

+

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NHA TRANG

PHẠM THỊ HẠNH

ĐÁNH GIÁ TÁC ĐỘNG CỦA VITAMIN E VÀ C BỔ SUNG VÀO
THỨC ĂN ĐẾN ĐÁP ỨNG MIỄN DỊCH TỰ NHIÊN CỦA CÁ CHIM
VÂY VÀNG *Trachinotus blochii* (Lacepède, 1801) GIAI ĐOẠN GIỐNG

LUẬN ÁN TIẾN SĨ

KHÁNH HÒA - 2025

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NHA TRANG

PHẠM THỊ HẠNH

ĐÁNH GIÁ TÁC ĐỘNG CỦA VITAMIN E VÀ C BỔ SUNG VÀO
THỨC ĂN ĐẾN ĐÁP ỨNG MIỄN DỊCH TỰ NHIÊN CỦA CÁ CHIM
VÂY VÀNG *Trachinotus blochii* (Lacepède, 1801) GIAI ĐOẠN GIỐNG

Ngành đào tạo: Nuôi trồng thủy sản

Mã số: 9620301

LUẬN ÁN TIẾN SĨ

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

- PGS.TS LÊ MINH HOÀNG
- TS. TRẦN VĨ HÍCH

KHÁNH HÒA - 2025

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan, luận án **Đánh giá tác động của vitamin E và C bổ sung vào thức ăn đến đáp ứng miễn dịch tự nhiên của cá chim vây vàng *Trachinotus blochii* (Lacepède, 1801) giai đoạn giống** được hoàn thành dựa trên tất cả các kết quả nghiên cứu do tôi thực hiện. Các kết quả, số liệu trong luận án hoàn toàn trung thực, chưa từng được công bố trong bất kỳ công trình nghiên cứu hay tạp chí nào trước đây. Việc công bố các kết quả nghiên cứu đã tuân thủ theo quy định của chương trình đào tạo tiến sĩ của Trường Đại học Nha Trang.

Khánh Hòa, ngày tháng năm 2025

Nghiên cứu sinh

Phạm Thị Hạnh

TÓM TẮT NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

Đề tài luận án: Đánh giá tác động của vitamin E và C bổ sung vào thức ăn đến đáp ứng miễn dịch tự nhiên của cá chim vây vàng *Trachinotus blochii* (Lacepède, 1801) giai đoạn giống.

Ngành: Nuôi trồng Thủy sản

Mã số: 9620301

Nghiên cứu sinh: Phạm Thị Hạnh

Người hướng dẫn: 1. PGS.TS. Lê Minh Hoàng

2. TS. Trần Văn Hích

Cơ sở đào tạo: Trường Đại học Nha Trang

Tóm tắt những đóng góp mới về lý luận và học thuật của luận án:

- 1) Luận án là một trong số ít công trình nghiên cứu tại Việt Nam đánh giá ảnh hưởng của vitamin E và vitamin C đến các chỉ tiêu miễn dịch và tăng trưởng của cá chim vây vàng (*Trachinotus blochii*).
- 2) Đây là nghiên cứu đầu tiên kiểm tra ảnh hưởng của vitamin E và vitamin C đến đáp ứng miễn dịch tự nhiên của cá chim vây vàng thông qua các chỉ số huyết học, hoạt tính lysozyme, hoạt tính thực bào và hoạt tính hô hấp của đại thực bào, đặc biệt trong điều kiện nhiệt độ cao.
- 3) Nghiên cứu lần đầu tiên đánh giá hiệu quả bảo vệ của vitamin E và vitamin C đối với sức khỏe cá chim vây vàng khi chịu tác động của nhiệt độ cao, thông qua việc giảm stress oxy hóa, duy trì chức năng miễn dịch và hạn chế tổn thương mô gan, mô cơ.

Người hướng dẫn khoa học

Nghiên cứu sinh

PGS.TS. Lê Minh Hoàng

TS. Trần Văn Hích

Phạm Thị Hạnh

KEY FINDINGS

Dissertation title: Evaluation of the effect of dietary vitamin E and C supplementation on nature immune response of snubnose pompano *Trachinotus blochii* (Lacepède, 1801) juvenile

Major: Aquaculture

Major code: 9620301

PhD candiate: Pham Thi Hanh

Supervisor: 1. Assoc. Prof. Dr. Le Minh Hoang

2. Dr. Tran Vi Hich

Educational Institution: Nha Trang University

Key findings:

- 1) The dissertation is one of the few studies in Vietnam that evaluates the effects of vitamin E and vitamin C on the immune parameters and growth performance of snubnose pompano (*Trachinotus blochii*).
- 2) This is the first study to examine the effects of vitamin E and vitamin C on the innate immune response of snubnose pompano through hematological indices, lysozyme activity, phagocytic activity, and respiratory burst activity of macrophages, particularly under high-temperature conditions.
- 3) The study is the first to assess the protective effects of vitamin E and vitamin C on the health of snubnose pompano under high-temperature stress by reducing oxidative stress, maintaining immune function, and minimizing damage to liver and muscle tissues.

Supervisors

PhD candidate

Assoc. Prof. Dr. Le Minh Hoang

Dr. Tran Vi Hich

Pham Thi Hanh

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	i
TÓM TẮT NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN	ii
KEY FINDINGS	iii
MỤC LỤC	iv
DANH MỤC HÌNH	viii
DANH MỤC BẢNG	x
DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT	xi
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN	4
1.1. Vài nét về đối tượng cá chim vây vàng (<i>Trachinotus blochii</i>) và nghề nuôi.....	4
1.1.1. Một số đặc điểm sinh học chủ yếu.....	4
1.1.2. Nghề nuôi cá chim vây vàng trên thế giới và Việt Nam.....	6
1.1.3. Một số bệnh thường gặp ở cá chim vây vàng.....	6
1.2. Khái quát về vitamin	7
1.2.1. Vitamin E.....	8
1.2.2. Vitamin C.....	12
1.3. Vai trò của nhiệt độ đối với sự phát triển của cá	16
1.4. Ảnh hưởng của vitamin và nhiệt độ lên sinh trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá.....	17
1.4.1. Sinh trưởng của cá	17
1.4.2. Các yếu tố ảnh hưởng đến sinh trưởng của cá.....	17
1.5. Ảnh hưởng của vitamin và nhiệt độ lên thành phần sinh hóa cơ thể cá	19
1.5.1. Thành phần sinh hóa cơ thể cá.....	19
1.5.2. Các yếu tố ảnh hưởng đến thành phần sinh hóa của cá	22
1.6. Ảnh hưởng của vitamin và nhiệt độ lên đáp ứng miễn dịch tự nhiên của cá.....	24

1.6.1. Đặc điểm hệ miễn dịch của cá xương.....	24
1.6.2. Miễn dịch tự nhiên.....	24
1.6.3. Miễn dịch thích nghi.....	29
1.6.4. Các yếu tố ảnh hưởng đến đáp ứng miễn dịch của cá	30
1.7. Cơ sở khoa học chọn hàm lượng Vitamin E, C và nhiệt độ thí nghiệm.	34
1.7.1. Cơ sở khoa học chọn hàm lượng Vitamin E thí nghiệm	34
1.7.2. Cơ sở khoa học chọn hàm lượng Vitamin C thí nghiệm	35
1.7.3. Cơ sở khoa học chọn nhiệt độ thí nghiệm	36
CHƯƠNG 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	37
2.1. Đối tượng, thời gian và địa điểm nghiên cứu	37
2.2. Phương pháp nghiên cứu.....	37
2.2.1. Thức ăn thí nghiệm.....	37
2.2.2. Nguồn cá thí nghiệm.....	39
2.3. Bố trí thí nghiệm	39
2.3.1. Thí nghiệm 1: Nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng vitamin E bổ sung vào thức ăn đến sinh trưởng và chỉ số miễn dịch tự nhiên của cá chim vây vàng	39
2.3.2. Thí nghiệm 2: Nghiên cứu tác động của vitamin E bổ sung vào thức ăn đến sinh trưởng và chỉ số miễn dịch tự nhiên của cá chim vây vàng ở điều kiện nhiệt độ cao ..	41
2.3.3. Thí nghiệm 3: Nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng vitamin C bổ sung vào thức ăn đến sinh trưởng và chỉ số miễn dịch của cá chim vây vàng	42
2.3.4. Thí nghiệm 4: Nghiên cứu tác động của vitamin C bổ sung vào thức ăn đến sinh trưởng và chỉ số miễn dịch của cá chim vây vàng ở điều kiện nhiệt độ cao ..	42
2.4. Phương pháp thu, phân tích mẫu và xử lý số liệu	43
2.4.1. Phương pháp thu và phân tích mẫu	43
2.4.2. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu.....	48
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	49

3.1. Ảnh hưởng của hàm lượng vitamin E bổ sung vào thức ăn đến sinh trưởng và chỉ số miễn dịch tự nhiên của cá chim vây vàng giai đoạn giống	49
3.1.1. Ảnh hưởng của hàm lượng vitamin E bổ sung vào thức ăn đến sinh trưởng của cá chim vây vàng.....	49
3.1.2. Ảnh hưởng của hàm lượng vitamin E bổ sung vào thức ăn đến thành phần sinh hóa cơ thể cá chim vây vàng	53
3.1.3. Ảnh hưởng của hàm lượng vitamin E bổ sung vào thức ăn đến đáp ứng miễn dịch của cá chim vây vàng.....	54
3.1.4. Ảnh hưởng của hàm lượng vitamin E bổ sung vào thức ăn đến tổ chức gan và cơ của cá chim vây vàng	58
3.1.5. Thảo luận	61
3.2. Tác động của vitamin E bổ sung vào thức ăn đến sinh trưởng và chỉ số miễn dịch của cá chim vây vàng ở điều kiện nhiệt độ cao.....	65
3.2.1. Ảnh hưởng của vitamin E và nhiệt độ lên sinh trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá chim vây vàng.....	65
3.2.2. Ảnh hưởng của vitamin E và nhiệt độ lên thành phần sinh hóa của cá chim vây vàng giai đoạn giống.....	68
3.2.3. Ảnh hưởng của vitamin E và nhiệt độ lên đáp ứng miễn dịch của cá chim vây vàng	69
3.2.4. Thảo luận	73
3.3. Ảnh hưởng của hàm lượng vitamin C bổ sung vào thức ăn đến sinh trưởng và chỉ số miễn dịch của cá chim vây vàng.....	77
3.3.1. Ảnh hưởng của hàm lượng vitamin C bổ sung vào thức ăn đến sinh trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá chim vây vàng.....	77
3.3.2. Ảnh hưởng của hàm lượng vitamin C bổ sung vào thức ăn đến thành phần sinh hóa cơ thể cá chim vây vàng	82
3.3.3. Ảnh hưởng của hàm lượng vitamin C bổ sung vào thức ăn đến đáp ứng miễn dịch của cá chim vây vàng.....	83

3.3.4. Ảnh hưởng của hàm lượng vitamin C bổ sung vào thức ăn đến hình thái xương cá chim vây vàng	86
3.3.5. Thảo luận	88
3.4. Tác động của vitamin C bổ sung vào thức ăn đến sinh trưởng và chỉ số miễn dịch của cá chim vây vàng ở điều kiện nhiệt độ cao.....	91
3.4.1. Ảnh hưởng của vitamin C và nhiệt độ lên sinh trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá chim vây vàng.....	91
3.4.2. Ảnh hưởng của vitamin C và nhiệt độ lên thành phần sinh hóa cơ thể cá chim vây vàng.....	93
3.4.3. Ảnh hưởng của vitamin C và nhiệt độ lên đáp ứng miễn dịch của cá chim vây vàng	94
3.4.4. Thảo luận	97
CHƯƠNG 4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	102
4.1. Kết luận.....	102
4.2. Kiến nghị.....	103
TÀI LIỆU THAM KHẢO	104

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1 Cá chim vây vàng (<i>Trachinotus blochii</i> , Lacépède, 1801).....	4
Hình 1.2 Phân bố địa lý của cá chim vây vàng (màu vàng, màu đỏ).....	5
Hình 1.3 Quá trình hấp thụ và chuyển hóa α -TOH của gan (Bruno, 2014).....	9
Hình 1.4 Ảnh hưởng của nhiệt độ lên tính miễn dịch của cá xương.....	33
Hình 2.1 Thức ăn thí nghiệm.....	38
Hình 2.2 Sơ đồ khối nội dung nghiên cứu.....	39
Hình 2.3 Sơ đồ đánh giá ảnh hưởng của hàm lượng vitamin E bổ sung vào thức ăn đến đáp ứng miễn dịch của cá chim vây vàng.....	40
Hình 2.4 Sơ đồ đánh giá ảnh hưởng của hàm lượng vitamin E và nhiệt độ đến đáp ứng miễn dịch tự nhiên của cá chim vây vàng	41
Hình 2.5 Sơ đồ đánh giá ảnh hưởng của hàm lượng vitamin C bổ sung vào thức ăn đến đáp ứng miễn dịch của cá chim vây vàng.....	42
Hình 2.6 Sơ đồ đánh giá ảnh hưởng của hàm lượng vitamin C và nhiệt độ đến đáp ứng miễn dịch tự nhiên của cá chim vây vàng	43
Hình 3.1 Chiều dài (a, c) và khối lượng (b, d) của cá ở các mức bổ sung vitamin E ...	49
Hình 3.2 Lượng thức ăn cá sử dụng (a) và hệ số chuyển đổi thức ăn (b) của cá ở các mức bổ sung vitamin E.....	50
Hình 3.3 Hiệu quả sử dụng protein của cá ở các mức bổ sung vitamin E	51
Hình 3.4 Chỉ số nội tạng (a) và chỉ số gan (b) ở các mức bổ sung vitamin E.....	52
Hình 3.5 Sự tương quan giữa hàm lượng vitamin E và tốc độ tăng trưởng đặc trưng (a), hệ số chuyển đổi thức ăn (b).....	53
Hình 3.6 Hàm lượng Lysozyme (a) và số lượng tiểu cầu (b) ở các mức bổ sung vitamin E ..	55
Hình 3.7 Số lượng hồng cầu (a) và số lượng bạch cầu (b) ở các mức bổ sung vitamin E....	56
Hình 3.8 Hàm lượng Hb (a) và tỷ lệ Hct (b) ở các mức bổ sung vitamin E	57
Hình 3.9 Hàm lượng triglyceride (a) và protein huyết tương (b) ở các mức bổ sung vitamin E.....	58
Hình 3.10 Mô cơ cá chim vây vàng (H&E).	59

Hình 3.11 Mô gan cá chim vây vàng (H&E).	60
Hình 3.12 Sự tương quan giữa hàm lượng vitamin C và tốc độ tăng trưởng đặc trưng (a), hệ số chuyển đổi thức ăn (b)	77
Hình 3.13 Chiều dài (a, c) và khối lượng (b, d) ở các mức bổ sung vitamin C	78
Hình 3.14 Chỉ số gan (a) và chỉ số nội tạng (b) ở các mức bổ sung vitamin C	79
Hình 3.15 Lượng thức ăn cá sử dụng (a) và hệ số chuyển đổi thức ăn (b) của cá ở các mức bổ sung vitamin C.....	80
Hình 3.16 Hiệu quả sử dụng protein của cá ở các mức bổ sung vitamin C.	81
Hình 3.17 Hàm lượng lysozyme (a) và số lượng tiểu cầu (b) ở các mức vitamin C.....	83
Hình 3.18 Số lượng hồng cầu (a) và bạch cầu (b) ở các mức bổ sung vitamin C.....	84
Hình 3.19 Hàm lượng hemoglobin (a) và hematocrit (b) ở các mức bổ sung vitamin C....	85
Hình 3.20 Hàm lượng triglyceride (a) và protein huyết tương (b) ở các mức bổ sung vitamin C	85
Hình 3.21 Hình thái xương cá chim vây vàng ở các mức bổ sung vitamin C vào thức ăn.....	87

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1 Hàm lượng vitamin E (α -TOH) bổ sung vào thức ăn cho cá	11
Bảng 1.2 Hàm lượng vitamin C bổ sung vào thức ăn cho cá	15
Bảng 1.3 Thành phần sinh hóa một số loài cá biển (trích Ahmed, 2022)	20
Bảng 2.1 Công thức và thành phần thức ăn thí nghiệm	38
Bảng 3.1 Thành phần sinh hóa cơ thể cá khi sử dụng thức ăn với hàm lượng vitamin E khác nhau	54
Bảng 3.2 Ảnh hưởng của vitamin E và nhiệt độ lên tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá chim vây vàng giai đoạn giống.....	67
Bảng 3.3 Ảnh hưởng của nhiệt độ và vitamin E lên thành phần sinh hóa cơ thể cá	68
Bảng 3.4 Ảnh hưởng của nhiệt độ và vitamin E lên một số chỉ tiêu huyết học	70
Bảng 3.5 Ảnh hưởng của vitamin E và nhiệt độ lên hàm lượng lysozyme huyết thanh, hoạt tính bùng nổ hô hấp, hoạt tính thực bào và chỉ số thực bào của cá chim vây vàng	72
Bảng 3.6 Thành phần sinh hóa cơ thể cá khi sử dụng thức ăn với hàm lượng vitamin C khác nhau	82
Bảng 3.7 Ảnh hưởng của vitamin C và nhiệt độ lên tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá	92
Bảng 3.8 Ảnh hưởng của vitamin C và nhiệt độ lên thành phần sinh hóa cơ thể cá.....	94
Bảng 3.9 Ảnh hưởng của vitamin C và nhiệt độ lên một số chỉ tiêu huyết học	95
Bảng 3.10 Ảnh hưởng của nhiệt độ và vitamin C lên lượng lysozyme huyết thanh, hoạt tính thực bào và bùng nổ hô hấp của cá chim vây vàng.....	97

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

Viết tắt	Viết đầy đủ tiếng Anh	Viết đầy đủ tiếng Việt
CAT	Catalase	Enzyme Catalase
FBL	Final Body Length	Chiều dài cá kết thúc
FBW	Final Body Weight	Khối lượng cá kết thúc
FCR	Feed Conversion Ratio	Hệ số chuyển đổi thức ăn
FI	Feed Intake	Lượng thức ăn tiêu thụ
GPx	Glutathione peroxidase	Enzyme Glutathione
Hb	Hemoglobin	Huyết sắc tố
Hct	Hematocrit	Tỷ lệ thể tích hồng cầu
HSI	Hepatosomatic Index	Chỉ số gan
IBL	Initial Body Length	Chiều dài cá ban đầu
IBW	Initial Body Weight	Khối lượng cá ban đầu
PA	Phagocytic Activity	Hoạt tính thực bào
PE	Protein Efficiency	Hiệu quả sử dụng protein
PLT	Platelet	Tiểu cầu
RB	Respiratory Burst	Bùng nổ hô hấp
RBC	Red Blood Cell	Tế bào hồng cầu
SGR _L	Specific Growth Rate	Tốc độ tăng trưởng chiều dài đặc trưng
SGR _w	Specific Growth Rate	Tốc độ tăng trưởng khối lượng đặc trưng
SOD	Superoxide Dismutase	Enzyme chống oxy hóa
VC	Vitamin C	Vitamin C
VE	Vitamin E	Vitamin E
VSI	Viscerosomatic Index	Chỉ số nội tạng
WBC	White Blood Cell	Tế bào bạch cầu

MỞ ĐẦU

Trong nuôi trồng thủy sản, cá nuôi, đặc biệt là cá giống khi được thả nuôi ở môi trường mới phải thường xuyên đối phó với tình trạng căng thẳng do nhiệt độ cao, do nhốt giữ, do sống trong môi trường nước ô nhiễm và do sự tấn công của các vi sinh vật gây bệnh. Các tác nhân này có thể làm rối loạn quá trình sản xuất và đào thải các gốc tự do, dẫn đến tình trạng oxy hóa các tế bào trong cơ thể diễn ra mạnh mẽ hơn, gây mất cân bằng giữa cơ thể cá và môi trường nước, làm cá bị căng thẳng [26]. Nếu các tác động này kéo dài và cường độ tác động mạnh có thể làm giảm tốc độ tăng trưởng và tỷ lệ sống của cá, gây ức chế miễn dịch ở cá, làm cá mẫn cảm với các tác nhân gây bệnh [73].

Ở cá có cả miễn dịch tự nhiên và miễn dịch thích nghi. So với động vật hữu nhũ, hệ miễn dịch đặc hiệu của cá phản ứng với tác nhân gây bệnh yếu hơn và chậm hơn, đặc biệt là trong điều kiện nhiệt độ không tối ưu cho cá. Do vậy, hệ miễn dịch tự nhiên ở cá có vai trò rất quan trọng để bảo vệ cá khỏi sự tấn công của các vi sinh vật [119].

Để nâng cao chức năng hệ miễn dịch, ngăn chặn và giảm thiểu các tác hại do oxy hóa gây ra, thì việc bổ sung các chất chống oxy hóa cho cơ thể sinh vật là cần thiết. Trong các nhóm chất chống oxy hóa bổ sung cho cá, vitamin E và vitamin C được xem là hai chất quan trọng trong việc chống oxy hóa. Vitamin E là một trong những chất chống oxy hóa hòa tan trong dầu, có khả năng điều tiết tăng trưởng, nâng cao đáp ứng miễn dịch và khả năng kháng bệnh ở cá. Hơn nữa, vitamin E có thể ảnh hưởng đến thành phần lipid trong các tổ chức mô của cá [46, 135]. Vitamin C thuộc nhóm phân tử hòa tan trong nước, cũng được xem là một chất chống oxy hóa mạnh, đảm bảo chức năng bình thường của tế bào, hỗ trợ tăng trưởng và quá trình phát triển của cá. Bên cạnh đó, vitamin C là chất kích thích miễn dịch, có vai trò tăng cường đáp ứng miễn dịch ở cá [40, 127, 134].

Cá không thể tổng hợp vitamin C cho cơ thể vì chúng thiếu enzym L-gulonolactone oxidase cần thiết cho quá trình tự tổng hợp vitamin C [39]. Cá cũng không thể tổng hợp vitamin E [27], nguồn vitamin cung cấp cho nhu cầu của cơ thể phải lấy từ bên ngoài, từ thức ăn tự nhiên hoặc từ nguồn bổ sung vào thức ăn chế biến. Tuy nhiên, việc xác định mức vitamin cần thiết bổ sung cho vật nuôi khá phức tạp bởi nó phụ thuộc vào nhiều yếu tố như thành phần loài, giai đoạn phát triển, sự tương tác của các thành phần trong thức ăn, điều kiện môi trường sống, mục đích sử dụng.

Vai trò của vitamin E, vitamin C đối với đáp ứng miễn dịch ở cá đã được nhiều tác giả nghiên cứu và đề ra mức vitamin phù hợp cho mỗi loài cá nuôi. Tuy nhiên, hướng nghiên cứu này cho cá nuôi ở nước ta còn rất ít, chỉ một vài loài cá được quan tâm nghiên cứu là cá chim vây vàng, cá giò, cá tra, cá lóc và cá khoang cỏ [1, 2, 6, 8, 10].

Cá chim vây vàng là một trong những đối tượng nuôi biển phổ biến trong các lồng bè trên biển và trong các ao nước lợ, mặn ở nhiều quốc gia châu Á – Thái Bình Dương, trong đó có Việt Nam bởi tốc độ tăng trưởng nhanh, chất lượng thịt ngon, được thị trường ưa chuộng [50]. Trong những năm gần đây, nhiều nghiên cứu về nhu cầu dinh dưỡng cho cá đã được tập trung nghiên cứu nhằm hoàn thiện qui trình sản xuất và nuôi thương phẩm đối tượng này [93, 99]. Tuy nhiên, những nghiên cứu về nhu cầu vitamin C, vitamin E ở loài cá này rất hạn chế [9, 10], đặc biệt là tác động của vitamin E, vitamin C lên đáp ứng miễn dịch tự nhiên của cá chim vây vàng giai đoạn giống chưa được nghiên cứu. Do vậy, nghiên cứu tác động của vitamin E, vitamin C lên đáp ứng miễn dịch tự nhiên của cá chim vây vàng cũng như tác động của vitamin E, vitamin C dưới điều kiện nhiệt độ cao là rất cần thiết, góp phần thúc đẩy nghề nuôi thâm canh cá chim vây vàng phát triển bền vững.

Mục tiêu tổng quát:

Hướng đến việc nâng cao chất lượng thức ăn công nghiệp, hỗ trợ sản xuất giống và phát triển nghề nuôi thương phẩm cá chim vây vàng theo hướng bền vững.

Mục tiêu cụ thể:

- Xác định mức vitamin E và vitamin C tối ưu nhằm cải thiện tăng trưởng, nâng cao khả năng miễn dịch của cá chim vây vàng trong điều kiện nhiệt độ cao.
- Đánh giá tác động của vitamin E và vitamin C đến hiệu quả sử dụng thức ăn, khả năng thích nghi và sức khỏe của cá trong điều kiện nhiệt độ cao.
- Cung cấp cơ sở khoa học cho việc tối ưu hóa công thức thức ăn công nghiệp nhằm nâng cao hiệu quả nuôi cá chim vây vàng trong điều kiện nhiệt độ cao.

Các nội dung luận án:

1. Nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng vitamin E bổ sung vào thức ăn đến sinh trưởng và chỉ số miễn dịch của cá chim vây vàng.

2. Nghiên cứu tác động của vitamin E bổ sung vào thức ăn đến sinh trưởng và chỉ số miễn dịch của cá chim vây vàng ở điều kiện nhiệt độ cao.

3. Nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng vitamin C bổ sung vào thức ăn đến sinh trưởng và chỉ số miễn dịch của cá chim vây vàng.

4. Nghiên cứu tác động của vitamin C bổ sung vào thức ăn đến sinh trưởng và chỉ số miễn dịch của cá chim vây vàng ở điều kiện nhiệt độ cao.

Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của luận án:

- Về mặt khoa học: Kết quả của nghiên cứu này xác định được các mức vitamin C và E cần thiết cho tăng trưởng, thành phần sinh hóa cũng như miễn dịch của cá chim vây vàng giai đoạn giống. Bên cạnh đó, nghiên cứu cũng cho thấy tác động tích cực của vitamin E và C đối với cá chim vây vàng giai đoạn giống khi nhiệt độ tăng cao.

- Về thực tiễn: Kết quả nghiên cứu của luận án là cơ sở khoa học để nâng cao chất lượng thức ăn tổng hợp cho cá chim vây vàng giai đoạn giống, góp phần thúc đẩy nghề nuôi cá chim vây vàng phát triển bền vững trong điều kiện biến đổi khí hậu.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

1.1. Vài nét về đối tượng cá chim vây vàng (*Trachinotus blochii*) và nghề nuôi

1.1.1. Một số đặc điểm sinh học chủ yếu

1.1.1.1. Vị trí phân loại

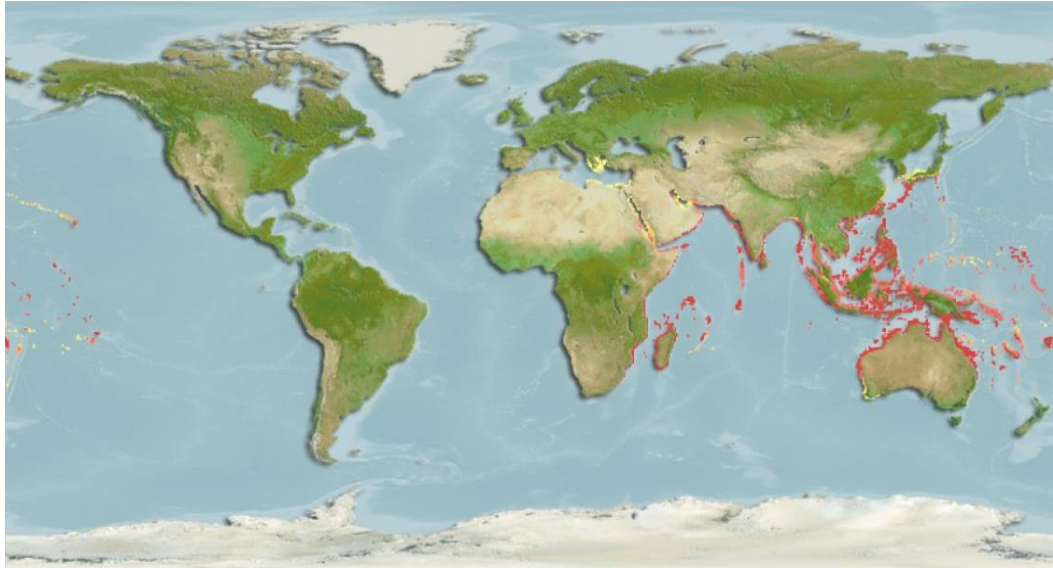
Cá chim vây vàng còn gọi là cá sòng mũi hếch, tên tiếng Anh là snubnose pompano, thuộc họ cá khế Carangidae, bộ cá vược Perciformes.



Hình 1.1 Cá chim vây vàng (*Trachinotus blochii*, Lacépède, 1801)

1.1.1.2. Điều kiện môi trường sống và phân bố

Cá chim vây vàng là loài rộng muối, sống ở tầng giữa và tầng mặt, chúng có thể sống ở độ mặn từ 0 – 65 ppt. Ở giai đoạn con giống, cá có xu hướng sống tập trung theo đàn ở những vùng nước cạn, đáy cát ven bờ hoặc vùng đáy bùn gần cửa sông và dần tách ra sống đơn lẻ ở giai đoạn trưởng thành ở vùng nước sâu, nơi có rạn san hô hay rạn đá. Cá chim vây vàng sống ở vùng nước ấm nhiệt đới, có thể chịu được nhiệt độ từ 25 - 29°C. Khả năng chịu nhiệt độ hạn chế, dưới 12°C cá không hoạt động và có nguy cơ tử vong, trên 33°C trong vài ngày thì cá sẽ tử vong. Ngưỡng nhiệt độ thích nghi là 24 đến 28°C, với nhiệt độ tối ưu là 27°C [50].



Hình 1.2 Phân bố địa lý của cá chim vây vàng (màu vàng, màu đỏ)

Nguồn: fishbase, 2019

1.1.1.3. Dinh dưỡng

Cá chim vây vàng là loài ăn tạp thiên về động vật, cường độ bắt mồi mạnh [12]. Nhu cầu của chúng về hàm lượng protein, chất béo và vitamin E, vitamin C trong thức ăn cao như các đối tượng cá biển khác và nhu cầu này thay đổi theo kích cỡ cá, nguồn protein và lipid, sự tương tác giữa các thành phần khác trong thức ăn [91].

Trong điều kiện nuôi, cá sử dụng tốt các loại thức ăn công nghiệp. Thức ăn cho cá giai đoạn giống là thức ăn công nghiệp với hàm lượng protein từ 43 - 50%, lipid 9 - 10% được coi là phù hợp [12, 93, 99]. Hàm lượng protein trong khẩu phần ăn cho cá chim nuôi thương phẩm khoảng 40 – 50%, lipid từ 7 – 10% [50].

1.1.1.4. Sinh trưởng

Cá chim vây vàng có tốc độ sinh trưởng nhanh, kích thước cơ thể lớn. Tùy thuộc vào điều kiện nuôi như chế độ dinh dưỡng, môi trường, sau 2 – 3 năm nuôi, cá đạt cỡ trưởng thành và một số con có thể thành thực tham gia sinh sản [50].

Thức ăn ảnh hưởng đáng kể đến tăng trưởng của cá. Khi được nuôi trong môi trường nước tuần hoàn, cỡ cá trung bình 3,96 g sử dụng thức ăn công nghiệp có tốc độ tăng trưởng tốt hơn cá sử dụng thức ăn tươi hay cá sử dụng thức ăn tươi kết hợp với thức ăn công nghiệp [5].

Khẩu phần ăn phù hợp cũng thúc đẩy tăng trưởng của cá. Trong điều kiện nuôi lồng trên biển, với khẩu phần ăn từ 7% đến 10% khối lượng thân, cá cỡ 5,1 cm, nặng

2,2 g sử dụng thức ăn có hàm lượng protein 60%, lipid 10% đạt được chiều dài 17,1 cm và nặng 73,8 g sau 2 tháng nuôi [11].

1.1.2. Nghề nuôi cá chim vây vàng trên thế giới và Việt Nam

Nghề nuôi thương phẩm cá chim vây vàng bắt đầu năm 1990 ở Singapore và cung cấp cho thị trường Hồng Kông, đến cuối những năm 2000, thị trường cá chim vây vàng mở rộng đến Trung Quốc, tổng sản lượng cá chim đạt 110.000 tấn/năm và có xu hướng tăng dần những năm sau đó. Tuy nhiên, trong những năm gần đây, sản lượng cá chim vây vàng ở các nước châu Á bao gồm Indonesia, Malaysia, Ấn Độ, Philippines và Việt Nam đã giảm sút đáng kể. Nguồn cung cấp cá chim cho thị trường Trung Quốc chủ yếu là Việt Nam và Indonesia. Tại Việt Nam, khoảng 700 tấn cá chim mỗi năm được sản xuất bởi công ty Marine Farms Việt Nam. Trong khi sản lượng này ở Mỹ dường như bằng không, nguồn cung cá chim tại quốc gia này thông qua đánh bắt từ tự nhiên. Nhu cầu về cá chim trên thế giới ngày càng tăng, nhất là thị trường Mỹ và điều này chỉ có thể được đáp ứng thông qua nuôi trồng thủy sản. Trên thị trường quốc tế, giá bán cá chim vây vàng trung bình là 8 USD/kg. Hầu hết các nước thuộc khu vực Ấn Độ Dương - Thái Bình Dương như Việt Nam, Trung Quốc, Malaysia, Ấn Độ và Philippines đều nuôi cá chim vây vàng. Các công nghệ sản xuất giống đã được chuyển giao khắp khu vực Ấn Độ Dương - Thái Bình Dương. Cá chim nuôi lồng, nuôi trong ao đất với độ mặn thấp có tỷ lệ tăng trưởng tốt. Hình thức nuôi cá chim bằng mô hình nuôi tuần hoàn khép kín RAS (Recirculating Aquaculture System) cũng có triển vọng, điều này cho thấy tiềm năng mở rộng diện tích nuôi của đối tượng này [50].

1.1.3 . Một số bệnh thường gặp ở cá chim vây vàng

Hoạt động sản xuất và nuôi cá chim vây vàng vẫn đang trong giai đoạn đầu ở nhiều quốc gia. Dưới áp lực của hình thức nuôi thâm canh, qui mô công nghiệp ngày càng nhiều, dịch bệnh trên cá chim vây vàng đã xảy ra. Bệnh xuất hiện ở cá giai đoạn nuôi thương phẩm, cá hương và cá giống liên quan đến những tác nhân gây căng thẳng cho cá. Những yếu tố gây căng thẳng cho cá trong điều kiện tự nhiên và nhân tạo như thay đổi về nhiệt độ, oxy, độ mặn, các ion kim loại, thuốc trừ sâu, suy dinh dưỡng, đánh bắt, vận chuyển, xử lý cá, thả nuôi mật độ cao... có thể gây mất cân bằng giữa sản xuất và đào thải ROS làm thay đổi hình thái và cản trở hoạt động sinh lý bình thường của cá. Cá sống trong môi trường nước luôn có sẵn các mầm bệnh, khi các yếu tố gây căng thẳng làm suy yếu hệ miễn dịch sẽ làm cá dễ nhiễm bệnh [26].

Hiện nay, bệnh ở cá chim vây vàng được ghi nhận do 3 nhóm vi sinh vật gây ra là vi khuẩn, virus và ký sinh trùng. Trong đó, tác nhân vi khuẩn gây thiệt hại đáng kể cho nghề nuôi cá, đứng đầu là các bệnh do các loài vi khuẩn thuộc nhóm *Vibrio*, tiếp đến là các bệnh do *Bacillus cereus*, *Nocardia seriolae*, *Streptococci* spp. Bệnh do virus gây ra cho cá được ghi nhận do tác nhân *Betanodavirus* và *Iridovirus*. Nhiều bệnh trên cá chim vây vàng do tác nhân ký sinh trùng cũng đã được báo cáo, bao gồm bệnh do động vật nguyên sinh và ngoại ký sinh trùng metazoan, *Cryptocaryon irritans*, bệnh do ký sinh trùng thuộc ngành trùng roi *Amyloodinium ocellatum*, ký sinh trùng thuộc lớp sán lá đơn chủ *Gyrodactylidae* sp., *Bicotylophora*, *Trachinoti*, *Benedenia* sp., bệnh do ký sinh trùng thuộc ngành bào tử sợi *Henneguya* sp., ký sinh trùng thuộc lớp giáp xác *Calligus elongates* [50, 104].

Cá chim vây vàng giai đoạn ấu trùng và giai đoạn giống cũng đã xuất hiện những biểu hiện bất thường về xương. Sự dị hình xương này xảy ra ở một bộ phận cụ thể trên cơ thể cá như dị dạng xương hàm, xương cột sống hay biểu hiện sự rối loạn hiếm gặp và phức tạp như hội chứng KLS (Kleine Levin Syndrome) ở cá với hiện tượng gù lưng, vẹo cột sống, dị dạng hộp sọ. Nguyên nhân gây dị hình ở cá được cho là liên quan đến yếu tố dinh dưỡng, nhiệt độ nước, ô nhiễm kim loại nặng, yếu tố di truyền, ... [84, 104, 128].

Đã từ lâu, việc sử dụng kháng sinh, hóa chất trong nuôi trồng thủy sản để phòng trị bệnh do vi sinh vật, hỗ trợ thúc đẩy tăng trưởng cho vật nuôi cũng như quản lý môi trường xảy ra rất phổ biến. Việc lạm dụng kháng sinh, hóa chất trong thời gian dài đã dẫn đến nhiều hệ lụy khó khắc phục. Vì vậy, việc sử dụng các chất kích thích miễn dịch bổ sung vào thức ăn cho vật nuôi nhằm tăng cường các cơ chế bảo vệ tự nhiên, giảm thiểu tỷ lệ mắc bệnh ở cá được nghiên cứu và áp dụng. Trong số các chất bổ sung, vitamin được xem là thành phần dinh dưỡng nhiều hoạt chất sinh học, kích thích hệ miễn dịch của vật nuôi, đặc biệt là đáp ứng miễn dịch tự nhiên hoạt động hiệu quả, cải thiện tốc độ tăng trưởng của vật nuôi [40, 46].

1.2. Khái quát về vitamin

Vitamin là nhóm các hợp chất hữu cơ có khối lượng phân tử thấp, có tính chất lý hóa khác nhau nhưng đặc biệt cần thiết cho hoạt động sống của bất kỳ cơ thể sinh vật nào. So với các thành phần dưỡng chất chính có trong thức ăn như protein, lipid và carbohydrat, vitamin chiếm một lượng rất nhỏ, khoảng 0,1 – 0,2g. Dựa vào khả năng

hòa tan, vitamin được chia thành 2 nhóm chính. Nhóm vitamin hòa tan trong nước (vitamin C, các vitamin nhóm B) và nhóm vitamin hòa tan trong dầu (vitamin E, vitamin D, vitamin A và vitamin K) [27].

Vitamin hoạt động với vai trò chủ yếu là đồng yếu tố cho các enzym hay là tác nhân hỗ trợ các enzyme thực hiện các phản ứng sinh hóa trong cơ thể sinh vật, do vậy việc thiếu hụt vitamin dẫn đến giảm hoạt tính các enzyme, từ đó ảnh hưởng đến tăng trưởng, tỷ lệ sống và tăng tính miễn cảm của cá với các bệnh truyền nhiễm. Nhiều nghiên cứu cho thấy, động vật thủy sản không có khả năng hay khả năng tổng hợp vitamin rất ít, nguồn vitamin cung cấp cho cơ thể phần lớn phải được lấy từ bên ngoài thông qua các loại thức ăn tự nhiên. Tuy nhiên, trong nuôi thủy sản thâm canh, nguồn vitamin từ thức ăn tự nhiên rất hạn chế nên việc bổ sung vitamin vào thức ăn công nghiệp rất cần thiết. Việc bổ sung vitamin với hàm lượng phù hợp cần căn cứ vào nhu cầu sử dụng vitamin của cá. Nhu cầu này được xác định là lượng vitamin cần thiết cho một kg thể trọng/ngày để đáp ứng các hoạt động sinh lý cụ thể. Dù ở bất kỳ mức độ đáp ứng nào, nhu cầu vitamin bị ảnh hưởng bởi loài cá, kích cỡ cá, trạng thái sinh lý, tác động giữa các thành phần dinh dưỡng trong thức ăn và yếu tố môi trường [91].

Trong cơ thể động vật thủy sản, vitamin được tích trữ nhiều ở gan và nội tạng, một số ít phân bố ở mắt và cơ thịt của cá. Trong số các loại vitamin bổ sung cho cơ thể, vitamin C và vitamin E được xem là vitamin thiết yếu bởi khả năng chống oxy hóa mạnh mẽ và tăng cường sức đề kháng ở vật nuôi. Với những hiểu biết ngày càng sâu về vai trò, chức năng của vitamin C và vitamin E ở động vật trên cạn nên 2 loại vitamin này cũng được nghiên cứu, sử dụng cho động vật thủy sản [73, 130, 131, 135]. Tuy nhiên, đến nay các nghiên cứu này ở động vật thủy sản tại Việt Nam vẫn còn rất hạn chế.

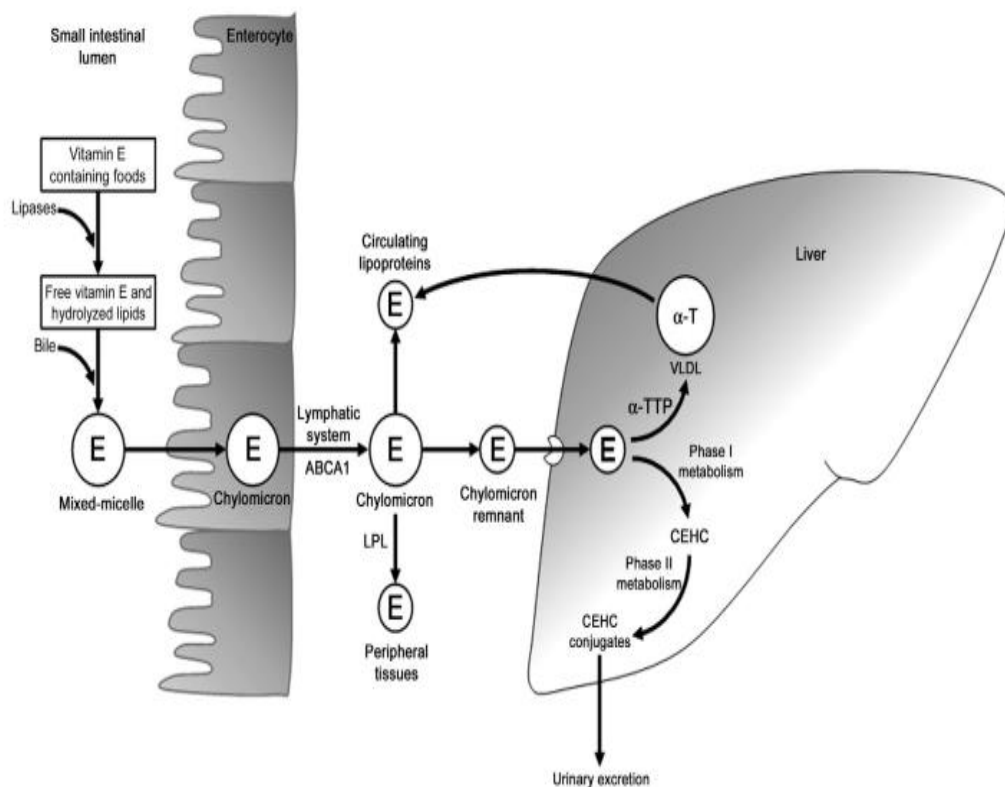
1.2.1. Vitamin E

1.2.1.1. Khái quát vitamin E

Vitamin E là một nhóm các phân tử hòa tan trong dầu, bao gồm tám dẫn xuất và được chia làm 2 nhóm chính là: tocopherols và tocotrienols. Cả tocopherols và tocotrienols đều có thể tồn tại ở dạng α (alpha), β (beta), γ (gamma) và δ (delta) và các dạng này được xác định bởi số lượng và vị trí của các nhóm methyl trên vòng

chromanol. Trong số các dẫn xuất của vitamin E, α -tocopherol (5, 7, 8-trimetyl tocol) (α -TOH) là dạng vitamin E phổ biến nhất, với hoạt tính sinh học cao nhất [74].

Vitamin E và các vitamin hòa tan trong dầu khác được hấp thụ tại ruột non nhờ men lipase và muối mật. Tại ruột, một phần vitamin E theo hệ tuần hoàn bạch huyết đưa đến các mô ngoại vi của cơ thể hoặc chuyển sang dạng lipoprotein, phần lớn vitamin E còn lại sẽ được đưa đến gan. Tại gan, vitamin E dạng α -tocopherol được một protein có chức năng vận chuyển tocopherol (α TTP: α -tocopherol transfer protein) giữ lại và đưa vào hệ tuần hoàn, kết quả là nồng độ của α -TOH trong máu và hầu hết các mô cao hơn nhiều (khoảng 50 lần) so với bầy dạng còn lại (Hình 1.3) [136].



Hình 1.3 Quá trình hấp thụ và chuyển hóa α -TOH của gan (Bruno, 2014)

Tác hại thiếu hụt vitamin E trước tiên là ảnh hưởng đến quá trình oxy hóa lipid ở màng tế bào và những cơ quan giàu lipid như cơ và gan cá. Gan là trung tâm chuyển hóa lipid, protein và giải độc, cơ thì chứa nhiều sợi protein và lipid trong màng tế bào cơ vân, rất nhạy cảm với sự mất cân bằng oxy hóa [74]. Nhiều nghiên cứu thực nghiệm đã chứng minh mối liên hệ giữa tình trạng thiếu hụt vitamin E với tình trạng thoái hóa cơ và hoại tử gan ở cá. Thiếu vitamin E làm giảm khả năng chống oxy hóa, tăng tích lũy các gốc tự do, dẫn đến quá trình oxy hóa lipid trong màng tế bào cơ, tế

bào gan tăng cao, gây tổn thương mô cơ và mô gan. Căng thẳng oxy hóa trong gan làm giảm hiệu quả chuyển hóa dinh dưỡng, dẫn đến tích tụ lipid peroxide trong gan, làm rối loạn chức năng gan, dẫn đến viêm và hoại tử [106].

