch không đặc hiệu quan trọng, giữ vai trò trong việc chống lại sự xâm nhập của vi khuẩn, bảo vệ cơ thể (Li *et al.*, 2012). Do vậy, việc gia tăng hoạt tính lysozyme của cá tra sẽ giúp cá đề kháng với tác nhân gây bệnh vi khuẩn.

### 3.4 Tỷ lệ chết của cá tra sau cảm nhiễm với vi khuẩn *E. ictaluri*

Kết quả thí nghiệm cảm nhiễm (Hình 3) cho thấy các nghiệm thức bổ sung inulin theo chu kỳ khác nhau có tỷ lệ chết thấp hơn so với nghiệm thức đối chứng. Cụ thể, tỷ lệ chết của cá ở NT3 là 13%, NT4 là 40%, NT5 là 27% đều thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng (79%) ( $p < 0,05$ ). Mặc dù, cá ở NT2 có tỷ lệ chết là 73% thấp hơn so với nghiệm thức đối chứng nhưng sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).



Hình 3: Tỷ lệ chết tích lũy của cá tra ở các nghiệm thức bổ sung inulin với các chu kỳ khác nhau sau khi cảm nhiễm với *E. ictaluri*

Tương tự, Nguyễn Thị Mỹ Hân và Bùi Thị Bích Hằng (2018) cho biết bổ sung FOS và inulin vào thức ăn cá tra làm gia tăng tỷ lệ sống của cá khi cảm nhiễm với vi khuẩn *E. ictaluri*, tác nhân chính gây bệnh gan thận mũ trên cá tra. Cá ở nghiệm thức bổ sung 1% inulin cho tỷ lệ sống cao nhất (58%) so với cá đối chứng (10%). Lê Thị Mai Anh (2013) bổ sung 0,5%, 1,0%, 1,5% và 2,0% FOS vào thức ăn cá tra trong 3 tháng cho thấy tỷ lệ sống của cá đạt rất cao (82-100%) so với đối chứng. Nghiên cứu bổ sung sản phẩm Actigen™ với thành phần chính là Manan oligosaccharides (MOS) vào thức ăn cá tra cho thấy cá sử dụng 800 và 1200g Actigen/tấn thức

ăn có tăng trưởng nhanh. Tỷ lệ sống của cá tra được bổ sung Actigen™ sau khi cảm nhiễm với vi khuẩn *E. ictaluri* cũng gia tăng tỷ lệ thuận với liều lượng bổ sung Actigen nhưng khác biệt không có ý nghĩa so với đối chứng ( $p > 0,05$ ) (Đào Ngọc Thủy và *ctv.*, 2012).

## 4 KẾT LUẬN

Cá tra sử dụng thức ăn được bổ sung 1% inulin với các chu kỳ khác nhau đều thể hiện đáp ứng miễn dịch thông qua gia tăng chỉ tiêu huyết học và hoạt tính lysozyme. Sau 8 tuần thí nghiệm, nghiệm thức 3 (bổ sung inulin cách nhịp mỗi 2 tuần) đạt giá trị



tốt nhất, thể hiện qua các chỉ tiêu huyết học, hoạt tính lysozyme và tăng trưởng, đồng thời có tỉ lệ chết thấp nhất sau khi cảm nhiễm với vi khuẩn *Ewardsiella ictaluri*.

Đề xuất bổ sung 1% inulin vào thức ăn cá tra theo chu kỳ cách nhíp 2 tuần cần được tiếp tục nghiên cứu ứng dụng trong mô hình nuôi cá tra thương phẩm nhằm đánh giá hiệu quả tác động của inulin lên tăng trưởng, sức đề kháng cũng như khả năng kháng bệnh của cá tra trong điều kiện nuôi ao.

## LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này trong khuôn khổ đề tài "Ứng dụng và nghiên cứu hoàn thiện một số giải pháp kỹ thuật trong tổ chức sản xuất giống và nuôi thương phẩm cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) vùng Tây Nam Bộ; Mã số: KHCN-TNB.ĐT/14-19/C18".

