

ẢNH HƯỞNG CỦA MANNAN OLIGOSACCHARIDE BỔ SUNG VÀO THỨC ĂN LÊN PROTEIN TRONG CƠ, HÌNH THÁI RUỘT VÀ TẾ BÀO MÁU CỦA CÁ KHOANG CỎ NEMO, *AMPHIPRION OCELLARIS*

Đỗ Hữu Hoàng¹, Hoàng Đức Lư, Phạm Xuân Kỳ, Đặng Trần Tú Trâm, Nguyễn Thị Kim Bích, Hồ Sơn Lâm, Trần Văn Huynh, Đào Việt Hà, Nguyễn Thu Hồng, Phan Bảo Vi

Viện Hải dương học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

E-mail: dohuuhoang2002@yahoo.com

Ngày nhận bài: 17-2-2014

TÓM TẮT: Cá khoang cỏ (*Amphiprion ocellaris*) (~2,4 cm) được nuôi trong hệ thống lọc tuần hoàn thể tích 50 lít, mật độ 20 con/bể và cho ăn trong 10 tuần bằng các thức ăn có bổ sung 6 nồng độ mannan oligosaccharide (MOS): đối chứng, 0,05%, 0,10%, 0,15%, 0,20%, 0,25% và lô bổ sung 0,30%. Các chỉ tiêu đo đạc bao gồm: tỷ lệ chu vi bên trong và bên ngoài thành ruột, hàm lượng protein trong cơ và tế bào máu tổng số. Kết quả nghiên cứu cho thấy, tỷ lệ chu vi thành ruột cá cao nhất ở lô có hàm lượng MOS 0,10% và 0,15% tỷ lệ này thấp nhất ở lô đối chứng và lô bổ sung 0,3% MOS ($P < 0,05$). Ở nồng độ thấp hơn hoặc cao hơn 0,1 - 0,15% cá đều có diện tích bề mặt thành ruột thấp ($P < 0,05$). Sau 4 tuần nuôi hàm lượng protein trong cơ cá dao động từ 12,85%P đến 15,53%P. Protein trong cơ cá ở tuần thứ 10 cao hơn so với tuần thứ 4, nhưng không sai khác ($P > 0,05$) và hàm lượng protein cũng không có khác nhau có ý nghĩa thống kê giữa các lô thí nghiệm ở các lần đo (tuần 1 và tuần 10) ($P < 0,05$). Tổng số tế bào máu cá ở tuần thứ 10 cao nhất ở lô cho ăn 0,05% ($26,22 \times 10^6 \pm 2,80 \times 10^6$ tb/mm³) kế đến là nghiệm thức bổ sung 0,25% MOS và 0,10% MOS đạt giá trị lần lượt là $21,54 \times 10^6 \pm 3,65 \times 10^6$ tb/mm³ và $20,73 \times 10^6 \pm 7,88 \times 10^6$ tb/mm³. Mật độ tế bào máu thấp nhất ở lô cá cho ăn 0,15% MOS ($11,02 \times 10^6 \pm 2,00 \times 10^6$ tb/mm³). Mật độ tế bào máu sai khác có ý nghĩa thống kê giữa lô cho ăn 0,05% MOS (lô 2) so với lô đối chứng MOS và lô cá bổ sung 0,15% MOS ($P < 0,05$).

Từ khóa: Cá khoang cỏ, *Amphiprion ocellaris*, mannan oligosaccharide, hình thái ruột, protein, tế bào máu.

MỞ ĐẦU

Cá khoang cỏ thuộc họ Pomacentridae là loài cá cảnh biển có giá trị thương mại và chúng được nuôi làm cảnh phổ biến vì chúng có màu sắc đẹp. Loài cá khoang cỏ nemo (*Amphiprion ocellaris*) được cho sinh sản nhân tạo thành công trong điều kiện nuôi nhốt. Tuy nhiên trong quá trình nuôi cá thường bỏ ăn, cá con chậm lớn, tỷ lệ sống thấp. Vì vậy, tìm kiếm giải pháp nâng cao tốc độ sinh trưởng và tỷ lệ sống cá khoang cỏ con là vấn đề cần thiết hiện nay. Trong quá trình nuôi, khi cá bị bệnh,

kháng sinh hoặc hóa chất thường được sử dụng. Đây là giải pháp tức thời và tác động xấu tới môi trường. Nhiều công trình nghiên cứu đã chứng minh bổ sung prebiotics có thể làm tăng tốc độ sinh trưởng và sức khỏe vật nuôi. Tuy nhiên, chưa có công trình nghiên cứu bổ sung chế phẩm sinh học đặc biệt là mannan oligosaccharide lên cá khoang cỏ.