Dấu hiệu thiếu hụt vitamin E khác nhau giữa các loài sinh vật cũng như điều kiện thí nghiệm do sự tương tác của vitamin E với các dưỡng chất khác, do kích thước cơ thể cũng như sự phân bố vitamin E ở các cơ quan của các sinh vật khác nhau. Nhìn chung, biểu hiện bệnh lý do thiếu vitamin E ở hầu hết các nghiên cứu trên cá là tăng trưởng giảm, hiệu suất sử dụng thức ăn kém, tăng tỷ lệ tử vong, thiếu máu, đổi màu gan, hoại tử tế bào gan, gây thoái hóa cơ và suy giảm miễn dịch [46]. Tuy nhiên, việc sử dụng vitamin E quá mức có thể gây hại cho cơ thể sinh vật. Bera (2022) cho rằng, vitamin E hoạt động như một chất chống đông, nên việc sử dụng vitamin E quá mức có thể gia tăng nguy cơ chảy máu [27].

1.2.1.2. Tình hình bổ sung vitamin E vào thức ăn của cá

Động vật nói chung không sinh tổng hợp tocopherols cũng như không lưu trữ chúng với một lượng lớn trong cơ thể, do đó việc cung cấp liên tục vitamin E trong thức ăn hằng ngày để duy trì tăng trưởng và các chức năng sinh lý là cần thiết. Mức vitamin E bổ sung vào thức ăn cho cá phụ thuộc vào loài cá, giai đoạn phát triển, điều kiện môi trường.

Mỗi loài cá khác nhau cần bổ sung lượng vitamin E khác nhau. Ở cá biển, nhu cầu về các acid béo cần thiết ở cá cao hơn so với cá nước ngọt nên tỷ trọng lipid nói chung trong khẩu phần ăn hằng ngày của cá biển khá lớn. Khi thức ăn có hàm lượng lipid cao thì nhu cầu vitamin E trong thức ăn cũng cao [46].

Mức vitamin E bổ sung vào thức ăn cho cá biển đã được nhiều tác giả nghiên cứu và đề ra mức phù hợp cho từng đối tượng nuôi (Bảng 1.1).

Bảng 1.1 Hàm lượng vitamin E (α -TOH) bổ sung vào thức ăn cho cá

Loài	Cỡ cá (g)	Hàm lượng VE (mg/kg thức ăn)	Thông số đánh giá	Tác giả
Cá mú <i>Epinephelus spp.</i>	7,8	61=4%,104=9%	WG	Lin (2005)
		68=4%/115=9%	TBARS	
Cá hồng mỹ <i>S. ocellatus</i>	12,2	31	TBARS	Peng (2009)
		60/80	RB	
Cá vệt <i>Oplegnathus fasciatus</i>	20,15	38	WG, PE, FCR	GB Galaz (2010)
		500	RB, MPO, kháng V. <i>anguillarum</i>	
Cá giò <i>Rhachycentron canadum</i>	6,1	78	WG	Zhou (2012)
		111	LZY	
Cá <i>Argyrosomus regius</i>	62,9	451	TBARS	Lozano (2016)
Cá đu vàng <i>Larimichthys crocea</i>	3	120	FBW, SGR	Yi (2017)
Cá chẽm <i>Micropterus salmoides</i>	7,54	73	WG	Li (2018)
		118,7	LZY, RB, CH50	
Cá đu <i>Nibea albiflora</i>	32,32	68,75	WG	Wang (2019)
		292,7	LZY	
Cá chim vây vàng <i>Trachinotus ovatus</i>	13,4	90,75	WG	Zhang (2021)

WG, weight gain; PE, protein efficiency; LZY, lysozyme activity; SUR, survival; RB, respiratory burst; TBARS, thiobarbituric acid-reactive substance; MPO, Myeloperoxidase; CH50, complement activity; GLC, glucose; SOD, superoxide dismutase.

Bên cạnh đó, vitamin E cần bổ sung với một lượng đáng kể vào khẩu phần ăn cho động vật thủy sản nhằm hạn chế quá trình oxy hóa lipid - một trong những thành phần sinh hóa cơ bản trong thức ăn cũng như trong cơ thể của cá nói riêng và động

thực vật nói chung [81]. Sự gia tăng nhu cầu PUFAs (Polyunsaturated fatty acids) trong thức ăn ở những con non, con đang trong giai đoạn phát triển cũng kéo theo tăng nhu cầu bổ sung vitamin E để chống oxy hóa PUFAs [27].

Bên cạnh đó, việc bổ sung vitamin E còn phụ thuộc vào điều kiện môi trường và mục đích sử dụng. Khi điều kiện môi trường bất lợi như nhiệt độ vượt ngưỡng giới hạn thích nghi của cá, mức vitamin E bổ sung sẽ thay đổi. Tác động của nhiệt độ lên mức vitamin E bổ sung vào thức ăn cho động vật thủy sản chưa được minh chứng nhiều, chỉ có Chen và cộng sự (2004) ghi nhận, khi cá golden shiner (*Notemigonus crysoleucas*) sử dụng thức ăn thiếu vitamin E và sống ở điều kiện nhiệt độ cao (36 – 37,8°C) thì tỷ lệ sống, hàm lượng vitamin E nội tạng và các chỉ số huyết học của cá bị suy giảm [32]. Nghiên cứu trên cá hồi vân *S. gairdneri* cho thấy, ở điều kiện nhiệt độ thấp 6°C, cá có nhu cầu vitamin E nhiều hơn so với nhiệt độ thích hợp 12°C [38]. Những nghiên cứu ở động vật trên cạn cho thấy, vitamin E là hàng phòng thủ đầu tiên trong việc chống oxy hóa lipid do tác dụng của nhiệt. Nếu nhiệt độ môi trường sống tăng cao làm giảm hàm lượng vitamin E cũng như các khoáng chất khác trong huyết thanh, do đó, cần bổ sung vitamin E cùng với một số vitamin và khoáng chất khác vào thức ăn để nâng cao sức khỏe cho vật nuôi trong điều kiện nhiệt độ cao là cần thiết [61]. Với mục đích giúp cá chống lại những căng thẳng oxy hóa do điều kiện bất lợi gây ra, nghiên cứu trên cá đù vàng *Larmichthys crocea* cho thấy, nhu cầu vitamin E cho chức năng sinh lý, sinh trưởng bình thường của cá là 60 mg/kg thức ăn (TA), nhưng khi cá sử dụng thức ăn có thành phần dầu ăn bị oxy hóa thì nhu cầu vitamin E tăng cao đến 600 mg/kg TA mới đảm bảo chức năng sinh trưởng cũng như các chức năng sinh lý khác của cá [123].

1.2.2. Vitamin C

1.2.2.1. Khái quát vitamin C

Vitamin C là axit L-ascorbic (AA) hay đơn giản là ascorbate (anion của AA). Đây là một trong những loại vitamin tan trong nước, có hoạt tính sinh học cao ở dạng hợp chất và kém ở dạng ion ascorbate [39].

Vitamin C được sử dụng cho động vật thủy sản ở 2 dạng khác nhau gồm: dạng tinh thể (crystallize)/nguyên chất và dạng dẫn xuất từ muối. Vitamin C tinh thể với giá thành rẻ và lượng vitamin thực tế chiếm 99% được ưu tiên lựa chọn để trộn định kỳ

vào thức ăn công nghiệp để nâng cao sức đề kháng của cá nuôi. Tuy nhiên, chúng dễ bị hòa tan trong nước nếu được bổ sung trực tiếp vào thức ăn công nghiệp. Do vậy, để làm giảm sự hòa tan nhanh của vitamin C trong nước, người ta thường dùng ethylcellulose hay dầu để bọc vitamin C (vitamin C coated, C-coat). Bên cạnh đó, vitamin C tinh thể dễ bị phân hủy, mất tác dụng dưới tác động của ánh sáng, nhiệt độ, độ ẩm và sự oxy hóa bởi quá trình bổ sung, chế biến và bảo quản thức ăn thủy sản. Do vậy, một số vitamin C dạng ester với hoạt tính sinh học và độ ổn định cao hơn được đưa vào thay thế, sử dụng phổ biến trong nuôi trồng thủy sản, đặc biệt là được sử dụng trong chế biến thức ăn công nghiệp dạng viên nén [96].

Vitamin C dạng ester là các dẫn xuất photphat (L-Ascorbyl-2-Polyphosphate, C-PO₄) hay dẫn xuất sunphat (L-Ascorbyl-2-Sulfate, C-SO₄) của vitamin C [96]. Sự hiện diện của các nhóm này làm tăng khả năng chịu nhiệt, giảm khả năng tan trong nước và bị oxy hóa của vitamin C. Các dẫn xuất của vitamin C bao gồm L-ascorbyl-2-sulphat (C₂S), L-ascorbyl-2-monophosphate-Mg (C₂MP-Mg), L-ascorbyl-2-monophosphate-Ca (C₂MP-Ca), L-ascorbyl-2-monophosphate-Na/Mg (C₂MP-Na/Mg), L-ascorbyl-2-polyphosphat (C₂PP) và ascorbate-2-glucose (C₂D) [40].

Vitamin C đóng vai trò quan trọng trong việc duy trì hình thái và cấu trúc xương của cá thông qua quá trình hydroxyl hóa các amino acid proline và lysine, giúp hình thành cấu trúc bền vững của sợi collagen, một thành phần chính của mô xương. Bên cạnh đó, vitamin C thúc đẩy sự tăng sinh và biệt hóa của các tế bào tạo xương, giúp tăng cường quá trình tạo mô xương mới, sửa chữa nhanh chóng các tổn thương do tác động cơ học hoặc yếu tố môi trường bất lợi gây ra. Với vai trò là chất chống oxy hóa, vitamin C bảo vệ tế bào xương khỏi tổn thương do căng thẳng oxy hóa, tạo môi trường thuận lợi cho sự tái tạo xương, duy trì tính toàn vẹn của mô xương. Vitamin C cũng giúp điều chỉnh quá trình tích tụ khoáng chất, duy trì sức khỏe của mô liên kết và màng ruột, tạo điều kiện thuận lợi cho sự hấp thụ canxi, tăng cường khả năng tích tụ khoáng chất trong xương, tăng cường mật độ xương và ngăn ngừa tình trạng loãng xương [39].

Thiếu vitamin C trong thức ăn của cá sẽ dẫn đến tình trạng lơ đờ, bỏ ăn, da sẫm màu, sinh trưởng kém, tăng tỷ lệ tử vong, dị dạng cơ thể (vẹo cột sống, dị dạng đốt sống, dị hình xương hàm, dị dạng cấu trúc sụn vây, sụn mang và sụn mắt), tăng hàm

lượng triglycerides và cholesterol huyết tương, tích dịch trong xoang bụng, xuất huyết bên trong cơ thể, lồi mắt và xuất huyết mắt [40, 84, 128].

1.2.2.2. Tình hình bổ sung vitamin C vào thức ăn của cá

Cá không thể tổng hợp vitamin C cho cơ thể vì chúng thiếu enzym L-gulonolactone oxidase cần thiết cho quá trình tự tổng hợp vitamin C [39]. Do vậy, việc bổ sung vitamin C từ nguồn thức ăn bên ngoài là rất cần thiết.

Mức vitamin C bổ sung vào thức ăn đã được xác định ở một số loài cá và được khuyến nghị nằm trong khoảng 10 -10.000 mg AA/kg thức ăn [91]. Mức bổ sung vitamin C thay đổi theo loài cá, kích cỡ cá và dạng vitamin C sử dụng (Bảng 1.2).

Bảng 1.2 Hàm lượng vitamin C bổ sung vào thức ăn cho cá

Loài	Cỡ cá (g)	Dạng vitamin C	Hàm lượng (mg/kg TA)	Thông số đánh giá	Tác giả
Cá chẽm châu Á <i>Lates calcarifer</i>	5,7	C2MP-Mg	30	WG, ADS, FE	Phromkunthong (1997)
Cá chẽm Nhật Bản <i>Lateolabrax japonicas</i>	6,26	C2PP	53,5	WG	(Ai, 2004)
			489	LZY, ACP	
Largemouth bass <i>Micropterus salmoides</i>	6,67	C2MP	148	WG, SGR	Chen (2015)
Cá mú <i>E. malabaricus</i>	6,69	C2PP	17,8	WG	Lin (2005b)
			≥ 31	LZY, ACP	
Cá mú <i>E. malabaricus</i>	6,69	C2S	46,2	WG	Lin (2005b)
			≥ 86	LZY, ACP	
Cá đù vàng <i>Pseudosciaena crocea</i>	17,82	C2PP	28,2	SUR	Ai (2006)
			489	LZY, ACP, PA, RB	
Cá tráp đỏ <i>P. major</i>	3,4	C2MP-Na/Ca	400	WG, ADS	Gao (2013)
Cá giò <i>R. canadum</i>	5,5	AA	15	WG, SUR	Zhou (2012)
			400	LZY, Hb, DR	
Cá giò <i>R. canadum</i>	4,59	C2PP	44,7	WG	Xiao (2010)
			59,9-104	hepatic or muscular VC concentration	
Cá <i>Brycon amazonicus</i>	55	AA	600-800	WBC, MON	Affonso (2007)
Cá chim vây vàng <i>T. ovatus</i>	13,57	C2PP	49,73	SGR	Zhang (2019)

AA, L-ascorbic acid; C2D, L-ascorbyl-2-glucose; C2MP, ascorbyl-2-monophosphate; C2PP, L-ascorbyl-2-polyphosphate; C2S, L-ascorbyl-2-sulphate; ADS, absence of deficiency signs; DR, disease resistance; FE, feed efficiency; LZY, lysozyme activity; MLS, maximum liver storage; MMS, maximum muscle storage; MON, monocytes; SUR, survival; FE, feed efficiency; WG, weight gain; EOS, eosin; BC; blood cells

Đối với cá giai đoạn ấu trùng, vitamin C được bổ sung cho cơ thể thông qua phương pháp làm giàu thức ăn sống là luân trùng và artemia. Tuy nhiên, khi bổ sung với liều lượng thấp sẽ cho kết quả không chính xác bởi cả luân trùng và artemia đều chứa đựng một lượng lớn vitamin C trong cơ thể chúng nên việc đánh giá ảnh hưởng của vitamin C ở các mức thấp đến sự phát triển của ấu trùng cá bị sai lệch [40]. Điều này cho thấy các nghiên cứu về nhu cầu vitamin C ở giai đoạn ấu trùng bị hạn chế khi sử dụng môi sống làm con đường đưa vitamin C vào cơ thể cá.

Ngoài tự nhiên, cá có thể tự bảo vệ mình bằng cơ chế bảo vệ không đặc hiệu phức tạp. Tuy nhiên, khi cá được nuôi trong điều kiện thâm canh chịu nhiều tác động kỹ thuật có thể bị căng thẳng và làm giảm sức đề kháng tự nhiên của cá. Cá giống là giai đoạn nhạy cảm khi phải thường xuyên đối mặt với những căng thẳng từ quá trình vận chuyển, nhốt giữ hoặc ương nuôi mật độ cao, quá trình chuyển đổi từ môi trường ổn định trong trại sản xuất ra môi trường ao, lồng nuôi ngoài tự nhiên dễ biến động nên chúng dễ bị suy giảm miễn dịch. Do vậy, việc bổ sung vitamin C cho cá rất cần thiết, đặc biệt là cá giai đoạn giống.

Ở nước ta, việc bổ sung vitamin C cũng như vitamin E vào khẩu phần ăn của tôm và cá được thực hiện từ rất sớm, thường xuyên và định kỳ. Điều này cải thiện đáng kể sức khỏe vật nuôi. Tuy nhiên, việc bổ sung này chỉ mới dựa trên khuyến cáo của nhà sản xuất và liều lượng được áp dụng chung cho một nhóm sinh vật, chưa có những nghiên cứu về mức bổ sung cũng như ảnh hưởng của vitamin C, vitamin E lên tổ chức cơ thể cho từng đối tượng cụ thể. Ở cá nói riêng và động vật thủy sản nói chung, thành phần loài rất phong phú và đa dạng, vì vậy, việc xác định nhu cầu vitamin phù hợp cho từng loài cá vẫn chưa được thực hiện. Một số nghiên cứu chỉ mới tập trung ở việc đánh giá ảnh hưởng của vitamin E, vitamin C lên chất lượng sinh sản, sinh trưởng và tỷ lệ sống một số đối tượng truyền thống, có giá trị kinh tế. Đến nay, nghiên cứu về ảnh hưởng của vitamin E và C lên sinh trưởng, thành phần sinh hóa cơ thể và đáp ứng miễn dịch ở cá chim vây vàng *T. blochii* tại Việt Nam vẫn còn rất hạn chế.

1.3. Vai trò của nhiệt độ đối với sự phát triển của cá

Nhiệt độ nước là một biến số quan trọng trong nuôi trồng thủy sản nhưng đối với nhiều mô hình nuôi thủy sản, nhiệt độ nước không thể kiểm soát được. Động vật thủy sản là loài biến nhiệt, chúng không thể kiểm soát nhiệt độ cơ thể, nhiệt độ cơ thể luôn cân bằng với nhiệt độ môi trường nước. Do vậy, nhiệt độ là yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến sinh trưởng và tỷ lệ sống của cá. Động vật thủy sản thường được phân loại

thành nhóm nước lạnh, nhóm nước ấm và nhóm nhiệt đới. Mỗi nhóm loài đều có phạm vi nhiệt độ đặc trưng. Trong phạm vi thích hợp, khi nhiệt độ môi trường nước tăng làm tăng tốc độ trao đổi chất, các quá trình sinh lý được kích thích. Tuy nhiên, khi nhiệt độ tiếp tục tăng vượt quá giới hạn tối ưu của loài, cá sẽ tăng trưởng chậm lại, ngừng hoạt động và sẽ chết nếu nhiệt độ tiếp tục tăng [15].

Dưới ảnh hưởng của biến đổi khí hậu, các yếu tố môi trường nước thay đổi, trước tiên là nhiệt độ. Sự thay đổi này sẽ dẫn đến khả năng thích nghi của loài với nhiệt độ mới sau một thời gian dài tiếp xúc. Khi nhiệt độ nước tăng lên, các loài cá thuộc nhóm nhiệt đới có khả năng thích nghi tốt với nhiệt độ cao [67]. Theo Bộ Tài nguyên và Môi trường (2020), nhiệt độ trung bình hơn 60 năm qua (1958-2018) tại Việt Nam tăng khoảng 0,89°C, dự kiến đến cuối thế kỷ 21, nhiệt độ trung bình năm ở tất cả các vùng đều tăng so với thời kỳ 1986 - 2005 (1,9-2,4°C ở phía Bắc và 1,7-1,9°C ở phía Nam). Tuy nhiên, nhiệt độ tăng không đều và tính cực đoan ngày càng mạnh thêm. Điều này tác động mạnh mẽ đến các sinh vật thủy sinh, trong đó có cá.

1.4. Ảnh hưởng của vitamin và nhiệt độ lên sinh trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá

1.4.1. Sinh trưởng của cá

Tăng trưởng của cá là sự gia tăng về kích thước và khối lượng cơ thể. Tốc độ tăng trưởng đặc trưng của mỗi loài cá thay đổi theo các giai đoạn phát triển. Giai đoạn trưởng thành tốc độ tăng trưởng nhìn chung thấp hơn giai đoạn chưa trưởng thành do một phần thức ăn hấp thụ được chuyển sang sử dụng cho việc hình thành các cơ quan sinh sản. Cá sống ở vùng nước ấm có tốc độ tăng trưởng nhanh hơn và tuổi thọ ngắn hơn các loài sống ở vùng nước lạnh. Các phương pháp thông thường để xác định tăng trưởng của cá là đo chiều dài và khối lượng của một cá thể hoặc một nhóm cá thể trong một khoảng thời gian xác định ngoài tự nhiên hoặc trong điều kiện nuôi nhốt [45].

1.4.2. Các yếu tố ảnh hưởng đến sinh trưởng của cá

Các yếu tố sinh thái như nguồn thức ăn tự nhiên, dinh dưỡng, nhiệt độ, chu kỳ chiếu sáng và mùa vụ ảnh hưởng đến kích thước và tăng trưởng của cá. Trong đó, yếu tố thức ăn ảnh hưởng đáng kể đến tăng trưởng về chiều dài cũng như khối lượng của cá. Bên cạnh các yếu tố đa lượng cần được cung cấp đầy đủ cho cá thì các yếu tố vi lượng như vitamin và khoáng chất chỉ cần bổ sung một lượng rất nhỏ cho cá. Tuy

nhiên, nếu không bổ sung hoặc sung không đầy đủ vitamin và khoáng chất thì tăng trưởng của cá bị ngưng trệ [45].

1.4.2.1. Vitamin

Vitamin E tác động trực tiếp đến tăng trưởng và nâng cao tỷ lệ sống của cá thông qua việc bảo vệ màng tế bào khỏi tác động của các gốc tự do, giảm tổn thương do oxy hóa ở tổ chức mô khi cá bị căng thẳng, giúp duy trì sức khỏe tổng thể và chức năng sinh lý của cá, vitamin E kích thích sản sinh kháng thể và tế bào miễn dịch, giúp cá tăng cường sức đề kháng, chống lại bệnh tật, từ đó cá phát triển tốt hơn trong điều kiện nuôi thả [24]. Hơn nữa, vitamin E cũng tham gia vào quá trình chuyển hóa lipid, giúp cá sử dụng chất béo hiệu quả hơn, góp phần vào tăng trưởng cơ thể và tích lũy năng lượng [46].

Nhu cầu vitamin E trong khẩu phần ăn tối ưu cho tăng trưởng của các loài cá nuôi thông thường nằm trong khoảng từ 6,25 đến 200 mg α -tocopherol/kg thức ăn [56]. Nhiều nghiên cứu chứng minh khẩu phần ăn của cá thiếu vitamin E sẽ làm cá tăng trưởng chậm [65, 98, 131, 135]. Tuy nhiên, một số tác giả khác lại cho rằng, vitamin E không ảnh hưởng đến tăng trưởng của cá tráp *S. aurata* [88], cá bơn *Scophthalmus maximus*, cá bơn *Hippoglossus hippoglossus* [116], cá tầm trắng *Acipenser transmontanus* [89] và cá hồi coho *Oncorhynchus kisutch* [63].

Vitamin C có vai trò quan trọng đối với sự tăng trưởng của cá thông qua việc thúc đẩy quá trình tổng hợp collagen, là thành phần chính trong mô liên kết, cần thiết cho sự phát triển của xương, sụn và mô cơ. Vitamin C hoạt động như một đồng cơ chất cho các enzym hydroxylase và oxygenase. Hai loại enzyme này tham gia vào quá trình sinh tổng hợp pro-collagen, một dạng tiền chất để hình thành collagen. Vitamin C cũng hỗ trợ hoạt động của enzyme trong quá trình chuyển hóa protein, lipid và carbohydrate do đó ảnh hưởng trực tiếp đến tăng trưởng của cá [21]. Nhiều nghiên cứu cho thấy vitamin C được bổ sung đầy đủ vào thức ăn có thể cải thiện năng suất tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn cho các loài cá khác nhau [34, 80, 127, 132, 134]. Trong đó, nhu cầu vitamin C cho cá chêm largemouth *Micropterus salmoides* để tăng chỉ số WG và SGR là từ 102,6 – 109,5 mg/kg TA [34]. Tăng trưởng tối ưu cho cá chêm Nhật Bản *Lateolabrax japonicus* đạt được ở mức bổ sung vitamin C 53,5 mg/kg TA [20]. Tương tự ở cá giò *R. canadum* và cá chim vây vàng *T. ovatus* lần lượt cần 44,7 mg/kg TA và 49,73 mg/kg TA để thúc đẩy tăng trưởng của cá [127, 132].

1.4.2.2. Nhiệt độ

Nhiệt độ là một yếu tố môi trường quan trọng ảnh hưởng trực tiếp đến tăng trưởng của cá thông qua nhiều cơ chế khác nhau. Tăng trưởng của cá bao gồm nhiều quá trình sinh hóa, trao đổi chất và tốc độ của các quá trình này có xu hướng tăng theo định luật Van't Hoff. Theo đó, khi nhiệt độ tăng 10°C trong phạm vi tối ưu của loài sẽ kích thích cá ăn nhiều hơn, làm tăng đáng kể tốc độ sinh trưởng của cá. Tuy nhiên, nhiệt độ vượt quá ngưỡng sinh lý, hiệu quả sử dụng thức ăn của cá giảm, quá trình trao đổi chất có thể bị rối loạn hoặc ngừng trệ làm giảm hiệu quả sử dụng năng lượng và gây căng thẳng cho cá. Bên cạnh đó, nhiệt độ quá cao hoặc quá thấp cũng ảnh hưởng đến hoạt tính của vitamin bổ sung trong thức ăn, làm giảm hiệu quả bảo vệ của vitamin [133]. Một số loài cá nhiệt đới có khả năng thích nghi tốt hơn với sự thay đổi nhiệt độ so với các loài cá vùng nước lạnh, nhưng việc tiếp xúc với nhiệt độ cao kéo dài vẫn có thể dẫn đến suy giảm tăng trưởng của cá. Kết quả nghiên cứu trên cá chêm mõm nhọn *P. waigiensis* cho thấy, nhiệt độ cao cực đoan 32°C làm giảm tăng trưởng, giảm hiệu quả sử dụng thức ăn và tỷ lệ sống của cá. Khi cá được bổ sung vitamin C thì tỷ lệ sống của cá ở nghiệm thức 32°C vẫn thấp hơn so với 28°C [73]. Trong phạm vi nhiệt độ từ 29°C đến 33°C, cá chim vây vàng *T. ovatus* tăng trưởng nhanh hơn nhóm cá sống ở nhiệt độ thấp từ 23°C đến 26°C nhưng tỷ lệ sống của cá cao hơn khi được ương ở khoảng nhiệt từ 26°C đến 29°C [128].

1.5. Ảnh hưởng của vitamin và nhiệt độ lên thành phần sinh hóa cơ thể cá

1.5.1. Thành phần sinh hóa cơ thể cá

Thành phần hóa học thịt cá được xem là thông tin đáng tin cậy phản ánh về chất lượng thịt cá, giá trị dinh dưỡng, trạng thái sinh lý và môi trường sống của cá. Thành phần hóa học chính của cá là 66%–81% nước, 16%–21% protein, 1,2%–1,5% khoáng chất, 0,2%–25% chất béo và 0%–0,5% carbohydrate. Love (1957) báo cáo rằng 96%–98% thành phần cơ thể của cá được cấu thành bởi độ ẩm, protein, chất béo và tro. Việc đánh giá các thành phần này được gọi là “thành phần gần đúng” của cá [82].

Thành phần gần đúng của cá khác nhau tùy thuộc vào thành phần thức ăn, tập tính ăn (food & feeding habits), khẩu phần ăn, loài cá, cỡ cá, giới tính, giai đoạn phát triển, môi trường sống, tập tính di cư/mùa vụ sinh sản, yếu tố di truyền. Thành phần gần đúng của một số loài cá biển có giá trị kinh tế được trình bày trong bảng 1.3 [17].

Bảng 1.3 Thành phần sinh hóa một số loài cá biển

STT	Loài cá (Tên khoa học)	Tên thường gọi	Độ ẩm (%)	Protein (%)	Lipid (%)	Tro (%)
1	<i>Carangoides orthogrammus</i> Dhaneesh (2012)	Island trevally	NA	11.51	4.21	1.51
2	<i>Enneacanthus sonnerati</i> Kuttyayappan (1976)	Red coral cod	77.63	17.06	1.04	3.96
3	<i>Epinephelus areolatus</i> Palani (2014)	Areolate grouper	78.99	16.84	0.85	3.79
4	<i>Epinephelus chlorostigma</i> Younis (2021)	Brown spotted grouper	79.87	15.28	2.05	5.04
5	<i>Leiognathus splendens</i> Mohanty (2016)	Splendid ponyfish	74.7	17.2	3.8	3.1
6	<i>Lutjanus quinquelineatus</i> Palani (2014)	Lined snapper	75.75	21.46	3.43	1.81
7	<i>Nemipterus japonicus</i> Mohanty (2016)	Threadfin bream	78.5	15.4	5.1	1
8	<i>Pampus argenteus</i> Mohanty & Nayak (2018)	Silver pomfret	73.3	18.6	5.6	1.2
9	<i>Pampus chinensis</i> Mohanty & Nayak (2018)	Chinese silver pomfret	75.8	19.05	2.7	1.1
10	<i>Parastromateus niger</i> Younis (2021)	Black pomfret	80.65	17.21	1.66	3.42
11	<i>Rachycentron canadus</i> El-Faer (1992)	Cá giò	78.65	19.7	0.45	1.32
12	<i>Rastrelliger kanagurta</i> Mohanty & Nayak (2018)	Indian mackerel	76.5	19.39	1.5	1.5
13	<i>Scomberomorus commerson</i> El-Faer (1992)		74.9	21.9	1.82	1.44
14	<i>Selaroides leptolepis</i> Palani (2014)	Yellow stripe scad	75.01	19.18	2.89	1.41
15	<i>Seriola dumerili</i> El-Faer (1992)	Yellow tail trevally	75.05	20.3	2.95	1.49
16	<i>Siganus canaliculatus</i> El-Faer (1992)	White spotted spine foot	78.62	17.9	1.9	1.47
17	<i>Sillago sihama</i> Mohanty (2015)	Northern whiting	56.79	17.47	3.45	1.2
18	<i>Sphyraena obtusata</i> Palani (2014)	Obtuse barracoda	80.48	16.1	3.53	1.19

Thành phần đầu tiên và cơ bản nhất khi xác định hàm lượng dinh dưỡng cơ thể cá là độ ẩm. Tỷ lệ độ ẩm trong thực phẩm là một chỉ số tuyệt vời để đánh giá lượng calo, protein và chất béo. Cá có độ ẩm thấp đồng nghĩa với hàm lượng chất béo, protein cũng

nhu calo cao hơn. Các giá trị này khác nhau đáng kể tùy thuộc vào loài cá, kích cỡ, giới tính và mùa vụ. Trong cơ thể động vật nói chung, bao gồm cả cá, hàm lượng nước là cao nhất, thường dao động trong khoảng từ 60% đến 80%, và ở một số loài cá đặc biệt như cá khoai *Harpadon nehereus*, tỷ lệ nước trong cơ thể lên tới 90% [82].

Protein là thành phần hóa học chủ yếu trong thịt động vật thủy sản, chiếm khoảng 60% - 75% khối lượng khô. Chúng có chức năng xây dựng và sửa chữa các mô, cải thiện chất lượng máu và khả năng miễn dịch, đóng vai trò quan trọng trong sự phát triển tối ưu của cá. Hàm lượng protein của cá có thể được xem như một công cụ đánh giá các yếu tố sinh lý của chúng. Wu (2014) đã báo cáo rằng, hàm lượng protein và chất béo trong cá phụ thuộc vào nhiều yếu tố khác nhau như thức ăn, giới tính, giai đoạn phát triển, kích thước, mùa vụ và môi trường sống [126].

Chất béo là thành phần chính thứ ba trong cơ thể cá với hàm lượng dao động trong khoảng 6% - 20%. Chúng là nguồn cung cấp các acid béo cần thiết và được coi là nguồn năng lượng tốt nhất trong khẩu phần ăn của cá. Chất béo nằm chủ yếu ở mô dưới da, gan cá, mô cơ, màng treo ruột, lườn bụng và đầu. Ở một số loài cá, lượng lipid trong cơ thể được xem là chỉ số quan trọng về khả năng sống sót của chúng, Chất béo ở cá chủ yếu là các acid béo không bão hòa đa nối đôi (PUFAs). Hàm lượng các acid béo cũng phản ánh tỷ lệ phần trăm giữa chất béo và nước. Các yếu tố ảnh hưởng đến sự thay đổi thành phần axit béo trong cá như chế độ ăn, loài, mùa vụ, nhiệt độ, độ mặn,.... [114].

Tro là phần vô cơ còn lại sau quá trình đốt cháy hoặc oxy hóa hoàn toàn các hợp chất hữu cơ. Thành phần chủ yếu trong tro là các khoáng chất nên chỉ số này có ý nghĩa quan trọng để đánh giá dinh dưỡng của mẫu thực phẩm. Về mặt số lượng, nó đứng ở vị trí thứ tư và thay đổi từ 0,5% đến 5% tổng khối lượng cơ thể cá. Một số đối tượng thủy sản chứa khoáng chất đặc biệt nên việc tro hóa cũng là bước đầu tiên khi chuẩn bị phân tích mẫu. Trong cơ thể cá, cơ và xương chứa phần lớn khoáng chất, trong đó xương trữ khoáng tới 65% [94].

Lượng tro trong cơ thể cá cũng như động vật hai mảnh vỏ chịu ảnh hưởng của nhiều yếu tố khác nhau như thức ăn, loài, các yếu tố môi trường, chủ yếu là nhiệt độ, mùa vụ, độ mặn, vị trí địa lý, tập tính ăn (feeding behavior), di cư [103].

1.5.2. Các yếu tố ảnh hưởng đến thành phần sinh hóa của cá

Thành phần sinh hóa của mỗi loài cá khác nhau do đặc điểm di truyền bao gồm giai đoạn phát triển, kích cỡ, tuổi, giới tính, vị trí của mẫu được thu. Bên cạnh đó, các yếu tố bên ngoài như thức ăn, nhiệt độ môi trường, pH, ánh sáng, nồng độ oxy hòa tan, độ mặn cũng ảnh hưởng đến thành phần sinh hóa cơ thể cá. Mặt khác, việc đánh bắt, vận chuyển, lưu trữ, bảo quản sản phẩm sau thu hoạch cũng tác động đến chất lượng thịt cá. Trong các yếu tố trên, thành phần dinh dưỡng trong thức ăn được xem là một trong những tác nhân ảnh hưởng đáng kể đến thành phần sinh hóa cơ thể cá.

1.5.2.1. Vitamin

Vitamin E tác động đáng kể lên thành phần sinh hóa cơ thể cá bao gồm các biến đổi về protein, lipid, enzyme và khoáng chất trong cơ thể cá. Trước tiên, vitamin E bảo vệ protein và chất béo khỏi quá trình oxy hóa, giảm sự hình thành lipid peroxide, từ đó ngăn ngừa tổn thương tế bào và mô trong cơ thể cá, giúp ổn định thành phần protein và lipid trong thịt cá. Cũng thông qua vai trò chống oxy hóa, vitamin E bảo vệ màng tế bào, góp phần duy trì cân bằng ion và khoáng chất trong cơ thể cá, giảm thiểu sự mất cân bằng khoáng chất do căng thẳng oxy hóa. Bên cạnh đó, vitamin E cũng tăng hoạt tính của các enzyme chống oxy hóa như glutathione peroxidase (GSH-Px), catalase (CAT) và giảm hoạt tính enzyme liên quan đến tổn thương tế bào như malondialdehyde (MDA) [77]. Theo Chen và cộng sự (2004) cho rằng cá không được bổ sung vitamin E có hàm lượng protein, lipid thô và chất khô thấp [32]. Vitamin E cũng ảnh hưởng rõ rệt lên hàm lượng protein của cá rô hu *L. rohita* [107], cá rô phi lai *Oreochromis niloticus* x *O. aureus* [64]. Tuy nhiên, nghiên cứu trên cá tầm beluga *H. huso* cho thấy, vitamin E không ảnh hưởng đến hàm lượng protein, chất béo, tro và độ ẩm của cá [24]. Kết quả tương tự cũng được ghi nhận trên cá hồi Coho *O. kisutch* [63], cá chêm *D. labrax* [54], cá giò *R. canadum* giai đoạn giống [1].

Tương tự vitamin E, vitamin C cũng được ghi nhận có ảnh hưởng đến thành phần sinh hóa cơ thể cá. Vitamin C là đồng yếu tố trong các phản ứng sinh hóa, thúc đẩy sự tổng hợp collagen, hỗ trợ cấu trúc cơ và xương, tăng cường tổng hợp carnitine, vận chuyển các axit béo vào ty thể. Bên cạnh đó, với vai trò chống oxy hóa, vitamin C giúp bảo vệ enzyme và cấu trúc tế bào khỏi tổn thương do oxy hóa, hỗ trợ chống dị hóa protein và lipid, từ đó giảm phân hủy protein và lipid trong cơ thể [21]. Nghiên cứu trên cá *Heteropneustes fossilis* cho thấy, bổ sung 1.200 mg vitamin C/kg thức ăn có tác

dụng làm tăng tỷ lệ protein và giảm tỷ lệ nước của cơ thể [22] hay bổ sung 59,1 mg/kg TA cho cá chim *T. ovatus* làm tăng hàm lượng protein và lipid [130]. Việc bổ sung vitamin C đơn thuần không ảnh hưởng đến hàm lượng protein, độ ẩm, lượng tro của cá chêm châu Á *Lates calcarifer* nhưng vitamin C có tác dụng tích cực đến các thông số trên khi được bổ sung cùng với chiết xuất từ củ gừng [14]. Vitamin C cũng ảnh hưởng lên thành phần sinh hóa cơ thể cá hồi vân *Oncorhynchus mykiss* khi bổ sung phối hợp với L-carnitine, kết quả ghi nhận lượng lipid cao nhất ở nghiệm thức bổ sung 1000/800 vitamin C/L-carnitine vào thức ăn, thấp nhất ở nghiệm thức không bổ sung vitamin C/L-carnitine. Lượng protein cơ thể cá cao nhất khi sử dụng 500/800 vitamin C/L-carnitine [112]. Tuy nhiên, vitamin C không ảnh hưởng đến thành phần sinh hóa cá giò *R. canadum* giai đoạn giống khi được bổ sung cùng vitamin E [1].

1.5.2.2. Nhiệt độ

Nhiệt độ là một yếu tố môi trường quan trọng ảnh hưởng đến các quá trình sinh lý và sự cân bằng sinh hóa trong cơ thể cá. Nhiệt độ tăng trong phạm vi tối ưu của loài có thể làm gia tăng quá trình trao đổi chất và tổng hợp protein, quá trình tích lũy và sử dụng lipid diễn ra bình thường, giúp duy trì năng lượng cho cá. Tuy nhiên, khi nhiệt độ vượt quá ngưỡng chịu đựng của cá làm giảm khả năng tổng hợp protein, ảnh hưởng đến khả năng hấp thu và sử dụng các khoáng chất thiết yếu như canxi, magiê và photpho, từ đó tác động đến sự phát triển của xương cá [72]. Trong trường hợp nhiệt độ cao, quá trình oxy hóa lipid, protein diễn ra mạnh mẽ hình thành các sản phẩm gây hại, giảm lượng lipid và protein tích trữ. Nhiệt độ cao cũng làm tăng tỷ lệ mất nước qua da và mang cá, làm thay đổi cân bằng nước-muối trong cơ thể, ảnh hưởng đến khả năng điều hòa áp suất thẩm thấu và làm biến đổi thành phần sinh hóa trong cơ thể cá [33]. Nhiệt độ được minh chứng là có ảnh hưởng lên thành phần sinh hóa cơ thể cá, nhất là hàm lượng các acid béo cần thiết trong cơ thể. Jobling (2003) báo cáo rằng nhiệt độ nước thấp làm giảm tỷ lệ các axit béo bão hòa và làm tăng tỷ lệ các axit béo không bão hòa ở cá hồi Đại Tây Dương *Salmo salar* L. [68]. Nghiên cứu trên cá chêm mồm nhọn *P. waigiensis* cho thấy, mức protein và lipid của cá được nuôi ở nhiệt độ 28°C cao hơn 32°C [73]. Cá hồi được nuôi ở nhiệt độ 10°C thể hiện lượng axit béo n-6 trong phi lê cao hơn so với khi nuôi ở 20°C [95]. Kết quả tương tự cũng được công bố đối với cá hồi vân được nuôi ở nhiệt độ 15°C so với 19°C [86].

1.6. Ảnh hưởng của vitamin và nhiệt độ lên đáp ứng miễn dịch tự nhiên của cá

1.6.1. Đặc điểm hệ miễn dịch của cá xương

Hệ miễn dịch của cá được nghiên cứu đầu tiên vào những năm 50 của thế kỷ 18, tuy nhiên thông tin về miễn dịch ở cá mới chỉ là những mô tả về hình thái giải phẫu các cơ quan miễn dịch hay chứng minh sự hiện diện của các tế bào thực bào trong máu cá. Đến năm 1940, miễn dịch học ở cá mới được hiểu biết sâu rộng hơn khi được các nhà khoa học quan tâm nghiên cứu [13].

Theo quan điểm tiến hóa, cá được xem là lớp động vật có xương sống thấp nhất có cả hệ miễn dịch bẩm sinh và miễn dịch thích nghi. Ở cá cũng như ở động vật không xương sống hay động vật có xương sống bậc cao đều có một số chức năng miễn dịch tương đồng, tuy nhiên đáp ứng miễn dịch ở cá không phức tạp như ở động vật có xương sống bậc cao. Do cá là động vật biến nhiệt nên hoạt động của hệ miễn dịch tự nhiên và miễn dịch thích nghi của cá đều chịu sự tác động của các yếu tố môi trường nước, nhất là nhiệt độ [117]. Khác với động vật hữu nhũ, miễn dịch bẩm sinh của cá được xem là tuyến phòng thủ đầu tiên và có vai trò chủ yếu trong việc bảo vệ cơ thể. Khi mầm bệnh xâm nhập cơ thể cá, hệ thống miễn dịch bẩm sinh có thể ngăn chặn hiệu quả sự lây nhiễm [120].

Hệ miễn dịch của cá hoạt động hiệu quả ở nhiều môi trường nước khác nhau, thậm chí ở những môi trường khắc nghiệt. Ngoài tự nhiên, cá có thể tự bảo vệ mình bằng cơ chế bảo vệ tự nhiên phức tạp. Tuy nhiên, cá nuôi trong điều kiện thâm canh chịu nhiều tác động kỹ thuật có thể gây căng thẳng và làm giảm sức đề kháng tự nhiên của cá [69].

1.6.2. Miễn dịch tự nhiên

Miễn dịch tự nhiên hay còn gọi là miễn dịch không đặc hiệu là khả năng tự bảo vệ sẵn có của cá thể ngay từ khi mới sinh, không đòi hỏi phải có sự tiếp xúc trước với tác nhân gây bệnh và mang tính di truyền giống nhau giữa các cá thể cùng loài. Đáp ứng miễn dịch tự nhiên được xem như tuyến phòng thủ đầu tiên chống lại các vật lạ xâm nhập, do đó nó giữ một vai trò quan trọng trong việc bảo vệ cơ thể khi hệ miễn dịch thích nghi cần khoảng thời gian dài hơn để tạo kháng thể và hoạt hóa các tế bào đặc hiệu. Tuy nhiên, hệ miễn dịch tự nhiên rất nhạy cảm với những thay đổi của môi trường nên nhiều lúc chức năng miễn dịch bị gián đoạn [13].

Miễn dịch không đặc hiệu có ở tất cả các loài động vật đa bào, bao gồm cả cá, được phân thành 2 nhánh: một nhánh cảm nhận và một nhánh phản ứng. Mỗi nhánh

miễn dịch bẩm sinh được chia thành hàng rào vật lý, hàng rào tế bào và hàng rào dịch thể. Các yếu tố bên ngoài có hại hay không, muốn xâm nhập vào bên trong cơ thể phải đi qua một loạt các hàng rào ngăn cách [69].

Vảy cá, biểu mô da, biểu mô mang hay biểu mô các ống tiêu hóa là rào cản cơ học ngăn chặn sự tấn công của vi sinh vật vào cơ thể. Cùng với đó là các chất bài tiết bao phủ toàn bộ cơ thể cá cũng tham gia vào sự bảo vệ bề mặt cơ thể. Ngoài tác dụng bảo vệ và loại bỏ mầm bệnh hiệu quả, chất nhầy của cá còn chứa những hợp chất kháng khuẩn, bao gồm lectin, pentraxin, hệ bổ thể, lysozyme, các peptide kháng khuẩn và IgM [70].

Khi tác nhân ngoại lai vượt qua được hàng rào vật lý và hóa học sẽ bị ngăn cản, tấn công bởi các thành phần dịch thể. Chúng là chất tiết của các tế bào khác nhau hoặc những sản phẩm chuyển hóa của nhiều cơ quan và được hòa tan trong dịch cơ thể. Các thành phần dịch thể này bao gồm: trypsin, lysozyme, kháng thể, các thành phần hệ bổ thể và các yếu tố khác gây ly giải tế bào vi sinh vật. Chúng được xem như là các chỉ số đáp ứng miễn dịch tự nhiên, được sử dụng để đánh giá khả năng đáp ứng của hệ miễn dịch với một tác nhân ngoại lai [23].

Lysozyme (hay còn gọi là muramidase, EC 3.2.1.17): là một phân tử quan trọng của hàng rào dịch thể trong hệ thống miễn dịch tự nhiên, có khả năng phân cắt liên kết 1,4- β giữa axit N-acetylmuramic và N-acetylglucosamine trong peptidoglycan, thành phần chính của thành tế bào vi khuẩn gram dương, do đó ngăn chặn sự xâm nhập của chúng. Bên cạnh chức năng kháng khuẩn, lysozyme thúc đẩy quá trình thực bào bằng cách kích hoạt trực tiếp bạch cầu đa nhân trung tính và đại thực bào hoặc gián tiếp bởi một opsonin. Lysozyme được tổng hợp ở cả trong và ngoài gan; tuy nhiên, cơ chế của sự tổng hợp và bài tiết chưa rõ ràng. Hoạt lực chống lại vi khuẩn *Micrococcus lysodeikticus* của lysozyme mạnh ở mô lympho của cá sụn và huyết tương của cá xương. Lysozyme hoạt lực yếu hoặc bất hoạt ở lách cá tuyết và cá hagfish Đại Tây Dương. Lysozyme của cá có nhiều trong bạch cầu trung tính, bạch cầu đơn nhân và một lượng nhỏ trong đại thực bào. Có nghiên cứu nhận định lượng lysozyme có nhiều nhất ở thận, giảm dần ở đường tiêu hóa, lá lách, chất nhầy da, huyết thanh, mang, gan và cơ [108].