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

Ahmdifar, E., Akrami, R., Ghelichi, A., and Zarejabad, A.M., 2011. Effects of different dietary prebiotic inulin levels on blood serum enzymes, hematologic, and biochemical parameters of great sturgeon (*Huso huso*) juveniles. *Comparative Clinical Pathology*. 20(5): 447-451.

Bhaskar, B. R., and Rao, K. S., 1985. Some hematological parameters of tarpon, *Megalops cyprinoids* (Broussonet) from Visakhapatnam harbour. *Matsy*, 11: 63–69.

Bùi Thị Bích Hằng, Lê Văn Tèo, Trương Quỳnh Như và Nguyễn Thanh Phương, 2017. Ảnh hưởng của levamisole lên một số chỉ tiêu miễn dịch và khả năng kháng bệnh ở cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Tạp chí khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 48B: 1-9

Christybapita, D., Divyagnaneswari, M. and Michael, R.D., 2007. Oral administration of *Eclipta alba* leaf aqueous extract enhances the nonspecific immune responses and diseases of *Oreochromis mossambicus*. *Fish and shellfish immunology*. 23 (4): 840-852.

Đặng Thị Hoàng Oanh và Nguyễn Trúc Phương, 2010. Phát hiện vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* gây bệnh mù gan trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) bằng phương pháp PCR. *Tạp chí khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 13: 151-159

Đào Ngọc Thủy, Ngô Lâm Trung Nguyên và Lê Thanh Hùng, 2012. Ảnh hưởng của mannan oligosaccharide trong sản phẩm Actigen<sup>TM</sup> lên khả năng tăng trưởng và cải thiện sức khỏe cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*). Trong Tuyển tập Hội nghị Khoa học trẻ ngành thủy sản toàn quốc lần thứ III, ngày 24 – 25 tháng 3 năm 2012, Huế. Trang 222 – 229.

Đỗ Thị Thanh Hương, 2014. Ảnh hưởng của fructooligosaccharide trong thức ăn lên một số chỉ tiêu sinh lý, enzyme tiêu hóa, tăng trưởng và khả năng chịu stress của cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) giống. Báo cáo tổng kết đề tài khoa học và công nghệ cấp trường Trường Đại học Cần Thơ. 83 trang.

Ellis, A.E., 1990. Lysozyme Assays. In: Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Roberson, B.S. and Van Muiswinkel, W.B., (Eds.). *Techniques in Fish Immunology* Fair Haven, SOS Publications, Fair Haven, pp. 101-103.

Eshaghzadeh, H., Hoseinifar, S.H., Vahabzadeh, H. and Ringo, E., 2015. The effects of dietary inulin on growth performances, survival and digestive enzyme activities of common carp (*Cyprinus carpio*) fry. *Aquaculture Nutrition*. 21(2): 242- 247.

Glomski, C.A. and Pica, A., 2006. Erythrocyte of the piokilothrems: A phylogenesis odyssey. Foxwell & Davies (UK) Limited publisher, 438 pages.

Grisdale-Helland, B., Helland, S.J. and Gatlin, III, D.M., 2008. The effects of dietary supplementation with mannanoligosaccharide, fructooligosaccharide or galactooligosaccharide on the growth and feed utilization of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*. 283: 163-167.

Hang, B.T.B., Milla, S., Gillardin, V., Phuong, N.T. and Kestemont, P., 2013. *In vivo* effects of *Escherichia coli* lipopolysaccharide on regulation of immune response and protein expression in striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Fish and shellfish immunology*. 34(1): 339-347

Hoseinifar, S.H., Ahmadi, A., Raeisi, M., et al., 2016. Comparative study on immunomodulatory and growth enhancing effects of three prebiotics (galactooligosaccharide, fructooligosaccharide and inulin) in common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture Research*. 48(7): 3298-3307.

Hrubic, T.C., Cardinale, J.L. and Smith, S.A., 2000. Hematology and plasma chemistry reference intervals for culture tilapia (*Oreochromis hybrid*). *Veterinary clinical pathology*. 29(1): 7-12.