Prebiotics là loại dưỡng chất chuyên biệt dành cho một số nhóm sinh vật có lợi cho cơ thể vật chủ. Thông qua việc cung cấp dinh dưỡng một cách có chọn lọc cho một hoặc một

số vi sinh vật có lợi trong đường ruột, prebiotic làm thay đổi có chọn lọc hệ vi sinh vật đường ruột của vật chủ. Prebiotic còn được xem là chất kích thích hệ miễn dịch của vật chủ [16]. Mannan oligosaccharide (MOS), là một loại prebiotic tự nhiên, được chiết xuất từ thành tế bào nấm men (*Saccharomyces cerevisiae*), được sử dụng nhiều trong chăn nuôi gia súc, gia cầm. Kết quả nghiên cứu cho thấy bổ sung mannan oligosaccharides vào thức ăn đã cho nhiều hiệu quả tích cực đối với nhiều loài thủy sản khác nhau như: cá bơn [7], cá tầm [3], cá tráp [10]; cá da trơn [15], cá hồi [6, 7], cá chép cảnh [1, 2].

Nhằm cung cấp cơ sở khoa học cho việc sử dụng Mannan oligosaccharide (MOS) bổ sung vào thức ăn để tăng cường sức khỏe của cá nuôi, chúng tôi bố trí thí nghiệm nghiên cứu ảnh hưởng của các nồng độ MOS bổ sung vào thức ăn lên hình thái ruột, hàm lượng protein và tế bào máu của cá khoang cổ nemo, *Amphiprion ocellaris* ở giai đoạn con non.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Hệ thống nuôi và cá thí nghiệm

Hệ thống nuôi: tổng số 21 bể thủy tinh, thể tích 50 lít, phân chia thành 3 hệ thống lọc tuần hoàn, từ đó chúng tôi đo các yếu tố môi trường theo 3 hệ thống này. Mỗi bể nhỏ và bể lọc tuần hoàn đều có gắn hệ thống sục khí 24/24. Tốc độ nước chảy ở mỗi bể khoảng 0,5 lít/phút. Sử dụng cá khoang cổ nemo (*Amphiprion ocellaris*), khỏe mạnh có kích thước trung bình 24,15 mm, chọn lọc từ trại sản xuất giống cá khoang cổ, phòng Công nghệ nuôi trồng. Thí nghiệm tiến hành tại Trạm thực nghiệm và cơ sở nuôi của phòng Công nghệ Nuôi trồng Viện Hải dương học từ tháng 5/2013 đến tháng 11/2013.

Chuẩn bị thức ăn thí nghiệm

Sử dụng thức ăn công nghiệp Lansy (đạm 40%, lipid 9%, 2,5% xơ, kích thước hạt ~ 0,8 mm) làm thức ăn đối chứng. Thức ăn trên có hàm lượng và thành phần dinh dưỡng chính phù hợp cho cá cảnh [14, 17]. Sử dụng chế phẩm thương mại Bio-Mos® (Alltech, USA). Sử dụng 6 hàm lượng MOS khác nhau (0,05; 0,10; 0,15; 0,2; 0,25; 0,3%) bổ sung vào thức

ăn tổng hợp Lansy, để khô và bảo quản ở 4°C cho đến khi sử dụng.

Bố trí thí nghiệm

Cá thí nghiệm được thả ngẫu nhiên vào bể thí nghiệm với số lượng 20 con mỗi bể và được nuôi thích nghi 7 ngày trước khi tiến hành thí nghiệm. Thí nghiệm bao gồm 7 nghiệm thức và 3 lần lặp cho mỗi nghiệm thức. Từng nhóm 3 bể thí nghiệm được chọn ngẫu nhiên và cho ăn 1 loại thức ăn có hàm lượng MOS trên và nuôi trong 10 tuần. Thu mẫu đếm tế bào máu (2 tuần/lần), protein trong cơ phân tích lúc bắt đầu, tuần 4 và tuần 10, thu mẫu ruột ở tuần thứ 10.