Bên trong cơ thể vật chủ, vi sinh vật cũng phải đối mặt với sự tấn công của các tế bào miễn dịch. So với miễn dịch thích nghi, mặc dù không mang đặc tính nhớ và

đặc hiệu với từng tác nhân gây bệnh nhưng các loại tế bào tham gia vào đáp ứng miễn dịch tự nhiên luôn sẵn sàng phản ứng với tác nhân lạ ngay trong lần đầu tiếp xúc.

Ở động vật có xương sống, khả năng miễn dịch bẩm sinh chủ yếu phụ thuộc vào các tế bào dòng tủy, bao gồm bạch cầu trung tính, bạch cầu ái kiềm, bạch cầu ái toan, đại thực bào và tế bào đuôi gai. Đây là hàng rào quan trọng và phức tạp nhất, bao gồm nhiều loại tế bào nhưng quan trọng nhất là các tế bào làm nhiệm vụ thực bào là bạch cầu đa nhân trung tính, bạch cầu đơn nhân/đại thực bào và các tế bào đuôi gai [29].

Đại thực bào là một dạng tế bào bạch cầu, được biệt hóa từ các bạch cầu đơn nhân, phân bố rộng rãi ở các mô, bao gồm cả mang cá và xoang cơ thể, nhưng chủ yếu được tìm thấy ở mạng lưới nội bì của thận, lách. Ở một vài loài cá, đại thực bào còn được tìm thấy ở tâm nhĩ [3]. Một trong những chức năng quan trọng của đại thực bào là tiêu diệt các tác nhân lạ nhờ quá trình thực bào. Quá trình thực bào diễn ra khi các tác nhân lạ được nhận biết và gắn kết lên màng tế bào thực bào thông qua các thụ thể trên bề mặt màng tế bào. Các tế bào thực bào hình thành giả túc bao lấy dị vật rồi vùi chúng trong một hốc gọi là hốc thực bào (phagosome). Các phagosome liên kết với lysosom hình thành lysosom thứ cấp gọi là phagolysosom. Tại đây, các gốc oxy tự do cũng như các enzyme tiêu hóa được đổ vào hốc thực bào và quá trình tiêu hóa dị vật bắt đầu [113]. Quá trình thực bào ít bị ảnh hưởng bởi nhiệt độ, do vậy đây là một trong những quá trình quan trọng nhất ở động vật biến nhiệt [85].

Khi các tế bào thực bào được các yếu tố kích thích thích hợp như phorbol myristat axetat, lectin, lipopolysaccharid (là các thành phần hòa tan) hoặc zymosan (vách tế bào nấm men), β -glucan sẽ xảy ra hiện tượng bùng nổ hô hấp [59]. Quá trình này tạo ra các gốc oxy tự do, các sản phẩm có khả năng diệt khuẩn mạnh như: $O_2^{\cdot-}$, HO^{\cdot} , ROO^{\cdot} , RO^{\cdot} , NO , H_2O_2 , $HClO$ [29].

Hoạt động thực bào của hệ miễn dịch tự nhiên còn do bạch cầu đa nhân trung tính đảm nhận. Đây là những tế bào có hạt trong lớp nguyên chất bắt màu trung tính với thuốc nhuộm, phân bố ở thận, lách, máu và các ổ viêm loét với tỷ lệ khác nhau giữa các loài cá. Ví dụ ở cá tuyết, tỷ lệ tế bào bạch cầu trung tính phân bố ở máu nhiều hơn ở thận trong khi ở cá hồi Đại Tây Dương thì ngược lại [59]. Tương tự như đại thực bào, bạch cầu trung tính cũng có sự hiện diện của thụ thể gắn kết kháng nguyên và thụ thể bổ thể, cũng tham gia vào quá trình thực bào và tiêu diệt vi khuẩn do sở hữu

enzyme myeloperoxidase (MPO) có hoạt tính oxy hóa cao và lysozyme trong các hạt lysosomes nội bào [13].

Trong số 3 loại bạch cầu có hạt, ngoài bạch cầu đa nhân trung tính, ở một số loài cá còn có bạch cầu ưa axit (Eosinophils) và bạch cầu ưa kiềm (Basophils) trong khi ở một số loài cá khác thiếu một trong 2 loại bạch cầu này. Tỷ lệ của các loại bạch cầu này trong máu các loài cá rất khác nhau [18]. Bạch cầu ưa axit và bạch cầu ưa kiềm ở cá không tham gia thực bào. Mặc dù chức năng của chúng chưa được biết rõ, nhưng nhiều nghiên cứu cho thấy chúng có vai trò tham gia phản ứng viêm và bảo vệ cơ thể chống lại ký sinh trùng [19].

Một loại tế bào khác cũng tham gia đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu, đó là tế bào độc không đặc hiệu (Non-specific cytotoxic cell - NCC). Mặc dù khác nhau về hình thái cấu tạo, nhưng chúng có chức năng tương tự như tế bào diệt tự nhiên (Natural killer cells- NK) ở động vật hữu nhũ, loại tế bào được biệt hóa từ tế bào lympho lớn có hạt. Gần đây, một phát hiện mới về điểm khác biệt của NCC ở cá so với NK ở động vật hữu nhũ ở chỗ NCC của cá là những tế bào lympho kích thước nhỏ không hạt phân bố trong các cơ quan lympho như tiền thận và lách nhưng ít gặp ở trong máu. Chúng có khả năng diệt nhiều loại tế bào đích khác nhau, bao gồm các dị bào kể cả các tế bào nuôi cấy nhân tạo, các tế bào nhiễm virus, tế bào khối u và động vật đơn bào ký sinh mà không đòi hỏi sự tham gia của kháng thể. NCC được mô tả đầu tiên ở cá da trơn, sau đó hoạt tính của nó cũng được chứng minh ở nhiều loài cá khác như cá rô phi (*Oreochromis niloticus*), cá hồi vân, cá chép và cá tráp. Hoạt tính gây độc tế bào của chúng phụ thuộc nhiều yếu tố như nhiệt độ, các dạng vitamin, và các chất kích thích miễn dịch như chitin và levamisole. Khi tác nhân lạ vượt qua được các hàng rào kể trên, cơ thể vật chủ có khả năng phối hợp đồng thời nhiều cơ chế miễn dịch không đặc hiệu bao gồm cả các yếu tố tế bào lẫn yếu tố dịch thể tạo nên quá trình bệnh lý điển hình là phản ứng viêm. Đặc điểm của phản ứng viêm là sưng, nóng, đỏ và đau. Khi cơ thể bị tổn thương, khởi đầu là sự gia tăng số lượng bạch cầu trung tính, tiếp đến là sự xuất hiện của bạch cầu đơn nhân và đại thực bào. Tại ổ viêm, hàng loạt các tế bào thuộc hệ miễn dịch không đặc hiệu được kích hoạt và thực hiện chức năng thực bào, bùng nổ hô hấp, gây độc để tạo ra một lượng đáng kể chất trung gian có khả năng oxy hóa mạnh như O^- hay NO^- để tiêu diệt mầm bệnh [25].

Bên cạnh các tế bào bạch cầu và thành phần dịch cơ thể tham gia vào đáp ứng miễn dịch tự nhiên thì hồng cầu và các thông số khác của máu cũng tham gia tích cực vào quá trình nâng cao sức khỏe vật nuôi, là các chỉ thị miễn dịch ở cá. Hồng cầu là yếu tố trung gian quan trọng của hệ thống miễn dịch bẩm sinh, là loại tế bào máu phổ biến nhất ở động vật có xương sống và chịu trách nhiệm cung cấp oxy. Tùy thuộc vào môi trường tế bào, hồng cầu có thể kích hoạt hệ thống miễn dịch hoặc duy trì hệ thống ở trạng thái không hoạt động. Ngoài ra, các tế bào hồng cầu có các chức năng miễn dịch quan trọng, bao gồm điều hòa chemokine, liên kết axit nucleic và loại bỏ tác nhân gây bệnh [87]. Mật độ hồng cầu được xác định bằng buồng đếm Neubauer, là số lượng tế bào hồng cầu trên một đơn vị thể tích máu. Ở cá, hồng cầu hấp thụ oxy tại mang và vận chuyển, giải phóng vào các mô. Số lượng hồng cầu cá bình thường dao động từ 0,4 đến 5,2 ($\times 10^6$ TB/mm³), trung bình là 1,56 ($\times 10^6$ TB/mm³). Những loài cá hoạt động mạnh thường có số lượng hồng cầu cao hơn các loài cá hoạt động chậm chạp và những nhóm cá được sử dụng nhiều chất bổ sung khác nhau có số lượng hồng cầu cao hơn và tăng trưởng nhanh hơn [48]. Nghiên cứu trên cá hải tượng *Arapaima gigas*, cá *Brycon amazonicus*, cá trê trắng *Clarias batrachus*, cá chêm mõm nhọn *Psammoperca waigiensis* ghi nhận số lượng tế bào hồng cầu ở cá tăng hơn khi được bổ sung vitamin E hay vitamin C [16, 41, 73, 90].

Hemoglobin hay còn gọi là huyết sắc tố, là thành phần cấu tạo nên hồng cầu, có chức năng vận chuyển oxy từ cơ quan hô hấp đến các tổ chức mô và vận chuyển CO₂ từ các mô trở lại cơ quan hô hấp. Ngoài ra, huyết sắc tố còn có vai trò làm đệm để trung hòa các H⁺ do tổ chức giải phóng ra. Do vậy, huyết sắc tố ảnh hưởng đến quá trình trao đổi chất, qua đó ảnh hưởng đến sự phát triển và sức khỏe của cá. Chỉ số này dao động từ 2,6 đến 19,9 g/dL, trung bình là 7,98 g/dL [48]. Nồng độ Hb của cá *B. amazonicus*, cá chêm mõm nhọn *P. waigiensis* cao hơn ở nhóm cá được bổ sung vitamin C [16, 41, 73].

Hematocrit là tỷ lệ thể tích hồng cầu trong thể tích máu toàn phần. Trong giới hạn Hct của loài, Hct cao đồng nghĩa với độ nhớt máu cũng cao và điều này có lợi cho sức khỏe. Những nghiên cứu về chỉ số này ở động vật lâu nay cho thấy, Hct cao có liên quan chặt chẽ đến năng suất cao. Giá trị này dao động từ 9,89 đến 58 g/dL, trung bình 33,79 g/dL. Tuy nhiên, cần lưu ý khi giá trị này cao vượt mức giới hạn của loài thì cho thấy nhiều vấn đề về sức khỏe như cơ thể mất nước, bệnh liên quan đến thận [48]. Một

số nghiên cứu cho thấy, khi cá hồi vân *O. mykiss*, cá chêm *Morone chrysops* x *M. saxatilis*, cá trê phi *Clarias gariepinus*, cá *B. amazonicus*, cá trê *C. batrachus*, cá chêm mõm nhọn *P. waigiensis* được cho ăn bổ sung vitamin E, vitamin C có giá trị Hct cũng như tăng trưởng cao hơn nhóm cá không sử dụng chất bổ sung [16, 73, 90].

Protein huyết tương là một trong những chỉ tiêu cơ bản và được sử dụng phổ biến trong xét nghiệm huyết học. Chúng có vai trò duy trì áp suất thẩm thấu, pH, vận chuyển các chất và tương tác chặt chẽ với hệ thống miễn dịch. Thông số này có thể gián tiếp phản ánh tình trạng dinh dưỡng của cơ thể. Ở cá, protein huyết tương đóng vai trò quan trọng trong đáp ứng miễn dịch dịch thể và miễn dịch bẩm sinh. Giá trị này nằm trong khoảng 0,74 đến 7,5 (g/dL), trung bình 3,6 (g/dL) [48].

Triglycerides là chất béo trung tính luôn có ở trong máu do thức ăn chuyển hóa mỗi ngày và gan tạo ra. Triglyceride có vai trò dự trữ năng lượng và cung cấp cho tế bào khi cần thiết. Nghiên cứu hàm lượng triglyceride trên cá chêm mõm nhọn *P. waigiensis* cũng cho thấy vitamin C góp phần làm tăng hàm lượng triglyceride trong máu cá [73].

Thông số huyết học có thể cung cấp các thông tin hữu ích về tình trạng sức khỏe của cá, phản ứng của hệ thống miễn dịch, những ảnh hưởng tức thời và dài hạn của điều kiện canh tác ngoài giới hạn tối ưu của cá, chất lượng nước, khả năng bùng phát dịch bệnh và tình trạng dinh dưỡng. Tuy nhiên, các thông số huyết học phổ biến như: RBCs, WBCs, Hb, Hct, protein tổng số, triglycerides vẫn chưa được sử dụng thường xuyên trong nghiên cứu cũng như trong quá trình sản xuất [48].

1.6.3. Miễn dịch thích nghi

Miễn dịch thích nghi hay còn gọi là miễn dịch đặc hiệu là trạng thái miễn dịch xuất hiện khi cơ thể đã tiếp xúc với kháng nguyên và có phản ứng sinh ra kháng thể đặc hiệu chống lại chúng. Miễn dịch thu được có hai đặc điểm khác cơ bản miễn dịch tự nhiên là khả năng nhận dạng và nhớ đặc hiệu kháng nguyên. Ở cá, hệ miễn dịch tự nhiên hoạt động bảo vệ cơ thể là chủ yếu, nhưng nếu mầm bệnh vượt qua được hệ thống bảo vệ này, bệnh vẫn tiến triển thì hệ miễn dịch đặc hiệu sẽ phát huy tác dụng. Nếu cá khỏe lại sau đợt nhiễm bệnh đầu tiên thì chúng sẽ được bảo vệ chống tái nhiễm bởi cùng một mầm bệnh. Tuy nhiên, khả năng nhớ của miễn dịch thích nghi ở cá ít hơn động vật hữu nhũ [120].

1.6.4. Các yếu tố ảnh hưởng đến đáp ứng miễn dịch của cá

Các yếu tố có thể ảnh hưởng đến đáp ứng miễn dịch của cá bao gồm các dưỡng chất đa lượng, vi lượng, các chất điều hòa miễn dịch, biến động các yếu tố môi trường và các biện pháp kỹ thuật có thể gây căng thẳng cho cá. Tùy vào yếu tố, cường độ và thời gian tác động mà chúng có thể ảnh hưởng tích cực hoặc tiêu cực đến đáp ứng miễn dịch của cá.

Trong các tác nhân trên, thức ăn được xem là yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến hệ miễn dịch của cá. Việc đảm bảo chất lượng cũng như số lượng thức ăn sẽ duy trì sức khỏe của tôm cá nuôi. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh việc bổ sung cho cá đầy đủ các dưỡng chất như protein, lipid, carbohydrate, vitamin chống oxy hóa, carotenoids và khoáng chất được xem là tác động đáng kể đến hệ miễn dịch của chúng [120].

1.6.4.1. Vitamin

Vitamin E, vitamin C hoạt động như một chất kích ứng miễn dịch, ảnh hưởng đáng kể đến số lượng tế bào máu, số lượng tế bào bạch cầu cũng như kích hoạt các đại thực bào, bạch cầu có hạt, bạch cầu đơn nhân thực hiện vai trò diệt khuẩn và hỗ trợ phục hồi các mô tổn thương. Vitamin C và vitamin E được hấp thu và lưu trữ trong tế bào chất của các tế bào. Trong đó, các tế bào thực bào và tế bào lympho là nơi lưu trữ một lượng lớn 2 loại vitamin này. Do đó, hàm lượng vitamin E và C bổ sung vào thức ăn hàng ngày ảnh hưởng trực tiếp đến các tế bào miễn dịch [119].

Vitamin E là chất chống oxy hóa mạnh, bảo vệ lớp lipid của màng các tế bào miễn dịch khỏi tổn thương do các gốc tự do, bảo toàn tính nguyên vẹn của màng tế bào, duy trì quá trình truyền tín hiệu và sản xuất các protein quan trọng cũng như các chất trung gian khác ảnh hưởng trực tiếp đến chức năng của các tế bào miễn dịch [76]. Vitamin E có tác dụng gián tiếp đến đáp ứng miễn dịch thông qua khả năng điều tiết các chất trung gian gây viêm như các cytokine tiền viêm và prostaglandin E2 [56]. Bên cạnh đó, vitamin E cải thiện hoạt tính của đại thực bào, bạch cầu hạt, tế bào diệt tự nhiên và hệ thống bổ thể, giúp tăng cường đáp ứng miễn dịch tự nhiên ở cá [69].

Nhiều nghiên cứu cho thấy vitamin E giúp tăng cường đáp ứng miễn dịch tự nhiên ở cá mú [81], cá giò [135], cá hồng mỹ [98], cá chẽm [73]. Một số nghiên cứu cho thấy, vitamin E được bổ sung ở mức cao, vượt xa nhu cầu thông thường sẽ cải thiện hệ miễn dịch của sinh vật, giảm nguy cơ nhiễm trùng, đặc biệt ở những sinh vật giai đoạn lớn [76]. Nghiên cứu trên cá *A. regius* cho thấy, cá cần 800 mg/kg TA để ngăn chặn bệnh u hạt, trong khi ở mức bổ sung 40 -100 mg/kg TA đã cho tăng trưởng tối ưu ở cá [105]. Hoạt tính bùng nổ hô hấp của cá hồng mỹ tăng cao khi được bổ sung vitamin E với mức 60 – 80 mg/kg TA so với các mức từ 10 – 40 mg/kg TA [98]. Kết quả tương tự cũng được ghi nhận ở cá vẹt *Oplegnathus fasciatus*, cá cần 38 mg/kg TA để tăng trưởng tối ưu trong khi cần tới hơn 500 mg/kg TA mới tăng cường được đáp ứng miễn dịch [52], cá *Nibea albiflora* tăng trưởng tốt ở mức bổ sung vitamin E 80 mg/kg TA nhưng khi bổ sung 320 mg/kg TA thì hàm lượng lysozyme huyết thanh và khả năng kháng bệnh của cá cao hơn [124] hay cá rô phi sông Nil cần 100 – 200 mg/kg TA để tối ưu hóa tăng trưởng trong khi con số này cần gấp 10 lần để tối ưu hóa đáp ứng miễn dịch [46].

Vitamin C cũng là một chất chống oxy hóa tự nhiên mạnh, bảo vệ các tế bào miễn dịch khỏi tổn thương do các gốc tự do sinh ra từ quá trình viêm và căng thẳng do oxy hóa, thúc đẩy sự sản xuất và hoạt động của lysozyme cũng như các loại bạch cầu, bao gồm lympho bào, đại thực bào và tế bào diệt tự nhiên. Vitamin C cũng hỗ trợ tăng sinh kháng thể, tăng cường hoạt động của hệ miễn dịch tự nhiên, điều hòa phản ứng viêm, giảm căng thẳng và tăng khả năng phục hồi sau tổn thương. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh thiếu vitamin C sẽ làm giảm đáng kể số lượng hồng cầu, tổng số bạch cầu, kìm hãm hoạt động bạch cầu [47, 92, 134]. Vitamin C ảnh hưởng đến hoạt tính lysozyme huyết thanh, hoạt động thực bào và hoạt động bùng nổ hô hấp của đại thực bào [19, 80, 134]. Cá hồi khi sử dụng vitamin C trong thức ăn thì bạch cầu tiền thận sẽ xảy ra hiện tượng bùng nổ hô hấp khi được kích thích bằng PMA hoặc zymosan [121]. Bạch cầu tiền thận của cá mú (*E. malabaricus*) được cho ăn bổ sung 288 mg AA/kg sẽ sản sinh O_2^- nội bào cao hơn nhóm cá thiếu vitamin C trong thức ăn [80]. Tuy nhiên, một số nghiên cứu khác cho thấy hoạt động thực bào, bùng nổ hô hấp không bị ảnh hưởng bởi vitamin C trong khẩu phần ăn [59, 115].

Mặc dù tác dụng của vitamin C với hệ miễn dịch tự nhiên còn nhiều mâu thuẫn do điều kiện bố trí thí nghiệm và thử nghiệm trên các đối tượng cá khác nhau nhưng

vitamin C đã được chứng minh có tác dụng điều chỉnh đáp ứng miễn dịch cho cá khi được bổ sung với hàm lượng cao. Nghiên cứu trên cá chêm Nhật Bản cho thấy, chỉ cần 47,6 mg vitamin C/kg thức ăn sẽ cho tăng trưởng tối ưu, trong khi cần 489 mg/kg TA để hoạt tính lysozyme được tốt nhất [20]. Cá đù vàng *P. crocea* giai đoạn giống cần 28,2 mg AA/kg TA cho tỷ lệ sống tốt nhất, nhưng cần bổ sung 489 mg/kg TA để nâng cao hoạt tính lysozyme, hoạt động hệ bỏ thể, hoạt tính thực bào và bùng nổ hô hấp của cá [19]. Hoạt tính lysozyme và khả năng kháng bệnh của cá giò cũng tăng cao khi bổ sung vitamin C với hàm lượng 400 mg/kg TA, gấp hơn 20 lần so với mức yêu cầu cho tăng trưởng và cải thiện tỷ lệ sống [134]. Hay khẩu phần ăn cho cá mú (*Epinephelus malabaricus*) cần 45,3 mg AA/kg TA cho tăng trưởng tối ưu nhưng cần một lượng gấp 6 lần mức bổ sung trên để tăng cường các phản ứng miễn dịch không đặc hiệu và duy trì sự sống sót của cá sau nhiễm khuẩn [80].

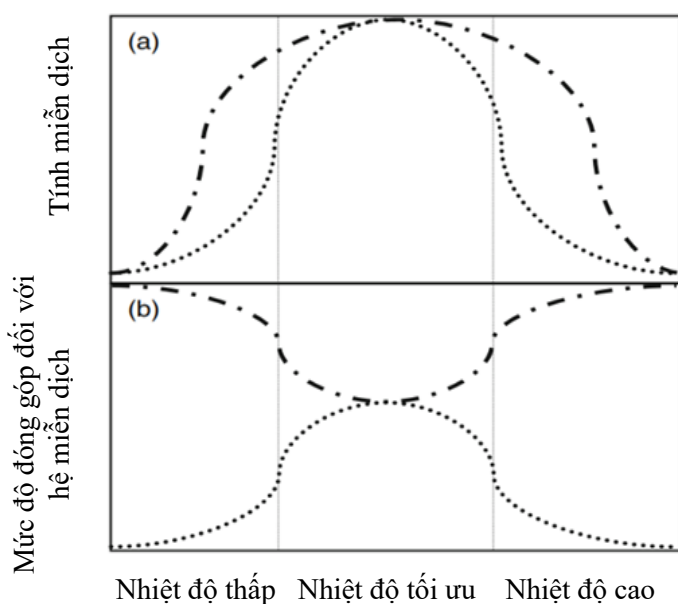
Vitamin E và vitamin C là hai loại vitamin được sử dụng nhiều và phổ biến trong nuôi trồng thủy sản, tuy nhiên những nghiên cứu khoa học về tác động của hai nguyên tố vi lượng này lên đáp ứng miễn dịch tự nhiên của động vật thủy sản tại Việt Nam chưa nhiều. Chỉ có một số nghiên cứu được thực hiện trên cá tra *P. Hypophthalmus* [2, 6], cá lóc *Clarias macrocephalus* [7]. Riêng cá chim vây vàng, nghiên cứu ảnh hưởng của vitamin C và vitamin E lên đáp ứng miễn dịch tự nhiên của cá chưa có tại Việt Nam, mới ghi nhận được tác động của vitamin C lên tăng trưởng và tỷ lệ sống của cá [10].

Một số tác giả cho rằng không dễ để xác định lượng vitamin E và vitamin C cần thiết cho hệ miễn dịch cũng như các chức năng sinh lý khác của động vật thủy sản. Nhu cầu về lượng vitamin C và vitamin E cho miễn dịch khác nhau tùy theo loài và điều kiện thử nghiệm. Do đó, để xác định mức vitamin C và vitamin E tối ưu cho tăng trưởng và khả năng miễn dịch của từng đối tượng thủy sản đều cần được thử nghiệm.

1.6.4.2. Nhiệt độ

Cá là động vật biến nhiệt, do vậy chế độ nhiệt của thủy vực ảnh hưởng đến các quá trình sinh lý cũng như đáp ứng miễn dịch của cá. Trong giới hạn nhiệt độ tối ưu của loài, cả hệ miễn dịch tự nhiên và miễn dịch thích nghi đều phát huy tốt vai trò bảo vệ cơ thể. Tuy nhiên, ở điều kiện nhiệt độ cao, năng lực miễn dịch của cá phụ thuộc vào đáp ứng miễn dịch bẩm sinh hơn là miễn dịch thích nghi. Trong điều kiện nhiệt độ

thấp, quá trình trao đổi chất cũng như hoạt động của hệ miễn dịch của cá nói chung bị suy giảm, và hệ miễn dịch tự nhiên vẫn hoạt động và phản ứng nhanh hơn so với miễn dịch thích nghi (Hình 1.4) [109].



(a) miễn dịch tự nhiên (đường nét đứt) và miễn dịch thích nghi (đường chấm chấm) dưới tác động của nhiệt độ.

(b) vai trò của miễn dịch tự nhiên và miễn dịch thích nghi đối với miễn dịch tổng thể của động vật tại nhiệt độ nhất định.

Hình 1.4 Ảnh hưởng của nhiệt độ lên tính miễn dịch của cá xương.

Nhiệt độ môi trường cũng như thành phần axit béo của màng là yếu tố quyết định tính lưu động và tính thấm của màng các tế bào miễn dịch cũng như ảnh hưởng đến những hoạt động liên quan đến các enzyme và thụ thể trên màng. Do vậy, quá trình xử lý kháng nguyên và sự tương tác giữa các tế bào lympho và đại thực bào bị ức chế, bị suy giảm khi cá sống trong điều kiện nhiệt độ cao [120]. Trong khoảng nhiệt độ thích hợp, cơ thể sinh vật có thể tăng cường sản xuất lysozyme, hoạt động của đại thực bào và hệ bổ thể được kích thích, giúp tăng cường khả năng tiêu diệt mầm bệnh.

Nhiệt độ nước là một trong những yếu tố thúc đẩy quá trình oxy hóa, gây căng thẳng cho cá, ảnh hưởng đến hoạt tính thực bào và hoạt tính bùng nổ hô hấp của đại thực bào [29]. Nếu nhiệt độ quá cao, quá trình sản xuất cortisol, hormone gia tăng gây ức chế hoạt động miễn dịch của cá. Bên cạnh đó, nhiệt độ không ổn định làm thay đổi hệ vi sinh đường ruột của cá, làm giảm sự cộng sinh của vi khuẩn có lợi và tạo điều kiện cho vi khuẩn gây bệnh phát triển, ảnh hưởng gián tiếp đến hệ miễn dịch [75]. Những thay đổi của nhiệt độ có thể ảnh hưởng đến thành phần máu của cá, làm giảm mạnh ái lực của Hb với oxy và do đó dẫn đến tăng số lượng tế bào bạch cầu, tế bào hồng cầu và Hb [67, 111]. Trước đây, hầu hết các nghiên cứu về ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng miễn dịch của cá đều tập trung vào việc đánh giá hiệu suất miễn dịch

trong khoảng nhiệt tối ưu hoặc ở điều kiện nhiệt độ thấp của từng đối tượng nghiên cứu [109] trong khi thông tin về đáp ứng miễn dịch của cá ở nhiệt độ cao còn rất hạn chế. Hiện nay, trong bối cảnh nóng lên toàn cầu, việc tiếp xúc lâu dài với nhiệt độ cao của sinh vật, đặc biệt ở giai đoạn đầu của quá trình phát triển cá thể có thể để lại tác động lâu dài đối với sinh lý và khả năng đối phó với những thách thức môi trường tương tự hoặc mới lạ [49].

Một số nghiên cứu ghi nhận tác hại của ngưỡng nhiệt độ thấp và ngưỡng nhiệt cao đối với sinh vật và tác dụng bảo vệ của vitamin ở điều kiện nhiệt độ này. Hoàng và cộng sự (2021) cho thấy, ở nhiệt độ cao 32°C các chỉ tiêu huyết học và miễn dịch của cá chêm mồm nhọn *P. waigiensis* bị suy giảm so với ở mức nhiệt 28°C, tuy nhiên khi cá được bổ sung vitamin C, các chỉ tiêu này được cải thiện đáng kể [73]. Mặc dù chưa có đánh giá ảnh hưởng của vitamin E và nhiệt độ lên đáp ứng miễn dịch của cá hồi vân *S. gairdneri* nhưng Cowey và cộng sự (1984) cho thấy, nhu cầu vitamin E của cá hồi vân gia tăng khi nhiệt độ môi trường nước giảm thấp hơn mức nhiệt tối ưu của cá [38].

Như vậy, những hiểu biết về vitamin, cơ chế đáp ứng miễn dịch cũng như các nhân tố ảnh hưởng đến sinh trưởng, thành phần sinh hóa cơ thể và đáp ứng miễn dịch tự nhiên ở các đối tượng cá nuôi có ý nghĩa rất quan trọng trong nuôi trồng thủy sản. Ngày nay, việc sử dụng những chất có hoạt tính sinh học tác động đến hệ miễn dịch của cá nuôi là một trong những biện pháp phòng bệnh hữu hiệu trong điều kiện biến đổi khí hậu, là chìa khóa thành công trong nuôi trồng thủy sản, đặc biệt là nghề nuôi cá biển ở quy mô công nghiệp.

1.7. Cơ sở khoa học chọn hàm lượng Vitamin E, C và nhiệt độ thí nghiệm

1.7.1. Cơ sở khoa học chọn hàm lượng Vitamin E thí nghiệm

Việc lựa chọn các mức bổ sung vitamin E (0, 100, 200, 400, 800, 1600 mg/kg TA) trong thí nghiệm bổ sung vào thức ăn cho cá chim vây vàng giai đoạn giống được xây dựng dựa trên các nghiên cứu trước đây về mức bổ sung vitamin E cần thiết cho các loài cá biển và cá nước ngọt, cũng như sự khác biệt về yêu cầu dinh dưỡng giữa các loài. Ghi nhận tăng trưởng tốt ở cá mú *Epinephelus malabaricus* cho thấy, cá sử dụng thức ăn có 4% lipid thì cần bổ sung 61 mg/kg TA, với 9% lipid thì cần 104 mg/kg TA [81]. Cá đù vàng *Larimichthys crocea* có chỉ số tăng trưởng tối ưu khi được

bổ sung 120 mg/kg TA [129], cá chêm *Micropterus salmoides* cần 78 mg/kg TA [79], cá chim vây vàng *T. ovatus* cần 90,75 mg/kg TA [131].

Nhìn chung, mức bổ sung vitamin E hỗ trợ cho hệ miễn dịch ở cá cao hơn mức cho tăng trưởng. Ví dụ cá giò *Rachycentron canadum* cần 78 mg/kg TA cho tăng trưởng trong khi cần 101 mg/kg TA cho hệ miễn dịch) [135], cá nóc *Takifugu obscurus* cần bổ sung vitamin E, hỗ trợ cho tăng trưởng và miễn dịch lần lượt là 80 và 160 mg/kg TA [35]. Hay cá vệt *Oplegnathus fasciatus* chỉ cần 38 mg/kg TA cho tăng trưởng tối ưu nhưng cần tới 500 mg/kg TA cho đáp ứng miễn dịch [52], cá *Argyrosomus regius* cần 451 mg/kg TA để tăng cường chỉ số TBARS [83].

Dựa trên những dữ liệu này, các mức vitamin E được lựa chọn trong thí nghiệm nhằm bao quát đầy đủ phạm vi nhu cầu của cá chim vây vàng và đánh giá tác động của việc bổ sung từ mức không bổ sung (0 mg/kg TA) đến mức cao (800–1600 mg/kg TA). Mức 100 mg/kg và 200 mg/kg TA được chọn để phù hợp với nhu cầu đã được ghi nhận ở các loài cá biển như cá mú và cá giò. Mức 400 mg/kg TA phản ánh ngưỡng trung bình cao, phù hợp với cá *Argyrosomus regius*. Mức 800 mg/kg TA và 1600 mg/kg TA được đưa vào để kiểm tra khả năng đáp ứng của cá trước các liều lượng cao, đặc biệt là ảnh hưởng của việc bổ sung vượt mức cần thiết đối với sinh trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn và các chỉ tiêu sinh lý. Các mức bổ sung này được thiết kế để cung cấp thông tin toàn diện về nhu cầu và tác động của vitamin E đối với cá chim vây vàng trong giai đoạn giống.

1.7.2. Cơ sở khoa học chọn hàm lượng Vitamin C thí nghiệm

Việc lựa chọn các mức bổ sung vitamin C (0, 50, 100, 200, 400, 800 mg/kg TA) trong thí nghiệm bổ sung vào thức ăn cho cá chim vây vàng giai đoạn giống dựa trên cơ sở khoa học về nhu cầu dinh dưỡng khác nhau theo loài và giai đoạn phát triển của cá, cũng như mức vitamin C cần thiết để duy trì hàm lượng ổn định trong cơ thể. Theo NRC (2011) nhu cầu vitamin C của cá giai đoạn giống được xác định căn cứ vào mức vitamin C không đổi trong tổ chức mô của cơ thể [91]. Ở giai đoạn cá giống, nhu cầu vitamin C khác nhau theo loài, như 30 mg vitamin C/kg thức ăn ở cá chêm *L. calcarifer* [101], 8,3 – 77 mg/kg TA ở cá mú *E. malabaricus* [80], 400 mg/kg TA ở cá tráp đỏ *P. major* [53], 44,7 - 104 mg/kg TA ở giò *R. canadum* [127], 49,73 mg/kg TA ở cá chim vây vàng *T. ovatus* [130]. Dựa trên những kết quả này, mức bổ sung 50 mg/kg TA và 100 mg/kg TA được lựa chọn để xác định ngưỡng thấp phù hợp với các loài cá biển có nhu cầu thấp

như cá mú. Mức 200 mg/kg TA và 400 mg/kg TA tương ứng với mức trung bình và cao, phù hợp với nhu cầu đã ghi nhận ở các loài cá biển khác như cá tráp đỏ và cá giò. Mức 800 mg/kg TA được đưa vào để kiểm tra tác động của việc bổ sung quá liều vitamin C, đặc biệt khi xem xét khả năng tích trữ và tác động sinh lý của vitamin C ở cá chim vây vàng. Nghiệm thức không bổ sung (0 mg/kg TA) được sử dụng để làm đối chứng nhằm đánh giá hiệu quả của việc bổ sung vitamin C. Các mức này được lựa chọn nhằm cung cấp thông tin toàn diện về nhu cầu, ngưỡng tối ưu và tác động của việc thiếu hoặc thừa vitamin C đối với cá chim vây vàng trong giai đoạn giống.

1.7.3. Cơ sở khoa học chọn nhiệt độ thí nghiệm

Việc lựa chọn các mức nhiệt độ 28°C, 31°C và 34°C trong thí nghiệm được xây dựng dựa trên cơ sở khoa học về giới hạn nhiệt độ tối ưu và ảnh hưởng của nhiệt độ cao đối với sự phát triển của cá chim vây vàng giai đoạn giống. Đến nay, đã có nhiều nghiên cứu về ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự phát triển của cá. Tuy nhiên, thông tin về tác động của yếu tố này lên cá chim vây vàng vẫn còn rất hạn chế. Hầu hết các nghiên cứu trước đây đều đánh giá tác động của nhiệt độ đến một số chỉ tiêu về sinh trưởng, tỷ lệ sống, biểu hiện gen và dị hình của cá chim giai đoạn ấu trùng [58, 84, 128], nghiên cứu mô học ruột, hoạt tính enzym chống oxi hóa, trao đổi chất, sinh hóa máu của cá chim giai đoạn giống [78, 102] và giới hạn nhiệt thử nghiệm cho cá chim từ 26 – 33°C. Tuy nhiên, tác động của nhiệt độ cao hơn ngưỡng này, đặc biệt là sự tương tác giữa nhiệt độ và các yếu tố dinh dưỡng như vitamin, vẫn chưa được nghiên cứu đầy đủ. Ở Việt Nam, nghiên cứu về tác động của nhiệt độ đối với cá chim vây vàng còn rất hạn chế, đặc biệt là giai đoạn giống. Việc chọn mức nhiệt độ 28°C phản ánh điều kiện môi trường trung bình thích hợp để so sánh với các mức nhiệt độ cao hơn. Nhiệt độ 31°C được chọn để kiểm tra khả năng phát triển của cá trong điều kiện gần với ngưỡng nhiệt độ tối ưu đã được ghi nhận trước đây. Đặc biệt, nhiệt độ 34°C được chọn đại diện cho nhiệt độ cao để đánh giá khả năng thích nghi và phản ứng sinh lý của cá trước các điều kiện môi trường khắc nghiệt hơn, trong bối cảnh biến đổi khí hậu ngày càng làm tăng nhiệt độ nước biển. Việc nghiên cứu ở cả ba mức nhiệt độ này sẽ cung cấp cái nhìn toàn diện hơn về ảnh hưởng của nhiệt độ và khả năng tương tác với các yếu tố dinh dưỡng, từ đó hỗ trợ phát triển các chiến lược nuôi trồng hiệu quả và bền vững cho cá chim vây vàng.

CHƯƠNG 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Đối tượng nghiên cứu: Cá chim vây vàng *Trachinotus blochii* (Lacepède, 1801) giai đoạn giống.

- Thời gian nghiên cứu: từ năm 2020 đến năm 2023

- Địa điểm nghiên cứu: Các thí nghiệm thực nghiệm được tiến hành tại khu thí nghiệm ươm thuộc Trung tâm Nghiên cứu Giống và Dịch bệnh Thủy sản - Trường Đại học Nha Trang. Các chỉ tiêu sinh hóa, miễn dịch được thực hiện tại phòng thí nghiệm công nghệ cao thuộc Trung tâm Thí nghiệm thực hành - Trường Đại học Nha Trang.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thức ăn thí nghiệm

Công thức thức ăn nền (47,26% protein, 10,7% lipid) được thiết kế đáp ứng nhu cầu dinh dưỡng của cá chim vây vàng giai đoạn giống. Thành phần dinh dưỡng thức ăn nền cho cá thí nghiệm được trình bày trong Bảng 2.1. Nguyên liệu thức ăn được sử dụng từ công ty sản xuất thức ăn thủy sản. Nguyên liệu được trộn đều thành hỗn hợp đồng nhất bằng máy trộn Hobart. Đối với thức ăn bổ sung vitamin C, vitamin C được hòa tan trong nước sạch và trộn đều cùng các nguyên liệu còn lại. Với thức ăn bổ sung vitamin E, dạng vitamin E được sử dụng là dạng bột nên trộn trực tiếp vào hỗn hợp nguyên liệu có bổ sung nước với tỷ lệ 3-5%. Hỗn hợp nguyên liệu được ép sợi và cắt tạo viên qua máy ép được gia nhiệt với đường kính viên thức ăn là 1 - 2 mm. Thức ăn sau khi ép viên được sấy khô ở 30°C trong vòng 24 tiếng, để nguội và bảo quản ở -20°C cho đến khi sử dụng. Dạng thức ăn cho cá chim thí nghiệm sau khi chế biến đảm bảo đặc tính của viên thức ăn nổi.



Hình 2.1 Thức ăn thí nghiệm

Bảng 2.1 Công thức và thành phần thức ăn thí nghiệm

Thành phần^a	Hàm lượng (g/kg TA)
Bột cá (đã tách béo) ^b	430
Bột đậu nành	190
Bột mì	100
Tinh bột mì	30
Dầu cá	57
Vitamin/Khoáng ^c	36
Gluten mì	140
Lecithin-đậu nành (70%)	12
Monocalcium phosphate	3
Choline	2
Total	1000
Thành phần sinh hóa (%)	
Protein thô	47,26
Lipid	10,70
Tro	17,64
Âm	9.08

^aCung cấp bởi công ty TNHH Long Sinh, Khánh Hòa, Việt Nam.

^bCung cấp bởi công ty TNHH T.C. Union, Tiền Giang, Việt Nam

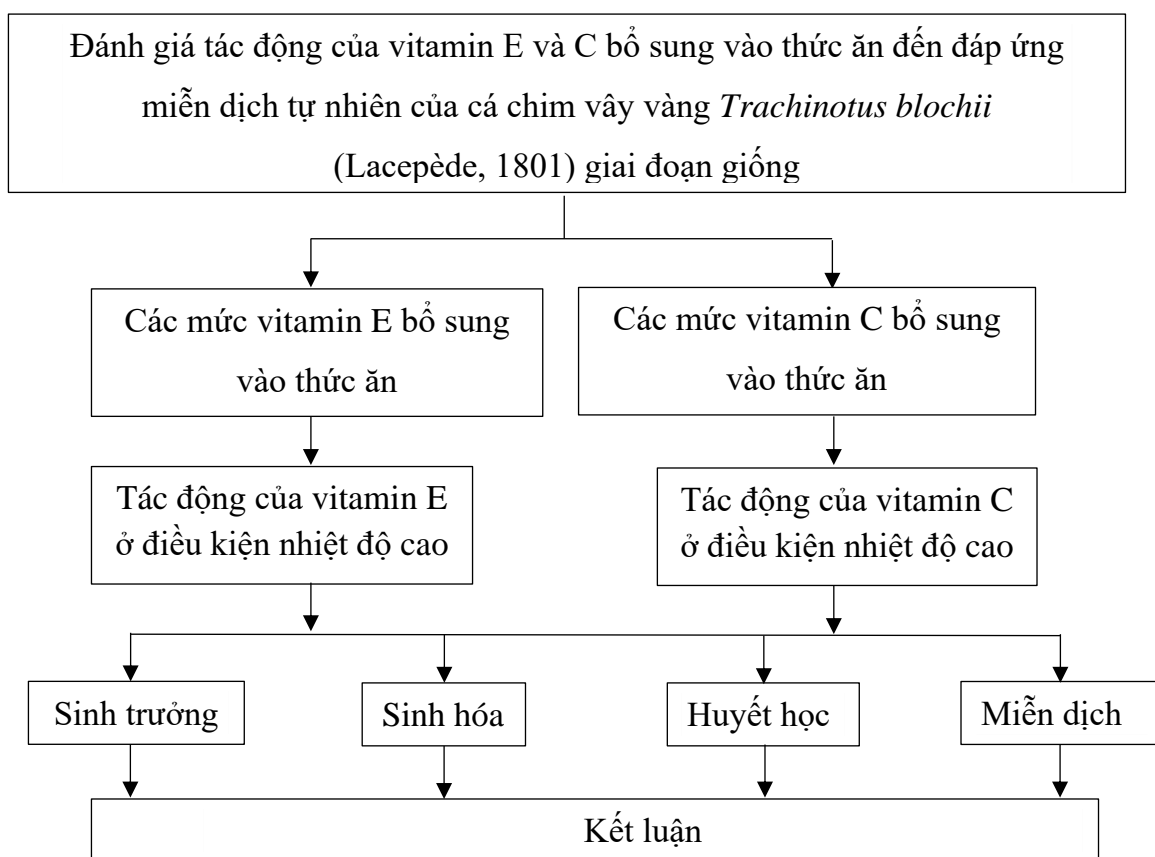
^cVitamin premix: Vitamin A, 1000000 UI; Vitamin D₃, 300.000 IU; Vitamin B₆, 500 mg; Vitamin B₂, 320 mg; Vitamin B₁₂, 5 mg. Mineral premix: Zn (ZnO), 4.750 mg; Mn (MnSO₄.H₂O), 1.900 mg; Mg (MgO), 1.050 mg; Ca (CaHPO₄.2H₂O), 0,8%; Co (CoCO₃), 47,5 mg; Se (Na₂SeO₂), 47,5 mg (Công ty TNHH Provimi Việt Nam, thành phố Biên Hòa, tỉnh Đồng Nai, Việt Nam).

2.2.2. Nguồn cá thí nghiệm

Cá chim vây vàng trong nghiên cứu được chọn mua từ trại sản xuất giống cá biển Đường Đệ, Vĩnh Hòa, Nha Trang và vận chuyển về Trung tâm Nghiên cứu Giống và Dịch bệnh Thủy sản - Trường ĐH Nha Trang. Cá được nuôi thuần dưỡng để thích nghi với các điều kiện thí nghiệm. Thời gian nuôi thuần dưỡng cá 7 ngày bằng thức ăn thí nghiệm không bổ sung vitamin (thức ăn nền) với 47,26% protein và 10,7% lipid. Sau thời gian thuần dưỡng, cá được chọn lại và đưa vào thí nghiệm đảm bảo kích cỡ đồng đều, khỏe mạnh, bơi lội linh hoạt, màu sắc cơ thể tươi sáng, không dị hình.

2.3. Bố trí thí nghiệm

Nội dung nghiên cứu của đề tài được bố trí trong sơ đồ khối hình 2.2



Hình 2.2 Sơ đồ khối nội dung nghiên cứu

2.3.1. Thí nghiệm 1: Nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng vitamin E bổ sung vào thức ăn đến sinh trưởng và chỉ số miễn dịch tự nhiên của cá chim vây vàng

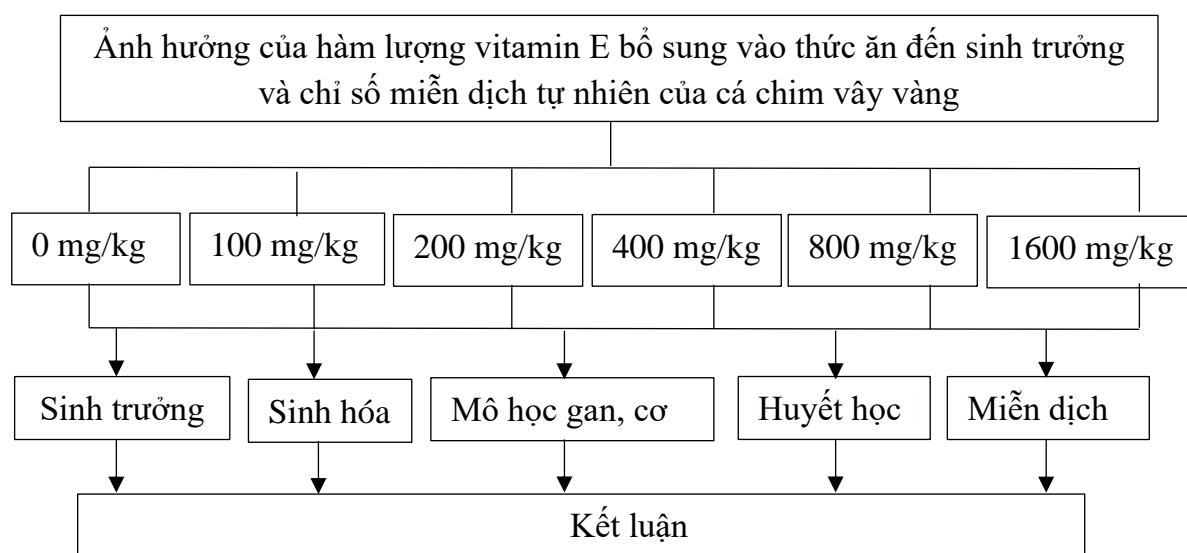
Thức ăn: Vitamin E được sử dụng cho thí nghiệm là DL alpha tocopherol acetate (Trung Quốc). Thức ăn nền (bảng 2.1) được bổ sung một trong các mức vitamin E (100, 200, 400, 800 và 1.600 mg/kg TA) và sản xuất thức ăn theo phương pháp mô tả trong mục 2.2.1.