Ibrahim, M. D., Fathi, M., Mesalhy, S., and Abd El-Aty, A. M., 2010. Effect of dietary supplementation of inulin and vitamin C on the growth, hematology, innate immunity, and resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish and shellfish immunology*. 29(2): 241–246.

Lê Thị Hoàng Mỹ, 2007. Tạo máu và sinh lý hồng cầu. Giáo trình huyết học và miễn dịch. Trường Đại học Y Dược Cần Thơ. 255 trang.

Lê Thị Mai Anh, 2013. Ảnh hưởng của Fructooligosaccharide trong thức ăn lên một số chỉ tiêu sinh lý và tăng trưởng của cá tra giống

- (*Pangasianodon hypophthalmus*). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 31b:79-86.
- Li, W.F., Zhang, X.P., Song, W.H., Deng, B., Liang, Q. and Fu, L.Q., 2012. Effects of *Bacillus* preparations on immunity and antioxidant activities in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). Fish physiology and biochemistry. 38: 1585–1592.
- Mahious, A.S., Gatesoupe, F.J., Hervi, M., Metailler, R. and Ollevier, F., 2006. Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, *Psetta maxima* (Linnaeus, C. 1758). Aquaculture International. 14:219-229.
- Natt, M. P., and Herrick, C. A., 1952. A new blood diluent for counting erythrocytes and leukocytes of the chicken. Poultry Science. 31: 735-738.
- Nguyễn Thị Mỹ Hân và Bùi Thị Bích Hằng, 2018. Ảnh hưởng của inulin và fructooligosaccharide lên tăng trưởng, chỉ tiêu miễn dịch và khả năng kháng bệnh trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*). Tạp chí khoa học Trường Đại học Cần thơ 54: 125-134
- Nguyễn Thị Thúy Liễu, Bùi Thị Bích Hằng và Đặng Thị Hoàng Oanh, 2011. Tìm hiểu sự biến động của các yếu tố miễn dịch không đặc hiệu trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) nuôi nhiễm vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri*. Tạp chí khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 17a: 20-29.
- Reyes-Becerril, M., Ascencio, F., Gracia-Lopez, V., Macias, M.E., Roa, M.C. and Esteban, M., 2014. Single or combined effects of *Lactobacillus sakei* and inulin on growth, non-specific immunity and IgM expression in leopard grouper (*Mycteroperca rosacea*). Fish physiology and biochemistry. 40(4): 1169-1180.
- Akrami, R., Iri, Y., Rostami, H.K., Mansour, M.R., 2013. Effect of dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) on growth performance, survival, lactobacillus bacterial population and hemato-immunological parameters of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) juvenile. Fish and shellfish immunology, 35(4): 1235-1239.
- Smith, A. J., 2004. Medicinal and pharmaceutical uses of seaweed natural products: a review. J. Applied phycology. 16: 245–262.
- Soleimani, N., Hoseinifar, S.H., Merrifield, D.L., et al., 2012. Dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) improves the innate immune response, stress resistance, digestive enzyme activities and growth performance of Caspian roach (*Rutilus rutilus*) fry. Fish and shellfish immunology. 32(2): 316–321
- Suprañee, C., Chalor, L. and Praveena, K., 1991. Histology of walking catfish, *Clarias batrachus*. Thailand: AAHRI, 96 pages.
- Tientgam, N., Paengkoum, P., Sirivoharn, S., Phonsiri, K. and Boonanuntanasarn, S., 2017. The effects of dietary inulin and Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) tuber on the growth performance, haematological, blood chemical and immune parameters of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. Aquaculture Research. 24(2): 712-722.
- Từ Thanh Dung, 2010. Nghiên cứu về huyết học cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) bệnh trắng gan trắng mang. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 15b: 81-90
- Zhang, C. N., Li, X. F., Xu, W. N. et al. 2013. Combined effects of dietary fructooligosaccharide and *Bacillus licheniformis* on innate immunity, antioxidant capability and disease resistance of triangular bream (*Megalobrama terminalis*). Fish and shellfish immunology, 35 (5):1380–1386.