Chăm sóc và quản lý cá thí nghiệm

Cá sẽ cho ăn mỗi ngày 2 lần vào buổi sáng và buổi chiều. Lượng thức ăn được cung cấp theo nhu cầu của cá bằng cách quan sát trực tiếp. Trong suốt thời gian thí nghiệm: nhiệt độ dao động trong khoảng 28,5 - 29,9°C, pH dao động trong khoảng: 7,8 - 8,1. Độ mặn nằm trong khoảng 33,81 - 34,45‰ và NH₄/NH₃ nằm trong khoảng 0 - 0,25 ppm.

Thu thập và xử lý số liệu

Tỷ lệ chu vi trong và ngoài thành ruột: Mẫu ruột cá thu mỗi bể 1 con (3 con mỗi nghiệm thức) vào lúc kết thúc thí nghiệm (tuần 10). Giải phẫu và cố định ruột cá trong dung dịch formol 10% trước khi tiến hành cắt tiêu bản. Tiêu bản được quan sát dưới kính hiển vi Olympus CX 31 ở độ phóng đại 100 lần và được chụp bằng máy ảnh Olympus E330. Đo chu vi mặt trong và ngoài thành ruột (mỗi lò đo 5 mẫu) của cá bằng phần mềm ImageJ, theo phương pháp của Dimitroglou et al. [6]. Tỷ lệ chu vi bên ngoài và chu vi bên trong thành ruột (PR) được tính theo công thức: $PR = a/b$. Trong đó: a: chu vi trong của ruột.; b: chu vi ngoài của ruột.

Hàm lượng protein trong cơ cá khoang cổ nemo: Mẫu phân tích protein trong cơ cá được thu vào lúc bắt đầu thí nghiệm, tuần thứ 4 và tuần thứ 10. Mỗi bể thu ngẫu nhiên 1 cá thể, tổng số mẫu cho mỗi nghiệm thức là 3 ở mỗi lần thu mẫu. Hàm lượng protein tổng số trong cơ cá được phân tích dựa theo phương pháp của Bradford (1976).

Tế bào máu tổng số: Mật độ tế bào máu cá được thu lúc kết thúc thí nghiệm, mỗi bể thu ngẫu nhiên 1 cá thể, số mẫu là 21 cá thể. Máu được thu từ tĩnh mạch đuôi bằng ống tiêm 1 mL, có chứa sẵn 0,2 mL nước muối sinh lý làm chất chống đông máu. Thể tích máu thực tế mỗi lần hút được ghi lại để tính tỷ lệ pha loãng. Đếm máu bằng buồng đếm hồng cầu Neubauer Improved Bright-line dưới kính hiển vi ở độ phóng đại 400 lần. Mật độ hồng cầu được tính theo công thức sau: Mật độ tế bào máu (HC/mm^3) = $A \times 4000 \times B/80$. Trong đó: A: tổng số lượng tế bào máu đếm được trên 5 ô đếm lớn hay 80 ô đếm nhỏ (mỗi ô đếm lớn có 16 ô nhỏ); B: hệ số pha loãng; Thể tích 1 ô đếm nhỏ là $1/4000 \text{ mm}^3$ (diện tích 1 ô nhỏ: $1/400 \text{ mm}^2$, chiều dày từ mặt buồng đếm đến lamelle: $1/10 \text{ mm}$).

Thống kê số liệu. Tính toán giá trị trung bình, sai số, tỷ lệ sống bằng phần mềm Excel. So sánh hàm lượng protein trong cơ, tỷ lệ chu

vi thành ruột và số lượng tế bào máu của cá nuôi giữa các lô thí nghiệm bằng phương pháp phân tích phương sai (ANOVA). Giá trị $P \leq 0,05$ được xem là khác nhau có ý nghĩa thống kê giữa các giá trị trung bình.

KẾT QUẢ

Một số yếu tố môi trường trong bể thí nghiệm

Qua bảng 1 thấy rằng trong suốt thời gian thí nghiệm nhiệt độ dao động trong khoảng $28,5 - 30^\circ\text{C}$, pH dao động trong khoảng: 8 - 8,3. Độ mặn nằm trong khoảng 34 - 35‰, NH_4/NH_3 nằm trong khoảng 0 - 0,25 mg/L và NO_3 dao động từ 0 - 0,25 mg/L. Theo các nghiên cứu trước đây, các yếu tố môi trường trong bể thí nghiệm (bảng 1) đều nằm trong ngưỡng cho phép và không ảnh hưởng đến sự tăng trưởng và tỷ lệ sống của cá khoang cỏ nemo (Hà Thị Lê Lộc, 2005).