Nguồn cá: Cá chim vây vàng sau thời gian thuần dưỡng được chọn cho thí nghiệm 1 với kích thước đồng đều ($6,27 \pm 0,19$ cm; $5,22 \pm 0,28$ g). Cá được bố trí ngẫu nhiên vào các bể composite 200 L với mật độ 30 con/bể. Thời gian thí nghiệm 10 tuần, định kỳ 2 tuần kiểm tra sinh trưởng 1 lần.

Thiết kế thí nghiệm: Thí nghiệm được thiết kế gồm 6 nghiệm thức, trong đó gồm 5 nghiệm thức thức ăn bổ sung vitamin E (100, 200, 400, 800 và 1600 mg/kg TA) và 1 nghiệm thức thức ăn nền (không bổ sung vitamin E) được sử dụng làm đối chứng. Mỗi nghiệm thức được thực hiện lặp lại 3 lần, cùng thời điểm.

Chế độ chăm sóc, quản lý: Hệ thống bể thí nghiệm có mái che, đảm bảo đủ ánh sáng tự nhiên. Thời điểm cho cá ăn 2 lần/ngày, lúc 8h và 17h. Cá được cho ăn với khẩu phần 5% khối lượng cơ thể.

Các yếu tố môi trường được đo 2 ngày/lần và duy trì ở mức thích hợp cho cá, bao gồm: nhiệt độ ($29-31,5^{\circ}\text{C}$), độ mặn (28-30‰), pH (7,5-8), hàm lượng oxy hòa tan (5,7-6,5 mg/l). Chất lượng nước được duy trì thông qua việc vệ sinh bể và thay 50% nước mỗi ngày. Nước được sục khí liên tục.



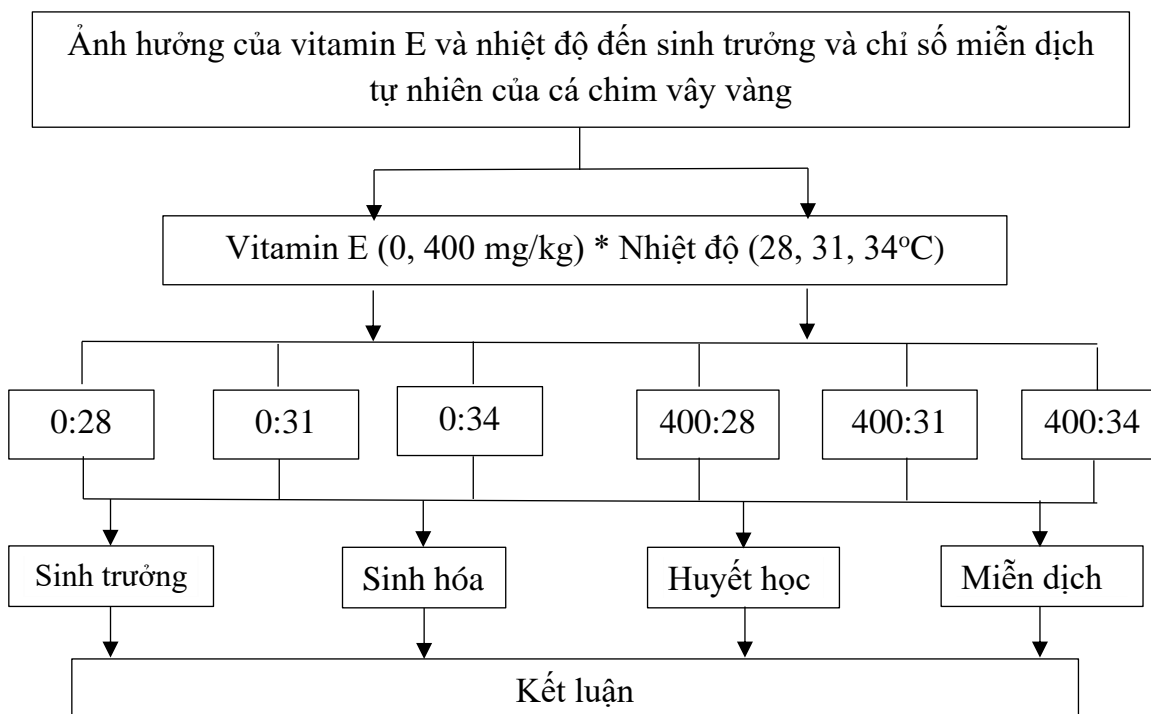
Hình 2.3 Sơ đồ đánh giá ảnh hưởng của hàm lượng vitamin E bổ sung vào thức ăn đến sinh trưởng và chỉ số miễn dịch của cá chim vây vàng

2.3.2. Thí nghiệm 2: Nghiên cứu tác động của vitamin E bổ sung vào thức ăn đến sinh trưởng và chỉ số miễn dịch tự nhiên của cá chim vây vàng ở điều kiện nhiệt độ cao

Thiết kế thí nghiệm: Dựa vào hàm lượng vitamin E cho đáp ứng miễn dịch tốt nhất ở thí nghiệm 1, thức ăn cho cá chim vây vàng giai đoạn giống được bổ sung 400 mg vitamin E/kg thức ăn được sử dụng để bố trí thí nghiệm 2. Thí nghiệm 2 được bố trí ngẫu nhiên với 6 nghiệm thức, bao gồm 2 nghiệm thức vitamin E (0, 400 mg/kg TA) kết hợp với 3 nghiệm thức nhiệt độ (28°C, 31°C và 34°C). Mỗi nghiệm thức lặp lại 5 lần cùng thời điểm.

Nhiệt độ trong các bể thí nghiệm được điều chỉnh bằng cây nâng nhiệt HZ-Q5 800W (Trung Quốc). Chuẩn bị thức ăn, nguồn cá (6,27±0,28 cm; 5,52±0,52 g) và chăm sóc, quản lý hệ thống thí nghiệm được thực hiện như thí nghiệm 1 (mục 2.2 và 2.3.1)

Các yếu tố môi trường trong 10 tuần thí nghiệm như: độ mặn (28-31‰), pH (7,5-8,1), hàm lượng oxy hòa tan (5,5-6,5 mg/l) ở các bể thí nghiệm đều được duy trì ổn định, phù hợp với điều kiện sinh trưởng và phát triển của cá chim vây vàng giai đoạn giống.

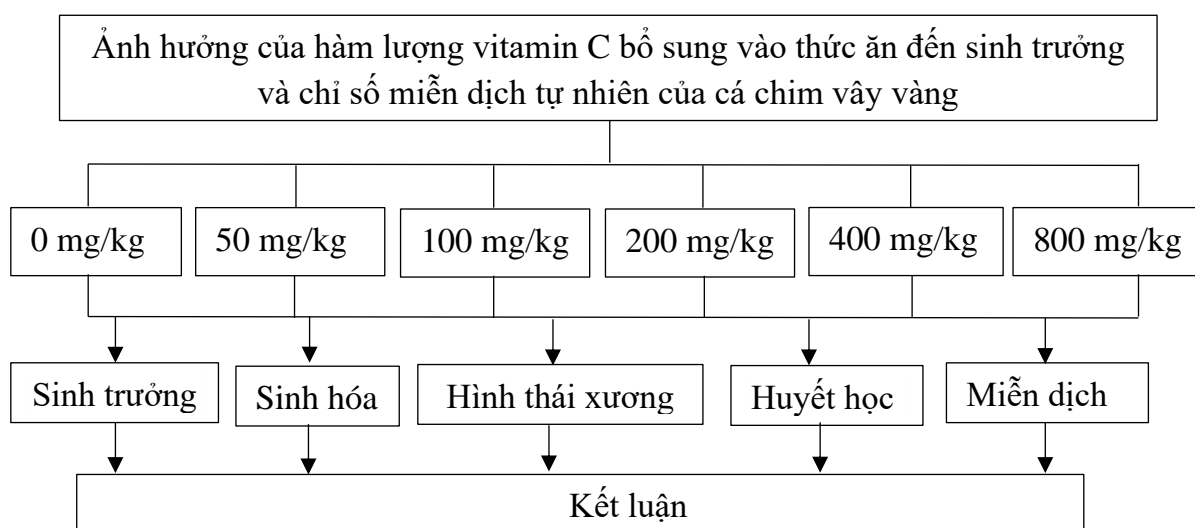


Hình 2.4 Sơ đồ đánh giá ảnh hưởng của hàm lượng vitamin E và nhiệt độ đến sinh trưởng và chỉ số miễn dịch tự nhiên của cá chim vây vàng

2.3.3. Thí nghiệm 3: Nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng vitamin C bổ sung vào thức ăn đến sinh trưởng và chỉ số miễn dịch của cá chim vây vàng

Thiết kế thí nghiệm: Thí nghiệm được thiết kế gồm 6 nghiệm thức, trong đó gồm 5 nghiệm thức bổ sung vitamin C (50, 100, 200, 400 và 800 mg/kg TA) và 1 nghiệm thức không bổ sung C (đối chứng). Mỗi nghiệm thức được thực hiện lặp lại 3 lần, cùng thời điểm.

Dạng vitamin C được sử dụng cho thí nghiệm là L-ascorbate-2-phosphate 35%, CSPC (Trung Quốc). Phương pháp sản xuất thức ăn, chuẩn bị cá ($6,27 \pm 0,08$ cm; $5,22 \pm 0,66$ g) và chăm sóc, quản lý được thực hiện như thí nghiệm 1, mô tả trong mục 2.2 và 2.3.1.

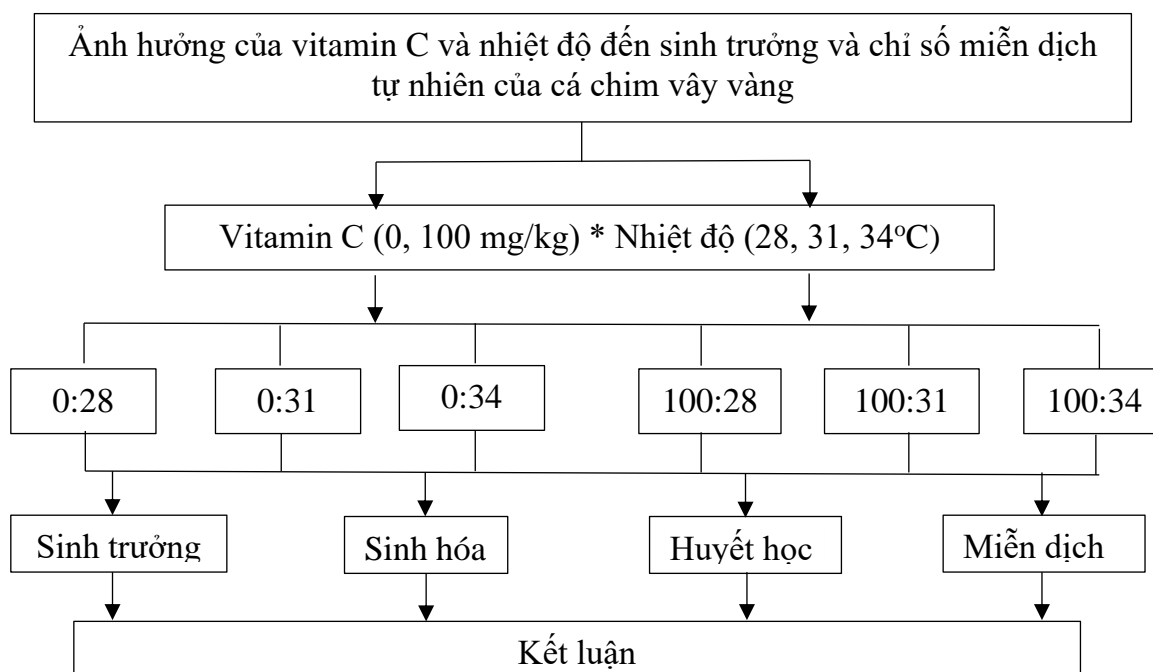


Hình 2.5 Sơ đồ đánh giá ảnh hưởng của hàm lượng vitamin C bổ sung vào thức ăn đến sinh trưởng và chỉ số miễn dịch của cá chim vây vàng

2.3.4. Thí nghiệm 4: Nghiên cứu tác động của vitamin C bổ sung vào thức ăn đến sinh trưởng và chỉ số miễn dịch của cá chim vây vàng ở điều kiện nhiệt độ cao

Thiết kế thí nghiệm: Tương tự như thí nghiệm 2, hàm lượng vitamin C cho đáp ứng miễn dịch tốt nhất ở thí nghiệm 3 được chọn để bố trí thí nghiệm 4. Thí nghiệm 4 được bố trí ngẫu nhiên với 6 nghiệm thức, bao gồm 2 nghiệm thức vitamin C (0, 300 mg/kg TA) kết hợp với 3 nghiệm thức nhiệt độ (28°C, 31°C và 34°C). Mỗi nghiệm thức lặp lại 5 lần cùng thời điểm.

Nguồn cá ($6,27 \pm 0,42$ cm; $5,22 \pm 0,87$ g), phương pháp chuẩn bị thức ăn và chăm sóc, quản lý hệ thống thí nghiệm tương tự như mô tả ở thí nghiệm 2.



Hình 2.6 Sơ đồ đánh giá ảnh hưởng của hàm lượng vitamin C và nhiệt độ đến sinh trưởng và chỉ số miễn dịch tự nhiên của cá chim vây vàng

2.4. Phương pháp thu, phân tích mẫu và xử lý số liệu

2.4.1. Phương pháp thu và phân tích mẫu

Phương pháp xác định các thông số môi trường

- Các thông số môi trường như nhiệt độ, pH, hàm lượng oxy hòa tan được xác định bằng máy đo môi trường đa nhân tố WQC-22A (ToaDkk, Nhật Bản)

- Độ mặn được đo bằng máy đo độ mặn AR8012 (SmartSensor, Trung Quốc).

Phương pháp phân tích hàm lượng vitamin trong thức ăn

Hàm lượng vitamin trong thức ăn được phân tích bằng phương pháp sắc ký lỏng cao áp, tương ứng với 6 nghiệm thức thí nghiệm vitamin E là 2,31 mg/kg TA; 117,25 mg/kg TA; 219,03 mg/kg TA; 392,1 mg/kg TA; 788,54 mg/kg TA; 1.537,32 mg/kg TA và 6 nghiệm thức thí nghiệm vitamin C là 7,3 mg/kg TA; 50,5 mg/kg TA; 99,6 mg/kg TA; 186,5 mg/kg TA; 394,8 mg/kg TA; 786,3 mg/kg TA.

Phương pháp xác định sinh trưởng, tỷ lệ sống, hiệu quả sử dụng thức ăn và chỉ số cơ thể

- Kết thúc thí nghiệm, toàn bộ cá ở các nghiệm thức đều được cân, đo để xác định các chỉ tiêu về tăng trưởng.

- Chiều dài toàn thân được đo bằng giấy đo kỹ thuật, độ chính xác 1 mm. Khối lượng cá được cân bằng cân điện tử BPA (Ohaus, USA), độ chính xác 0,1 g. Tỷ lệ sống của cá được xác định là số cá còn lại tại thời điểm kết thúc thí nghiệm.

+ Tốc độ tăng trưởng chiều dài tương đối (SGR_L): SGR_L (%/ngày) = $\{(\ln L_2 - \ln L_1)/t\} * 100$;

+ Tốc độ tăng trưởng khối lượng tương đối (SGR_w): SGR_w (%/ngày) = $\{(\ln W_2 - \ln W_1)/t\} * 100$

+ Tỷ lệ sống (SR): SR (%) = (Số lượng cá khi kết thúc thí nghiệm/số lượng cá ban đầu) * 100

Trong đó W_1 , W_2 là khối lượng cá tại thời điểm ban đầu và kết thúc thí nghiệm (g). L_1 , L_2 là chiều dài cá tại thời điểm ban đầu và kết thúc thí nghiệm (cm). t là thời gian thí nghiệm (ngày, 70 ngày).

- Lượng thức ăn sử dụng (FI), hiệu quả sử dụng protein (PE) và hệ số chuyển đổi thức ăn (FCR) được xác định thông qua lượng thức ăn được theo dõi hàng ngày trong suốt quá trình thí nghiệm.

+ Lượng thức ăn sử dụng: FI (%BW/ngày) = $100 * \text{Lượng thức ăn lấy vào} / \{(W_1 + W_2)/2\} * \text{ngày}$

+ Hiệu quả sử dụng protein: $PE = \text{Khối lượng cá tăng lên} / \text{Lượng protein cá sử dụng}$;

+ Hệ số chuyển đổi thức ăn: $FCR = \text{Tổng khối lượng thức ăn sử dụng} / \text{Khối lượng cá tăng lên}$;

- Thu ngẫu nhiên 3 con cá ở mỗi bể thí nghiệm, giải phẫu thu gan và nội tạng để cân, phân tích các chỉ số nội tạng, chỉ số gan.

+ Chỉ số nội tạng (VSI): VSI (%) = (khối lượng nội tạng/khối lượng cá) * 100;

+ Chỉ số gan (HSI): HSI (%) = (khối lượng gan/khối lượng cá) * 100.

Phương pháp xác định các chỉ tiêu sinh hóa

Thu ngẫu nhiên 3 con cá/bể thí nghiệm và lưu giữ ngay trong tủ đông sâu (-85°C). Thành phần sinh hóa thức ăn và sinh hóa toàn bộ cơ thể cá được phân tích theo phương pháp AOAC (2000) tại Trung tâm Thí nghiệm thực hành, Trường Đại học Nha Trang, trong đó:

- Hàm lượng protein trong thức ăn và protein của cơ thể cá thí nghiệm được phân tích theo phương pháp Kjeldahl (Kjeltec Auto 1030, Foss Tecator, Höganäs, Sweden).

- Lượng lipid thô được phân tích theo phương pháp tách mẫu trong hệ thống chiết Soxhlet.

- Độ ẩm được xác định sau khi mẫu được làm khô trong tủ sấy (UNE-600, Memmert, Germany) ở 105°C đến khối lượng không đổi.

- Lượng tro xác định sau khi nung mẫu trong tủ điện (SH-FU-5MG, SH Scientific, Korea) đến khối lượng không đổi ở 550°C trong 8h.

Phương pháp xác định các chỉ tiêu huyết học và miễn dịch

* Kết thúc thí nghiệm, thu ngẫu nhiên 3 con cá/bể thí nghiệm và gây mê bằng monophenyl ether glycol với nồng độ 150 - 200 ppm trước khi thu mẫu máu. Mẫu máu (1 ml) được thu tại tĩnh mạch đuôi của từng cá thể cá (Zanon, 2018). Trong đó 0,4 ml máu sau khi thu được phân tích công thức và thành phần sinh hóa máu, phần còn lại được chuyển vào ống eppendorf để qua đêm ở 4°C trước khi đem ly tâm để thu huyết thanh. Huyết thanh cá được bảo quản ở -80°C để phân tích hàm lượng lysozyme.

- Phân tích tế bào bạch cầu, hồng cầu, hematocrit và hemoglobin được xác định bằng máy phân tích máu Sysmex XT-1800i (Sysmex Corporation, Hyogo, Japan). Hàm lượng triglyceride và protein huyết tương được đo bằng máy phân tích hóa học tổng hợp DxC600.

- Hàm lượng lysozyme trong huyết thanh cá chim vây vàng được xác định theo mô tả của Shugar (1952) có điều chỉnh. Theo đó, 25 μ L mẫu huyết thanh cần kiểm tra được cho vào 1 giếng của đĩa 96 giếng đáy phẳng. Cho 175 μ L dịch huyền phù vi khuẩn *Micrococcus lysodeikticus* 0,075% vào các giếng, trộn nhanh và đặt đĩa lên máy đo quang phổ (Titertek multiskan). Đo mật độ quang ở bước sóng 450 nm sau mỗi 30 giây, liên tục trong 5 phút. Hoạt tính của lysozyme trong huyết thanh cá chim vây vàng được xác định dựa theo đường giá trị chuẩn về khả năng phân giải *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma, USA) của lysozyme chiết xuất từ lòng trắng trứng (White hen egg lysozyme, Sigma, USA) ở 6 giếng làm chuẩn, chứa 25 μ L lysozyme với các nồng độ giảm dần 20; 10; 5...0,625 μ g/mL đã được chuẩn bị sẵn.

* Phân lập bạch cầu để xác định chỉ số thực bào và bùng nổ hô hấp của bạch cầu được thực hiện theo mô tả của Samai và cộng sự (2017) có điều chỉnh. Theo đó, mô tiền thận được nghiền trong môi trường nuôi cấy tế bào L-15 (Leibovit's Lonza) có bổ sung 2% huyết thanh cá chim vây vàng và lọc qua màng lưới 100 μm . Cho 2 mL dịch tế bào vào ống ly tâm 10 mL đã chứa sẵn 7 mL dung dịch Percoll (Sigma) tỷ trọng 1,05/1,075 g/cm^3 , ly tâm ở 550 g, trong 35 phút (1236R, Scanspeed, Denmark). Thu tế bào bạch cầu nằm giữa 2 lớp Percoll và xác định mật độ bạch cầu bằng dung dịch nhuộm trypan blue.

Tế bào bạch cầu phân lập từ tiền thận cá chim vây vàng được rửa bằng PBS (200 g, 10 phút) và tạo dịch tế bào bằng L-15. Cho 100 μL dung dịch tế bào vào các giếng của đĩa 96 giếng đáy bằng, ủ trong 2 giờ ở 20°C. Rửa bạch cầu bằng L-15 để loại bỏ những tế bào không bám. Tế bào bạch cầu trong các giếng được nuôi cấy qua đêm ở 20°C trong môi trường L-15 có bổ sung 4% Fetal bovine serum (FBS) và 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ penicyclin.

Hoạt tính thực bào và Chỉ số thực bào của tế bào bạch cầu mô tiền thận cá chim vây vàng được xác định dựa theo phương pháp của Siwicki và cộng sự (1994). Bao gồm các bước như sau: Cho 100 μL dung dịch đại thực bào (10^7 tế bào/mL) ủ với 100 μL dung dịch zymosan (10^8 tế bào/mL Sigma) trong 2 giờ ở 22°C. Nhuộm tế bào bằng Congo red trong 5 phút, rửa 3 lần với PBS và làm tiêu bản phết, để khô trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng. Quan sát lam tiêu bản dưới kính hiển vi ở độ phóng đại 400 và 1000 lần để xác định khả năng thực bào của 100 đại thực bào. Hoạt tính thực bào (PA%) của bạch cầu xác định bằng tỷ số giữa tổng tế bào bạch cầu tham gia thực bào trên 100 tế bào bạch cầu quan sát, đồng thời xác định chỉ số thực bào là tổng số tế bào nấm men bị bắt giữ trên tổng số tế bào bạch cầu có bắt giữ nấm men.

Hoạt tính bùng nổ hô hấp của tế bào tiền thận cá chim vây vàng được xác định theo phương pháp của Cheng và cộng sự (2007). Cho 100 μL tế bào BC (1×10^6 tế bào/mL) vào các giếng (Đĩa 96 giếng, Nunc MaxiSorpTM), ủ trong 2 giờ ở 30°C. Tiếp theo, tế bào lần lượt được ủ với 100 μL dung dịch Zymosan (Sigma) và 100 μL NBT 0,3 % (Nitroblue tetrazolium, Sigma) trong 30 phút ở nhiệt độ phòng. Ngừng phản ứng bằng 100 μL methanol. Cho tiếp vào mỗi giếng 120 μL dung dịch KOH 2M và 140 μL DMSO (dimethyl sulphoxide, Sigma) để tạo phản ứng màu. Hoạt tính RB của tế bào BC thể hiện qua mức độ màu tạo thành từ phản ứng khử Nitroblue tetrazolium được

xác định trên máy đo quang phổ (iMark™, Bio-rad) ở bước sóng 630 nm. Mỗi mẫu thực hiện lặp lại 3 lần trên cùng một đĩa trong cùng điều kiện.

Đánh giá 2 chỉ tiêu về hoạt tính thực bào và bùng nổ hô hấp của bạch cầu chỉ áp dụng cho thí nghiệm 2 và thí nghiệm 4.

Phương pháp mô học và phân tích dị hình xương

Đánh giá cấu trúc mô học được thực hiện với thí nghiệm 1 và dị hình xương được thực hiện với thí nghiệm 3.

Kết thúc thí nghiệm cho ăn, mẫu gan và cơ của 9 con cá/nghiệm thức được cố định trong dung dịch Formalin (10%) đệm phosphate trung tính để tiến hành cắt mẫu theo phương pháp mô học được mô tả bởi Coolidge và Howard (1979). Mẫu gan cá ở các nghiệm thức đều được thu tại vùng trung tâm gan, nơi giàu các tế bào gan để đánh giá tổn thương hoặc thay đổi cấu trúc tế bào gan do bệnh lý. Mẫu cơ được thu tại vùng lưng của cá. Mẫu sau khi cố định được khử nước với các nồng độ cồn tăng dần và ngâm trong dung dịch xylen + paraffin lỏng. Sau đó, khối mẫu được đục, cắt lát và nhuộm với thuốc nhuộm haematoxyline và eosin (H&E). Tiêu bản mô học gan và cơ của cá được quan sát dưới kính hiển vi, ghi nhận những biến đổi mô học theo tài liệu của Ferguson (2006).

Xác định hình thái xương được thực hiện theo phương pháp của Schnell (2016) với một số điều chỉnh. Theo đó, 9 con cá/nghiệm thức được gây mê, giải phẫu nội tạng và cố định trong dung dịch Formalin (4%) đệm phosphate 5 ngày. Mẫu được khử nước bằng các mức ethanol với nồng độ tăng dần (50, 95%) trước khi nhuộm Alcian blue 2 ngày. Trước khi tẩy trắng mẫu bằng dung dịch 3% H₂O₂ và 1% KOH trong 30 ngày, mẫu được trung hòa bằng dung dịch sodium borate 2 ngày để ngăn cản sự mất canxi của xương. Tiếp theo, mẫu được làm trong bằng dung dịch sodium borate có bổ sung bột trypsin với lượng 0,2 g/L sodium borate. Thời gian làm trong mẫu tùy thuộc vào lượng cơ được phân giải. Sau quá trình làm trong, mẫu được nhuộm Alizarin red 2 lần với thời gian 3 ngày cho mỗi lần. Cuối cùng, mẫu được tẩy màu nền bằng sodium borate 4 ngày và 1% KOH 2 ngày trước khi bảo quản trong dung dịch glycerol với nồng độ tăng dần (30, 60, 100%). Hình thái xương được quan sát và chụp ảnh bằng máy ảnh Canon (EOS 3000D, Trung Quốc).

2.4.2. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

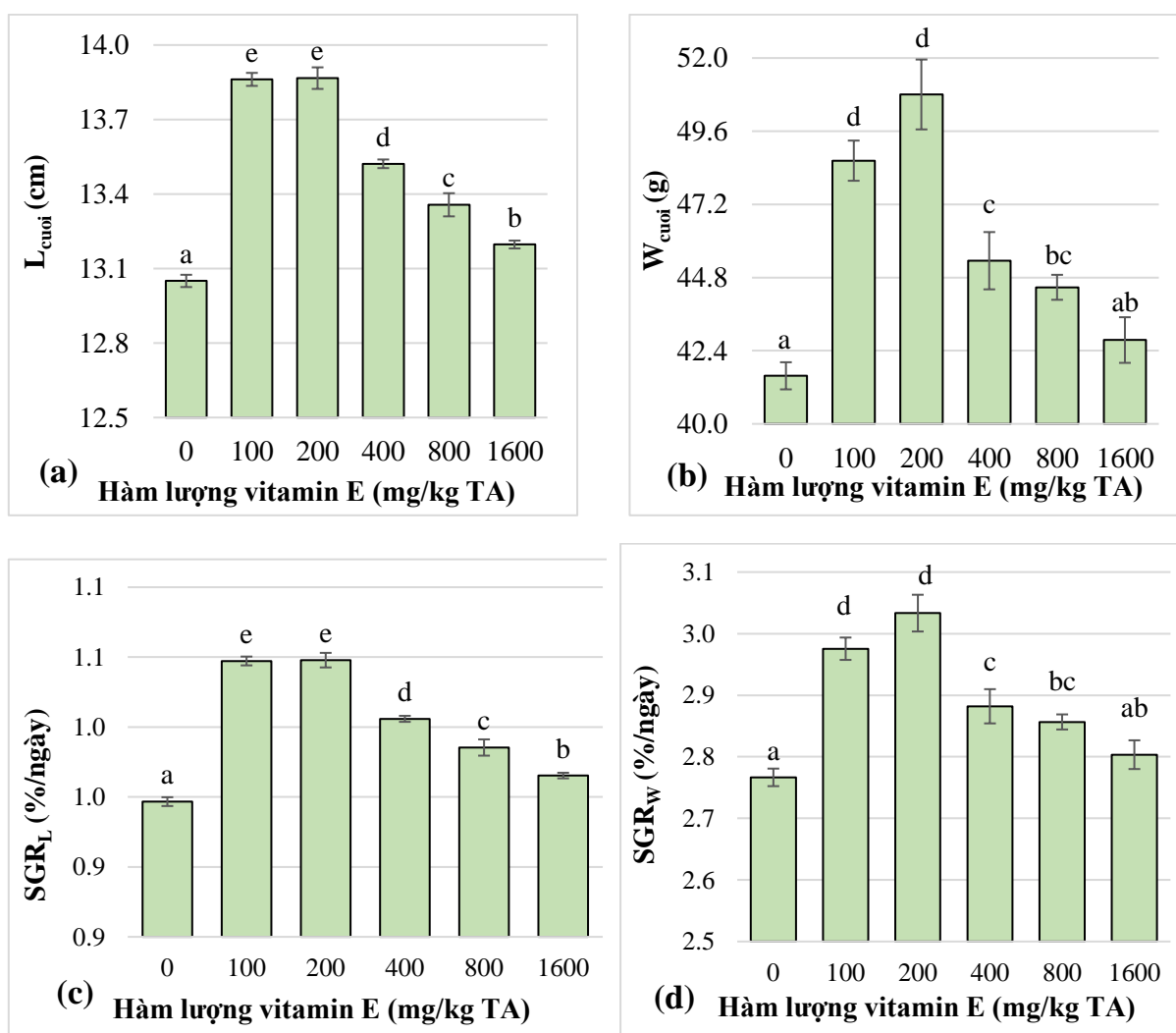
Các số liệu thu thập từ thí nghiệm được tính toán và biểu diễn dưới dạng giá trị trung bình (Mean) \pm Sai số chuẩn (SE) trên phần mềm Microsoft Excel 2016. Số liệu được phân tích thống kê bằng phương pháp phân tích phương sai một yếu tố (One-way ANOVA) (Thí nghiệm 1, Thí nghiệm 3) và phân tích phương sai hai yếu tố (Two-way ANOVA) (Thí nghiệm 2, Thí nghiệm 4) với phần mềm SPSS 22.0. Sự khác biệt giữa các giá trị trung bình được xác định bằng phép kiểm định Duncan với mức ý nghĩa $P < 0,05$. Sử dụng phương pháp phân tích đường thẳng gãy khúc (Broken-line) để xác định nhu cầu vitamin của cá thí nghiệm (Thí nghiệm 1, Thí nghiệm 3).

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của hàm lượng vitamin E bổ sung vào thức ăn đến sinh trưởng và chỉ số miễn dịch tự nhiên của cá chim vây vàng giai đoạn giống

3.1.1. Ảnh hưởng của hàm lượng vitamin E bổ sung vào thức ăn đến sinh trưởng của cá chim vây vàng

Ảnh hưởng của bổ sung vitamin E (mg/kg TA) đến chiều dài (L_{cuoi}), khối lượng (W_{cuoi}), và các chỉ số tăng trưởng cụ thể (SGRL và SGRW) của cá được trình bày ở Hình 3.1.

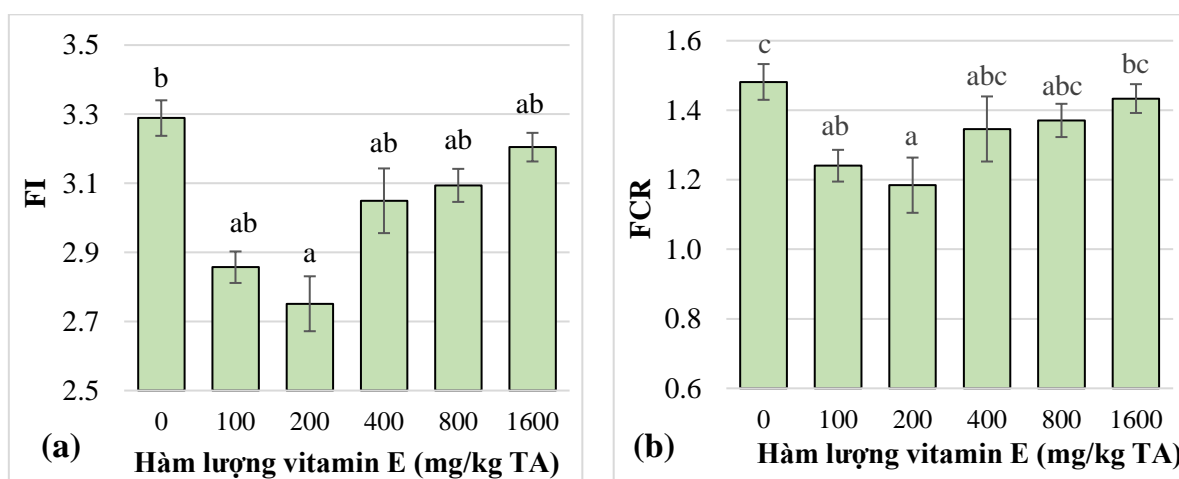


Số liệu biểu diễn: Trung bình \pm sai số chuẩn (TB \pm SE). Ký hiệu chữ cái khác nhau trên các cột thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) giữa các nghiệm thức thí nghiệm

Hình 3.1 Chiều dài (a, c) và khối lượng (b, d) của cá ở các mức bổ sung vitamin E

Kết quả cho thấy rằng cả chiều dài ở Hình 3.1 (a) và khối lượng ở Hình 3.1 (b) của cá đều tăng lên khi mức bổ sung vitamin E tăng từ 0 đến 200 mg/kg TA. Tại mức bổ sung 200 mg/kg TA, các giá trị này đạt đỉnh cao nhất và có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so

với các mức bổ sung khác ($P < 0,05$). Tuy nhiên, khi mức bổ sung vượt quá 200 mg/kg TA, các chỉ số này giảm dần, đặc biệt rõ ràng ở mức 1600 mg/kg TA. Điều này cho thấy việc bổ sung quá nhiều vitamin E có thể gây ảnh hưởng bất lợi đến sự tăng trưởng. Tương tự, chỉ số SGRL ở Hình 3.1 (c) và SGRW ở Hình 3.1 (d) cũng đạt giá trị cao nhất ở mức bổ sung vitamin E 200 mg/kg, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các mức khác. Các chỉ số này giảm dần khi tăng mức bổ sung vượt ngưỡng tối ưu, đặc biệt ở mức 1600 mg/kg TA, cho thấy liều lượng cao vitamin E có thể làm giảm hiệu quả tăng trưởng. Như vậy, mức bổ sung vitamin E 200 mg/kg TA được xem là tối ưu để đạt hiệu quả tăng trưởng tốt nhất về cả chiều dài và khối lượng cũng như các chỉ số tăng trưởng cụ thể ở cá. Việc bổ sung vượt quá mức này không mang lại lợi ích bổ sung và có thể gây tác động tiêu cực.

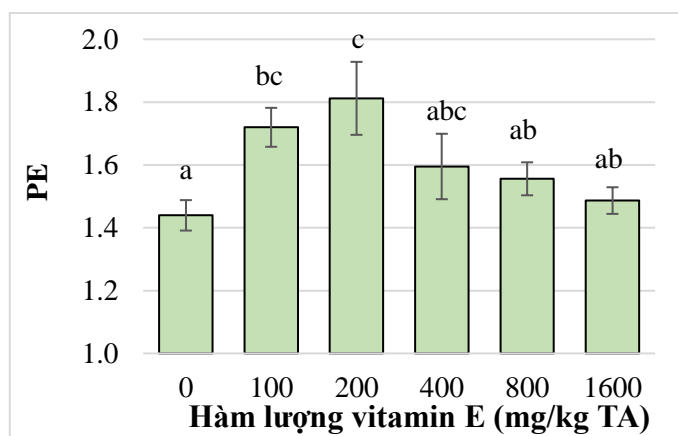


Số liệu biểu diễn: Trung bình \pm sai số chuẩn ($TB \pm SE$). Ký hiệu chữ cái khác nhau trên các cột thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) giữa các nghiệm thức thí nghiệm.

Hình 3.2 Lượng thức ăn cá sử dụng (a) và hệ số chuyển đổi thức ăn (b) của cá ở các mức bổ sung vitamin E

Ảnh hưởng của các mức bổ sung vitamin E (mg/kg TA) đến lượng thức ăn sử dụng (FI) và hệ số chuyển đổi thức ăn (FCR) của cá được minh họa ở Hình 3.2. Từ Hình 3.2 (a), lượng thức ăn sử dụng (FI) có xu hướng giảm dần khi mức bổ sung vitamin E tăng từ 0 đến 100 mg/kg TA, đạt giá trị thấp nhất tại mức bổ sung 100 mg/kg TA. Sau đó, FI tăng nhẹ ở các mức bổ sung từ 400 đến 1600 mg/kg TA, tuy nhiên không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các mức bổ sung này ($P > 0,05$). Điều này cho thấy mức bổ sung 100 mg/kg TA có thể tối ưu trong việc giảm lượng thức ăn tiêu thụ mà vẫn đảm bảo sự tăng trưởng. Thêm vào đó, Hình 3.2 (b) thể hiện hệ số chuyển đổi thức ăn (FCR), với giá trị thấp nhất tại mức bổ sung vitamin E 100 mg/kg TA, cho thấy hiệu quả sử dụng thức ăn tốt nhất ở mức này. Tại các mức bổ sung khác, FCR có xu hướng tăng, đặc biệt ở mức 0 và 1600 mg/kg TA, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với mức 100 mg/kg TA ($P < 0,05$). Điều này chứng tỏ bổ sung vitamin E ở mức quá thấp hoặc quá cao đều làm giảm hiệu quả chuyển đổi thức ăn. Như vậy, mức bổ sung vitamin E 100

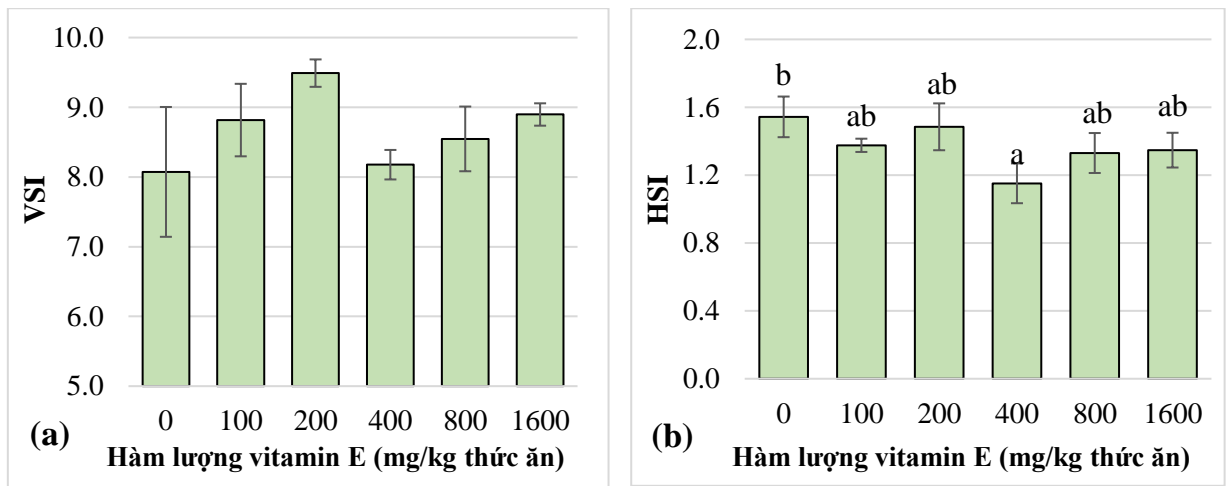
mg/kg TA được xem là tối ưu để đạt hiệu quả sử dụng thức ăn tốt nhất, thể hiện qua việc giảm lượng thức ăn tiêu thụ và cải thiện hệ số chuyển đổi thức ăn của cá.



Số liệu biểu diễn: Trung bình ± sai số chuẩn ($TB \pm SE$). Ký hiệu chữ cái khác nhau trên các cột thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) giữa các nghiệm thức thí nghiệm.

Hình 3.3 Hiệu quả sử dụng protein của cá ở các mức bổ sung vitamin E

Hiệu quả sử dụng protein (PE) của cá ở các mức bổ sung vitamin E (mg/kg TA) được trình bày ở Hình 3.3. Kết quả ở Hình 3.3 cho thấy hiệu quả sử dụng protein tăng dần khi mức bổ sung vitamin E tăng từ 0 đến 200 mg/kg TA, đạt giá trị cao nhất tại mức 200 mg/kg TA, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các mức khác ($P < 0,05$). Tuy nhiên, khi mức bổ sung vitamin E tiếp tục tăng lên từ 400 đến 1600 mg/kg TA, hiệu quả sử dụng protein giảm dần. Ở mức 1600 mg/kg TA, giá trị PE thấp hơn rõ rệt so với mức tối ưu 200 mg/kg TA, cho thấy rằng việc bổ sung quá nhiều vitamin E có thể làm giảm hiệu quả sử dụng protein. Như vậy, mức bổ sung vitamin E 200 mg/kg TA được xác định là tối ưu để cải thiện hiệu quả sử dụng protein của cá, trong khi các mức bổ sung cao hơn hoặc thấp hơn đều không đạt hiệu quả tối đa. Điều này nhấn mạnh vai trò của việc cân đối liều lượng vitamin E trong khẩu phần để tối ưu hóa sử dụng dinh dưỡng.

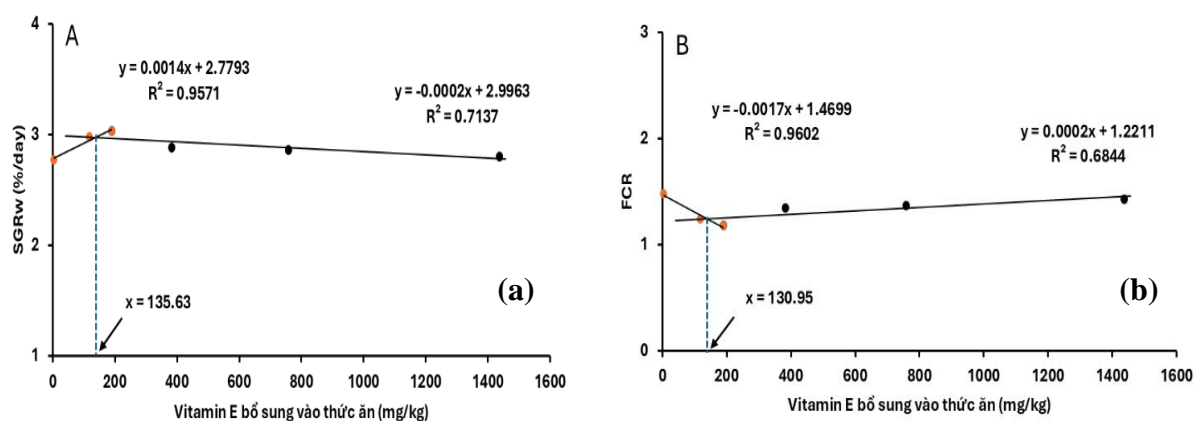


Số liệu biểu diễn: Trung bình \pm sai số chuẩn ($TB \pm SE$). Ký hiệu chữ cái khác nhau trên các cột thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) giữa các nghiệm thức thí nghiệm.

Hình 3.4 Chỉ số nội tạng (a) và chỉ số gan (b) ở các mức bổ sung vitamin E

Ảnh hưởng của các mức bổ sung vitamin E (mg/kg TA) đến chỉ số nội tạng (VSI) và chỉ số gan (HSI) của cá được trình bày ở Hình 3.4. Từ Hình 3.4 (a), chỉ số nội tạng (VSI) có xu hướng tăng nhẹ khi mức bổ sung vitamin E tăng từ 0 đến 200 mg/kg TA, đạt giá trị cao nhất tại mức 200 mg/kg TA. Tuy nhiên, sự khác biệt giữa các mức bổ sung không rõ ràng và không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$), cho thấy việc bổ sung vitamin E trong phạm vi nghiên cứu không ảnh hưởng đáng kể đến VSI. Kết quả ở Hình 3.4 (b) cho thấy chỉ số gan (HSI) thấp nhất ở mức bổ sung vitamin E 100 mg/kg TA, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với mức 0 mg/kg TA ($P < 0,05$). Ở các mức bổ sung 200 mg/kg TA trở lên, HSI có xu hướng tăng nhẹ nhưng không khác biệt đáng kể so với mức 100 mg/kg TA. Điều này gợi ý rằng việc bổ sung vitamin E ở mức thấp có thể giảm tích lũy mỡ trong gan, nhưng mức bổ sung cao hơn không mang lại hiệu quả rõ rệt. Như vậy, bổ sung vitamin E với liều lượng 200 mg/kg TA không chỉ cải thiện tăng trưởng mà còn duy trì cân bằng chỉ số nội tạng và chỉ số gan của cá, trong khi các mức bổ sung cao hơn hoặc thấp hơn không có lợi ích bổ sung đáng kể.