Bảng 1. Các yếu tố môi trường trong bể thí nghiệm.

Nhiệt độ ($^\circ\text{C}$)	Độ mặn (‰)	pH	NH_4/NH_3 (mg/L)	NO_3 (mg/L)
28,5 - 30 $^\circ\text{C}$	34 - 35	8 - 8,3	0 - 0,1	0 - 0,25

Hình thái ruột của cá nemo khi cho ăn các hàm lượng MOS khác nhau

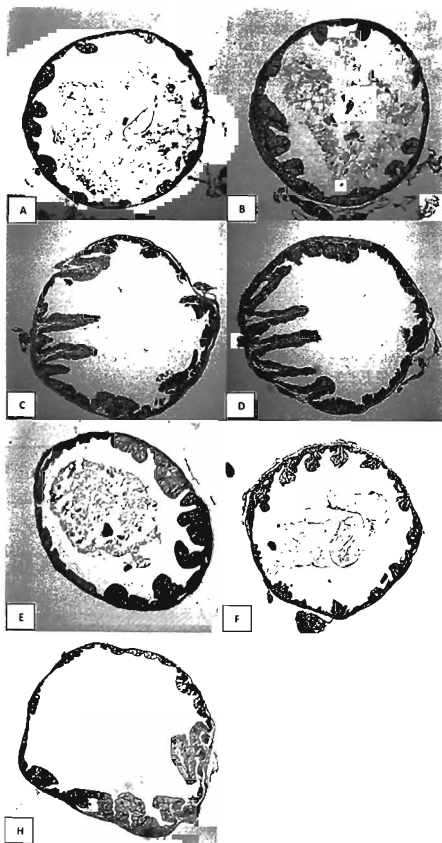
Bảng 2: Tỷ lệ chu vi bên trong và chu vi bên ngoài thành ruột (PR) của cá nemo ở tuần 10

Lô thí nghiệm	PR
1	$1,66 \pm 0,71^a$
2	$1,72 \pm 0,09^a$
3	$2,17 \pm 0,09^b$
4	$2,12 \pm 0,15^b$
5	$1,80 \pm 0,05^a$
6	$1,70 \pm 0,11^a$
7	$1,62 \pm 0,05^a$

Lô 1: đối chứng. Lô 2: 0,05% Lô 3: 0,10% Lô 4: 0,15% Lô 5: 0,20% Lô 6: 0,25% Lô 7: 0,3%

Số liệu trình bày là giá trị trung bình \pm sai số. Số liệu cùng cột có các chữ cái khác nhau thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$)

Tỷ lệ giữa chu vi bên trong và chu vi bên ngoài đạt giá trị cao nhất ở lô 3 và 4 (lần lượt là $2,12 \pm 0,15$ và $2,17 \pm 0,09$) và thấp nhất ở lô 1 và lô 7 (giá trị lần lượt là $1,66 \pm 0,71$ và $1,62 \pm 0,05$). Tỷ lệ này không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các lô 1, 2, 5, 6 và 7 ($P > 0,05$) và giữa lô 3 và lô 4 ($P > 0,05$). Tuy nhiên, tỷ lệ giữa chu vi bên trong và chu vi bên ngoài của cá ở lô 3 và lô 4 (0,10% và 0,15% MOS) cao hơn so với các lô còn lại ($P < 0,05$) (bảng 2, hình 1).

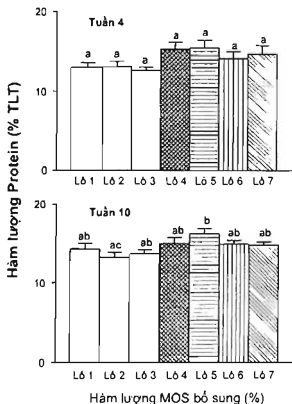


Hình 1. Lát cắt ngang mô ruột cá khoang cỏ nemo ở tuần 10

Trong đó A, B, C, D, E, F và H lần lượt là các lô thí nghiệm 1, 2, 3, 4, 5, 6 & 7. Lô 1: đối chứng, Lô 2: 0,05%, Lô 3: 0,10%, Lô 4: 0,15%, Lô 5: 0,20%, Lô 6: 0,25%, Lô 7: 0,3%