Kết quả phân tích hồi qui (Broken line) tương quan giữa tốc độ tăng trưởng khối lượng đặc trưng và hàm lượng vitamin E trong thức ăn được minh họa ở Hình 3.5.



Hình 3.5 Sự tương quan giữa hàm lượng vitamin E và tốc độ tăng trưởng đặc trưng (a), hệ số chuyển đổi thức ăn (b)

Kết quả ở Hình 3.5 (a) cho thấy tốc độ tăng trưởng đặc trưng (SGRW) tăng dần khi hàm lượng vitamin E bổ sung vào thức ăn tăng, đạt giá trị tối ưu tại mức bổ sung khoảng 135,63 mg/kg TA. Sau mức này, SGRW giảm nhẹ, cho thấy rằng việc bổ sung vitamin E ở mức tối ưu này giúp cải thiện hiệu quả tăng trưởng, nhưng việc bổ sung quá mức không làm tăng thêm hiệu quả. Hệ số tương quan ($R^2 = 0,9571$) cho thấy mối tương quan rất chặt chẽ giữa hàm lượng vitamin E và tốc độ tăng trưởng đặc trưng. Bên cạnh đó, kết quả ở Hình 3.5 (b) ghi nhận hệ số chuyển đổi thức ăn (FCR) giảm khi mức bổ sung vitamin E tăng, đạt giá trị thấp nhất tại mức khoảng 130,95 mg/kg TA, sau đó tăng dần khi hàm lượng vitamin E tiếp tục tăng. Điều này cho thấy bổ sung vitamin E ở mức tối ưu giúp cải thiện hiệu quả sử dụng thức ăn, nhưng bổ sung vượt ngưỡng tối ưu có thể làm giảm hiệu quả. Hệ số tương quan ($R^2 = 0,9662$) cũng cho thấy mối tương quan rất mạnh giữa hàm lượng vitamin E và FCR. Như vậy, mức bổ sung vitamin E tối ưu được xác định trong khoảng 130-135 mg/kg TA, giúp cải thiện đáng kể tốc độ tăng trưởng đặc trưng và hiệu quả sử dụng thức ăn, trong khi bổ sung quá mức không mang lại lợi ích bổ sung và có thể gây hiệu ứng ngược.

3.1.2. Ảnh hưởng của hàm lượng vitamin E bổ sung vào thức ăn đến thành phần sinh hóa cơ thể cá chim vây vàng

Bảng 3.1 trình bày thành phần sinh hóa cơ thể cá khi sử dụng thức ăn với các mức bổ sung vitamin E khác nhau, bao gồm độ ẩm, hàm lượng tro, protein, và lipid. Độ ẩm (%) của cơ thể cá có xu hướng giảm dần khi mức bổ sung vitamin E tăng từ 0 đến 100 mg/kg TA, đạt giá trị thấp nhất tại mức bổ sung 100 mg/kg TA, sau đó tăng trở lại ở các mức cao hơn, đặc biệt ở mức 1600 mg/kg TA ($P < 0,05$). Điều này cho thấy bổ sung

vitamin E ở mức vừa phải có thể giúp giảm độ ẩm trong cơ thể cá, góp phần cải thiện chất lượng cơ thể. Hàm lượng tro (%) đạt giá trị cao nhất ở mức bổ sung 200 mg/kg TA, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với mức 0 mg/kg TA ($P < 0,05$). Tuy nhiên, ở mức 1600 mg/kg TA, hàm lượng tro giảm đáng kể, cho thấy bổ sung vitamin E quá cao có thể ảnh hưởng tiêu cực đến thành phần tro. Hàm lượng protein (%) tăng đáng kể khi bổ sung vitamin E, đạt giá trị cao nhất ở mức 200 mg/kg TA ($19,66 \pm 0,80\%$) và giảm nhẹ ở các mức cao hơn, đặc biệt tại mức 1600 mg/kg TA. Điều này cho thấy mức bổ sung 200 mg/kg TA là tối ưu để tăng hàm lượng protein trong cơ thể cá ($P < 0,05$). Hàm lượng lipid (%) có xu hướng tăng khi bổ sung vitamin E ở các mức từ 0 đến 200 mg/kg TA, với giá trị cao nhất tại mức 200 mg/kg TA ($10,85 \pm 0,39\%$), sau đó giảm ở các mức cao hơn, đặc biệt tại 1600 mg/kg TA. Điều này nhấn mạnh vai trò của vitamin E trong việc tích lũy lipid ở mức bổ sung phù hợp. Như vậy, mức bổ sung vitamin E 200 mg/kg TA được xem là tối ưu để cải thiện hàm lượng protein và lipid trong cơ thể cá, đồng thời duy trì các thành phần sinh hóa khác ở mức cân bằng. Bổ sung vitamin E quá cao (1600 mg/kg TA) không mang lại lợi ích bổ sung và có thể gây ảnh hưởng tiêu cực.

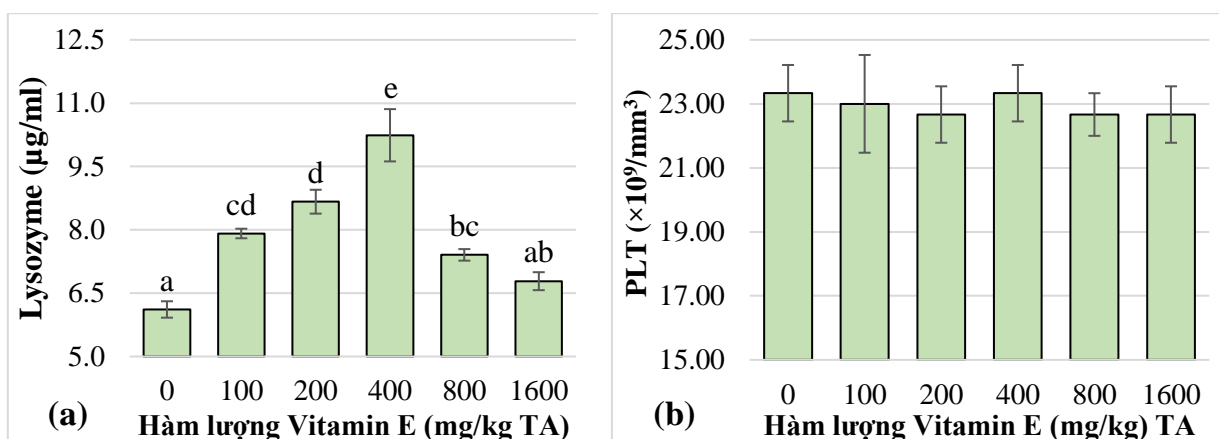
Bảng 3.1 Thành phần sinh hóa cơ thể cá khi sử dụng thức ăn với hàm lượng vitamin E khác nhau

Mức vitamin E bổ sung (mg/kg TA)	Âm (%)	Tro (%)	Protein (%)	Lipid (%)
0	70,18±0,58 ^c	3,74±0,15 ^a	18,52±0,02 ^a	7,2±0,2 ^a
100	66,54±0,52 ^a	5,40±0,14 ^{cd}	19,54±0,04 ^{cd}	10,42±0,17 ^c
200	66,73±0,4 ^a	5,66±0,1 ^d	19,66±0,08 ^d	10,81±0,38 ^c
400	68,1±0,06 ^b	5,07±0,15 ^c	19,31±0,07 ^{bc}	9,34±0,52 ^b
800	68,31±0,25 ^b	4,43±0,11 ^b	19,26±0,05 ^b	9,27±0,19 ^b
1.600	69,62±0,27 ^c	4,17±0,09 ^b	18,51±0,14 ^a	7,47±0,34 ^a

Số liệu được trình bày dưới dạng GTTB±SE. Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

3.1.3. Ảnh hưởng của hàm lượng vitamin E bổ sung vào thức ăn đến đáp ứng miễn dịch của cá chim vây vàng

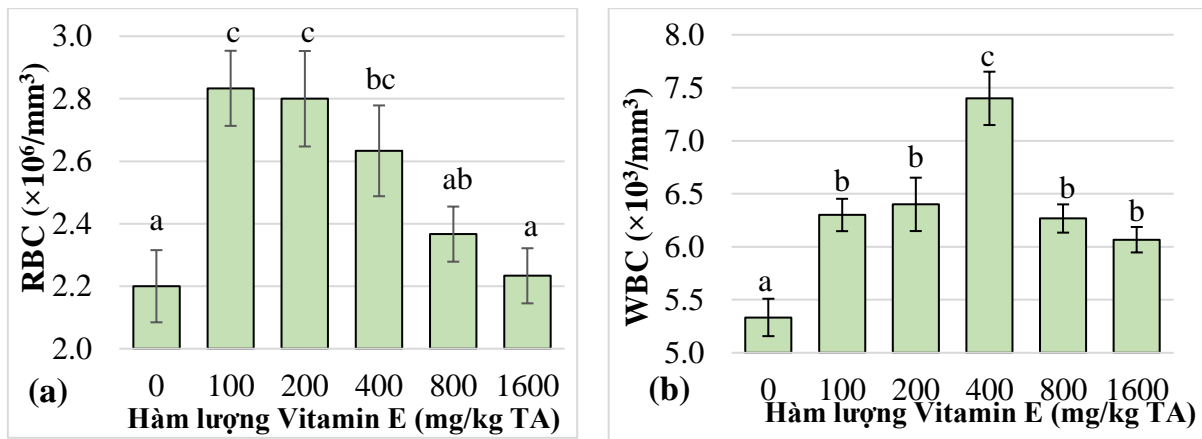
Tác động của hàm lượng vitamin E bổ sung trong thức ăn đối với đáp ứng miễn dịch của cá chim vây vàng được thể hiện trong Hình 3.6.



Số liệu biểu diễn: Trung bình \pm sai số chuẩn (TB \pm SE). Ký hiệu chữ cái khác nhau trên các cột thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) giữa các nghiệm thức thí nghiệm.

Hình 3.6 Hàm lượng Lysozyme (a) và số lượng tiểu cầu (b) ở các mức bổ sung vitamin E

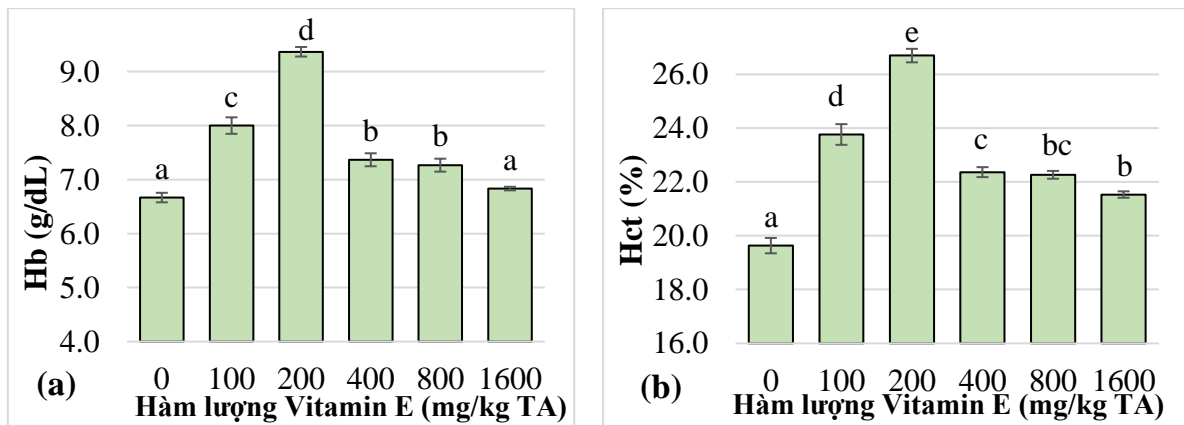
Hình 3.6 trình bày ảnh hưởng của các mức bổ sung vitamin E (mg/kg TA) đến hàm lượng lysozyme (a) và số lượng tiểu cầu (PLT) (b) của cá. Trong Hình 3.6 (a), hàm lượng lysozyme trong huyết thanh tăng dần khi hàm lượng vitamin E bổ sung tăng từ 0 đến 400 mg/kg TA, đạt giá trị cao nhất tại mức 400 mg/kg TA với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các mức bổ sung khác ($P < 0,05$). Sau mức này, hàm lượng lysozyme giảm ở các mức bổ sung 800 và 1600 mg/kg TA, với giá trị thấp hơn đáng kể so với mức 400 mg/kg TA. Điều này cho thấy vitamin E ở mức 400 mg/kg TA có tác động tích cực nhất đến khả năng miễn dịch thông qua việc tăng hàm lượng lysozyme. Hình 3.6 (b) cho thấy số lượng tiểu cầu (PLT) không có sự thay đổi đáng kể giữa các mức bổ sung vitamin E ($P > 0,05$). Điều này cho thấy rằng việc bổ sung vitamin E không ảnh hưởng rõ rệt đến chỉ số này trong phạm vi nghiên cứu. Như vậy, mức bổ sung vitamin E 400 mg/kg TA được xem là tối ưu để tăng cường khả năng miễn dịch của cá, thể hiện qua sự gia tăng hàm lượng lysozyme trong huyết thanh. Tuy nhiên, chỉ số PLT không bị ảnh hưởng bởi các mức bổ sung vitamin E trong nghiên cứu.



Số liệu biểu diễn: Trung bình \pm sai số chuẩn (TB \pm SE). Ký hiệu chữ cái khác nhau trên các cột thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) giữa các nghiệm thức thí nghiệm.

Hình 3.7 Số lượng hồng cầu (a) và số lượng bạch cầu (b) ở các mức bổ sung vitamin E

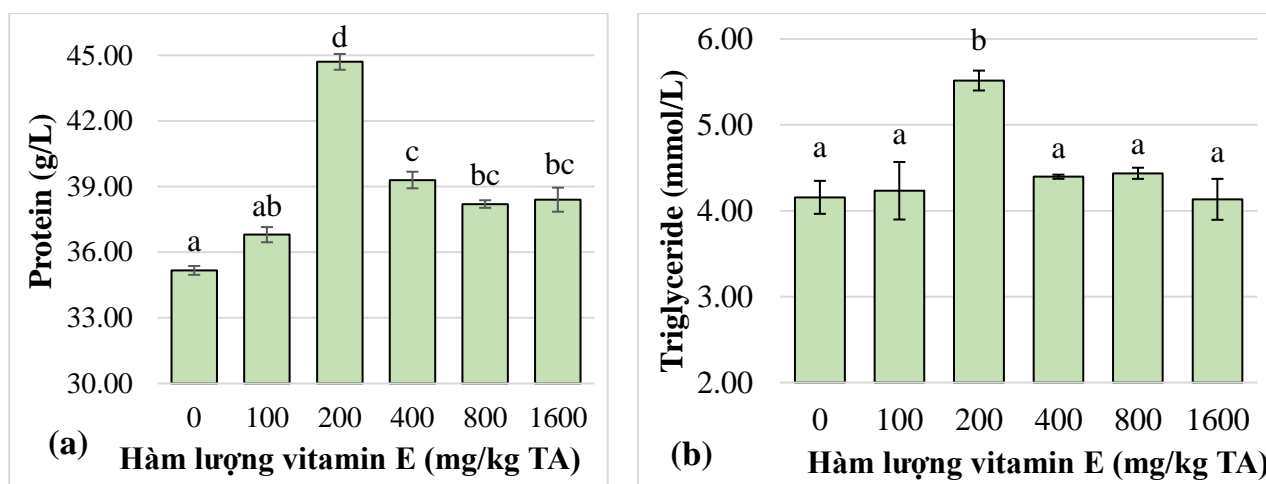
Hình 3.7 trình bày ảnh hưởng của các mức bổ sung vitamin E (mg/kg TA) đến số lượng hồng cầu (RBC) và bạch cầu (WBC) của cá. Trong Hình 3.7 (a), số lượng hồng cầu (RBC) tăng dần khi mức bổ sung vitamin E tăng từ 0 đến 200 mg/kg TA, đạt giá trị cao nhất ở mức bổ sung 200 mg/kg TA, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các mức khác ($P < 0,05$). Sau mức 200 mg/kg TA, số lượng RBC giảm dần ở các mức 400, 800 và 1600 mg/kg TA, với giá trị thấp hơn so với mức tối ưu 200 mg/kg TA. Điều này cho thấy rằng bổ sung vitamin E ở mức phù hợp có thể cải thiện số lượng hồng cầu, nhưng bổ sung quá mức không mang lại lợi ích bổ sung. Trong Hình 3.7 (b), số lượng bạch cầu (WBC) cũng tăng lên khi bổ sung vitamin E, đạt giá trị cao nhất tại mức bổ sung 400 mg/kg TA, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các mức khác ($P < 0,05$). Tương tự như RBC, khi bổ sung vượt ngưỡng tối ưu (800 và 1600 mg/kg TA), số lượng WBC giảm nhẹ. Như vậy, mức bổ sung vitamin E 200 mg/kg TA được xác định là tối ưu để cải thiện số lượng hồng cầu, trong khi mức 400 mg/kg TA tối ưu cho số lượng bạch cầu, hỗ trợ khả năng miễn dịch và sức khỏe tổng thể của cá. Bổ sung vượt ngưỡng này không mang lại lợi ích thêm và có thể làm giảm các chỉ số trên.



Số liệu biểu diễn: Trung bình \pm sai số chuẩn ($TB \pm SE$). Ký hiệu chữ cái khác nhau trên các cột thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) giữa các nghiệm thức thí nghiệm.

Hình 3.8 Hàm lượng Hb (a) và tỷ lệ Hct (b) ở các mức bổ sung vitamin E

Hình 3.8 trình bày ảnh hưởng của các mức bổ sung vitamin E (mg/kg TA) đến hàm lượng hemoglobin (Hb) và tỷ lệ hematocrit (Hct) của cá. Trong Hình 3.8 (a), hàm lượng hemoglobin (Hb) tăng dần khi mức bổ sung vitamin E tăng từ 0 đến 200 mg/kg TA, đạt giá trị cao nhất tại mức bổ sung 200 mg/kg TA (9,0 g/dL), với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các mức khác ($P < 0,05$). Sau mức này, hàm lượng Hb giảm đáng kể ở các mức 800 và 1600 mg/kg TA, với giá trị thấp hơn rõ rệt so với mức tối ưu 200 mg/kg TA. Điều này cho thấy vitamin E ở mức phù hợp có tác dụng cải thiện hàm lượng Hb, trong khi bổ sung quá mức có thể làm giảm chỉ số này. Trong Hình 3.8 (b), tỷ lệ hematocrit (Hct) cũng tăng lên rõ rệt khi mức bổ sung vitamin E tăng từ 0 đến 200 mg/kg TA, đạt giá trị cao nhất tại mức bổ sung 200 mg/kg TA (26,0%), với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các mức còn lại ($P < 0,05$). Ở các mức bổ sung cao hơn, Hct giảm dần, đặc biệt ở mức 1600 mg/kg TA. Như vậy, mức bổ sung vitamin E 200 mg/kg TA được xác định là tối ưu để cải thiện cả hàm lượng hemoglobin và tỷ lệ hematocrit, hai yếu tố quan trọng liên quan đến khả năng vận chuyển oxy và sức khỏe máu của cá. Bổ sung vượt ngưỡng này không những không mang lại lợi ích mà còn có thể làm giảm các chỉ số sinh lý quan trọng này.



Số liệu biểu diễn: Trung bình \pm sai số chuẩn (TB \pm SE). Ký hiệu chữ cái khác nhau trên các cột thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) giữa các nghiệm thức thí nghiệm.

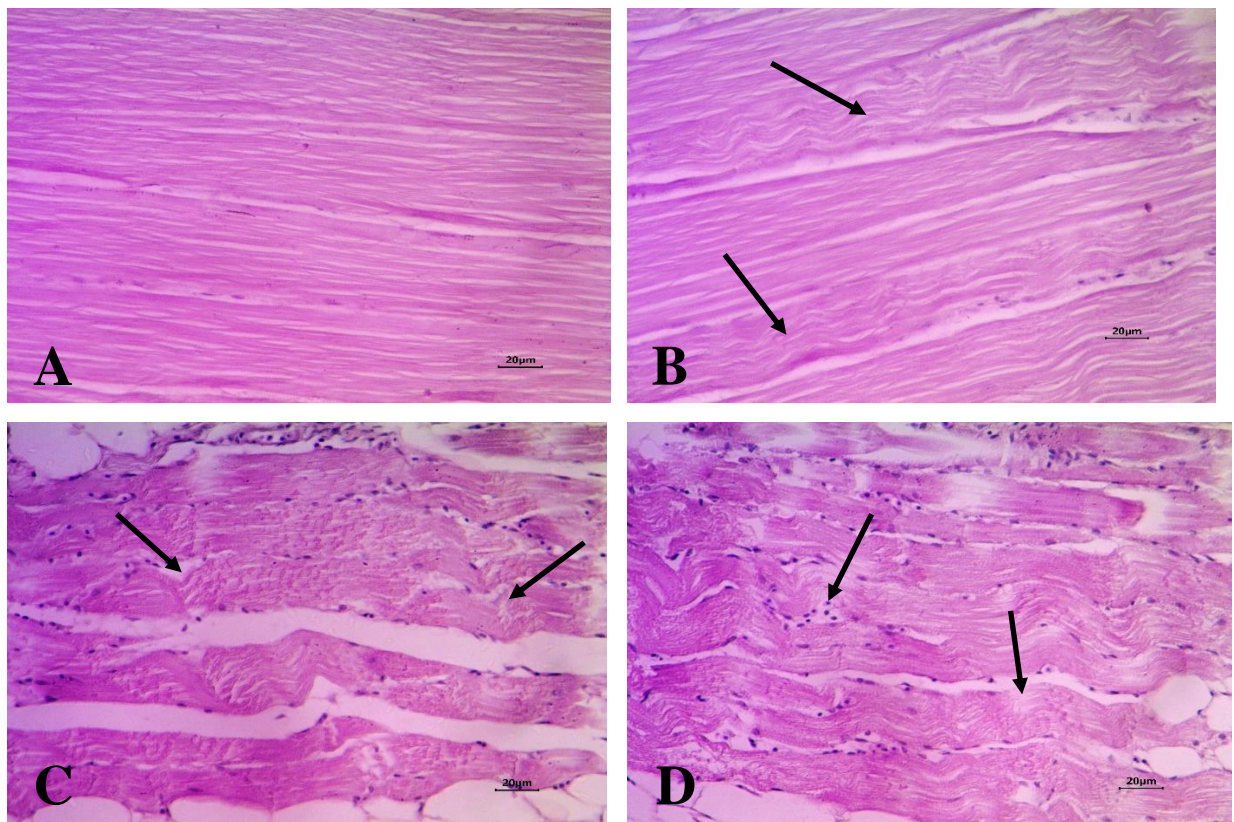
Hình 3.9 Hàm lượng triglyceride (a) và protein huyết tương (b) ở các mức bổ sung vitamin E

Hình 3.9 trình bày ảnh hưởng của các mức bổ sung vitamin E (mg/kg TA) đến hàm lượng protein huyết tương (a) và triglyceride (b) của cá. Trong Hình 3.9 (a), hàm lượng protein huyết tương tăng dần khi mức bổ sung vitamin E tăng từ 0 đến 200 mg/kg TA, đạt giá trị cao nhất tại mức 200 mg/kg TA (44,5 g/L), với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các mức khác ($P < 0,05$). Sau mức này, hàm lượng protein huyết tương giảm nhẹ ở các mức 400, 800 và 1600 mg/kg TA, cho thấy rằng việc bổ sung vitamin E ở mức vượt ngưỡng tối ưu không còn cải thiện chỉ số này mà có thể làm giảm hiệu quả. Trong Hình 3.9 (b), hàm lượng triglyceride trong huyết tương đạt giá trị cao nhất tại mức bổ sung 400 mg/kg TA (5,5 mmol/L), với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các mức khác ($P < 0,05$). Ở các mức bổ sung vitamin E thấp hơn (0 và 100 mg/kg TA) hoặc cao hơn (800 và 1600 mg/kg TA), hàm lượng triglyceride duy trì ở mức tương đối thấp và không khác biệt nhiều. Như vậy, mức bổ sung vitamin E 200 mg/kg TA là tối ưu để tăng cường hàm lượng protein huyết tương, trong khi mức 400 mg/kg TA tối ưu cho việc tăng hàm lượng triglyceride huyết tương. Tuy nhiên, việc bổ sung vượt quá các ngưỡng này không mang lại lợi ích thêm và có thể làm giảm các chỉ số này.

3.1.4. Ảnh hưởng của hàm lượng vitamin E bổ sung vào thức ăn đến tổ chức gan và cơ của cá chim vây vàng

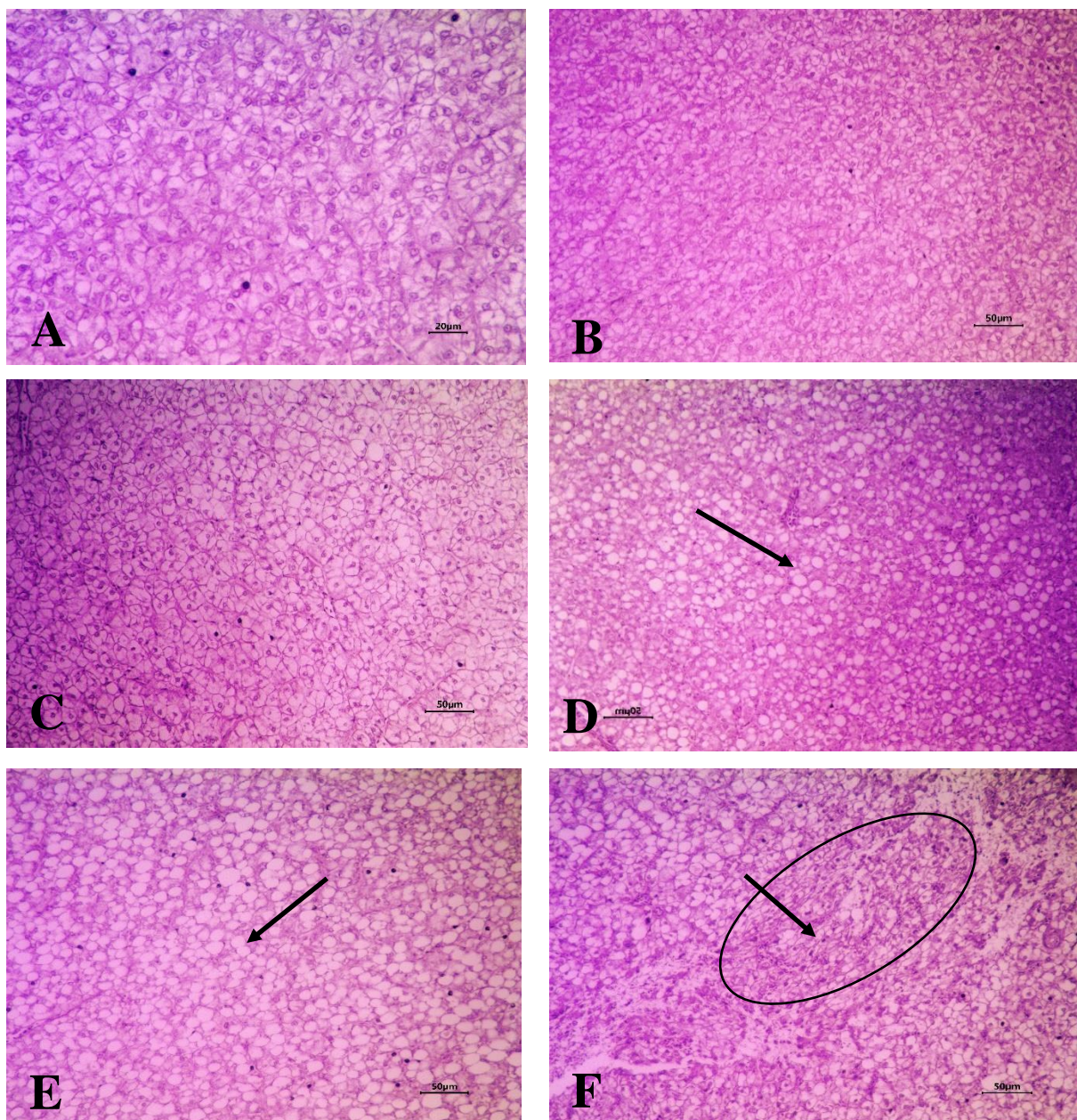
Hình 3.10 mô tả cấu trúc mô cơ của cá chim vây vàng (phóng đại 40X) ở các mức bổ sung vitamin E khác nhau, qua phương pháp nhuộm H&E. Hình 3.10 (A) cho thấy mô cơ cá khỏe mạnh với cấu trúc sợi cơ rõ ràng, sắp xếp thẳng hàng, không có

dấu hiệu biến dạng. Đây là cấu trúc điển hình của mô cơ bình thường. Hình 3.10 (B) là mô cơ cá chim vây vàng được bổ sung vitamin E ở mức 800 mg/kg TA. Sợi cơ có dấu hiệu hơi cong gãy (mũi tên chỉ), tuy nhiên cấu trúc tổng thể vẫn còn tương đối rõ ràng. Điều này cho thấy mức bổ sung 800 mg/kg TA bắt đầu có ảnh hưởng đến cấu trúc mô cơ. Hình 3.10 (C) và 3.10 (D) thể hiện mô cơ cá được bổ sung vitamin E ở mức 1600 mg/kg TA. Các sợi cơ bị cong gãy nhiều hơn, xuất hiện các vùng hoại tử (mũi tên chỉ), làm biến dạng rõ rệt cấu trúc mô cơ. Điều này chứng tỏ mức bổ sung vitamin E quá cao gây tác động tiêu cực, dẫn đến tổn thương và phá vỡ cấu trúc cơ. Tóm lại, mức bổ sung vitamin E ở mức vừa phải giúp duy trì cấu trúc mô cơ bình thường, trong khi mức cao (1600 mg/kg TA) dẫn đến tổn thương mô cơ nghiêm trọng. Điều này nhấn mạnh tầm quan trọng của việc sử dụng liều lượng vitamin E phù hợp để tránh ảnh hưởng tiêu cực đến sức khỏe cơ thể cá.



(A) Mô cơ cá khỏe (40X). (B) Mô cơ cá chim vây vàng được bổ sung vitamin E 800 mg/kg TA, mũi tên chỉ sợi cơ có dấu hiệu cong gãy (40X). (C và D) Mô cơ cá chim vây vàng được bổ sung vitamin E 1600 mg/kg TA, mũi tên chỉ sợi cơ bị gãy và vùng hoại tử làm biến dạng cấu trúc mô cơ (40X).

Hình 3.10 Mô cơ cá chim vây vàng (H&E).



(A, B và C) Mô gan cá chứa không bào với mức độ biến đổi từ nhẹ đến nặng (40X). (D) Tế bào gan teo nhỏ, cấu trúc bất thường (40X). (E và F) Mô gan hoại tử, tế bào gan mỡ, mất liên kết, tế bào máu xâm nhập (40X).

Hình 3.11 Mô gan cá chim vây vàng (H&E).

Ảnh hưởng của vitamin E lên cấu trúc mô gan được thể hiện qua Hình 3.11. Kết quả nghiên cứu cho thấy có sự khác biệt về cấu trúc mô gan của cá ở các nghiệm thức khác nhau. Ở nhóm cá đối chứng và bổ sung vitamin E ở mức 100 – 200 mg/kg TA TA, cấu trúc mô gan không có khác biệt lớn. Tế bào gan đặc trưng là tế bào hình đa diện, nhân nằm ở trung tâm của tế bào, viền nhiễm sắc dày rõ với hạch nhân nổi bật, các tế bào liên kết với nhau chặt chẽ (Hình 3.11A, B, C). Tuy nhiên, khi lượng vitamin E bổ sung vào thức ăn lên đến 400 mg/kg TA, số lượng không bào ở mô gan cá lại có xu hướng tăng dần theo sự gia tăng của vitamin E. Ở nhóm cá cho ăn thức ăn có bổ

sung 1600 mg/kg TA, một số vùng gan xuất hiện sự thoái hóa của nhân (mũi tên), hiện tượng xâm nhập của tế bào máu vào các vùng gan bị hoại tử cũng được tìm thấy nhóm cá này (mũi tên).

3.1.5. Thảo luận

Cá chim vây vàng là loài sống nổi, bơi lội liên tục nên cần chế độ ăn giàu dinh dưỡng để cung cấp năng lượng cho quá trình trao đổi chất mạnh mẽ của cá. Hàm lượng protein trong khẩu phần ăn cho cá chim nuôi thương phẩm dao động trong khoảng 40 – 50%, lipid từ 7 – 10% [50]. Bên cạnh các thành phần dưỡng chất chính trong thức ăn bao gồm protein, lipid và carbohydrate, vitamin E nói riêng và vitamin nói chung đóng vai trò quan trọng trong khẩu phần ăn hàng ngày của cá. Vitamin chiếm một lượng rất nhỏ từ 1 – 2% trong thức ăn nhưng có vai trò quyết định trong quá trình trao đổi chất của cơ thể. Nhiều kết quả nghiên cứu cho thấy, cá sử dụng thức ăn được bổ sung đầy đủ vitamin E sẽ sinh trưởng tốt và cải thiện tỷ lệ sống [65, 81, 98, 131, 135].

Trong nghiên cứu hiện tại, kết quả cũng cho thấy, việc bổ sung vitamin E vào thức ăn với hàm lượng từ 100 – 200 mg/kg TA là tối ưu, hỗ trợ tăng trưởng và cải thiện hệ số chuyển đổi thức ăn (FCR) cho cá chim vây vàng giai đoạn giống. Nhu cầu vitamin E tối ưu cho tăng trưởng về khối lượng của cá chim vây vàng được xác định là 135,63 mg/kg TA. Tuy nhiên, một số nghiên cứu đã ghi nhận rằng vitamin E tác dụng không đáng kể hoặc không tác dụng đến tăng trưởng trong điều kiện căng thẳng, ví dụ như của cá bơn [116] và cá tráp khi bị nuôi nhốt ở mật độ cao [88]. Sự khác biệt này có thể do nhu cầu vitamin E khác nhau theo loài, theo giai đoạn phát triển và điều kiện thí nghiệm.

Sau 10 tuần thí nghiệm, không ghi nhận dấu hiệu bên ngoài cơ thể cá chim vây vàng liên quan đến việc thiếu hoặc thừa vitamin E. Tuy nhiên, kết quả cho thấy có sự biến đổi mô học tổ chức gan và cơ liên quan đến việc bổ sung vitamin E cho cá. Việc bổ sung vitamin E quá nhiều (800 - 1.600 mg/kg TA) hoặc không bổ sung vitamin E gây biến đổi tổ chức gan, bao gồm thoái hóa và hoại tử. Cụ thể, ở nhóm cá không được bổ sung vitamin E, mô gan có hiện tượng hoại tử với sự tan vỡ và mất liên kết giữa các tế bào, trong khi ở nhóm cá bổ sung quá mức vitamin E, tổn thương gan có đặc điểm xuất hiện không bào trong tế bào gan trước khi hoại tử xảy ra. Ngoài ra, mô cơ cá chim vây vàng cũng ghi nhận dấu hiệu cong gãy, hoại tử của các bó cơ khi bổ sung vitamin E ở mức cao. Những hiện tượng này tương tự với các nghiên cứu trước đây trên một

số loài cá khác, khi thiếu vitamin E có thể gây thoái hóa gan và tổn thương cơ, trong khi dư thừa vitamin E có thể ảnh hưởng đến chức năng gan và cấu trúc tế bào [38, 57, 125].

Mặc dù có những dấu hiệu bất thường ở mô gan và mô cơ của cá khi bổ sung thiếu hoặc thừa vitamin E nhưng tốc độ tăng trưởng, hệ số chuyển đổi thức ăn và hiệu quả sử dụng protein của cá *T. blochii* ở các nghiệm thức thí nghiệm nhìn chung vẫn bình thường, thậm chí tốt hơn cá *T. ovatus* [131]. Sự khác biệt này có thể do cá *T. ovatus* có kích thước trung bình ban đầu là 13,4 g (lớn hơn cá *T. blochii* là 5,22 g), ở kích cỡ này, giai đoạn này, cá có thể đã cần dinh dưỡng cũng như năng lượng để hoàn thiện dần cơ quan sinh sản nên tốc độ tăng trưởng chậm hơn cá *T. blochii* trong nghiên cứu hiện tại. Hơn nữa, trong mô hình nuôi lồng của cá *T. ovatus* nhiệt độ có thể khó kiểm soát, biên độ dao động nhiệt khá lớn, từ khoảng 19°C - 29°C nên ảnh hưởng đến các chỉ tiêu đánh giá của cá này, bên cạnh đó cá có thể bị căng thẳng bởi các yếu tố khác ngoài nhiệt độ nên tăng trưởng chậm hơn cá trong nghiên cứu của chúng tôi, cá được nuôi trong điều kiện môi trường kiểm soát chặt chẽ, nhiệt độ ổn định khoảng 28°C, biên độ dao động nhiệt thấp, cá được cho ăn vừa đủ no, không dư thừa thức ăn ảnh hưởng đến môi trường sống của cá.

Sau 10 tuần thử nghiệm cho ăn, không ghi nhận bất kỳ cá thể nào chết ở tất cả các nghiệm thức. Điều này cho thấy, cá chim vây vàng có thể chịu đựng được tình trạng thiếu vitamin E trong thời gian ngắn. Kết quả này tương tự với nghiên cứu trên cá chim *T. ovatus* [131] và cá tầm [24]. Tuy nhiên, cũng có một số đối tượng cá khác có tỷ lệ sống thấp khi thiếu vitamin E trong khẩu phần ăn hằng ngày, như cá tráp vàng [116] và cá giò [135].

Thành phần sinh hóa của động vật thủy sản tương tự như động vật khác. Ngoài các thành phần cơ bản như nước, protein, lipid, khoáng, glucid và muối vô cơ, vitamin chiếm một tỷ lệ đáng kể trong cơ thể cá, trong đó vitamin tập trung chủ yếu ở nội tạng, nhất là gan. Do đó, chỉ số VSI và HSI được sử dụng để đánh giá tình trạng dinh dưỡng của cá, là cơ sở để thay đổi nhu cầu về dinh dưỡng và năng lượng ở cá. Vitamin E ảnh hưởng đáng kể đến chỉ số gan của cá bởi vitamin E là phân tử hòa tan trong dầu nên các lipid trong gan được xem là nơi tích trữ vitamin E [24], bên cạnh đó, trong gan có protein chuyên vận chuyển vitamin E (TTP-Tocopherol transfer protein) [56] nên chỉ số HSI tương quan thuận với hàm lượng vitamin E bổ sung cho cá. Việc không bổ sung vitamin E vào trong khẩu phần ăn dẫn đến sự tiêu thụ vitamin E cùng với mỡ gan để bù đắp cho sự thiếu hụt vitamin E của cơ thể cũng như bù đắp năng lượng cho hoạt động trao đổi chất và tăng trưởng. Kết quả thể hiện ở

cá tầm Beluga (*H. huso* L) khi chỉ số HSI tăng tỷ lệ thuận theo mức bổ sung vitamin E cho cá [24]. Kết quả được trình bày trong Hình 3.4 của nghiên cứu hiện tại cho thấy, vitamin E không ảnh hưởng đến chỉ số VSI và HSI của cá, ngoại trừ nghiệm thức bổ sung 400 mg/kg TA cho chỉ số HSI thấp hơn so với các nghiệm thức còn lại. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu trên cá bơn, chỉ số HSI của cá bơn thấp khi được bổ sung vitamin E, bổ sung càng nhiều, HSI càng thấp [116]. Biểu hiện tương tự cũng được ghi nhận ở cá tráp, cá sử dụng 1000 mg/kg TA có HSI thấp hơn nhóm sử dụng 100 mg/kg TA vitamin E [97]. Sự trái ngược này có thể do sự rối loạn quá trình vận chuyển lipid của gan và vấn đề này cần được nghiên cứu thêm.

Hàm lượng dinh dưỡng của cá bao gồm các chất dinh dưỡng đa lượng (protein, lipid và tro) và vi lượng (vitamin và khoáng chất) được xem là chỉ tiêu để xếp hạng giá trị dinh dưỡng của cá. Thành phần sinh hóa gần đúng của cá bao gồm độ ẩm, độ đạm, chất béo và lượng tro, chiếm khoảng 96% - 98% tổng khối lượng của cá. Độ ẩm hầu hết các loài cá dao động trong khoảng 60 – 80%, trừ một số trường hợp đặc biệt như như cá *Harpadon nehereus*, độ ẩm lên tới 90% khối lượng cơ thể. Trong nghiên cứu này, lượng nước cơ thể cá chim vây vàng ở mức bổ sung vitamin E tối ưu chiếm khoảng 66,73%, thuộc ngưỡng an toàn sinh học cao của cá, đảm bảo chức năng hỗ trợ vận chuyển các dưỡng chất, truyền năng lượng hóa học và các hoạt động phản ứng xảy ra tại tế bào chất. Bên cạnh đó, lượng nước trong cơ thể cá thể hiện mối quan hệ nghịch với hàm lượng protein và lipid, lượng nước càng thấp, protein và lipid càng cao, đồng nghĩa với đó là mức năng lượng của cơ thể cá càng lớn. Lượng protein và lipid của cá chim vây vàng khi được sử dụng thức ăn có bổ sung vitamin E cao hơn nhóm cá không bổ sung vitamin, cao nhất với mức bổ sung 200 mg/kg TA lần lượt là 19,66% và 10,81%. So với hàm lượng này ở một số loài cá biển khác được trình bày trong bảng 1.3 và cá chim vây vàng ở nghiệm thức đối chứng thì hàm lượng đạm và chất béo ở các nghiệm thức được bổ sung vitamin E cao hơn. Trong khi các vitamin khác được xem là có chức năng đồng yếu tố enzym thì vitamin E được biết đến với vai trò chống oxy hóa mạnh mẽ. Thiếu vitamin E, tế bào bị oxy hóa, tổn thương bởi các gốc tự do dẫn đến chức năng hấp thu chất béo bị ảnh hưởng nghiêm trọng và tế bào cơ bị teo nhỏ [24, 56]. Đây có thể là lý do làm giảm lượng protein và lipid ở cá không được sử dụng vitamin E. Thành phần và hàm lượng khoáng chất của cá đại diện cho tổng lượng chất vô cơ của cơ thể và là kết quả của quá trình đốt cháy hoàn toàn các vật

chất hữu cơ của cơ thể cá. Cơ và xương được xem là nơi chứa khoáng chủ yếu của cá. Lượng khoáng trong cơ cá thường dao động từ 0,6% - 1,5% tổng khối lượng khoáng toàn cơ thể, trong khi trữ lượng trong xương, đặc biệt là đốt sống chiếm tới 65%. Lượng khoáng tỷ lệ thuận với lượng tro của cá nên chỉ tiêu về lượng tro được xem là cơ sở đánh giá chất lượng sản phẩm thủy sản. Thông thường, lượng tro của cá dao động từ 0,5% đến 5% tổng khối lượng cơ thể tùy thuộc vào loài, vị trí địa lý, ảnh hưởng của các yếu tố môi trường sống, đặc biệt là thức ăn. Tuy nhiên, cũng có một số loài cá có lượng tro cao hơn 5% (Bảng 1.3). Cá chim vây vàng trong nghiên cứu hiện tại có hàm lượng tro dao động từ 3,74% đến 5,66%, so với nhiều loài cá khác, lượng tro của cá chim vây vàng khá cao. Điều này có thể do đặc trưng về cấu trúc xương của cá. Cá chim vây vàng có cấu trúc khung xương lớn, liên kết chặt chẽ với nhau (Hình 3.27). Do đó, cá cần bổ sung các dưỡng chất có thể nâng cao hàm lượng khoáng cho cơ thể. Kết quả phân tích thành phần sinh hóa cơ thể cá trong nghiên cứu hiện tại cho thấy vitamin E có ảnh hưởng tích cực lên chất lượng thịt cá. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu trên cá rohu *Labeo rohita* [107], cá rô phi *Oreochromis niloticus* x *O. aureus* [64], cá golden shiner *Notemigonus crysoleucas* [32], cá tuyết Đại Tây Dương *Gadus morhua* [133], cá hồi Caspian *Salmo caspius* [106].

Vitamin E có chức năng chống oxi hóa mạnh mẽ, bảo vệ lớp lipid của màng các tế bào miễn dịch, bảo toàn tính nguyên vẹn của màng tế bào, duy trì chức năng bình thường của các tế bào miễn dịch [76]. Do vậy, nhu cầu về vitamin E có thể tăng lên trong quá trình kích thích miễn dịch [30, 100], điều này có nghĩa là hàm lượng vitamin E tỷ lệ thuận với các chỉ tiêu miễn dịch. Số lượng hồng cầu và các chỉ số huyết học liên quan đến hồng cầu như Hb, Hct nhìn chung có vai trò gián tiếp, hỗ trợ miễn dịch nhưng có tác dụng trực tiếp tới tăng trưởng của cá thông qua chức năng vận chuyển chất dinh dưỡng, khí oxy và đào thải khí carbonic cho các tổ chức trong cơ thể. Các chỉ số huyết học này đạt giá trị tốt nhất ở mức bổ sung vitamin E 100 - 200 mg/kg TA (Hình 3.7, 3.8 và 3.9), hay nói cách khác là tăng trưởng của cá chim vây vàng tối ưu khi được bổ sung vitamin E 100 – 200 mg/kg TA. Trong khi đó, bạch cầu cũng như lysozyme được xem là một trong những yếu tố ảnh hưởng đến khả năng miễn dịch của cá lại đạt giá trị tối ưu ở mức bổ sung cao hơn (400 mg/kg TA). Kết quả này tương đồng với nghiên cứu trên cá *A. regius*, cá tăng trưởng tối ưu ở mức bổ sung vitamin E từ 40 -100 mg/kg TA nhưng cần 800 mg/kg TA để ngăn chặn bệnh u hạt [105], cá vẹt *Oplegnathus fasciatus*

cần 38 mg/kg TA để tăng trưởng tối ưu trong khi cần tới hơn 500 mg/kg TA mới tăng cường được đáp ứng miễn dịch [52], hay cá rô phi sông Nil cần 100 – 200 mg/kg TA để tối ưu hóa tăng trưởng trong khi con số này cao gấp 10 lần để tối ưu hóa đáp ứng miễn dịch [46].