Hàm lượng protein trong cơ của cá nemo

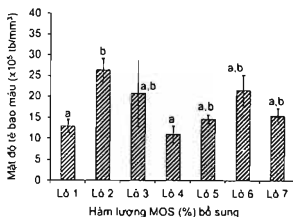
Hàm lượng protein trung bình của cá lúc bắt đầu thí nghiệm là 12,33%. Sau 4 tuần cho ăn, hàm lượng protein thấp nhất ở lô đối chứng (lô 1) và lô 3 (0,10% MOS) giá trị lần lượt là 12,85%P và 12,64%P; hàm lượng protein cao nhất ở các lô 4 (0,15% MOS) và lô 5 (0,20% MOS), lần lượt là 15,34%P và 15,53%P. Hàm lượng protein có xu hướng tăng theo thời gian (tuần 10 cao hơn tuần thứ 4) trong cùng 1 lô thức ăn. Tuy nhiên, kết quả phân tích protein ở tuần thứ 4 và tuần 10, không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa hàm lượng protein trong cơ cá khoang cổ nemo ở các lô thí nghiệm khác nhau ($P > 0,05$). Duy nhất nhóm cá nemo ăn bổ sung 0,2% MOS có hàm lượng protein trong cơ ở tuần 10 cao hơn có ý nghĩa so với tuần thứ 4 ($P < 0,05$) (hình 2).



Hình 2. Hàm lượng protein (% TL T) của cá khoang cổ nemo ở các lô thí nghiệm Lô 1 đối chứng, Lô 2: 0,05%, Lô 3 0,10%, Lô 4: 0,15%, Lô 5: 0,20%, Lô 6: 0,25% Lô 7: 0,3%. Số liệu trình bày là giá trị trung bình \pm sai số. Số liệu có các chữ cái khác nhau thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$)

Mật độ tế bào máu của cá nemo

Vào tuần thứ 10 ở tất cả các nghiệm thức, mật độ tế bào máu đạt giá trị cao nhất ($26,22 \times 10^5 \pm 2,80 \times 10^5$ tb/mm³) tại nghiệm thức bổ sung 0,05% MOS (lô 2), kể đến là nghiệm thức bổ sung 0,25% MOS (lô 6) và 0,10% MOS (lô 3) đạt $21,54 \times 10^5 \pm 3,65 \times 10^5$ tb/mm³ và $20,73 \times 10^5 \pm 7,88 \times 10^5$ tb/mm³, mật độ tế bào máu cá thấp nhất ($11,02 \times 10^5 \pm 2,00 \times 10^5$ tb/mm³) ở nghiệm thức 0,15% MOS (lô 4). Tế bào máu sai khác có ý nghĩa giữa lô cho ăn bổ sung 0,05% MOS (lô 2) so với lô đối chứng 0,0% MOS và lô cho ăn thức ăn có bổ sung 0,15% MOS (lô 4) ($P < 0,05$) nhưng không có sự khác biệt có ý nghĩa giữa với các nghiệm thức bổ sung 0,1%, 0,20%, 0,25% và 0,30% MOS ($P > 0,05$) (hình 3).



Hình 3. Mật độ tế bào máu cá nemo (tb $\times 10^5$ /mm³) ở các lô bổ sung MOS khác nhau Lô 1: đối chứng, Lô 2: 0,05% Lô 3 0,10% Lô 4: 0,15% Lô 5: 0,20% Lô 6: 0,25% Lô 7: 0,3%. Số liệu trình bày là giá trị trung bình \pm sai số. Số liệu có các chữ cái khác nhau thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$)

THẢO LUẬN

Bề mặt thành ruột là nơi hấp thu chất dinh dưỡng và trao đổi năng lượng và vật chất quan trọng của cơ thể. Diện tích bề mặt ruột lớn và khỏe mạnh giúp quá trình trao đổi chất hiệu quả hơn, làm giảm năng lượng tiêu hóa (Sweetman và cs., 2008). Ngoài ra, thành ruột là nơi các vi sinh vật gây bệnh dễ dàng xâm nhập vào cơ thể vật chủ. Thành ruột khỏe mạnh, với hệ vi sinh vật có lợi sẽ làm tăng hiệu quả trao đổi dinh dưỡng và sức kháng của vật chủ. Nhiều nghiên cứu cho thấy hình thái ruột của cá cũng thay đổi khi cá bị nhiễm vi khuẩn gây bệnh (Ringo

và cs., 2007; Ringo và cs., 2004). Tỷ lệ giữa chu vi bên trong và bên ngoài ống tiêu hoá của cá là một trong những chỉ tiêu được sử dụng phổ biến để đánh giá hình thái của ruột cá và giúp xác [5-8, 18].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy có sự ảnh hưởng rõ rệt của hàm lượng MOS bổ sung và hình thái ruột của cá khoang cổ sau 10 tuần nuôi. Kết quả này cũng phù hợp với các kết quả nghiên cứu trên các loài cá khác cho thấy chu vi thành ruột của vật nuôi cũng tăng rõ rệt khi bổ sung MOS vào thức ăn của chúng [6-8]. Kết quả đề tài cơ sở năm 2012 cũng cho thấy cá khoang cổ cho ăn MOS cũng có tỷ lệ chu vi thành ruột tăng rất nhiều so với lô đối chứng (Kiến và cs 2012).

Hàm lượng protein trong cơ là một trong những chỉ thị quan trọng đánh giá điều kiện dinh dưỡng và sức khỏe của cá [13]. Dinh dưỡng cân bằng giúp cá sinh trưởng nhanh và hàm lượng protein trong cơ cũng cao hơn. Kết quả phân tích hàm lượng protein trong cơ cá nemo khi cho ăn bổ sung các hàm lượng MOS không sai khác nhau có ý nghĩa thống kê. Kết quả này tương tự như các kết quả nghiên cứu trên cá tầm, *Huso huso* (Razeghi và cs., 2012), cá tráp vàng, *Sparus aurata* (Dimitroglou và cs., 2010) [10], cá tráp mõm ngắn, *Diplodus puntazzo* (Piccolo và cs., 2013). Các nghiên cứu này cho thấy việc bổ sung MOS không làm thay đổi hàm lượng protein của cá. Tuy nhiên, một số công trình khác kết luận rằng hàm lượng protein trong cơ cá cho ăn MOS cao hơn hẳn so với cá không cho ăn như trên cá chép cảnh [2], cá hồi (*Oncorhynchus mykiss*) và cá rô phi lai (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) [9], cá chêm (*Dicentrarchus labrax*) (Torrecillas và cs., 2007). Đối với cá hồi Đại Tây Dương, *Salmo salar*, khi bổ sung MOS vào thức ăn thì hàm lượng protein trong cá lại giảm hơn 5% (Grisdale-Helland và cs., 2008). Theo nhận định của Grisdale-Helland và cs. (2008) ảnh hưởng của MOS lên hàm lượng protein của cá có thể tùy thuộc vào đặc tính của từng loài.

Tế bào máu được xem là một chỉ tiêu quan trọng để đánh giá sức khỏe của cá nuôi [4]. Tế bào máu của vật nuôi có thể bị ảnh hưởng tùy thuộc vào tình trạng dinh dưỡng, sức khỏe, biến động các yếu tố môi trường và kích thích sinh vật. Kết quả bước đầu nghiên cứu ảnh hưởng của MOS trên cá khoang cổ nemo trong báo

cáo này cho thấy MOS có thể làm thay đổi số lượng tế bào máu cá nemo. Tuy nhiên, số liệu còn nhiều dao động lớn. Mức độ ảnh hưởng bởi hàm lượng MOS bổ sung qua các mốc thời gian không có xu thế rõ ràng. Nguyên nhân khác có thể do kích thước cá có kích thước nhỏ, thể tích máu thu được rất ít làm ảnh hưởng đến sai số khi đọc thể tích máu thu được.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy mật độ tế bào máu của cá nemo chịu ảnh hưởng bởi hàm lượng MOS bổ sung. Kết quả này phù hợp với nhiều nghiên cứu trên các loài cá khác như cá chép [1, 2], cá tầm [3], cá trôi (Andrews và cs., 2009). Tuy nhiên, một số công trình nghiên cứu cho thấy việc bổ sung MOS không ảnh hưởng đến các chỉ số huyết học đối với các loài khác. Taati và cs. (2011) nhận định rằng sự thay đổi các chỉ số tế bào máu có thể chịu ảnh hưởng bởi nhiều nhân tố khác nhau như đặc tính của từng loài, hàm lượng MOS bổ sung và thời gian cho ăn bổ sung.