Trong suốt 10 tuần thử nghiệm, không có cá thể nào chết ở tất cả các nghiệm thức, kể cả khi không bổ sung vitamin E. Điều này chứng minh rằng cá chim vây vàng có khả năng chịu đựng tốt tình trạng thiếu hụt vitamin E trong thời gian ngắn, tương tự các nghiên cứu trên cá tằm và cá chim *T. ovatus* (Zhang, 2021; Amlashi, 2011). Tuy nhiên, việc thiếu hụt lâu dài có thể gây tổn thương gan và giảm khả năng miễn dịch.

Tóm lại, nghiên cứu hiện tại đã chỉ ra rằng bổ sung vitamin E với mức 100–200 mg/kg TA là tối ưu để tăng trưởng và duy trì sức khỏe của cá chim vây vàng. Đặc biệt, mức 400 mg/kg TA có tác dụng tăng cường miễn dịch, nhưng bổ sung quá liều trên 800 mg/kg TA gây tổn thương nghiêm trọng đến gan và cơ. Kết quả này cung cấp cơ sở khoa học quan trọng để tối ưu hóa chế độ dinh dưỡng và quản lý nuôi trồng bền vững cho cá chim vây vàng.

3.2. Tác động của vitamin E bổ sung vào thức ăn đến sinh trưởng và chỉ số miễn dịch của cá chim vây vàng ở điều kiện nhiệt độ cao

3.2.1. Ảnh hưởng của vitamin E và nhiệt độ lên sinh trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá chim vây vàng

Tác động của vitamin E và nhiệt độ đối với sinh trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá chim vây vàng được thể hiện trong Bảng 3.2. Bảng 3.2 cho thấy ảnh hưởng của nhiệt độ và vitamin E lên tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá chim vây vàng giai đoạn giống đã được phân tích. Các chỉ tiêu như chiều dài thân cuối (FBL), khối lượng cuối (FBW), tốc độ tăng trưởng (SGRL, SGRW), và hiệu quả sử dụng thức ăn (FCR, PE) chịu tác động đáng kể của nhiệt độ môi trường. Ở nhiệt độ 34°C, cá đạt giá trị cao nhất về chiều dài thân cuối (14,75 cm), khối lượng cuối (65,6 g), tốc độ tăng trưởng (SGRL: 1,32%/ngày; SGRW: 3,89%/ngày), và hiệu quả sử dụng thức ăn (PE: 1,45). Điều này chứng tỏ rằng nhiệt độ cao trong khoảng thích nghi giúp cá phát triển tốt hơn. Bổ sung vitamin E cũng cải thiện một số chỉ tiêu, với mức bổ sung 400 mg/kg TA giúp tăng khối lượng cuối (62,85 g), tốc độ tăng trưởng (SGRL: 1,3%/ngày; SGRW: 3,83%/ngày), và hiệu quả sử dụng thức ăn (PE: 1,4) so với nhóm không bổ sung. Tuy nhiên, không có sự

tương tác đáng kể giữa nhiệt độ và vitamin E đối với các chỉ tiêu này. Chỉ số VSI và HSI không thay đổi giữa các nghiệm thức, cho thấy không có ảnh hưởng tiêu cực lên các chỉ số liên quan đến gan và nội tạng. Nhìn chung, nhiệt độ cao (34°C) và bổ sung vitamin E ở mức 400 mg/kg TA có tác dụng tích cực, góp phần cải thiện tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá chim vây vàng trong giai đoạn giống.

Bảng 3.2. Ảnh hưởng của vitamin E và nhiệt độ lên tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá chim vây vàng giai đoạn giống

Nghiệm thức	FBL (cm)	FBW (g/fish)	SGR _L (%/day)	SGR _w (%/day)	VSI (%)	HSI (%)	FI (%BW/day)	FCR	PE
28:0	14,32±0,00	57,75±0,53	1,27±0,01	3,7±0,01	6,24±0,16	0,99±0,05	4,28±0,04	1,67±0,02	1,28±0,01
28:400	14,17±0,12	58,83±1,30	1,26±0,01	3,73±0,03	6,31±0,05	1,01±0,03	4,21±0,08	1,64±0,04	1,3±0,03
31:0	14,64±0,10	61,65±0,48	1,3±0,01	3,8±0,01	6,85±0,09	1,07±0,04	4,03±0,03	1,55±0,01	1,37±0,01
31:400	14,69±0,10	63,39±0,89	1,31±0,01	3,84±0,02	7,09±0,09	1,09±0,01	3,93±0,05	1,51±0,02	1,42±0,02
34:0	14,62±0,10	64,89±0,43	1,3±0,01	3,88±0,01	6,99±0,12	1,11±0,03	3,84±0,02	1,47±0,01	1,45±0,01
34:400	14,87±0,12	66,31±0,20	1,33±0,01	3,91±0,00	7,06±0,04	1,13±0,03	3,76±0,01	1,43±0,00	1,49±0,00
Ảnh hưởng của nhiệt độ nước									
28	14,25 ^A	58,29 ^A	1,26 ^A	3,71 ^A	6,27 ^A	1,00 ^A	4,24 ^C	1,65 ^C	1,29 ^A
31	14,66 ^B	62,52 ^B	1,31 ^B	3,82 ^B	6,97 ^B	1,08 ^B	3,98 ^B	1,53 ^B	1,39 ^B
34	14,75 ^B	65,6 ^C	1,32 ^B	3,89 ^C	7,03 ^B	1,12 ^B	3,8 ^A	1,45 ^A	1,47 ^C
Ảnh hưởng của VE									
0	14,53	61,43 ^X	1,29	3,79 ^X	6,69	1,06	4,05 ^X	1,56 ^X	1,37 ^X
400	14,58	62,85 ^Y	1,3	3,83 ^Y	6,82	1,08	3,97 ^Y	1,53 ^Y	1,4 ^Y
P-values (Two-way ANOVA)									
Nhiệt độ	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05
VE	NS	< 0,05	NS	< 0,05	NS	NS	< 0,05	< 0,05	< 0,05
Nhiệt độ x VE	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Số liệu được hiển thị dưới dạng trung bình của 5 lần lặp lại. Các giá trị có ký tự viết thường khác nhau (a, b, c, d) trong một cột cho biết sự khác biệt ý nghĩa giữa các nghiệm thức thí nghiệm. Các chữ cái viết hoa khác nhau (A, B, C) trong một cột cho thấy sự khác biệt ý nghĩa ($P < 0,05$) giữa trung bình các mức nhiệt độ. Các giá trị chữ cái viết hoa khác nhau (X, Y) trong một cột cho thấy sự khác biệt ý nghĩa ($P < 0,05$) giữa trung bình các mức vitamin E.

3.2.2. Ảnh hưởng của vitamin E và nhiệt độ lên thành phần sinh hóa của cá chim vây vàng giai đoạn giống

Tác động của vitamin E và nhiệt độ đến thành phần sinh hóa của cá chim vây vàng giai đoạn giống được thể hiện trong Bảng 3.3.

Bảng 3.3 Ảnh hưởng của nhiệt độ và vitamin E lên thành phần sinh hóa cơ thể cá

Nghiệm thức	Tro (%)	Ăm (%)	Protein (%)	Lipid (%)
28:0	5,76±0,39	67,19±0,69	18,45±0,09	5,51 ^a ±0,46
28:400	4,2±0,46	67,72±0,68	19,17±0,17	9,37 ^c ±0,49
31:0	5,3±0,30	67,48±0,31	18,89±0,29	7,86 ^b ±0,22
31:400	4,27±0,08	68,74±0,48	19,3±0,23	9,42 ^c ±0,30
34:0	5,43±0,21	67,54±0,30	18,91±0,25	8,33 ^{bc} ±0,39
34:400	4,18±0,17	69,88±0,38	19,92±0,35	10,66 ^d ±0,20

Ảnh hưởng của nhiệt độ

28	4,98	67,56	18,81	9,5 ^C
31	4,79	68,11	19,1	8,64 ^B
34	4,8	68,71	19,42	7,44 ^A

Ảnh hưởng của VE

0	5,49 ^X	67,4 ^X	18,75 ^X	7,24 ^X
400	4,22 ^Y	68,78 ^Y	19,47 ^Y	9,82 ^Y

P-values (Two-way ANOVA)

Nhiệt độ	NS	NS	NS	< 0,05
VE	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05
Nhiệt độ x VE	NS	NS	NS	< 0,05

Số liệu được hiển thị dưới dạng trung bình của 5 lần lặp lại. Các giá trị có ký tự viết thường khác nhau (a, b, c, d) trong một cột cho biết sự khác biệt ý nghĩa giữa các nghiệm thức thí nghiệm. Các chữ cái viết hoa khác nhau (A, B, C) trong một cột cho thấy sự khác biệt ý nghĩa ($P < 0,05$) giữa trung bình các mức nhiệt độ. Các giá trị chữ cái viết hoa khác nhau (X, Y) trong một cột cho thấy sự khác biệt ý nghĩa ($P < 0,05$) giữa trung bình các mức vitamin E.

Bảng 3.3 cho thấy ảnh hưởng của nhiệt độ và vitamin E lên thành phần sinh hóa cơ thể cá chim vây vàng được đánh giá thông qua các chỉ tiêu tro, độ ẩm, hàm lượng protein và lipid. Kết quả cho thấy nhiệt độ môi trường có tác động đáng kể đến thành

phần sinh hóa cơ thể. Hàm lượng protein và lipid của cá tăng khi nhiệt độ tăng từ 28°C lên 34°C, đạt giá trị cao nhất ở 34°C (protein: 19,81%; lipid: 9,64%). Điều này phản ánh sự cải thiện tích lũy dinh dưỡng của cá ở mức nhiệt độ cao hơn trong phạm vi thích nghi. Ngược lại, hàm lượng tro giảm dần khi nhiệt độ tăng, cho thấy sự tích lũy chất khoáng trong cơ thể cá có xu hướng giảm ở nhiệt độ cao. Bổ sung vitamin E cũng cải thiện đáng kể các thành phần sinh hóa của cá. Nhóm bổ sung 400 mg/kg TA vitamin E có hàm lượng protein và lipid cao hơn (protein: 19,47%; lipid: 9,47%) so với nhóm không bổ sung (protein: 18,75%; lipid: 7,24%). Đồng thời, hàm lượng tro giảm rõ rệt ở nhóm bổ sung vitamin E, chứng tỏ vitamin E giúp tăng cường khả năng tích lũy dưỡng chất trong cơ thể cá. Tuy nhiên, không có sự tương tác đáng kể giữa nhiệt độ và vitamin E đối với các chỉ tiêu này. Nhìn chung, nhiệt độ cao trong khoảng thích nghi (34°C) và bổ sung 400 mg/kg TA vitamin E góp phần cải thiện tích lũy protein và lipid, nâng cao chất lượng sinh hóa cơ thể cá chim vây vàng giai đoạn giống.

3.2.3. Ảnh hưởng của vitamin E và nhiệt độ lên đáp ứng miễn dịch của cá chim vây vàng

Bảng 3.4 cho thấy ảnh hưởng của nhiệt độ và vitamin E lên một số chỉ tiêu huyết học của cá chim vây vàng giai đoạn giống được đánh giá thông qua các thông số như số lượng bạch cầu (WBC), hồng cầu (RBC), hemoglobin (Hb), hematocrit (Hct), tiểu cầu (PLT), triglyceride và protein huyết tương.

Bảng 3.4 Ảnh hưởng của nhiệt độ và vitamin E lên một số chỉ tiêu huyết học

Nghiệm thức	WBC ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	RBC ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	Hb (g/dL)	Hct (%)	PLT ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	Triglyceride (mmol/L)	Protein (g/L)
28:0	5,75 ^a ±0,07	1,79 ^a ±0,01	6,7±0,08	19,8 ^a ±0,45	22,2±0,37	3,99±0,15	36,06 ^a ±0,63
28:400	6,51 ^b ±0,15	1,87 ^a ±0,03	7,12±0,09	22,12 ^b ±0,51	23,8±0,58	4,19±0,20	36,2 ^a ±0,46
31:0	6,65 ^b ±0,13	2,21 ^b ±0,03	6,92±0,27	21,92 ^b ±0,31	22,4±0,24	4,75±0,34	36,76 ^a ±0,39
31:400	7,15 ^c ±0,04	2,21 ^b ±0,03	7,9±0,34	22,78 ^b ±0,40	23,4±0,40	4,92±0,32	39,52 ^b ±0,46
34:0	6,35 ^b ±0,05	2,21 ^b ±0,04	7,42±0,29	22,08 ^b ±0,25	22,4±0,51	4,41±0,04	39,24 ^b ±0,38
34:400	7,54 ^d ±0,13	3,11 ^c ±0,05	8,98±0,27	25,68 ^c ±0,66	23,2±0,58	5,15±0,38	40,36 ^b ±0,56
Ảnh hưởng của nhiệt độ nước							
28	6,13 ^A	1,83 ^A	6,91 ^A	20,96 ^A	23	4,09 ^A	36,13 ^A
31	6,9 ^B	2,21 ^B	7,41 ^A	22,35 ^B	22,9	4,83 ^B	38,14 ^B
34	6,95 ^B	2,66 ^C	8,2 ^B	23,88 ^C	22,8	4,78 ^B	39,8 ^C
Ảnh hưởng của VE							
0	6,25 ^X	2,07 ^X	7,01 ^X	21,27 ^X	22,33 ^X	4,38	37,35 ^X
400	7,07 ^Y	2,4 ^Y	8,0 ^Y	23,53 ^Y	23,47 ^Y	4,75	38,69 ^Y
P-values (Two-way ANOVA)							
Nhiệt độ	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	NS	< 0,05	< 0,05
VE	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	NS	< 0,05
Nhiệt độ x VE	< 0,05	< 0,05	NS	< 0,05	NS	NS	< 0,05

Số liệu được hiển thị dưới dạng trung bình của 5 lần lặp lại. Các giá trị có ký tự viết thường khác nhau (a, b, c, d) trong một cột cho biết sự khác biệt ý nghĩa giữa các nghiệm thức thí nghiệm. Các chữ cái viết hoa khác nhau (A, B, C) trong một cột cho thấy sự khác biệt ý nghĩa ($P < 0,05$) giữa trung bình các mức nhiệt độ. Các giá trị chữ cái viết hoa khác nhau (X, Y) trong một cột cho thấy sự khác biệt ý nghĩa ($P < 0,05$) giữa trung bình các mức vitamin E.

Kết quả ở Bảng 3.4 cho thấy, nhiệt độ môi trường có tác động đáng kể đến hầu hết các chỉ tiêu huyết học. Số lượng bạch cầu, hồng cầu, Hb, Hct, và protein huyết tương đều tăng dần khi nhiệt độ tăng từ 28°C lên 34°C. Tại mức nhiệt 34°C, các chỉ số này đạt giá trị cao nhất, lần lượt là WBC: $6,95 \times 10^3/\text{mm}^3$, RBC: $2,21 \times 10^6/\text{mm}^3$, Hb: 8,09 g/dL, Hct: 25,68%, và protein huyết tương: 40,56 g/L, cho thấy nhiệt độ cao hơn trong phạm vi thích nghi của cá giúp tăng cường hoạt động sinh lý và khả năng miễn dịch tự nhiên. Triglyceride cũng tăng cao nhất ở mức nhiệt 34°C (5,15 mmol/L), phản ánh quá trình chuyển hóa năng lượng tích cực hơn trong điều kiện nhiệt độ cao. Việc bổ sung vitamin E (400 mg/kg TA) cũng cải thiện đáng kể các chỉ tiêu huyết học, đặc biệt là số lượng bạch cầu, hồng cầu, Hb, Hct, và protein huyết tương. So với nhóm không bổ sung vitamin E, nhóm bổ sung 400 mg/kg TA có số lượng hồng cầu ($2,44 \times 10^6/\text{mm}^3$), Hb (8,09 g/dL), và Hct (23,53%) cao hơn rõ rệt. Protein huyết tương cũng tăng lên 38,69 g/L ở nhóm bổ sung vitamin E, so với 37,35 g/L ở nhóm đối chứng. Điều này cho thấy vitamin E có vai trò hỗ trợ tích cực trong việc nâng cao sức khỏe và khả năng miễn dịch của cá. Tuy nhiên, không có sự tương tác đáng kể giữa nhiệt độ và vitamin E đối với các chỉ tiêu này, ngoại trừ số lượng tiểu cầu (PLT), cho thấy tiểu cầu không bị ảnh hưởng bởi hai yếu tố này. Nhìn chung, nhiệt độ cao (34°C) và bổ sung vitamin E (400 mg/kg TA) giúp cải thiện các chỉ tiêu huyết học và chất lượng máu, góp phần nâng cao khả năng chống chịu và sức khỏe tổng thể của cá chim vây vàng trong giai đoạn giống.

Dựa trên bảng 3.5, ảnh hưởng của nhiệt độ và vitamin E lên hàm lượng lysozyme huyết thanh, hoạt tính bùng nổ hô hấp, hoạt tính thực bào và chỉ số thực bào của cá chim vây vàng được thể hiện rõ qua các thông số được thu thập. Hàm lượng lysozyme huyết thanh tăng dần khi nhiệt độ tăng từ 28°C lên 34°C. Tại mức nhiệt 34°C, lysozyme đạt giá trị cao nhất (8,38 $\mu\text{g}/\text{mL}$), cho thấy nhiệt độ cao hơn trong phạm vi thích nghi của cá thúc đẩy hoạt động miễn dịch tự nhiên. Hoạt tính bùng nổ hô hấp và hoạt tính thực bào cũng tăng đáng kể khi nhiệt độ tăng, với hoạt tính bùng nổ hô hấp đạt giá trị cao nhất (1,48) ở mức 34°C. Điều này cho thấy quá trình chuyển hóa năng lượng và phản ứng miễn dịch của cá được cải thiện trong điều kiện nhiệt độ cao. Chỉ số thực bào tăng nhẹ từ 28°C đến 34°C, đạt giá trị cao nhất tại 34°C (2,00), chứng minh nhiệt độ cao trong khoảng thích nghi có tác động tích cực đến khả năng thực bào của cá. Bổ sung vitamin E (400 mg/kg TA) cải thiện đáng kể hàm lượng lysozyme (8,21 $\mu\text{g}/\text{mL}$), hoạt tính bùng nổ hô hấp (1,36) và hoạt tính thực bào (75,53%), so với

nhóm không bổ sung. Điều này khẳng định vai trò của vitamin E trong việc tăng cường các phản ứng miễn dịch và chống oxy hóa của cá. Chỉ số thực bào cũng cao hơn ở nhóm bổ sung vitamin E (1,92) so với nhóm không bổ sung (1,87), phản ánh tác động tích cực của vitamin E trong việc cải thiện khả năng chống lại các tác nhân gây bệnh. Không có sự tương tác đáng kể giữa nhiệt độ và vitamin E đối với các thông số được nghiên cứu, ngoại trừ hàm lượng lysozyme và hoạt tính bùng nổ hô hấp. Nhiệt độ cao (34°C) trong phạm vi thích nghi của cá và việc bổ sung vitamin E (400 mg/kg TA) đều có vai trò quan trọng trong việc tăng cường các chỉ số miễn dịch tự nhiên như lysozyme, hoạt tính thực bào và bùng nổ hô hấp. Những kết quả này cho thấy sự kết hợp hợp lý giữa nhiệt độ môi trường và bổ sung vitamin E có thể giúp tối ưu hóa sức khỏe và khả năng miễn dịch của cá chim vây vàng trong điều kiện nuôi trồng.

Bảng 3.5 Ảnh hưởng của vitamin E và nhiệt độ lên hàm lượng lysozyme huyết thanh, hoạt tính bùng nổ hô hấp, hoạt tính thực bào và chỉ số thực bào của cá chim vây vàng

Nghiệm thức	Lysozyme (µg/mL)	Hoạt tính thực bào	Chỉ số thực bào	Bùng nổ hô hấp
28:0	6,70±0,33	69,80±1,85	1,78±0,06	1,22±0,04
28:400	7,52±0,59	73,80±2,75	1,90±0,06	1,25±0,03
31:0	7,19±0,42	71,40±2,42	1,86±0,07	1,29±0,02
31:400	7,72±0,24	74,80±1,46	1,85±0,07	1,37±0,03
34:0	7,20±0,27	74,40±1,89	1,96±0,06	1,34±0,03
34:400	9,40±0,63	78,00±1,73	2,02±0,06	1,48±0,03
Ảnh hưởng của nhiệt độ nước				
28	7,11 ^A	71,8	1,84	1,23 ^A
31	7,46 ^{AB}	73,1	1,86	1,33 ^B
34	8,3 ^B	76,2	1,99	1,41 ^C
Ảnh hưởng của VE				
0	7,03 ^X	71,87 ^X	1,87	1,29 ^X
400	8,21 ^Y	75,53 ^Y	1,92	1,36 ^Y
P-values (Two-way ANOVA)				
Nhiệt độ	< 0,05	NS	NS	< 0,05
VE	< 0,05	< 0,05	NS	< 0,05
Nhiệt độ x VE	NS	NS	NS	NS

Số liệu được hiển thị dưới dạng trung bình của 5 lần lặp lại. Các giá trị có ký tự viết thường khác nhau (a, b, c, d) trong một cột cho biết sự khác biệt ý nghĩa giữa các nghiệm thức thí nghiệm. Các chữ cái viết hoa khác nhau (A, B, C) trong một cột cho thấy sự khác biệt ý nghĩa ($P < 0,05$) giữa trung bình các mức nhiệt độ. Các giá trị chữ cái viết hoa khác nhau (X, Y) trong một cột cho thấy sự khác biệt ý nghĩa ($P < 0,05$) giữa trung bình các mức vitamin E.

3.2.4. Thảo luận

Do biến đổi khí hậu, các mô hình nhiệt độ toàn cầu đã thay đổi rõ rệt và được dự đoán sẽ thay đổi theo hướng khắc nghiệt hơn. Điều này sẽ ảnh hưởng đến thể lực và hiệu suất của các loài cá, nhất là cá ở vùng nhiệt đới. Cá nhiệt đới có giới hạn nhiệt khác với cá nước lạnh và nước ấm. Chúng sẽ chết ở nhiệt độ từ 10°C đến 20°C và hầu hết ngừng phát triển ở nhiệt độ dưới 25°C [31]. Một số nghiên cứu trên cá vùng nhiệt đới cho thấy, cá *Psammoperca waigiensis* [73] sinh trưởng và đáp ứng miễn dịch tốt ở 28°C, ở hướng ngược lại, tăng trưởng và đáp ứng miễn dịch của cá giảm mạnh khi được nuôi ở nhiệt độ 34°C, nhiệt độ 32°C ức chế sự tiết collagen loại II của ấu trùng cá *T. ovatus* so với 24°C và 28°C [58] hay các chỉ số huyết học của cá *P. hypophthalmus* tăng cao ở 35°C so với mức nhiệt 27°C và 31°C [100]. Trong nghiên cứu hiện tại, có sự khác biệt về mức nhiệt tối ưu cho tăng trưởng và đáp ứng miễn dịch của cá chim vây vàng so với các loài cá trên. Cá chim tăng trưởng và đáp ứng miễn dịch tốt nhất ở mức nhiệt 34°C và có xu hướng giảm dần khi hạ nhiệt độ xuống 28°C. Bên cạnh đó, so với mức nhiệt tối ưu cho sinh trưởng và phát triển của cá chim vây vàng là 27°C được FAO công bố trước đây, cá chim trong nghiên cứu này sinh trưởng tốt ở mức nhiệt khá cao. Sự khác biệt này có thể do cá chim vây vàng thuộc nhóm đối tượng sống vùng nhiệt đới, thích nghi tốt với nhiệt độ cao nên sau một thời gian dài tiếp xúc với nhiệt độ cao tại Khánh Hòa đã thích nghi với điều kiện nhiệt độ môi trường nước mới. Điều này đã được Islam (2021) nhận định, khả năng chịu nhiệt của cá nói chung phụ thuộc vào loài, đặc tính di truyền, tuổi tác, các giai đoạn phát triển, đặc điểm sinh lý và quá trình tiếp xúc với nhiệt trước đó. Cá có thể thích nghi với sự gia tăng của nhiệt độ môi trường nước đến một giới hạn nhất định mặc dù trước đó mức nhiệt này nằm ngoài ngưỡng chịu đựng nhiệt độ của cá [67].

Cá chim vây vàng trước đây là loài hẹp nhiệt, giới hạn nhiệt độ của cá là 24°C – 28°C, sinh trưởng và phát triển tối ưu ở mức nhiệt 27°C. Khả năng chịu nhiệt của cá kém, dưới 12°C cá không hoạt động và có nguy cơ tử vong, trên 33°C trong vài ngày thì cá sẽ tử vong [50]. Tuy nhiên, một nghiên cứu gần đây trên cá nhiệt đới đã chỉ ra rằng, cá *T. blochii* có tốc độ tăng trưởng tốt, tỷ lệ sống cao và phản ứng chống oxy hóa hiệu quả ở nhiệt độ 32°C trong điều kiện được kiểm soát tốt [102]. Trong nghiên cứu này, mức nhiệt 34°C được chọn để nghiên cứu giới hạn chịu nhiệt ở cá chim vây vàng giai đoạn giống, kết quả hiện tại cho thấy cá chim vây vàng sinh trưởng và đáp ứng

miễn dịch tốt ở mức nhiệt từ 28°C - 34°C, tốt nhất ở 34°C, đồng thời không có một cá thể nào chết ở nhiệt độ này. Qua đó cho thấy giới hạn nhiệt độ của cá chim vây vàng đã được mở rộng và cá thích nghi tốt với điều kiện nhiệt độ cao nên giới hạn nhiệt trong nghiên cứu hiện tại được xem là giới hạn thích nghi mới của cá thí nghiệm. Trong giới hạn này, khi nhiệt độ càng tăng thì tốc độ các phản ứng của quá trình trao đổi chất trong cơ thể cá tăng dẫn đến tốc độ tăng trưởng càng mạnh, điều này thể hiện qua sự tăng trưởng về chiều dài và khối lượng của cá, cùng với đó là các chỉ số huyết học cũng tăng hơn đáp ứng nhu cầu trao đổi chất của cơ thể.

Nhiệt độ thí nghiệm không ảnh hưởng thành phần sinh hóa của cá chim vây vàng trừ hàm lượng lipid tổng số. Lượng lipid của cá giảm dần khi tăng nhiệt độ từ 28°C lên 34°C, thấp nhất ở nghiệm thức 34°C. Điều này cũng hoàn toàn hợp lý khi nhu cầu trao đổi chất của cá chim vây vàng trong điều kiện nhiệt độ cao 34°C, cá cần năng lượng nhiều hơn nên việc phân giải lipid để cung cấp năng lượng cho các hoạt động của cá là tất yếu. Bên cạnh đó, nhiệt độ có ảnh hưởng lên chỉ tiêu miễn dịch là hàm lượng lysozym huyết thanh và búng nở hô hấp nhưng không ảnh hưởng đến hoạt tính thực bào và chỉ số thực bào. Hàm lượng lysozym huyết thanh và các chất diệt khuẩn mạnh được sản sinh trong quá trình búng nở hô hấp của đại thực bào cá chim vây vàng cao nhất khi được nuôi ở 34°C và giảm dần khi nuôi ở 28°C. Theo Magnadottir (2005), thực bào là một trong những quá trình quan trọng nhất ở động vật biến nhiệt bởi quá trình này ít bị ảnh hưởng bởi nhiệt độ [85]. Cùng với đó, Biller (2018) cho rằng quá trình búng nở hô hấp sản sinh các chất diệt khuẩn mạnh bị ảnh hưởng đáng kể bởi nhiệt độ [29]. Như vậy, hoạt tính thực bào và búng nở hô hấp của bạch cầu cá chim vây vàng trong thí nghiệm này trùng hợp với nhận định của Magnadottir (2005) và Biller (2018).

Khả năng tiêu diệt vật lạ của hệ miễn dịch tự nhiên không chỉ phụ thuộc vào quá trình thực bào của bạch cầu, quá trình phân cắt vật lạ bởi các chất oxi hóa mạnh sinh ra từ hiện tượng búng nở hô hấp của đại thực bào mà còn phụ thuộc vào một trong những thành phần dịch thể của hệ miễn dịch là lysozyme. Lysozyme là một phân tử quan trọng của hàng rào dịch thể trong hệ thống miễn dịch tự nhiên, có khả năng phá hủy vách tế bào vi khuẩn gram dương, tiêu diệt và ngăn chặn sự xâm nhập của chúng [108]. Do tính chất biến nhiệt của cơ thể cá theo nhiệt độ môi trường nên nhiệt độ ảnh hưởng mạnh mẽ đến chức năng miễn dịch của cá, trong đó có việc chi phối hàm lượng

cũng như hoạt tính lysozyme huyết thanh. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh hàm lượng lysozyme huyết thanh cá bị ảnh hưởng bởi sự thích nghi của cá ở các mức nhiệt độ khác nhau. Fletcher và White (1976) đã báo cáo mức lysozyme trong huyết thanh cá bơn *Pleuronectes platessa* L. giảm 70% khi sống ở nhiệt độ thấp (5°C) trong 3 tháng [51]. Xu hướng tương tự cũng được thấy ở cá chép *Cyprinus carpio* L. (trích [108]), cá *Sparus aurata* [118]. Ngược lại, Kumari và cs (2006) báo cáo mức lysozyme thấp nhất ở nhiệt độ môi trường cao nhất (32,5°C) ở cá da trơn châu Á *Clarias batrachus* [71]. Tương tự, lươn Nhật Bản *Anguilla japonica* sống ở điều kiện nhiệt độ 20-30°C có hàm lượng lysozyme huyết thanh thấp hơn so với nhiệt độ 15°C (trích [108]). Trong nghiên cứu hiện tại, hàm lượng lysozyme huyết thanh cá chim vây vàng tăng dần trong phạm vi nhiệt độ thích nghi của cá từ 28°C đến 34°C. Trong đó, lượng lysozym đạt cao nhất ở mức nhiệt độ 34°C.

Vitamin E là một chất chống oxy hóa mạnh, có khả năng bảo vệ màng tế bào khỏi tác hại của quá trình oxy hóa. Cùng với PUFAs, vitamin E được tích hợp vào màng tế bào và bảo vệ lớp vỏ bên ngoài của tế bào khỏi các gốc tự do đi qua. So với các chất chống oxy hóa khác, nó bảo vệ PUFAs và màng tế bào rất hiệu quả. Vai trò của vitamin E đối với cá chim vây vàng đã được minh chứng ở thí nghiệm 1 và nhiều nghiên cứu được thảo luận ở thí nghiệm 1. Kết quả thí nghiệm 2 cũng cho thấy vitamin E ảnh hưởng đáng kể đến sinh trưởng, sinh hóa, các chỉ số huyết học và hàm lượng lysozyme huyết thanh của cá chim vây vàng.

Thực bào là một cơ chế thiết yếu của miễn dịch tự nhiên và quá trình này được xem như một thông số đánh giá tình trạng miễn dịch ở một số loài cá dưới tác động của nhiều yếu tố, trong đó có yếu tố dinh dưỡng [29]. Đến nay, có rất ít nghiên cứu về ảnh hưởng của vitamin E lên chức năng thực bào của cá. Tuy nhiên, ở động vật đẳng nhiệt, vai trò của vitamin E đối với các tế bào thực bào và ảnh hưởng của nó lên hoạt tính thực bào của bạch cầu đã được nghiên cứu kỹ. Nó được xem như một chất kích thích miễn dịch và khi được bổ sung với hàm lượng cao hơn nhu cầu ăn hàng ngày sẽ chi phối hoạt động thực bào của bạch cầu. Nghiên cứu hiện tại cho thấy vitamin E được bổ sung vào thức ăn có ảnh hưởng đến chức năng thực bào của cá chim vây vàng giai đoạn giống. Mặc dù cá ở các nghiệm thức không bổ sung vitamin E vẫn khỏe mạnh trong suốt thời gian thí nghiệm, không có bất kỳ dấu hiệu bất thường nào trên cơ thể cũng như hoạt động sống hàng ngày nhưng hoạt tính thực bào và chỉ số thực bào

giảm đáng kể so với nhóm cá được bổ sung vitamin E. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu trên cá hồi vân *Oncorhynchus mykiss* [36]. Theo Blazer (1991) nhận định, một số nghiên cứu cho thấy khả năng thực bào của bạch cầu tăng lên khi cá được bổ sung vitamin E ở mức rất cao, đồng thời cũng có nghiên cứu chứng minh khả năng thực bào của bạch cầu phụ thuộc vào liều lượng vitamin E bổ sung [30]. Do đó, sự khác biệt về khả năng thực bào trong nghiên cứu hiện tại so với một số nghiên cứu khác có thể liên quan đến hàm lượng vitamin E được bổ sung vào thức ăn cho cá.

Bùng nổ hô hấp là kết quả của quá trình thực bào của đại thực bào và bạch cầu trung tính, giai đoạn nuốt và tiêu diệt vật lạ của các tế bào này chưa thực sự là nguyên nhân để quá trình bùng nổ hô hấp xảy ra mà nó có thể được hoạt hóa ngay khi mầm bệnh bám vào màng đại thực bào [110]. Sản phẩm của quá trình bùng nổ hô hấp là các chất có khả năng diệt khuẩn mạnh, các gốc oxy tự do, các loại oxy phản ứng như: $O_2^{\cdot-}$, HO^{\cdot} , ROO^{\cdot} , RO^{\cdot} , NO , H_2O_2 , $HClO$. Tuy nhiên, các loại oxy phản ứng khi vượt quá nhu cầu của cơ thể lại có ảnh hưởng bất lợi đến chính khả năng thực bào của đại thực bào và bạch cầu trung tính bởi các gốc tự do này tấn công, gây tổn thương màng các tế bào miễn dịch [29]. Vitamin E bảo vệ màng đại thực bào khỏi những tổn thương bởi các gốc tự do, các loại oxy phản ứng như peroxide, superoxide sinh ra trong quá trình bùng nổ hô hấp [30]. Do vậy, việc không bổ sung vitamin E trong thí nghiệm hiện tại cũng có thể đã ảnh hưởng đến quá trình bùng nổ hô hấp của bạch cầu, các loại oxy phản ứng. Kết quả cho thấy ở nhóm không được bổ sung vitamin E, chỉ tiêu này thấp hơn so với nhóm được bổ sung vitamin E.

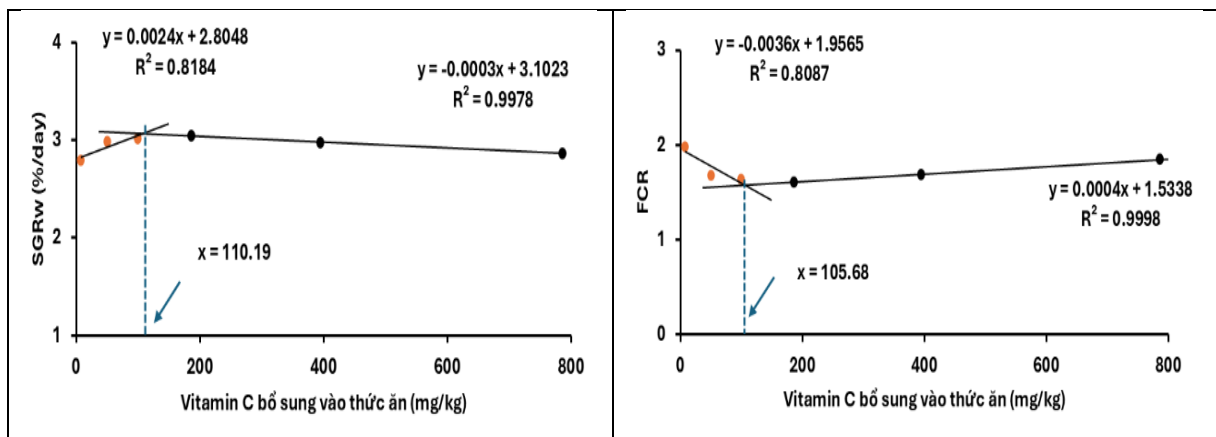
Theo Sayed (2021), nhiệt độ là một trong những yếu tố ảnh hưởng đáng kể đến nhu cầu vitamin E của cá, hay nói cách khác là có sự ảnh hưởng tương tác giữa vitamin E và nhiệt độ lên cá, tuy nhiên đến nay nhận định này chưa được minh chứng nhiều ở động vật thủy sản. Chỉ mới có Chen (2004) cho thấy vai trò của vitamin E trong việc nâng cao tỷ lệ sống, hàm lượng vitamin E nội tạng và các chỉ số huyết học của cá golden shiner *Notemigonus crysoleucas* khi sống trong điều kiện nhiệt độ cao [32]. Nghiên cứu ở động vật trên cạn cho thấy, vitamin E là hàng phòng thủ đầu tiên trong việc chống oxi hóa lipid do tác dụng của nhiệt. Nếu nhiệt độ môi trường sống tăng cao làm giảm hàm lượng vitamin E trong huyết thanh, do đó, việc bổ sung vitamin E vào thức ăn để nâng cao sức khỏe cho vật nuôi trong điều kiện nhiệt độ cao là cần thiết [61]. Trong nghiên cứu hiện tại, ngoại trừ hàm lượng lipid tổng số của cơ

thể, số lượng bạch cầu, hồng cầu, hàm lượng Hct và protein huyết thanh bị ảnh hưởng tương tác giữa vitamin E và nhiệt độ thì các chỉ tiêu về tăng trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn, thành phần sinh hóa cơ thể và đáp ứng miễn dịch tự nhiên của cá chim vây vàng đều không bị tác động đồng thời của 2 yếu tố này. Nhiệt độ thí nghiệm nằm trong ngưỡng thích nghi của cá chim nên cơ thể cá chưa bị những tổn thương đáng kể do các gốc tự do được sinh ra trong quá trình căng thẳng bởi nhiệt độ cao gây nên, do đó vai trò bảo vệ của vitamin E chống lại tổn thương tế bào, chống lại các gốc tự do dưới tác động của nhiệt độ cao chưa được thể hiện trong nghiên cứu này. Do đó, nghiên cứu tiếp theo cần xác định giới hạn nhiệt độ cao mà cá chim vây vàng có thể chịu đựng được để tiếp tục thử nghiệm xác định tương tác giữa vitamin E và nhiệt độ lên các hoạt động sinh lý của cá.

3.3. Ảnh hưởng của hàm lượng vitamin C bổ sung vào thức ăn đến sinh trưởng và chỉ số miễn dịch của cá chim vây vàng

3.3.1. Ảnh hưởng của hàm lượng vitamin C bổ sung vào thức ăn đến sinh trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá chim vây vàng

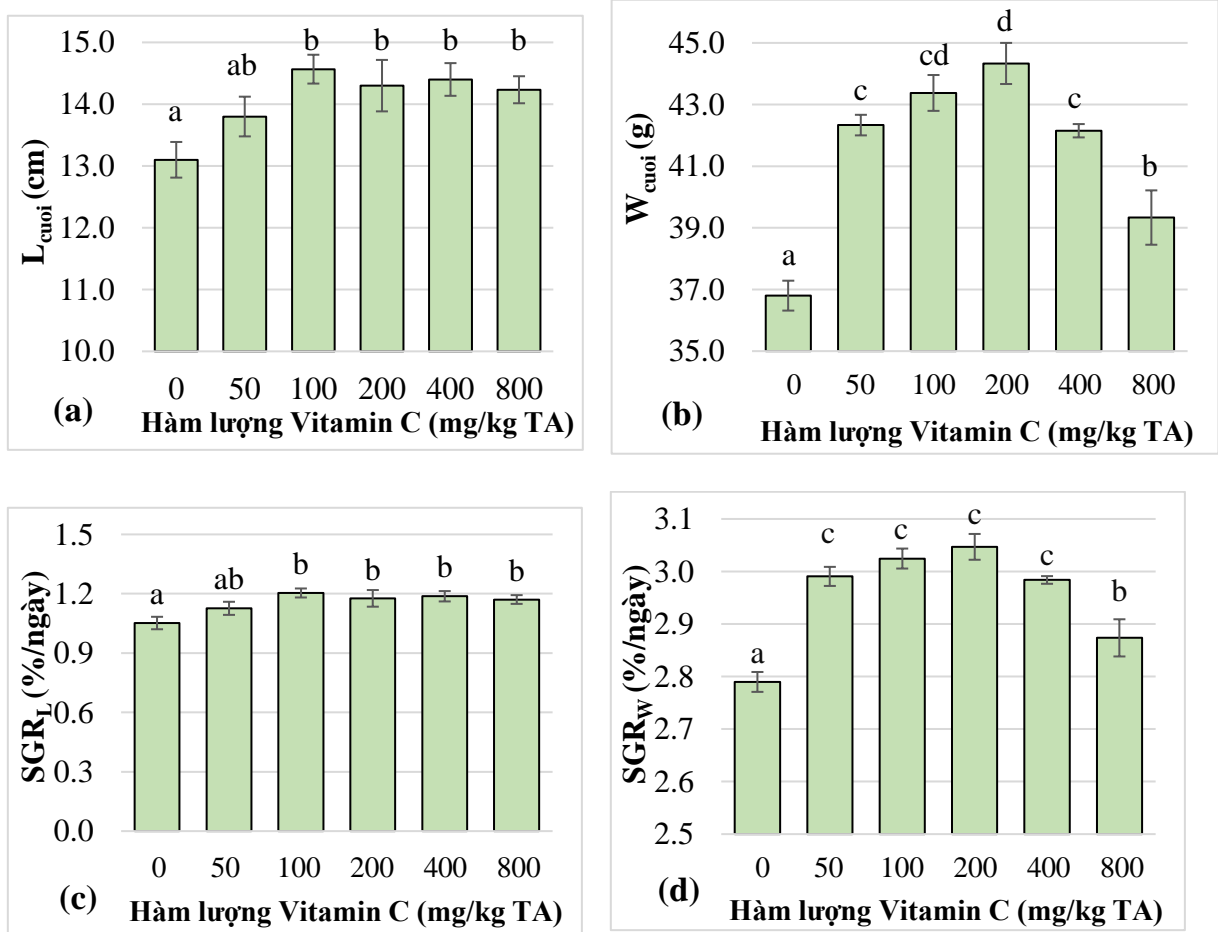
Tương quan giữa hàm lượng vitamin C bổ sung vào thức ăn với tốc độ tăng trưởng đặc trưng (SGRw) và hệ số chuyển đổi thức ăn (FCR) của cá chim vây vàng được thể hiện rõ trong Hình 3.12.



Hình 3.12 Sự tương quan giữa hàm lượng vitamin C và tốc độ tăng trưởng đặc trưng (a), hệ số chuyển đổi thức ăn (b)

Hình 3.12 cho thấy sự tương quan giữa hàm lượng vitamin C bổ sung vào thức ăn và tốc độ tăng trưởng đặc trưng (SGRw) cũng như hệ số chuyển đổi thức ăn (FCR) của cá chim vây vàng được thể hiện rõ. Trong Hình 3.12 (a), tốc độ tăng trưởng đặc trưng (SGRw) tăng dần khi hàm lượng vitamin C bổ sung tăng lên, đạt

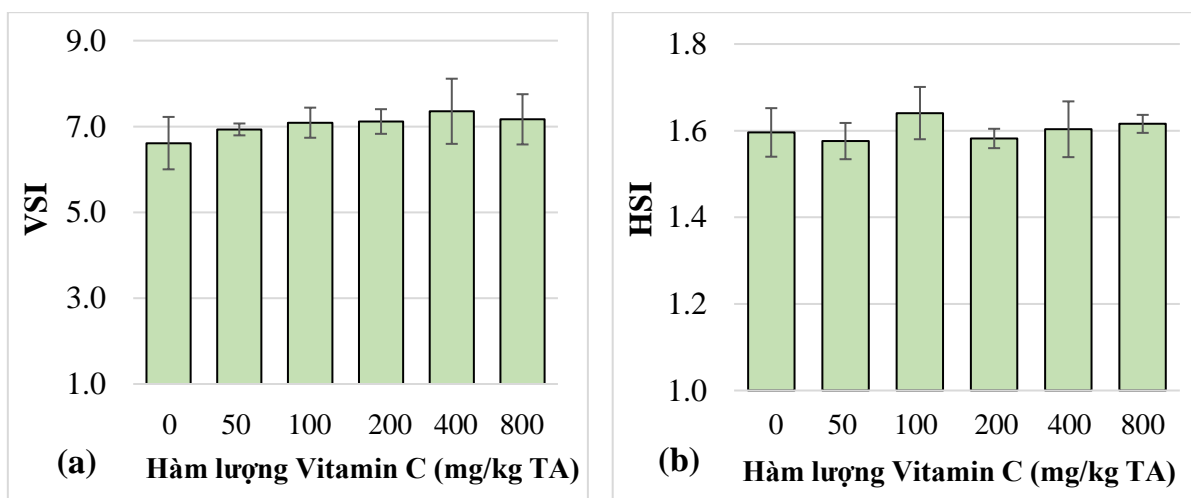
giá trị tối ưu tại mức 110,19 mg/kg TA. Sau ngưỡng này, SGRw giảm nhẹ và dần ổn định, chứng tỏ rằng bổ sung quá liều vitamin C không tiếp tục cải thiện tăng trưởng của cá. Hệ số tương quan cao ($R^2 = 0,8184$ ở mức tối ưu và $R^2 = 0,9978$ khi ổn định) cho thấy mối quan hệ chặt chẽ giữa hàm lượng vitamin C và tốc độ tăng trưởng. Trong Hình 3.12 (b), hệ số chuyển đổi thức ăn (FCR) giảm dần khi tăng hàm lượng vitamin C, với giá trị thấp nhất đạt ở mức 105,68 mg/kg TA. Sau ngưỡng này, FCR tăng nhẹ và dần ổn định, phản ánh rằng việc bổ sung vitamin C vượt ngưỡng tối ưu không mang lại hiệu quả cải thiện sử dụng thức ăn. Hệ số tương quan cao ($R^2 = 0,8087$ ở mức giảm và $R^2 = 0,9999$ khi ổn định) khẳng định độ tin cậy cao của kết quả. Tóm lại, hàm lượng vitamin C tối ưu bổ sung vào thức ăn để đạt tốc độ tăng trưởng cao nhất và hiệu quả sử dụng thức ăn tốt nhất cho cá chim vây vàng là khoảng 105–110 mg/kg TA. Bổ sung vượt ngưỡng này không mang lại lợi ích thêm, thậm chí có thể làm giảm hiệu quả tăng trưởng và sử dụng thức ăn.