Kết quả bước đầu cho thấy bổ sung MOS làm tăng diện tích bề mặt của thành ruột của khoang cổ nemo sau 10 tuần nuôi, làm thay đổi hàm lượng tế bào máu, tuy nhiên hàm lượng protein trong cơ cá không khác nhau có ý nghĩa khi bổ sung các nồng độ MOS khác nhau. Mặc dù nghiên cứu của chúng tôi bước đầu cho thấy tính tích cực khi bổ sung MOS vào thức ăn của cá khoang cổ nemo, một số vấn đề vẫn cần nghiên cứu tiếp như: ảnh hưởng của MOS lên cá nuôi ở tình trạng sinh lý và bệnh tật, khả năng chống chịu với sự thay đổi của các yếu tố môi trường và các sinh vật gây bệnh. Nhìn chung nên bổ sung 0,15% mannan oligosaccharide vào thức ăn cho cá khoang cổ giai đoạn con non (~2 cm).

Lời cảm ơn: Kết quả nghiên cứu là một phần của đề tài nghiên cứu ảnh hưởng MOS lên cá khoang cổ nemo, tại Viện Hải dương học. Các tác giả xin chân thành cảm ơn sự giúp đỡ của lãnh đạo Viện và những ý kiến đóng góp quý báu của các đồng nghiệp để hoàn chỉnh báo cáo này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Akrami, R., Chitsaz, H., Hezarjaribi, A. and Ziaei, R., 2012a. Effect of Dietary Mannan Oligosaccharide (MOS) on Growth

- Performance and Immune Response of Gibel Carp Juveniles (*Carassius auratus gibelio*). J Vet Adv. 2, 507-513.
2. Akrami, R., Mansour, M. R., Chitsaz, H., Ziaei, R. and Ahmadi, Z., 2012b. Effect of Dietary Mannan Oligosaccharide on Growth Performance, Survival, Body Composition and Some Hematological Parameters of Carp Juvenile (*Cyprinus Carpio*). J. Anim. Sci. Adv. 2, 879-885.
 3. Akrami, R., Razeghi Mansour, M., Ghobadi, S., Ahmadifar, E., Shaker-Khoshroudi, M. and Moghimi Haji, M.S., 2013. Effect of prebiotic mannan oligosaccharide on hematological and blood serum biochemical parameters of cultured juvenile great sturgeon (*Huso huso* Linnaeus, 1754). Journal of Applied Ichthyology, doi: 10.1111/jai.12245.
 4. Blaxhall, P. C. and Daisley, K. W., 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. Journal of Fish Biology. 5, 771-781.
 5. Daniels, C. L., Merrifield, D. L., Boothroyd, D. P., Davies, S. J., Factor, J. R. and Arnold, K. E., 2010. Effect of dietary *Bacillus* spp. and mannan oligosaccharides (MOS) on European lobster (*Homarus gammarus* L.) larvae growth performance, gut morphology and gut microbiota. Aquaculture. 304, 49-57.
 6. Dimitroglou, A., Davies, S. and Sweetman, J., 2008. The effect of dietary mannan oligosaccharides on the intestinal histology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Comparative Biochemistry and Physiology, Part A. 150, Abstract.
 7. Dimitroglou, A., Moate, R., Janssens, T., Spring, P., Sweetman, J. W. and Davies, S. J., 2011a. Field Observations on the Effect of a Mannan Oligosaccharide on Mortality and Intestinal Integrity of Sole (*Solea senegalensis*, Kaup) Infected by *Photobacterium damsela* subsp. piscicida. J Aquac Res Development. SI, 013.
 8. Dimitroglou, A., Reynolds, P., Ravnøy, B., Johnsen, F., Sweetman, J. W., Johansen, J. and Davies, S. J., 2011b. The effect of Mannan oligosaccharide supplementation on Atlantic salmon Smolts (*Salmo salar* L.) Fed diet with high levels of plant proteins. Aquaculture Research & Development. SI, 11 p.
 9. Genç, M. A., Aktas, M., Genç, E. and Yilmaz, E., 2007. Effects of dietary mannan oligosaccharide on growth, body composition and hepatopancreas histology of *Penaeus semisulcatus* (de Haan 1844). Aquaculture Nutrition. 13, 156-161.
 10. Gültepe, N., Salmur, S., Hoşsu, B. and Hisar, O., 2011. Dietary supplementation with Mannanoligosaccharides (MOS) from Bio-Mos enhances growth parameters and digestive capacity of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Aquaculture Nutrition. 17, 482-487.
 11. Hai, N. V. and Fotedar, R., 2009. Comparison of the effects of the prebiotics (Bio-Mos® and β -1,3-D-glucan) and the customised probiotics (*Pseudomonas synxantha* and *P. aeruginosa*) on the culture of juvenile western king prawns (*Penaeus latisulcatus* Kishinouye, 1896). Aquaculture. 289, 310-316.
 12. Jugadeesh, T. D., Rather, M. A., Chethan, N., Divya, K. H. V. and Suresh, A. N., 2013. Effect of dietary supplementation of mannan oligosaccharide on water quality parameters in a recirculatory aquaculture system. European Journal of Experimental Biology. 3, 48-55
 13. Johling, M., 1983 A short review and critique of methodology used in fish growth and nutrition studies Journal of Fish Biology. 23, 685-703
 14. Nekoubin, H., Gharedaashi, E., Imanpour, M. R., Nowferesti, H. and Asgharimoghaddan, A., 2012. The Influence of Synbiotic (Biomimbo) on Growth Factors and Survival Rate of Zebrafish (*Danio rerio*) Larvae via Supplementation with Biomar. Global Veterinaria. 8, 503-506.
 15. Peterson, B. C., Bramble, T. C. and Alummug, B. B., 2010. Effects of Bio-Mos® on Growth and Survival of Channel Catfish Challenged with *Edwardsiella ictaluri*. Journal of the World Aquaculture Society 41, 149-155