Số liệu biểu diễn: Trung bình \pm sai số chuẩn (TB \pm SE). Ký hiệu chữ cái khác nhau trên các cột thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) giữa các nghiệm thức thí nghiệm.

Hình 3.13 Chiều dài (a, c) và khối lượng (b, d) ở các mức bổ sung vitamin C

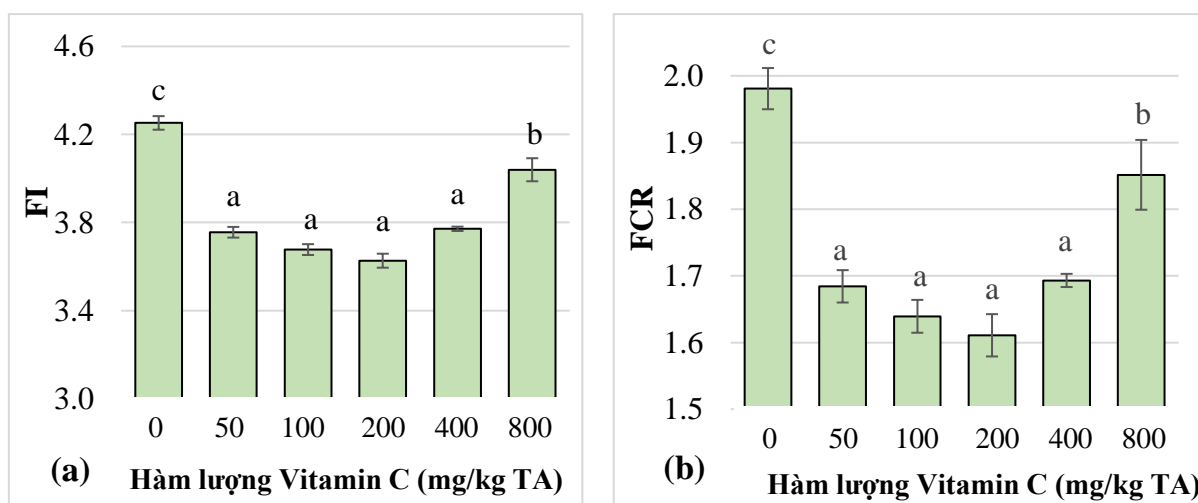
Hình 3.13 cho thấy ảnh hưởng của các mức bổ sung vitamin C (mg/kg TA) lên chiều dài (L), khối lượng (W), tốc độ tăng trưởng đặc trưng (SGR), và hệ số tăng trưởng tương đối (SGRw) của cá chim vây vàng được phân tích rõ ràng. Chiều dài (L) ở hình 3.13 (a), chiều dài của cá tăng lên đáng kể khi bổ sung vitamin C ở mức từ 50–800 mg/kg TA so với nghiệm thức không bổ sung (0 mg/kg TA). Chiều dài đạt giá trị cao nhất khoảng 14,5 cm ở mức 100–800 mg/kg TA, không có sự khác biệt đáng kể giữa các mức bổ sung này. Khối lượng (W) ở Hình 3.13 (b), khối lượng cá tăng cao nhất khi bổ sung vitamin C ở mức 200 mg/kg TA (khoảng 43–44 g). Ở các mức bổ sung 50, 100 và 400 mg/kg TA, khối lượng cá cũng cao hơn nghiệm thức không bổ sung, nhưng giảm nhẹ khi hàm lượng vitamin C đạt 800 mg/kg TA, cho thấy việc bổ sung quá liều có thể làm giảm hiệu quả tăng trưởng. Tốc độ tăng trưởng đặc trưng (SGR) ở Hình 3.13 (c) cho thấy tốc độ tăng trưởng đặc trưng của cá tăng cao khi bổ sung vitamin C từ 50–200 mg/kg TA, đạt khoảng 1,4%/ngày. Ở mức 800 mg/kg TA, SGR giảm nhẹ so với các nghiệm thức bổ sung thấp hơn. Hệ số tăng trưởng tương đối (SGRw) ở Hình 3.13 (d) chỉ ra rằng SGRw đạt giá trị cao nhất (khoảng 3,0%/ngày) ở mức bổ sung vitamin C từ 100–200 mg/kg TA. Các mức bổ sung cao hơn (400–800 mg/kg TA) không cải thiện thêm hiệu quả tăng trưởng. Nhìn chung, bổ sung vitamin C trong khoảng từ 100–200 mg/kg TA mang lại hiệu quả tốt nhất về chiều dài, khối lượng, tốc độ tăng trưởng đặc trưng, và hệ số tăng trưởng tương đối cho cá chim vây vàng. Bổ sung vượt ngưỡng này không mang lại lợi ích thêm và có thể làm giảm hiệu quả tăng trưởng.



Số liệu biểu diễn: Trung bình ± sai số chuẩn (TB ± SE).

Hình 3.14 Chỉ số gan (a) và chỉ số nội tạng (b) ở các mức bổ sung vitamin C

Hình 3.14 cho thấy ảnh hưởng của các mức bổ sung vitamin C (mg/kg TA) lên chỉ số nội tạng (VSI) và chỉ số gan (HSI) của cá chim vây vàng được phân tích như sau: Chỉ số nội tạng (VSI) ở Hình 3.14 (a), chỉ số nội tạng của cá dao động từ khoảng 7,0–7,5 và không có sự khác biệt đáng kể giữa các nghiệm thức bổ sung vitamin C, kể cả khi không bổ sung (0 mg/kg TA) hoặc bổ sung ở các mức 50, 100, 200, 400, và 800 mg/kg TA. Điều này cho thấy rằng vitamin C không có ảnh hưởng rõ rệt đến tỷ lệ nội tạng so với tổng khối lượng cơ thể cá trong điều kiện thí nghiệm. Chỉ số gan (HSI) ở Hình 3.14 (b), chỉ số gan dao động từ khoảng 1,4–1,6 và cũng không có sự khác biệt đáng kể giữa các mức bổ sung vitamin C. Dù bổ sung vitamin C ở các mức khác nhau, kích thước và trọng lượng gan của cá vẫn duy trì ổn định. Nhìn chung, việc bổ sung vitamin C ở các mức từ 0–800 mg/kg TA không ảnh hưởng đáng kể đến chỉ số nội tạng và chỉ số gan của cá chim vây vàng. Điều này phản ánh sự ổn định về mặt tỷ lệ nội tạng và gan của cá trong điều kiện thí nghiệm.

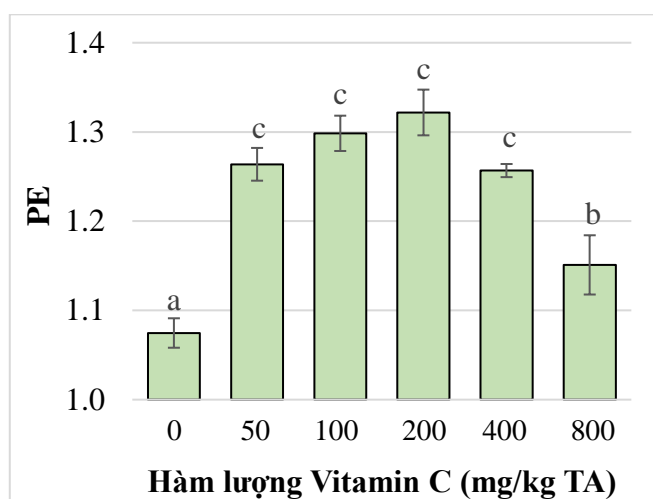


Số liệu biểu diễn: Trung bình \pm sai số chuẩn (TB \pm SE). Ký hiệu chữ cái khác nhau trên các cột thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) giữa các nghiệm thức thí nghiệm.

Hình 3.15 Lượng thức ăn cá sử dụng (a) và hệ số chuyển đổi thức ăn (b) của cá ở các mức bổ sung vitamin C

Hình 3.15 cho thấy lượng thức ăn cá sử dụng (FI) và hệ số chuyển đổi thức ăn (FCR) của cá chim vây vàng được phân tích như sau: Lượng thức ăn cá sử dụng (FI) ở Hình 3.15 (a), lượng thức ăn cá sử dụng giảm đáng kể khi bổ sung vitamin C từ 50–200 mg/kg TA, với giá trị thấp nhất ở mức 200 mg/kg TA. Ở mức bổ sung 400 mg/kg TA, FI tăng nhẹ nhưng vẫn thấp hơn nghiệm thức không bổ sung vitamin C (0 mg/kg TA). Tại mức 800 mg/kg TA, FI tiếp tục tăng và cao hơn các nghiệm thức bổ sung thấp hơn. Kết quả này cho thấy việc bổ sung vitamin C ở mức vừa phải (50–200

mg/kg TA) giúp cá sử dụng thức ăn hiệu quả hơn. Hệ số chuyển đổi thức ăn (FCR) ở Hình 3.15 (b), FCR giảm rõ rệt khi bổ sung vitamin C từ 50–200 mg/kg TA, đạt giá trị thấp nhất tại mức bổ sung 200 mg/kg TA, phản ánh hiệu quả sử dụng thức ăn cao nhất. Ở mức bổ sung 400 mg/kg TA, FCR tăng nhẹ, và ở mức 800 mg/kg TA, FCR tăng rõ rệt, gần bằng nghiệm thức không bổ sung vitamin C. Điều này cho thấy việc bổ sung vitamin C vượt mức 200 mg/kg TA có thể làm giảm hiệu quả sử dụng thức ăn. Nhìn chung, bổ sung vitamin C từ 50–200 mg/kg TA giúp cải thiện hiệu quả sử dụng thức ăn của cá chim vây vàng, với mức 200 mg/kg TA là tối ưu nhất. Bổ sung vượt ngưỡng này (400–800 mg/kg TA) không mang lại lợi ích thêm và thậm chí làm suy giảm hiệu quả sử dụng thức ăn.



Số liệu biểu diễn: Trung bình ± sai số chuẩn (TB ± SE). Ký hiệu chữ cái khác nhau trên các cột thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) giữa các nghiệm thức thí nghiệm.

Hình 3.16 Hiệu quả sử dụng protein của cá ở các mức bổ sung vitamin C.

Hình 3.16 cho thấy hiệu quả sử dụng protein (PE) của cá chim vây vàng cho thấy hiệu quả sử dụng protein tăng đáng kể khi bổ sung vitamin C vào khẩu phần ăn từ 50–200 mg/kg TA, với giá trị PE cao nhất đạt khoảng 1,3–1,4 tại mức bổ sung 200 mg/kg TA. Sau ngưỡng này, hiệu quả sử dụng protein giảm nhẹ ở mức 400 mg/kg TA và giảm rõ rệt tại mức 800 mg/kg TA, thấp hơn so với mức bổ sung 200 mg/kg TA nhưng vẫn cao hơn nghiệm thức không bổ sung vitamin C (0 mg/kg TA), nơi PE đạt giá trị thấp nhất. Như vậy, bổ sung vitamin C ở mức 200 mg/kg TA là tối ưu để cải thiện hiệu quả sử dụng protein của cá chim vây vàng. Việc bổ sung vượt quá ngưỡng này (400–800 mg/kg TA) không mang lại lợi ích đáng kể và thậm chí có thể làm giảm hiệu quả sử dụng protein.

3.3.2. Ảnh hưởng của hàm lượng vitamin C bổ sung vào thức ăn đến thành phần sinh hóa cơ thể cá chim vây vàng

Kết quả ảnh hưởng của vitamin C lên thành phần sinh hóa cơ thể cá chim vây vàng được trình bày trong bảng 3.6

Bảng 3.6 Thành phần sinh hóa cơ thể cá khi sử dụng thức ăn với hàm lượng vitamin C khác nhau

Mức vitamin C bổ sung (mg/kg TA)	Âm (%)	Tro (%)	Protein (%)	Lipid (%)
0	68,85±0,56	5,31±0,32	18,09±0,18 ^a	7,41±0,11 ^a
50	68,98±0,67	4,66±0,62	18,46±0,03 ^b	8,28±0,32 ^b
100	68,66±0,48	5,08±0,55	19,8±0,06 ^d	10,75±0,28 ^d
200	69,46±0,33	4,94±0,17	19,57±0,09 ^d	10,36±0,07 ^c
400	69,5±0,22	4,51±0,12	19,14±0,09 ^c	9,86±0,28 ^c
800	69,27±0,13	4,89±0,37	18,72±0,12 ^b	8,86±0,18 ^b

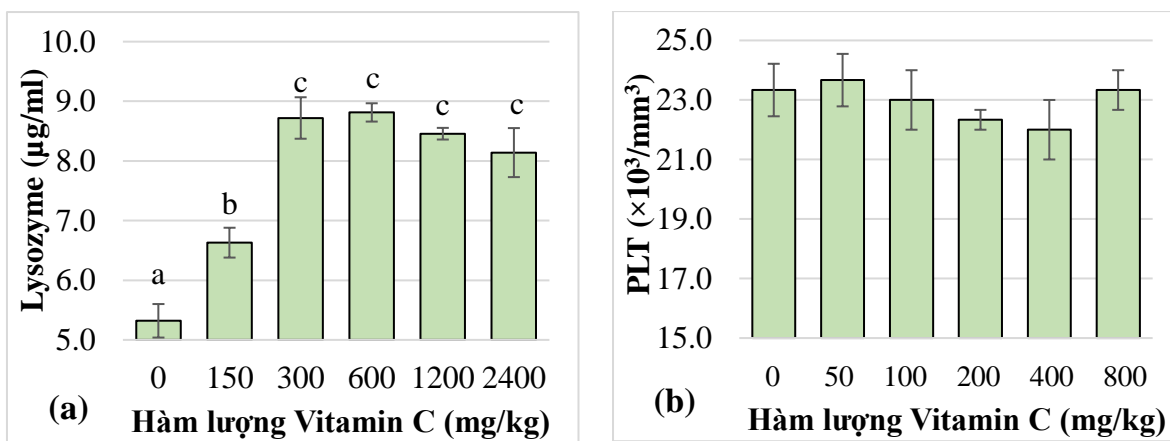
Số liệu được trình bày dưới dạng GTTB±SE. Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Dựa trên Bảng 3.6, thành phần sinh hóa cơ thể cá chim vây vàng thay đổi tùy theo mức độ bổ sung vitamin C trong khẩu phần ăn. Độ ẩm cơ thể cá tăng dần khi hàm lượng vitamin C bổ sung tăng lên, dao động từ 68,85% ở nghiệm thức không bổ sung (0 mg/kg TA) đến 69,27% ở mức bổ sung cao nhất (800 mg/kg TA). Tuy nhiên, sự khác biệt này không đáng kể giữa các nghiệm thức. Hàm lượng tro giảm đáng kể khi bổ sung vitamin C, với giá trị thấp nhất là 4,51% ở mức bổ sung 400 mg/kg TA. Kết quả này cho thấy bổ sung vitamin C có thể làm giảm lượng tro tích lũy trong cơ thể cá. Hàm lượng protein tăng đáng kể ở mức bổ sung từ 50–200 mg/kg TA, đạt giá trị cao nhất (19,66%) tại mức 200 mg/kg TA. Sau đó, hàm lượng protein giảm nhẹ ở mức bổ sung 400–800 mg/kg TA nhưng vẫn cao hơn so với nghiệm thức không bổ sung. Hàm lượng lipid đạt giá trị cao nhất (10,75%) ở mức bổ sung 200 mg/kg TA và giảm nhẹ ở các mức cao hơn (400–800 mg/kg TA). Điều này cho thấy bổ sung vitamin C ở mức phù hợp giúp cải thiện tích lũy lipid trong cơ thể cá. Như vậy, bổ sung vitamin C trong khoảng 200 mg/kg TA là tối ưu để cải thiện hàm lượng protein và lipid tổng số của cá

chim vây vàng, đồng thời giảm hàm lượng tro. Bổ sung vượt quá ngưỡng này không mang lại lợi ích bổ sung đáng kể và có thể làm giảm hiệu quả tích lũy protein và lipid.

3.3.3. Ảnh hưởng của hàm lượng vitamin C bổ sung vào thức ăn đến đáp ứng miễn dịch của cá chim vây vàng

Tác động của hàm lượng vitamin C bổ sung vào thức ăn đối với đáp ứng miễn dịch của cá chim vây vàng được trình bày trong Hình 3.17.



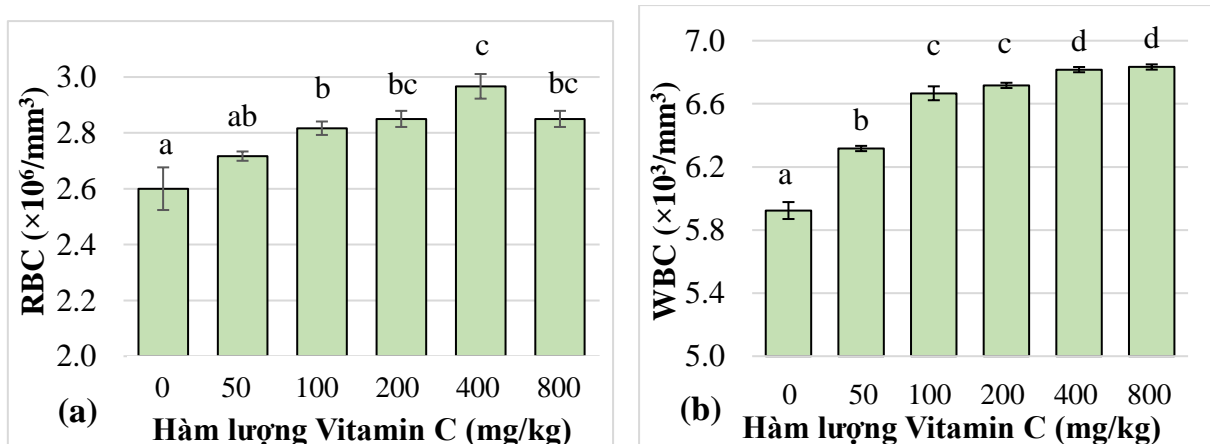
Số liệu biểu diễn: Trung bình \pm sai số chuẩn ($TB \pm SE$). Ký hiệu chữ cái khác nhau trên các cột thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) giữa các nghiệm thức thí nghiệm.

Hình 3.17 Hàm lượng lysozyme (a) và số lượng tiểu cầu (b) ở các mức vitamin C

Kết quả ở Hình 3.17 cho thấy ảnh hưởng của các mức bổ sung vitamin C lên hàm lượng lysozyme và số lượng tiểu cầu (PLT) của cá chim vây vàng. Hàm lượng lysozyme ở Hình 3.17 (a) tăng đáng kể khi bổ sung vitamin C từ 50 đến 200 mg/kg TA, đạt giá trị cao nhất khoảng 9,0 µg/ml ở mức bổ sung 200 mg/kg TA. Ở mức bổ sung 400 mg/kg TA và 800 mg/kg TA, hàm lượng lysozyme giảm nhẹ nhưng vẫn cao hơn nghiệm thức không bổ sung vitamin C (0 mg/kg TA), nơi giá trị thấp nhất khoảng 6,7 µg/ml. Điều này cho thấy vitamin C có vai trò quan trọng trong việc kích thích hoạt động miễn dịch tự nhiên của cá thông qua việc tăng cường hàm lượng lysozyme. Trong khi đó, số lượng tiểu cầu (PLT) ở Hình 3.17 (b) dao động trong khoảng $22,5\text{--}23,5 \times 10^3/\text{mm}^3$ và không có sự khác biệt đáng kể giữa các nghiệm thức. Kết quả này chỉ ra rằng bổ sung vitamin C không ảnh hưởng rõ rệt đến số lượng tiểu cầu của cá chim vây vàng. Như vậy, bổ sung vitamin C ở mức 200 mg/kg TA là tối ưu để tăng cường hàm lượng lysozyme và hỗ trợ hệ miễn dịch của cá. Tuy nhiên, vitamin C không có tác động đáng kể đến số lượng tiểu cầu.

Hình 3.18 trình bày ảnh hưởng của các mức bổ sung vitamin C lên số lượng hồng cầu (RBC) và bạch cầu (WBC) của cá chim vây vàng. Số lượng hồng cầu (RBC) ở Hình

3.18 (a) tăng đáng kể khi bổ sung vitamin C, đạt giá trị cao nhất ở mức 400 mg/kg TA với khoảng $3,1 \times 10^6/\text{mm}^3$. Ở mức bổ sung 800 mg/kg TA, số lượng hồng cầu giảm nhẹ nhưng vẫn cao hơn nghiệm thức không bổ sung vitamin C (0 mg/kg TA), nơi giá trị thấp nhất khoảng $2,5 \times 10^6/\text{mm}^3$. Điều này cho thấy vitamin C có tác dụng tích cực trong việc tăng cường số lượng hồng cầu, hỗ trợ khả năng vận chuyển oxy trong cơ thể cá. Số lượng bạch cầu (WBC) ở Hình 3.18 (b) tăng dần theo mức bổ sung vitamin C, đạt giá trị cao nhất ở mức 800 mg/kg TA với khoảng $7,0 \times 10^3/\text{mm}^3$, cao hơn đáng kể so với nghiệm thức không bổ sung vitamin C (0 mg/kg TA), nơi số lượng bạch cầu thấp nhất, khoảng $5,5 \times 10^3/\text{mm}^3$. Kết quả này phản ánh vai trò quan trọng của vitamin C trong việc tăng cường khả năng miễn dịch của cá thông qua việc gia tăng số lượng bạch cầu. Như vậy, bổ sung vitamin C ở mức 400–800 mg/kg TA giúp cải thiện rõ rệt số lượng hồng cầu và bạch cầu của cá chim vây vàng, hỗ trợ quá trình vận chuyển oxy và tăng cường khả năng miễn dịch tự nhiên của cá.

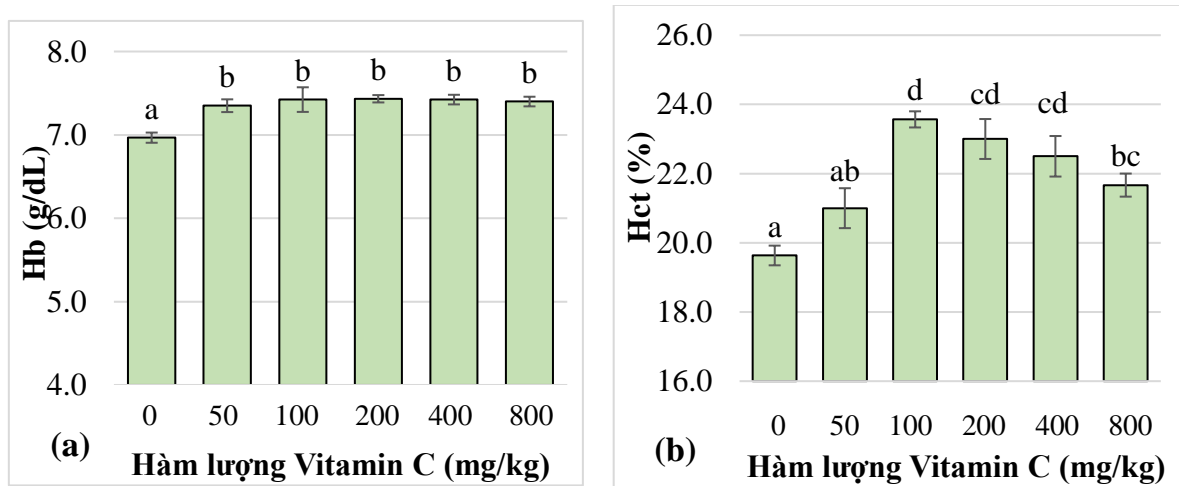


Số liệu biểu diễn: Trung bình \pm sai số chuẩn ($TB \pm SE$). Ký hiệu chữ cái khác nhau trên các cột thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) giữa các nghiệm thức thí nghiệm.

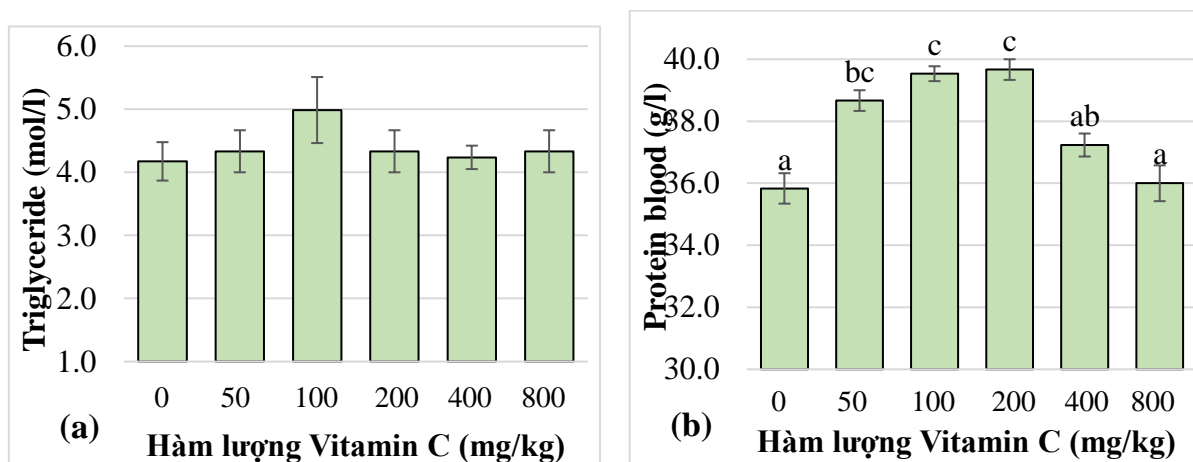
Hình 3.18 Số lượng hồng cầu (a) và bạch cầu (b) ở các mức bổ sung vitamin C

Kết quả ở Hình 3.19 trình bày ảnh hưởng của các mức bổ sung vitamin C lên hàm lượng hemoglobin (Hb) và hematocrit (Hct) của cá chim vây vàng. Hàm lượng hemoglobin (Hb) ở Hình 3.19 (a) tăng rõ rệt khi bổ sung vitamin C vào khẩu phần ăn, đạt giá trị cao nhất khoảng 7,8 g/dL ở các mức bổ sung từ 50–800 mg/kg TA, cao hơn đáng kể so với nghiệm thức không bổ sung vitamin C (0 mg/kg TA), nơi giá trị thấp nhất là 6,5 g/dL. Không có sự khác biệt ý nghĩa giữa các mức bổ sung từ 50 mg/kg TA trở lên, cho thấy vitamin C ở mức này đã đạt hiệu quả tối ưu trong việc cải thiện hàm lượng hemoglobin. Hematocrit (Hct) ở Hình 3.19 (b) cũng tăng đáng kể khi bổ sung vitamin C, đạt giá trị cao

nhất khoảng 24% ở mức 100–400 mg/kg TA. Ở mức bổ sung 800 mg/kg TA, tỷ lệ Hct giảm nhẹ nhưng vẫn cao hơn nghiệm thức không bổ sung vitamin C (0 mg/kg TA), nơi giá trị thấp nhất là 20%. Kết quả này cho thấy vitamin C có vai trò quan trọng trong việc cải thiện tỷ lệ thể tích hồng cầu trong máu, tăng cường chức năng vận chuyển oxy. Như vậy, bổ sung vitamin C từ 50–400 mg/kg TA giúp cải thiện tối ưu hàm lượng hemoglobin và tỷ lệ hematocrit của cá chim vây vàng, hỗ trợ hiệu quả quá trình trao đổi khí và tăng cường khả năng vận chuyển oxy trong máu.



Hình 3.19 Hàm lượng hemoglobin (a) và hematocrit (b) ở các mức bổ sung vitamin C



Số liệu biểu diễn: Trung bình \pm sai số chuẩn (TB \pm SE). Ký hiệu chữ cái khác nhau trên các cột thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) giữa các nghiệm thức thí nghiệm.

Hình 3.20 Hàm lượng triglyceride (a) và protein huyết tương (b) ở các mức bổ sung vitamin C

Kết quả ở Hình 3.20 trình bày ảnh hưởng của các mức bổ sung vitamin C lên hàm lượng triglyceride và protein huyết tương của cá chim vây vàng. Hàm lượng triglyceride trong máu ở Hình 3.20 (a) không có sự khác biệt đáng kể giữa các mức bổ

sung vitamin C, dao động từ 4,5 đến 5,0 mmol/L. Điều này cho thấy việc bổ sung vitamin C vào khẩu phần ăn không ảnh hưởng rõ rệt đến hàm lượng triglyceride trong huyết thanh của cá chim vây vàng. Hàm lượng protein huyết tương ở Hình 3.20 (b) tăng đáng kể khi bổ sung vitamin C từ 50–200 mg/kg TA, đạt giá trị cao nhất khoảng 39 g/L ở mức 200 mg/kg TA. Khi bổ sung vitamin C ở mức 800 mg/kg TA, hàm lượng protein huyết tương giảm so với mức 200 mg/kg TA nhưng vẫn cao hơn nghiệm thức không bổ sung vitamin C (0 mg/kg TA), nơi giá trị thấp nhất là 34 g/L. Kết quả này cho thấy vitamin C có vai trò tích cực trong việc cải thiện hàm lượng protein huyết tương, hỗ trợ chức năng sinh lý và miễn dịch của cá. Như vậy, bổ sung vitamin C từ 50–200 mg/kg TA cải thiện hiệu quả hàm lượng protein huyết tương của cá chim vây vàng, trong khi hàm lượng triglyceride không bị ảnh hưởng đáng kể bởi các mức bổ sung vitamin C.

3.3.4. Ảnh hưởng của hàm lượng vitamin C bổ sung vào thức ăn đến hình thái xương cá chim vây vàng

Sau 10 tuần thí nghiệm, kết quả (Hình 3.21) cho thấy, vitamin C không ảnh hưởng đến hình thái xương cá chim vây vàng giai đoạn giống.



Không bổ sung vitamin C



50 mg/kg TA



100 mg/kg TA



200 mg/kg TA



400 mg/kg TA



800 mg/kg TA

Hình 3.21 Hình thái xương cá chim vây vàng ở các mức bổ sung vitamin C vào thức ăn

Hình 3.21 minh họa hình thái xương của cá chim vây vàng ở các mức bổ sung vitamin C khác nhau, bao gồm không bổ sung, 50 mg/kg TA, 100 mg/kg TA, 200 mg/kg TA, 400 mg/kg TA và 800 mg/kg TA. Kết quả cho thấy không có sự khác biệt rõ rệt trong cấu trúc xương giữa các nghiệm thức. Hình thái xương của cá ở tất cả các mức bổ sung vitamin C đều đầy đủ, cân đối và không xuất hiện các dấu hiệu bất thường như biến dạng hay thiếu hụt cấu trúc. Các phần xương chính như cột sống, xương sườn và xương vây đều phát triển hoàn chỉnh và không bị dị hình. Điều này cho thấy rằng việc bổ sung vitamin C trong khoảng từ 0–800 mg/kg TA không gây ảnh hưởng tiêu cực đến sự phát triển và hình thái xương của cá chim vây vàng. Kết quả này phản ánh rằng nhu cầu vitamin C của cá chim vây vàng đã được đáp ứng đầy đủ thông qua khẩu phần ăn bổ sung hoặc dự trữ nội sinh từ các giai đoạn trước khi thí nghiệm, góp phần duy trì sự phát triển bình thường của hệ xương.

3.3.5. Thảo luận

Thông số chất lượng nước trong hệ thống các bể thí nghiệm được trình bày tại phần phương pháp nghiên cứu, mục 2.3.1: Chăm sóc, quản lý. Các thông số này không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong suốt quá trình thử nghiệm và nằm trong giới hạn phù hợp với đặc điểm sinh thái của cá chim vây vàng thí nghiệm [50].

Vitamin C được xem là thành phần quan trọng trong quá trình trao đổi chất, tham gia vào quá trình sinh trưởng và phát triển của sinh vật bởi việc tạo thành collagen, một thành phần quan trọng tạo nên cấu trúc cơ, xương, mạch máu và nhiều bộ phận khác của cá [39]. Đối với cá ngoài tự nhiên hoặc cá thí nghiệm được nuôi lồng trên khu vực biển hở có thể đã được cung cấp phần nào vitamin C từ các sinh vật sống như tảo. Tuy nhiên, cá nuôi trong điều kiện phòng thí nghiệm bằng thức ăn chế biến theo công thức thì thiếu hụt lượng vitamin C đáng kể, do vậy quá trình chế biến thức ăn cũng như hoạt động cho ăn, chăm sóc mỗi ngày luôn bổ sung vitamin C cho cá. Ảnh hưởng của vitamin C lên sinh trưởng và thành phần sinh hóa cơ thể cũng được ghi nhận ở nhiều loài cá khác [20, 34, 127, 130, 134]. Nghiên cứu hiện tại cho thấy tác dụng của vitamin C trong thức ăn chế biến lên sinh trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn, hàm lượng protein, lipid tổng số của cá chim vây vàng. Trong thời gian 10 tuần cho ăn thử nghiệm, sinh trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn và hàm lượng protein, lipid tổng số ở nhóm cá được bổ sung vitamin C cao hơn so với nhóm cá không được bổ sung vitamin C, trong đó, ở mức bổ sung 300 mg/kg TA, cá có hàm lượng protein và lipid tổng số cao nhất. Tuy nhiên, vitamin C không ảnh hưởng đến tỷ lệ sống, chỉ số VSI, HSI, độ ẩm và hàm lượng tro của cá. Kết quả này cũng được ghi nhận ở cùng một đối tượng *T. ovatus* [130]. Tuy nhiên, mức vitamin C tối ưu cho tăng trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn và thành phần sinh hóa của cá chim vây vàng *T. blochii* là 50,5 mg/kg TA, cao hơn so với mức bổ sung cho cá *T. ovatus* là 49,73 mg/kg TA mặc dù cả 2 loài cá này đều sử dụng cùng một dạng vitamin C là L-ascorbate-2-phosphate 35%. Bên cạnh đó, cá *T. blochii* có tốc độ tăng trưởng đặc trưng về khối lượng nhanh hơn, hàm lượng protein tổng số của cơ thể cũng lớn hơn cá *T. ovatus*. Sự khác biệt này trước tiên là do cá *T. blochii* có kích thước nhỏ hơn nên nhu cầu vitamin C lớn hơn, cá giai đoạn nhỏ tăng trưởng mạnh hơn cá lớn. Ngoài ra, cá sống trong điều kiện phòng thí nghiệm, thiếu nguồn vitamin C bổ sung từ tảo tự nhiên, khác với cá *T. ovatus* nuôi lồng trên

vùng biển hở, có thể nhận nguồn vitamin C tự nhiên trong tảo biển. Do vậy nhu cầu vitamin C bổ sung vào thức ăn chế biến của cá *T. blochii* cao hơn cá *T. ovatus*.

Cá thường xuyên tiếp xúc với các tác nhân gây stress trong quá trình nuôi có thể gây ra một loạt các phản ứng sinh lý, được gọi là bị căng thẳng. Phản ứng sinh lý này được chia thành 3 giai đoạn: sơ cấp, thứ cấp và phản ứng cấp ba. Giai đoạn đầu tiên là các phản ứng được điều khiển bởi hệ thống thần kinh nội tiết, giải phóng nhanh chóng các hormone gây căng thẳng như catecholamine và cortisol vào hệ tuần hoàn của cá. Phản ứng tiếp theo là các phản ứng sinh hóa, sinh lý khác nhau chịu sự chi phối của các hormone gây căng thẳng và sau cùng là phản ứng ảnh hưởng đến toàn bộ động vật như ảnh hưởng đến sự tăng trưởng và khả năng kháng bệnh của cá [26]. Tác động của stress có thể được giảm thiểu nhờ bổ sung vitamin C với liều lượng cao vào thức ăn cho cá. Chế độ ăn thiếu vitamin C cho cá dẫn đến những thay đổi về các thành phần huyết thanh như protein, triglyceride, lysozyme và các chỉ số huyết học như số lượng tế bào hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu, Hb và Hct [88]. Vì vậy, trong nghiên cứu này, một số chỉ tiêu liên quan đến phản ứng căng thẳng sinh lý ở cá chim vây vàng được thu thập và phân tích để kiểm tra tác dụng của vitamin C đối với cá. Kết quả nghiên cứu hiện tại cho thấy có sự khác biệt về hàm lượng lysozyme, protein huyết thanh, Hb, Hct, số lượng tế bào hồng cầu và bạch cầu giữa việc bổ sung và không bổ sung vitamin C. Trường hợp này cũng đã được báo cáo ở các loài cá khác nhau [41, 43, 73].

Vitamin C có khả năng khử Fe^{3+} thành Fe^{2+} ở dạ dày và được hấp thu tại ruột, ngăn ngừa bệnh thiếu máu. Nó cũng có thể liên quan đến việc vận chuyển sắt vào máu cũng như huy động nó từ nơi dự trữ, bởi sắt bên trong máu thường ở dạng oxy hóa liên kết với transferrin, trong khi dạng khử liên kết với ferritin ở gan [16]. Như vậy, số lượng tế bào hồng cầu, hàm lượng Hb, tỷ lệ Hct gia tăng ở các nghiệm thức bổ sung vitamin C cho thấy việc bổ sung vitamin C vào khẩu phần ăn hàng ngày có thể cải thiện việc cung cấp oxy cho các mô và phản ứng sinh lý của cá chim vây vàng tốt hơn.

Ngoài hồng cầu, bạch cầu cũng là chỉ số quan trọng đánh giá tình trạng sinh lý căng thẳng ở cá. Bạch cầu bảo vệ cơ thể chống lại bệnh tật, tăng cường sức khỏe chống lại các tác nhân gây căng thẳng cho cá. Số lượng bạch cầu của cá chim vây vàng trong nghiên cứu hiện tại tăng dần theo các mức bổ sung vitamin C, cao nhất ở mức bổ sung 400 mg/kg TA – 800 mg/kg TA. Kết quả tương tự cũng được báo cáo ở cá *Arapaima gigas* được cho ăn ở mức cao (800 – 1.200 mg/kg TA) [41].

Vitamin C cũng là một trong những dưỡng chất ảnh hưởng đáp ứng miễn dịch của cá, đặc biệt là miễn dịch không đặc hiệu. Trong số các yếu tố miễn dịch không đặc hiệu, lysozyme rất quan trọng đối với hệ thống miễn dịch. Lysozyme được kích hoạt bởi các chất gây ô nhiễm, vi khuẩn, virus, tình trạng căng thẳng và các chất kích thích miễn dịch [80]. Hàm lượng vitamin C giúp kích thích hoạt động của lysozyme ở cá mú *Epinephelus malabaricus* là 76 mg/kg TA [80] và 4.000 mg/kg TA ở cá hồi Đại Tây Dương [122]. Trong nghiên cứu hiện tại, việc bổ sung vitamin C vào khẩu phần ăn hàng ngày làm tăng đáng kể hàm lượng lysozyme huyết thanh của cá chim vây vàng, cao nhất khi bổ sung hơn 100 mg/kg TA.

Theo Berillis (2015), có nhiều nguyên nhân gây dị hình ở cá, trong đó có sự ảnh hưởng đáng kể của yếu tố dinh dưỡng [28]. Nhiều nghiên cứu cho thấy cá sử dụng thức ăn thiếu vitamin C sẽ bị dị hình. Biểu hiện thiếu hụt vitamin C ở cá là tốc độ tăng trưởng chậm, chán ăn, xơ và mòn vây, dị hình xương, xuất huyết bên trong cơ thể và tỷ lệ chết cao đã được ghi nhận ở nhiều loài cá như cá chêm Nhật Bản *Lateolabrax japonicus* [20], cá mú *Epinephelus malabaricus* [80], cá giò *Rachycentron canadum* [127, 134], cá chêm *Micropterus salmoides* [34], cá chim *T. ovatus* [130]. Tuy nhiên, một số dấu hiệu thiếu vitamin C điển hình như vẹo cột sống, xơ mòn vây, xuất huyết đã không xuất hiện ở cá chim *T. blochii* trong nghiên cứu này. Đã có nghiên cứu công bố cá chim *T. ovatus* bị dị dạng xương cột sống [128], dị dạng xương hàm [84] nhưng hiện tượng này xảy ra do tác động của nhiệt độ cao 33°C lên giai đoạn ấu trùng 3 – 18 ngày tuổi. Cá trong thí nghiệm hiện tại là cá giai đoạn giống lớn được thu mua từ cơ sở sản xuất giống cá biển Nha Trang. Cá được sàng lọc, lựa chọn những cá thể khỏe mạnh, không có sự bất thường về hình dạng ngoài trước khi đưa vào thí nghiệm. Sau 11 tuần thí nghiệm (1 tuần thuần dưỡng thích nghi với điều kiện thí nghiệm và 10 tuần cho ăn thử nghiệm), cấu trúc xương cá ở các nghiệm thức bổ sung vitamin C cũng như nghiệm thức không bổ sung vitamin C đều bình thường và không có sự khác biệt giữa các nhóm. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu trên cá đù vàng *Pseudosciaena crocea* [19], cá bóp *Rachycentron canadum* [127], cá không xuất hiện dấu hiệu bất thường nào khi sử dụng thức ăn không được bổ sung vitamin C. Các tác giả cho rằng cá có thể lưu trữ vitamin C trong cơ thể từ chế độ ăn trước đó và chỉ cạn kiệt khi cho ăn thiếu vitamin C trong thời gian dài. Qua phân tích hàm lượng vitamin C trong gan và cơ của cá bóp nhận thấy, ở nhóm cá đối chứng không được bổ sung vitamin C (mức

vitamin C sẵn có từ nguyên liệu thức ăn là 2,7 mg/kg TA), gan và cơ của cá vẫn tích trữ được một lượng vitamin C nhất định. Hàm lượng vitamin C này có lẽ đã hạn chế sự xuất hiện của những tổn thương do thiếu vitamin C điển hình trên cá bớp. Do vậy, phân tích hàm lượng vitamin C trong tổ chức gan và cơ cá chim vây vàng *T. blochii* giai đoạn giống là cần thiết thực hiện trong thời gian tới.

3.4. Tác động của vitamin C bổ sung vào thức ăn đến sinh trưởng và chỉ số miễn dịch của cá chim vây vàng ở điều kiện nhiệt độ cao

3.4.1. Ảnh hưởng của vitamin C và nhiệt độ lên sinh trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá chim vây vàng

Ảnh hưởng của vitamin C và nhiệt độ lên sinh trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn được trình bày trong bảng 3.7.

Bảng 3.7 Ảnh hưởng của vitamin C và nhiệt độ lên tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá

Nghiệm thức	FBL (cm/fish)	FBW (g/fish)	SGR _L (%/day)	SGR _w (%/day)	VSI	HSI	FI	FCR	PE
28:0	13,93±0,10	51,61±0,69	1,48±0,01	4,24±0,03	13,02±0,26	2,42±0,06	4,73±0,06	1,56±0,02	1,36±0,02
28:100	14,16±0,11	52,53±0,65	1,51±0,01	4,28±0,02	12,25±0,15	2,21±0,05	4,65±0,05	1,53±0,02	1,39±0,02
31:0	13,69±0,12	49,11±0,92	1,45±0,02	4,15±0,03	13,21±0,46	2,23±0,04	4,95±0,08	1,66±0,04	1,29±0,03
31:100	13,95±0,12	51,69±0,35	1,49±0,02	4,25±0,01	12,81±0,25	2,11±0,04	4,72±0,03	1,56±0,01	1,36±0,01
34:0	13,77±0,08	52,24±0,47	1,46±0,01	4,27±0,02	12,32±0,55	2,08±0,07	4,68±0,04	1,54±0,02	1,38±0,01
34:100	14,02±0,09	54,51±0,80	1,49±0,01	4,34±0,03	13,21±0,49	2,09±0,03	4,5±0,06	1,47±0,02	1,45±0,02
Ảnh hưởng của nhiệt độ nước									
28	14,05	52,07 ^{AB}	1,49	4,26 ^B	12,63	2,31 ^B	4,7 ^A	1,55 ^A	1,38 ^{AB}
31	13,82	50,4 ^A	1,46	4,2 ^A	13,01	2,17 ^A	4,8 ^B	1,61 ^B	1,33 ^A
34	13,9	53,37 ^B	1,47	4,3 ^B	12,77	2,08 ^A	4,6 ^A	1,51 ^A	1,41 ^B
Ảnh hưởng của VC									
0	13,8 ^X	50,99 ^X	1,46 ^X	4,22 ^X	12,85	2,24 ^X	4,78 ^X	1,59 ^X	1,34 ^X
100	14,04 ^Y	52,91 ^Y	1,49 ^Y	4,29 ^Y	12,76	2,14 ^Y	4,62 ^Y	1,52 ^Y	1,4 ^Y
P-values (Two-way ANOVA)									
Nhiệt độ	NS	< 0,05	NS	< 0,05	NS	<0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05
VC	<0,05	< 0,05	<0,05	< 0,05	NS	<0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05
Nhiệt độ x VC	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Số liệu được hiển thị dưới dạng trung bình của 5 lần lặp lại. Các giá trị có chữ cái viết hoa khác nhau (A, B) trong một cột cho thấy sự khác biệt ý nghĩa ($P < 0,05$) giữa trung bình các mức nhiệt độ. Các giá trị chữ cái viết hoa khác nhau (X, Y) trong một cột cho thấy sự khác biệt ý nghĩa ($P < 0,05$) giữa trung bình các mức vitamin C.