16. Ringø, E., Olsen, R., Vecino, J., Wadsworth, S. and Song, S., 2012. Use of immunostimulants and nucleotides in aquaculture: a review. *Journal of Marine Science: Research & Development*, 2, 104.
17. Sales, J. and Janssens, G. P. J., 2003. Nutrient requirements of ornamental fish. *Aquatic Living Resources*, 16, 533-540.
18. Sang, H. M. and Fotedar, R., 2010. Probiotic Mannan Oligosaccharide Diet Improves Health Status of the Digestive System of Marron, *Cherax tenuimanus* (Smith 1912). *Journal of Applied Aquaculture*, 22, 240-250.
19. Zhang, J., Liu, Y., Tian, L., Yang, H., Liang, G. and Xu, D., 2012. Effects of dietary mannan oligosaccharide on growth performance, gut morphology and stress tolerance of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*, 33, 1,027-1,032.

EFFECTS OF DIETARY MANNAN OLIGOSACCHARIDE ON MUSCLE PROTEIN, INTESTINAL MORPHOLOGY AND BLOOD CELL COUNT OF CLOWNFISH, *AMPHIPRION OCELLARIS*

Do Huu Hoang, Hoang Duc Lu, Pham Xuan Ky, Dang Tran Tu Tram, Nguyen Thi Kim Bich, Ho Son Lam, Tran Van Huynh, Dao Viet Ha, Nguyen Thu Hong, Phan Bao Vi

Institute of Oceanography, VAST

ABSTRACT: Clownfish, *Amphiprion ocellaris* (2.4 cm) were cultured in recirculation system, volume of 50 L and density of 20 fish per tank. Six levels of mannan oligosaccharide (MOS), including 0.05%, 0.10%, 0.15%, 0.20%, 0.25% and 0.30% were supplemented to the control diet and fed to the fish for 10 weeks. Collected data included ratio of internal and external intestinal perimeter of the gut (PR), muscle protein content and total blood cell count. Result showed that the PR was highest in the fish fed by 0.10% and 0.15% MOS and lowest in two groups of fish fed by control and 0.3% MOS in their diet ($P < 0.05$). After 4 weeks of diet feeding, protein content in the fish among the treatments ranged from 12.85%P to 15.53%P. Those values seemed to increase at week 10 in compared to week 4, however; there was no significant difference in protein content among the treatments at either week 4 or week 10 measurements. Total blood cell count of fish at week 10 were highest in the group of fish fed on 0.05% MOS ($26.22 \times 10^5 \pm 2.80 \times 10^5$ cells/mm³), followed by the groups of fish fed 0.25% and 0.1% with blood count being $21.54 \times 10^5 \pm 3.65 \times 10^5$ cells/mm³ and $20.73 \times 10^5 \pm 7.88 \times 10^5$ cells/mm³. Respectively the lowest blood cell count was in the fish fed by 0.15% MOS ($11.02 \times 10^5 \pm 2.00 \times 10^5$ cells/mm³). There was a statistically significant difference between blood cell count of fish fed by 0.05% MOS in compared to fish fed by control diet and 0.15% MOS ($P < 0.05$).

Keywords: Clownfish, *Amphiprion ocellaris*, mannan oligosaccharide, gut morphology, protein, blood cell.