Bảng 3.7 trình bày ảnh hưởng của vitamin C và nhiệt độ lên các chỉ tiêu tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá chim vây vàng. Kết quả cho thấy, chiều dài cuối (FBL) và khối lượng cuối (FBW) của cá có xu hướng tăng dần khi nhiệt độ môi trường tăng từ 28°C đến 34°C, với giá trị cao nhất đạt được ở mức nhiệt độ 34°C. Các chỉ số tăng trưởng như tốc độ tăng trưởng tương đối (SGRL) và tốc độ tăng trưởng đặc trưng (SGRW) cũng đạt giá trị cao nhất ở nhiệt độ 34°C, phản ánh rằng nhiệt độ cao hơn trong khoảng thích nghi của cá có thể thúc đẩy tăng trưởng hiệu quả. Việc bổ sung vitamin C ở mức 100 mg/kg TA cũng cải thiện đáng kể chiều dài cuối, khối lượng cuối và tốc độ tăng trưởng của cá so với nghiệm thức không bổ sung. Ngoài ra, chỉ số hiệu quả sử dụng thức ăn (FCR) được cải thiện đáng kể ở nhóm cá bổ sung vitamin C, với FCR thấp hơn so với nhóm không bổ sung. Điều này cho thấy việc bổ sung vitamin C giúp tăng hiệu quả chuyển đổi thức ăn thành năng lượng và tăng trưởng. Chỉ số nội tạng (VSI) và chỉ số gan (HSI) không bị ảnh hưởng đáng kể bởi sự thay đổi nhiệt độ hay việc bổ sung vitamin C. Tuy nhiên, lượng thức ăn tiêu thụ (FI) có xu hướng giảm nhẹ khi nhiệt độ tăng và khi bổ sung vitamin C, phản ánh rằng cá có thể sử dụng thức ăn hiệu quả hơn trong các điều kiện này. Nhìn chung, kết quả chỉ ra rằng nhiệt độ 34°C và việc bổ sung vitamin C ở mức 100 mg/kg TA là điều kiện tối ưu để đạt được tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn tốt nhất ở cá chim vây vàng.

3.4.2. Ảnh hưởng của vitamin C và nhiệt độ lên thành phần sinh hóa cơ thể cá chim vây vàng

Thành phần sinh hóa cơ thể cá chim vây vàng dưới tác động của vitamin C và nhiệt độ được trình bày trong bảng 3.8. Kết quả cho thấy hàm lượng tro có xu hướng giảm đáng kể khi nhiệt độ tăng từ 28°C lên 34°C. Giá trị thấp nhất của hàm lượng tro được ghi nhận ở mức nhiệt độ 34°C (4,04%) so với mức nhiệt độ thấp hơn, cho thấy nhiệt độ cao có thể làm giảm lượng tro tích lũy trong cơ thể cá. Hàm lượng độ ẩm cũng giảm dần khi nhiệt độ tăng, từ 69,14% ở 28°C xuống 59,82% ở 34°C. Điều này cho thấy ở nhiệt độ cao hơn, cơ thể cá chứa ít nước hơn, phản ánh sự thay đổi thành phần sinh hóa trong điều kiện nhiệt độ cao. Ngược lại, hàm lượng protein và lipid trong cơ thể cá tăng rõ rệt khi nhiệt độ tăng. Hàm lượng protein cao nhất đạt 19,44% và hàm lượng lipid cao nhất là 9,93% ở nhiệt độ 34°C, cho thấy nhiệt độ cao hơn trong khoảng thích nghi của cá có thể cải thiện chất lượng dinh dưỡng, đặc biệt là hàm lượng protein và lipid. Việc bổ sung vitamin C ở mức 100 mg/kg TA cũng có tác động tích

cực đến thành phần sinh hóa. Hàm lượng protein và lipid tăng rõ rệt ở nghiệm thức bổ sung vitamin C, với giá trị protein và lipid cao hơn so với nhóm không bổ sung vitamin C. Tuy nhiên, độ ẩm và hàm lượng tro lại giảm ở nhóm bổ sung vitamin C, phản ánh sự cải thiện thành phần dinh dưỡng khi bổ sung vitamin C. Nhìn chung, nhiệt độ cao hơn (34°C) kết hợp với việc bổ sung vitamin C ở mức 100 mg/kg TA là điều kiện tối ưu để cải thiện thành phần sinh hóa cơ thể cá chim vây vàng, đặc biệt là tăng hàm lượng protein và lipid, đồng thời giảm độ ẩm và tro tích lũy.

Bảng 3.8 Ảnh hưởng của vitamin C và nhiệt độ lên thành phần sinh hóa cơ thể cá

Nghiệm thức	Tro	Âm	Protein	Lipid
28:0	5,79±0,11	69,14±0,43	18,39±0,05	6,0±0,54
28:100	6,26±0,05	70,25±0,62	18,61±0,04	7,28±0,64
31:0	4,69±0,10	65,55±0,46	19,01±0,03	8,06±0,42
31:100	5,19±0,07	68,17±0,52	19,18±0,02	8,69±0,42
34:0	4,04±0,12	59,82±0,46	19,27±0,02	9,42±0,38
34:100	4,03±0,08	61,29±0,35	19,4±0,04	9,93±0,49
Ảnh hưởng của nhiệt độ nước				
28	6,03 ^C	69,69 ^C	18,5 ^A	6,64 ^A
31	4,94 ^B	66,86 ^B	19,1 ^B	8,37 ^B
34	4,23 ^A	60,56 ^A	19,33 ^C	9,67 ^C
Ảnh hưởng của VC				
0	4,84 ^X	64,84 ^X	18,89 ^X	7,83 ^X
100	5,3 ^Y	66,57 ^Y	19,06 ^Y	8,63 ^Y
P-values (Two-way ANOVA)				
Nhiệt độ	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05
VC	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05
Nhiệt độ x VC	NS	NS	NS	NS

Số liệu được hiển thị dưới dạng trung bình của 5 lần lặp lại. Các giá trị có chữ cái viết hoa khác nhau (A, B, C) trong một cột cho thấy sự khác biệt ý nghĩa ($P < 0,05$) giữa trung bình các mức nhiệt độ. Các giá trị chữ cái viết hoa khác nhau (X, Y) trong một cột cho thấy sự khác biệt ý nghĩa ($P < 0,05$) giữa trung bình các mức vitamin C.

3.4.3. Ảnh hưởng của vitamin C và nhiệt độ lên đáp ứng miễn dịch của cá chim vây vàng

Ảnh hưởng của vitamin C và nhiệt độ lên đáp ứng miễn dịch của cá chim vây vàng được trình bày trong bảng 3.9.

Bảng 3.9 Ảnh hưởng của vitamin C và nhiệt độ lên một số chỉ tiêu huyết học

Nghiệm thức	WBC ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	RBC ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	Hb (g/dL)	Hct (%)	PLT	Triglyceride (mmol/L)	Protein (g/L)
28:0	5,61 \pm 0,22	1,87 ^a \pm 0,06	7,02 ^{ab} \pm 0,25	19,79 \pm 0,40	21,4 \pm 0,24	4,15 \pm 0,20	35,45 ^a \pm 0,14
28:100	5,97 \pm 0,28	1,93 ^a \pm 0,02	6,91 ^a \pm 0,10	21,14 \pm 0,63	22,4 \pm 0,40	4,04 \pm 0,27	36,5 ^b \pm 0,14
31:0	6,34 \pm 0,21	2,08 ^b \pm 0,02	7,26 ^{ab} \pm 0,10	22,0 \pm 0,43	22,8 \pm 0,20	4,79 \pm 0,33	37,08 ^c \pm 0,08
31:100	6,61 \pm 0,13	2,24 ^c \pm 0,06	7,45 ^b \pm 0,14	23,25 \pm 0,42	23,6 \pm 0,24	4,32 \pm 0,30	37,92 ^d \pm 0,18
34:0	7,23 \pm 0,07	2,76 ^d \pm 0,06	8,72 ^c \pm 0,12	24,74 \pm 0,21	23,8 \pm 0,20	4,86 \pm 0,34	38,68 ^e \pm 0,08
34:100	8,11 \pm 0,18	3,15 ^e \pm 0,05	9,38 ^d \pm 0,15	25,64 \pm 0,43	24,8 \pm 0,20	4,93 \pm 0,40	39,11 ^f \pm 0,03
Ảnh hưởng của nhiệt độ nước							
28	5,79 ^A	1,9 ^A	6,97 ^A	20,47 ^A	21,9 ^A	4,1 ^A	35,98 ^A
31	6,48 ^B	2,16 ^B	7,35 ^B	22,63 ^B	23,2 ^B	4,56 ^{AB}	37,5 ^B
34	7,67 ^C	2,95 ^C	9,05 ^C	25,19 ^C	24,3 ^C	4,89 ^B	38,9 ^C
Ảnh hưởng của VC							
0	6,39 ^X	2,24 ^X	7,67 ^X	22,18 ^X	22,67 ^X	4,6	37,07 ^X
100	6,9 ^Y	2,44 ^Y	7,91 ^Y	23,34 ^Y	23,6 ^Y	4,43	37,84 ^Y
P-values (Two-way ANOVA)							
Nhiệt độ	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05
VC	< 0,05	< 0,05	=0,05	< 0,05	< 0,05	NS	< 0,05
Nhiệt độ x VC	NS	< 0,05	< 0,05	NS	NS	NS	< 0,05

Số liệu được hiển thị dưới dạng trung bình của 5 lần lặp lại. Các giá trị có ký tự viết thường khác nhau (a, b, c, d) trong một cột cho biết sự khác biệt ý nghĩa giữa các nghiệm thức thí nghiệm. Các chữ cái viết hoa khác nhau (A, B, C) trong một cột cho thấy sự khác biệt ý nghĩa ($P < 0,05$) giữa trung bình các mức nhiệt độ. Các giá trị chữ cái viết hoa khác nhau (X, Y) trong một cột cho thấy sự khác biệt ý nghĩa ($P < 0,05$) giữa trung bình các mức vitamin C.

Kết quả Bảng 3.9 cho thấy, các chỉ số huyết học, bao gồm số lượng bạch cầu (WBC), hồng cầu (RBC), hemoglobin (Hb), hematocrit (Hct), và hàm lượng protein huyết tương, tăng dần khi nhiệt độ nước tăng từ 28°C lên 34°C. Tại nhiệt độ 34°C, các chỉ số này đạt giá trị cao nhất, với WBC là $8,11 \times 10^3/\text{mm}^3$, RBC là $3,15 \times 10^6/\text{mm}^3$, Hb đạt 9,05 g/dL, Hct đạt 25,15%, và protein huyết tương đạt 38,9 g/L. Điều này cho thấy nhiệt độ cao hơn trong khoảng thích nghi của cá giúp cải thiện các hoạt động sinh lý, nâng cao khả năng trao đổi khí và chức năng miễn dịch. Việc bổ sung vitamin C cũng có tác động đáng kể đến các chỉ số huyết học. Nghiệm thức bổ sung vitamin C (100 mg/kg TA) cho thấy sự gia tăng rõ rệt ở các chỉ số như RBC ($2,44 \times 10^6/\text{mm}^3$), Hb (7,91 g/dL), Hct (23,34%), và protein huyết tương (37,84 g/L) so với nhóm không bổ sung vitamin C. Số lượng WBC cũng tăng từ $6,39 \times 10^3/\text{mm}^3$ ở nhóm không bổ sung lên $6,97 \times 10^3/\text{mm}^3$ ở nhóm bổ sung vitamin C, khẳng định vai trò hỗ trợ của vitamin C trong cải thiện chức năng miễn dịch và sức khỏe tổng thể của cá. Tuy nhiên, các chỉ số như số lượng tiểu cầu (PLT) và triglyceride không có sự thay đổi đáng kể giữa các mức nhiệt độ và hàm lượng vitamin C, cho thấy hai yếu tố này ít bị ảnh hưởng bởi các điều kiện thí nghiệm trong nghiên cứu. Nhìn chung, nhiệt độ cao hơn trong phạm vi thích nghi (34°C) và việc bổ sung vitamin C (100 mg/kg TA) đều đóng góp tích cực vào việc cải thiện các chỉ tiêu huyết học và sức khỏe của cá chim vây vàng, đặc biệt là khả năng miễn dịch và chức năng trao đổi khí.

Bảng 3.10 trình bày ảnh hưởng của nhiệt độ và vitamin C lên lượng lysozyme huyết thanh, hoạt tính thực bào, chỉ số thực bào và bùng nổ hô hấp của cá chim vây vàng. Kết quả cho thấy nhiệt độ nước có ảnh hưởng rõ rệt đến các chỉ tiêu liên quan đến miễn dịch tự nhiên của cá. Lượng lysozyme huyết thanh tăng dần khi nhiệt độ nước tăng từ 28°C đến 34°C, với giá trị cao nhất là 8,63 $\mu\text{g/mL}$ ở mức nhiệt 34°C. Tương tự, hoạt tính thực bào và chỉ số thực bào cũng tăng theo nhiệt độ, đạt giá trị cao nhất ở mức 34°C với lần lượt là 73,9% và 1,93. Điều này phản ánh rằng nhiệt độ cao hơn trong phạm vi thích nghi của cá giúp tăng cường hoạt động miễn dịch và khả năng bảo vệ trước các tác nhân gây bệnh. Việc bổ sung vitamin C (100 mg/kg TA) cũng cải thiện các chỉ tiêu miễn dịch. Nghiệm thức bổ sung vitamin C đạt lượng lysozyme huyết thanh cao hơn (7,92 $\mu\text{g/mL}$) so với nhóm không bổ sung (7,16 $\mu\text{g/mL}$). Hoạt tính thực bào và chỉ số thực bào cũng tăng nhẹ khi bổ sung vitamin C, cho thấy vai trò tích cực của chất dinh dưỡng này trong việc hỗ trợ hệ thống miễn dịch tự nhiên của cá.

Bùng nổ hô hấp của cá cũng chịu ảnh hưởng đáng kể bởi nhiệt độ nước và vitamin C. Giá trị bùng nổ hô hấp tăng cao nhất ở mức 34°C (1,39) và ở nhóm bổ sung vitamin C (1,32), phản ánh khả năng sản sinh các chất diệt khuẩn mạnh mẽ hơn trong điều kiện tối ưu. Nhìn chung, sự kết hợp giữa nhiệt độ nước cao (34°C) và bổ sung vitamin C (100 mg/kg TA) giúp cải thiện đáng kể các chỉ tiêu miễn dịch tự nhiên của cá chim vây vàng. Điều này chứng minh vai trò quan trọng của vitamin C trong việc tăng cường sức khỏe và khả năng chống chịu của cá trong điều kiện môi trường thay đổi.

Bảng 3.10. Ảnh hưởng của nhiệt độ và vitamin C lên lượng lysozyme huyết thanh, hoạt tính thực bào và bùng nổ hô hấp của cá chim vây vàng

Nghiệm thức	Lysozyme (ug/mL)	Hoạt tính thực bào	Chỉ số thực bào	Bùng nổ hô hấp
28:0	6,25±0,27	66,20±1,46	1,68±0,03	1,18±0,04
28:100	6,72±0,16	68,80±1,24	1,76±0,03	1,23±0,03
31:0	7,00±0,33	70,20±1,83	1,76±0,09	1,33±0,02
31:100	8,01±0,06	69,80±2,15	1,79±0,06	1,31±0,03
34:0	8,23±0,28	72,20±2,56	1,83±0,03	1,36±0,03
34:100	9,04±0,07	75,60±1,60	1,93±0,05	1,43±0,03
Ảnh hưởng của nhiệt độ nước				
28	6,48 ^A	67,5 ^A	1,72 ^A	1,2 ^A
31	7,51 ^B	70,0 ^{AB}	1,78 ^{AB}	1,32 ^B
34	8,63 ^C	73,9 ^B	1,88 ^B	1,39 ^C
Ảnh hưởng của VC				
0	7,16 ^X	69,53	1,76	1,29
100	7,92 ^Y	71,4	1,83	1,32
P-values (Two-way ANOVA)				
Nhiệt độ	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
VC	<0,05	NS	NS	NS
Nhiệt độ x VC	NS	NS	NS	NS

Số liệu được hiển thị dưới dạng trung bình của 5 lần lặp lại. Các giá trị có ký tự viết thường khác nhau (a, b, c, d) trong một cột cho biết sự khác biệt ý nghĩa giữa các nghiệm thức thí nghiệm. Các chữ cái viết hoa khác nhau (A, B, C) trong một cột cho thấy sự khác biệt ý nghĩa ($P < 0,05$) giữa trung bình các mức nhiệt độ. Các giá trị chữ cái viết hoa khác nhau (X, Y) trong một cột cho thấy sự khác biệt ý nghĩa ($P < 0,05$) giữa trung bình các mức vitamin C.

3.4.4. Thảo luận

Dưới điều kiện biến đổi khí hậu, khả năng chống chịu và thích nghi của các loài vật nuôi, đặc biệt là cá, trước môi trường sống khắc nghiệt đang trở thành vấn đề cấp thiết. Một trong những giải pháp hiệu quả là sử dụng vitamin như một thành phần thiết yếu trong khẩu phần ăn hàng ngày. Trong đó, vitamin C đóng vai trò quan trọng trong việc tăng cường sức khỏe và khả năng chống chịu của cá trước những điều kiện bất 88

lợi. Nghiên cứu này tập trung tìm hiểu ảnh hưởng của nhiệt độ lên các yếu tố sinh trưởng, thành phần sinh hóa cơ thể, các thông số huyết học, và đáp ứng miễn dịch tự nhiên của cá chim vây vàng (*Trachinotus* spp.) trong giai đoạn giống, đồng thời đánh giá hiệu quả bảo vệ của vitamin C dưới tác động của nhiệt độ cao.

Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng, các mức nhiệt độ thí nghiệm từ 28°C, 31°C đến 34°C không gây ảnh hưởng tiêu cực đến sự sống của cá chim vây vàng. Trong suốt quá trình thử nghiệm, không có bất kỳ cá thể nào bị chết, cho thấy cá có khả năng thích nghi tốt trong khoảng nhiệt độ này. Đáng chú ý, hiệu quả sử dụng thức ăn và sự tăng trưởng khối lượng của cá tăng dần khi nhiệt độ môi trường được nâng từ 28°C lên 34°C. Trong đó, ở mức nhiệt 34°C, cá đạt được hiệu quả sử dụng thức ăn và tốc độ tăng trưởng khối lượng cao nhất. So sánh với các nghiên cứu trước đây, kết quả này thể hiện một sự tương đồng và đồng thời bổ sung thêm nhận thức về phạm vi nhiệt độ phù hợp cho sự phát triển của cá chim vây vàng. Trong phạm vi nhiệt độ từ 29°C đến 33°C, cá chim vây vàng *T. ovatus* tăng trưởng nhanh hơn so với khi sống ở các mức nhiệt độ thấp từ 23°C đến 26°C [128]. Một nghiên cứu khác về ảnh hưởng của nhiệt độ đến cá chim vây vàng *T. blochii* cũng cho thấy, ở mức nhiệt 32°C, cá đạt được hiệu suất tăng trưởng, tỷ lệ sống và phản ứng chống oxy hóa tốt nhất, vượt trội hơn so với các mức nhiệt 29°C và 33°C [102]. Những kết quả này cho thấy sự tương đồng về nhiệt độ tối ưu trong các nghiên cứu khác nhau. Tuy nhiên, khi so sánh với một số nghiên cứu trước đây, mức nhiệt độ tối ưu cho cá chim vây vàng thường được ghi nhận trong khoảng thấp hơn, từ 27°C đến 31°C [4, 93, 99, 130, 131].

Sự khác biệt về giới hạn nhiệt tối ưu cho tăng trưởng của cá chim vây vàng (*Trachinotus* spp.) có thể do yếu tố về giống loài, điều kiện môi trường cụ thể, và các biện pháp can thiệp trong nghiên cứu, chẳng hạn như bổ sung vitamin hoặc thay đổi chế độ dinh dưỡng. Đối với nghiên cứu hiện tại, việc sử dụng vitamin C đã góp phần quan trọng trong việc nâng cao khả năng chống chịu của cá trước nhiệt độ cao. Vitamin C không chỉ giúp tăng cường sức khỏe tổng thể mà còn hỗ trợ cải thiện khả năng miễn dịch tự nhiên, giúp cá vượt qua các áp lực từ môi trường nhiệt độ cao. Kết hợp với khả năng tăng trưởng mạnh mẽ trong khoảng nhiệt độ từ 31°C đến 34°C, cá chim vây vàng chứng minh được tiềm năng lớn cho việc phát triển nuôi trồng trong điều kiện biến đổi khí hậu hiện nay. Nhìn chung, nghiên cứu này cung cấp những dữ liệu giá trị về ảnh hưởng của nhiệt độ và vai trò của vitamin C đối với sự phát triển

và sức khỏe của cá chim vây vàng. Kết quả này không chỉ đóng góp vào việc xác định phạm vi nhiệt độ tối ưu cho cá mà còn mở ra hướng nghiên cứu và ứng dụng thực tiễn trong nuôi trồng thủy sản bền vững, đặc biệt trong bối cảnh biến đổi khí hậu đang ngày càng diễn biến phức tạp.

Các chỉ số huyết học của cá chim vây vàng (*Trachinotus* spp.) nhìn chung có xu hướng tăng lên khi nhiệt độ môi trường tăng và đạt mức tối ưu ở 34°C. Điều này cho thấy rằng, khi nhiệt độ cao nhưng vẫn nằm trong giới hạn thích nghi của cá, các hoạt động sinh lý trong cơ thể được thúc đẩy. Cụ thể, hoạt tính của enzym tăng cường, quá trình trao đổi chất diễn ra nhanh hơn, dẫn đến nhu cầu oxy, dinh dưỡng và năng lượng của cá cũng tăng cao. Kết quả là các thành phần tế bào máu và huyết tương trong cơ thể cá, đặc biệt là số lượng tế bào hồng cầu, hemoglobin (Hb), hematocrit (Hct), protein và triglyceride, đều gia tăng đáng kể. Điều này phản ánh khả năng thích nghi và đáp ứng tích cực của cá trước điều kiện nhiệt độ cao. Hiện tượng tương tự cũng đã được ghi nhận ở các loài cá khác, như cá mú lai *Epinephelus fuscoguttatus* × *E. lanceolatus* [42], cá tra *Pangasianodon hypophthalmus* [100]. Những kết quả này không chỉ củng cố hiểu biết về ảnh hưởng của nhiệt độ đối với các chỉ số huyết học mà còn góp phần quan trọng trong việc xây dựng các chiến lược quản lý và chăm sóc phù hợp trong nuôi trồng thủy sản hiện đại.

Kết quả nghiên cứu hiện tại cho thấy, nhiệt độ môi trường tác động đáng kể đến hàm lượng protein, lipid, tro và độ ẩm trong cơ thể cá chim vây vàng *T. blochii*. Cụ thể, hàm lượng protein, lipid tổng số và tro có xu hướng tăng dần khi nhiệt độ tăng, trong khi độ ẩm của cá giảm dần. Điều này phản ánh sự thay đổi trong thành phần sinh hóa của cá dưới tác động của nhiệt độ, đồng thời cho thấy nhiệt độ cao hơn trong phạm vi thích nghi của cá có thể cải thiện chất lượng thịt. Kết quả nghiên cứu còn chỉ ra rằng, tại mức nhiệt 34°C, cá chim vây vàng đạt được hàm lượng protein và lipid cao nhất, khẳng định rằng đây là mức nhiệt độ thích hợp để nâng cao chất lượng thịt của cá. Nhận định trên cũng phù hợp với một nghiên cứu khác về cá chẽm mõm nhọn (*P. waigiensis*), khi cho thấy hàm lượng protein và lipid của cá cao hơn đáng kể ở mức nhiệt độ tối ưu 28°C so với 32°C. Những kết quả này nhấn mạnh tầm quan trọng của việc xác định mức nhiệt độ tối ưu cho từng loài cá để vừa đảm bảo sức khỏe, tăng trưởng, vừa nâng cao chất lượng sản phẩm nuôi trồng. Việc hiểu rõ các yếu tố này sẽ góp phần hỗ trợ phát triển bền vững ngành thủy sản trong bối cảnh biến đổi khí hậu [73].

Đáp ứng miễn dịch tự nhiên của cá chim vây vàng được phân tích qua lượng lysozyme huyết thanh, hoạt tính thực bào và bùng nổ hô hấp của bạch cầu cá. Kết quả nghiên cứu hiện tại cho thấy, nhiệt độ ảnh hưởng đáng kể lên hàm lượng lysozyme huyết thanh của cá. Lượng lysozyme tăng dần theo mức tăng nhiệt độ. Fletcher & White (1976) nhận thấy nồng độ lysozyme ở cá phụ thuộc vào một số yếu tố môi trường như nhiệt độ nước và sự hiện diện của vi khuẩn [51]. Grinde và cộng sự (1988) cũng báo cáo mối tương quan giữa điều kiện nhiệt độ và nồng độ lysozyme trong huyết thanh ở cá hồi vân *Salmo gairdneri*, cá bơn Đại Tây Dương *Hippoglossus hippoglossus* và cá bơn *Psetta maxima* [55]. Nhiệt độ cũng ảnh hưởng đến khả năng thực bào và sản sinh các chất diệt khuẩn mạnh của cá chim vây vàng trong thí nghiệm này. Ở mức nhiệt độ phù hợp của mỗi loài cá, hoạt động thực bào, chỉ số thực bào và hoạt tính thực bào của cá cao hơn các mức nhiệt khác. Kết quả này tương đồng với những ghi nhận ở cá nheo Mỹ *Ictalurus punctatus*, cá hanh *Tinca tinca*, L., cá hồi vân *Oncorhynchus mykiss* [37, 44, 60].

Vitamin C đóng vai trò quan trọng trong việc thúc đẩy tăng trưởng và cải thiện các chỉ tiêu sinh lý của cá. Nhiều nghiên cứu trước đây đã chứng minh rằng vitamin C có khả năng tăng cường các thông số miễn dịch, bao gồm gia tăng số lượng đại thực bào, tăng hàm lượng lysozyme, tăng hoạt tính thực bào của bạch cầu, sản xuất cytokine và nâng cao nồng độ kháng thể [73]. Đồng thời, vitamin C là một trong những chất chống oxy hóa chính có trong huyết tương và màng tế bào, giúp dọn dẹp các gốc tự do và hỗ trợ quá trình tổng hợp oxit nitric nội mô [62]. Trong nghiên cứu hiện tại, vitamin C có ảnh hưởng đáng kể đến các chỉ tiêu tăng trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn, hàm lượng nước và lipid trong cơ thể cá, các chỉ số huyết học và miễn dịch tự nhiên của cá.

Nghiên cứu cho thấy, không có sự ảnh hưởng tương tác giữa việc bổ sung vitamin C và nhiệt độ môi trường đối với các chỉ tiêu sinh trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn và thành phần sinh hóa cơ thể cá chim vây vàng (*Trachinotus* spp.). Tuy nhiên, sự kết hợp giữa hai yếu tố này lại ảnh hưởng đáng kể đến một số chỉ tiêu huyết học và miễn dịch của cá. Trong phạm vi nhiệt độ thích hợp, số lượng hồng cầu, hàm lượng hemoglobin (Hb), và protein huyết tương trong cơ thể cá có xu hướng gia tăng cùng với sự gia tăng nhiệt độ. Đáng chú ý, khi cá được bổ sung vitamin C ở các mức nhiệt này, các thông số huyết học như hồng cầu, Hb và protein huyết tương đều tăng thêm, cho thấy vai trò hỗ trợ tích cực của vitamin C đối

với sức khỏe và khả năng thích nghi của cá dưới điều kiện nhiệt độ cao. Xu hướng này không chỉ được quan sát ở cá chim vây vàng mà còn được ghi nhận ở nhiều loài cá khác. Điển hình là ở cá chép (*Cyprinus carpio*) và cá chêm (*Psammoperca waigiensis*), khi sống trong điều kiện nhiệt độ cao, việc bổ sung vitamin C đã cải thiện đáng kể các thông số về sinh trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn, thành phần sinh hóa cơ thể, cũng như các chỉ tiêu huyết học và miễn dịch. Điều này cho thấy vitamin C không chỉ là một thành phần thiết yếu trong khẩu phần ăn mà còn đóng vai trò quan trọng trong việc nâng cao sức khỏe toàn diện và khả năng chống chịu của cá trước các tác động bất lợi từ môi trường. Những kết quả trên góp phần khẳng định vai trò của vitamin C trong nuôi trồng thủy sản, đặc biệt là trong bối cảnh biến đổi khí hậu với nhiệt độ môi trường ngày càng gia tăng. Việc bổ sung vitamin C vào khẩu phần ăn có thể trở thành một giải pháp quan trọng giúp nâng cao hiệu quả nuôi trồng và đảm bảo sức khỏe bền vững cho cá [66, 73].

Nghiên cứu về ảnh hưởng của vitamin E, vitamin C và nhiệt độ lên cá chim vây vàng *T. blochii* trong giai đoạn giống đã mang lại những kết quả đáng chú ý. Việc bổ sung các chất chống oxy hóa như vitamin E và vitamin C vào khẩu phần ăn của cá không chỉ cải thiện tốc độ sinh trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn mà còn nâng cao chất lượng thịt cá và khả năng đáp ứng miễn dịch tự nhiên. Những lợi ích này cho thấy vai trò quan trọng của các vitamin chống oxy hóa trong việc hỗ trợ sức khỏe và tăng cường khả năng thích nghi của cá với môi trường sống khắc nghiệt. Ngoài ra, nghiên cứu cũng chỉ ra rằng, với sự hỗ trợ từ vitamin E và vitamin C, giới hạn nhiệt độ thích nghi của cá chim vây vàng *T. blochii* đã được mở rộng. Điều này cho thấy loài cá này có khả năng thích nghi tốt với điều kiện nhiệt độ cao và có tiềm năng lớn để phát triển trong bối cảnh nhiệt độ tăng cao do biến đổi khí hậu. Tuy nhiên, để xác định mức nhiệt độ tối ưu cho sự tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá chim vây vàng, cần có thêm nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ cao hơn 34°C đối với sinh trưởng, khả năng chuyển hóa dinh dưỡng và đáp ứng miễn dịch. Việc xác định giới hạn nhiệt độ mà cá có thể chịu đựng cũng là cơ sở quan trọng để tối ưu hóa điều kiện nuôi, đảm bảo hiệu suất sản xuất và phát triển bền vững trong nuôi trồng thủy sản.

CHƯƠNG 4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

1) Bổ sung vitamin E từ 100–800 mg/kg TA giúp cải thiện tăng trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn và thành phần sinh hóa cơ thể cá chim vây vàng, trong đó mức 100–200 mg/kg TA đạt hiệu quả tối ưu. Vitamin E từ 100–400 mg/kg TA cải thiện các chỉ số huyết học và miễn dịch, với lysozyme và bạch cầu cao nhất ở mức 400 mg/kg TA, trong khi hồng cầu, Hb, Hct, protein máu và triglyceride tối ưu ở mức 200 mg/kg TA. Vitamin E không ảnh hưởng đến tỷ lệ sống, số lượng tiểu cầu, chỉ số VSI và HSI của cá. Bổ sung quá liều (800–1600 mg/kg TA) dẫn đến thoái hóa, hoại tử gan và tổn thương mô cơ.

2) Trong điều kiện thí nghiệm, cá chim vây vàng có khả năng thích nghi trong khoảng nhiệt độ 28–34°C, với các chỉ tiêu tăng trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn, hàm lượng protein, độ ẩm, chỉ số huyết học, lysozyme huyết thanh và hoạt tính bùng nổ hô hấp đạt giá trị cao nhất ở 34°C. Nhiệt độ không ảnh hưởng đến hoạt tính và chỉ số thực bào. Bổ sung vitamin E ở mức 400 mg/kg TA trong khoảng nhiệt độ này giúp cải thiện sinh trưởng, thành phần sinh hóa cơ thể, các chỉ số huyết học và miễn dịch. Không có sự tương tác đáng kể giữa vitamin E và nhiệt độ lên các chỉ tiêu, ngoại trừ hàm lượng lipid tổng số, số lượng bạch cầu, hồng cầu, Hct và protein huyết tương.

3) Bổ sung vitamin C từ 50–800 mg/kg TA cải thiện tăng trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn, hàm lượng protein và lipid của cá chim vây vàng, với mức 100 mg/kg TA đạt kết quả tốt nhất. Vitamin C cải thiện các chỉ tiêu huyết học như Hb, Hct, số lượng hồng cầu, bạch cầu, protein huyết thanh và lysozyme, không ảnh hưởng đến tỷ lệ sống, số lượng tiểu cầu, triglyceride, chỉ số VSI, HSI, độ ẩm, hàm lượng tro và hình thái xương của cá sau 10 tuần thí nghiệm.

4) Trong điều kiện thí nghiệm, khi nhiệt độ tăng trong khoảng 28–34°C, các chỉ tiêu sinh trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn, hàm lượng protein, lipid tổng số, cùng các chỉ số huyết học và miễn dịch tự nhiên của cá chim vây vàng có xu hướng được cải thiện, với một số chỉ tiêu đạt giá trị cao nhất ở 34°C. Bổ sung vitamin C ở mức 100 mg/kg TA trong khoảng nhiệt độ này góp phần tăng cường tốc độ tăng trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn, nâng cao hàm lượng lipid tổng số và cải thiện các chỉ số huyết học, miễn dịch, đặc biệt số lượng hồng cầu, Hb và protein huyết thanh. Để xác định mức nhiệt độ tối ưu

cho sự phát triển của cá chim vây vàng, cần có thêm nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ cao hơn đối với các chỉ tiêu sinh trưởng, chuyển hóa dinh dưỡng và miễn dịch.

4.2. Kiến nghị

1) Cần phân tích hàm lượng vitamin E và vitamin C trong gan và cơ, đồng thời đánh giá ảnh hưởng của hai loại vitamin này và nhiệt độ lên các chất chống oxy hóa nội sinh như SOD, CAT, GPx,... để hiểu rõ khả năng tích lũy, chuyển hóa và vai trò chống oxy hóa của cá chim vây vàng.

2) Cần xác định giới hạn nhiệt độ tối đa mà cá chim vây vàng có thể chịu đựng và nghiên cứu sâu hơn về tác động của nhiệt độ cao hơn 34°C lên sinh trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn và đáp ứng miễn dịch. Đồng thời, cần đánh giá sự tương tác giữa vitamin và nhiệt độ để hiểu rõ hơn về tác động kết hợp của các yếu tố này đối với sự phát triển của cá chim vây vàng giai đoạn giống.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tiếng Việt

1. Phạm Thị Anh & Lại Văn Hùng (2012), "Nghiên cứu ảnh hưởng của vitamin E, vitamin C đến tốc độ tăng trưởng và thành phần sinh hóa của cá giò giai đoạn giống (*Rachycentron canadum*, Linnaeus 1766)", *Tạp chí Khoa học - Công nghệ Biển*, 12(4), pp. 72-79.
2. Bùi Thị Bích Hằng, Phạm Văn Thi, Nguyễn Minh Tân, Trương Quỳnh Như & Nguyễn Thanh Phương (2015), "Ảnh hưởng của vitamin C lên một số yếu tố miễn dịch không đặc hiệu và khả năng kháng vi khuẩn gây bệnh của cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*)", *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 39, pp. 85-91.
3. Đỗ Thị Hòa, Bùi Quang Tề, Nguyễn Hữu Dũng & Nguyễn Thị Muội (2004), *Bệnh học thủy sản*, Nhà xuất bản Nông nghiệp, Thành phố Hồ Chí Minh, pp. 411.
4. Lại Văn Hùng, Huỳnh Thư Thư, Trần Văn Dũng, Trần Thị Lê Trang & Phạm Thị Khanh (2013), "Nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng vitamin D3 lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của cá chim vây vàng (*Trachinotus blochii* Lacepède, 1801) giai đoạn giống", *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Biển*, 13(4), pp. 390-396.
5. Lý Văn Khánh, Cao Mỹ Án & Trần Ngọc Hải (2020), "Ảnh hưởng của thức ăn khác nhau lên tăng trưởng và tỷ lệ sống của cá chim vây vàng (*Trachinotus blochii*)", *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 56(CĐ Thủy sản), pp. 43-47.
6. Lê Minh Khôi, Nguyễn Bảo Trung, Huỳnh Trung Hiếu & Từ Thanh Dung (2023), "Ảnh hưởng của tần suất cho ăn và khả năng tăng cường hiệu quả của β -glucan và vitamin C đối với vaccine phòng bệnh *Edwardsiella ictaluri* lây nhiễm trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*)", *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 59(2B), pp. 154-164.
7. Hồ Sơn Lâm & Huỳnh Minh Sang (2018), "Tổng quan về việc sử dụng Selen (Se) trong Nuôi trồng Thủy sản", *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Biển*, 18(2), pp. 214-221.

8. Mai Thanh Lâm, Phạm Minh Đức & Trần Thị Thanh Hiền (2018), "Ảnh hưởng vitamin C lên tăng trưởng và một số chỉ tiêu miễn dịch của cá lóc nuôi thương phẩm trong vèo", *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 4(89), pp. 109-115.
9. Ngô Văn Mạnh (2015), *Nghiên cứu ảnh hưởng của một số giải pháp kỹ thuật lên chất lượng trứng, ấu trùng và hiệu quả ương giống cá chim vây vàng (Trachinotus blochii Lacepede, 1801) tại Khánh Hòa*. Luận án Tiến sĩ Nông nghiệp, Trường Đại học Nha Trang. 120.
10. Châu Văn Thanh (2011), "Ảnh hưởng của loại thức ăn và vitamin C bổ sung lên tỉ lệ sống và sinh trưởng của cá chim vây vàng (*Trachinotus blochii* Lacepede, 1801) cỡ 30 - 40mm", *Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy sản*, (3), pp. 35-38.
11. Châu Văn Thanh & Ngô Văn Mạnh (2015), "Ảnh hưởng của khẩu phần thức ăn lên sinh trưởng, mức độ phân đàn, hệ số chuyển đổi thức ăn, tỉ lệ sống và năng suất của cá chim vây vàng (*Trachinotus blochii* Lacepede, 1801) giai đoạn nuôi con giống lớn", *Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy sản*, (2), pp. 56-59.
12. Lê Xuân (2007), "Thử nghiệm nuôi 2 loài cá biển *Lutjanus argentimaculatus* Forskal 1775 và *Trachinotus blochii* Lacepede 1801 tại Cát Bà, Hải Phòng", *Tạp chí Thủy sản*, 2, pp. 18-20.

2. Tiếng Anh

13. Abdel Rahman A.N., ElHady M.& Shalaby S.I. (2019), "Efficacy of the dehydrated lemon peels on the immunity, enzymatic antioxidant capacity and growth of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and African catfish (*Clarias gariepinus*)", *Aquaculture*, 505, pp. 92-97.
14. Abdelwahab A.M., El-Bahr S.M. & Al-Khamees S. (2020), "Influence of dietary garlic (*Allium sativum*) and/or ascorbic acid on performance, feed utilization, body composition and hemato-biochemical parameters of juvenile Asian sea bass (*Lates calcarifer*)", *Animals*, 10(12), pp. 2396.
15. Abram Q.H., Dixon B. & Katzenback B.A. (2017), "Impacts of Low Temperature on the Teleost Immune System", *Biology*, 6(4), pp. 39.
16. Affonso E.G., Silva Eda C., Tavares-Dias M., de Menezes G.C., de Carvalho C.S., Nunes Eda S., Ituassu D.R., Roubach R., Ono E.A., Fim J.D. & Marcon

- J.L. (2007), "Effect of high levels of dietary vitamin C on the blood responses of matrinxa (*Brycon amazonicus*)", *Comparative Biochemistry and Physiology*, 147(2), pp. 383-388.
17. Ahmed I., Jan K., Fatma S. & Dawood M.A. (2022), "Muscle proximate composition of various food fish species and their nutritional significance: A review", *Journal of Animal Physiology Animal Nutrition*, 106(3), pp. 690-719.
 18. Ahmed I., Reshi Q.M. & Fazio F. (2020), "The influence of the endogenous and exogenous factors on hematological parameters in different fish species: a review", *Aquaculture International*, 28, pp. 869-899.
 19. Ai Q., Mai K., Tan B., Xu W., Zhang W., Ma H.&Liufu Z. (2006), "Effects of dietary vitamin C on survival, growth, and immunity of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*)", *Aquaculture*, 261(1), pp. 327-336.
 20. Ai Q., Mai K., Zhang C., Xu W., Duan Q., Tan B.&Liufu Z. (2004), "Effects of dietary vitamin C on growth and immune response of Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*)", *Aquaculture*, 242(1-4), pp. 489-500.
 21. Akbari A. (2016), "An overview of the characteristics and function of vitamin C in various tissues: relying on its antioxidant function", *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 18(11).
 22. Alam J., Mustafa M.G. & Khaleque M.A. (2009), "Evaluations of the effects of different dietary vitamin C levels on the body composition, growth performance and feed utilization efficiencies in stinging catfish (*Heteropneustes fossilis* Bloch, 1792)", *Journal of American Science*, 5(3), pp. 31-40.
 23. Alexander J.B. & Ingram G.A. (1992), "Noncellular nonspecific defence mechanisms of fish", *Annual Review of Fish Diseases*, 2, pp. 249-279.
 24. Amlashi A.S., Falahatkar B., Sattari M. & Gilani M.T. (2011), "Effect of dietary vitamin E on growth, muscle composition, hematological and immunological parameters of sub-yearling beluga *Huso huso* L", *Fish shellfish immunology*, 30(3), pp. 807-814.
 25. Barros M.M., Falcon D.R., de Oliveira Orsi R., Pezzato L.E., Fernandes Jr A.C., Guimarães I.G., Fernandes Jr A., Padovani C.R. & Sartori M.M.P. (2014), "Non-specific immune parameters and physiological response of Nile

- tilapia fed β -glucan and vitamin C for different periods and submitted to stress and bacterial challenge", *Fish shellfish immunology*, 39(2), pp. 188-195.
26. Barton B.A. (2002), "Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids", *Integrative comparative biology*, 42(3), pp. 517-525.
 27. Bera P., Sau S., Paul B., Ali M.&Ghosh T. (2022), "Functions, metabolism, interactions, growth and requirements of vitamin E in fish: A Review", *Indian Journal Animal Health*, 61(2), pp. 200-209.
 28. Berillis P. (2015), "Factors that can lead to the development of skeletal deformities in fishes: a review", *Journal of Fisheries Sciences*, 9(3), pp. 17.
 29. Biller J.D. & Takahashi L.S. (2018), "Oxidative stress and fish immune system: phagocytosis and leukocyte respiratory burst activity", *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 90(4), pp. 3403-3414.
 30. Blazer V.S. (1991), "Piscine macrophage function and nutritional influences: a review", *Journal of Aquatic Animal Health*, 3(2), pp. 77-86.
 31. Boyd C.E. (2020), Solar radiation and water temperature, in: *Water Quality: An Introduction*, Springer Cham, pp. 21-39.
 32. Chen R., Lochmann R., Goodwin A., Praveen K., Dabrowski K. & Lee K.J. (2004), "Effects of dietary vitamins C and E on alternative complement activity, hematology, tissue composition, vitamin concentrations and response to heat stress in juvenile golden shiner (*Notemigonus crysoleucas*)", *Aquaculture*, 242(1-4), pp. 553-569.
 33. Chen X., Liu S., Ding Q., Teame T., Yang Y., Ran C., Zhang Z. & Zhou Z. (2023), "Research advances in the structure, function, and regulation of the gill barrier in teleost fish", *Water Biology Security*, 2(2), pp. 100139.
 34. Chen Y.J., Yuan R.M., Liu Y.J., Yang H.J., Liang G.Y. & Tian L.X. (2015), "Dietary vitamin C requirement and its effects on tissue antioxidant capacity of juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*)", *Aquaculture*, 435, pp. 431-436.
 35. Cheng C.H., Guo Z.X. & Wang A.L. (2018), "Growth performance and protective effect of vitamin E on oxidative stress pufferfish (*Takifugu obscurus*)

- following by ammonia stress", *Fish Physiology and Biochemistry*, 44(2), pp. 735-745.
36. Clerton P., Troutaud D., Verlhac V., Gabaudan J. & Deschaux P. (2001), "Dietary vitamin E and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) phagocyte functions: effect on gut and on head kidney leucocytes", *Fish Shellfish Immunol*, 11(1), pp. 1-13.
 37. Collazos M.E., Ortega E. & Barriga C. (1994), "Effect of temperature on the immune system of a cyprinid fish (*Tinca tinca*, L). Blood phagocyte function at low temperature", *Fish Shellfish Immunology*, 4(3), pp. 231-238.
 38. Cowey C.B., Degener E., Tacon A.G., Youngson A. & Bell J.G. (1984), "The effect of vitamin E and oxidized fish oil on the nutrition of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) grown at natural, varying water temperatures", *British Journal of Nutrition*, 51(3), pp. 443-451.
 39. Darias M., Mazurais D., Koumoundouros G., Cahu C. & Zambonino-Infante J. (2011), "Overview of vitamin D and C requirements in fish and their influence on the skeletal system", *Aquaculture*, 315(1-2), pp. 49-60.
 40. Dawood M.A. & Koshio S. (2018), "Vitamin C supplementation to optimize growth, health and stress resistance in aquatic animals", *Aquaculture*, 10(2), pp. 334-350.
 41. de Andrade J.I., Ono E.A., de Menezes G.C., Brasil E.M., Roubach R., Urbinati E.C., Tavares Dias M., Marcon J.L. & Affonso E.G. (2007), "Influence of diets supplemented with vitamins C and E on pirarucu (*Arapaima gigas*) blood parameters", *Comparative Biochemical Physiology* 146(4), pp. 576-80.
 42. De M., Ghaffar M.A., Noor N.M., Cob Z.C., Bakar Y. & Das S.K. (2019), "Effects of water temperature and diet on blood parameters and stress levels in hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂) juveniles", *Aquaculture Reports*, 15.
 43. de Menezes G.C., Tavares-Dias M., Ono E.A., de Andrade J.I.A., Brasil E.M., Roubach R., Urbinati E.C., Marcon J.L. & Affonso E.G. (2006), "The influence of dietary vitamin C and E supplementation on the physiological response of pirarucu (*Arapaima gigas*) in net culture", *Comparative Biochemistry Physiology* 145(2), pp. 274-279.

44. Dexiang C. & Ainsworth A.J. (1991), "Effect of temperature on the immune system of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) II. Adaptation of anterior kidney phagocytes to 10 degrees C", *Comparative Biochemistry Physiology*, 100(4), pp. 913-918.
45. Dutta H. (1994), "Growth in fishes", *Gerontology*, 40(2-4), pp. 97-112.
46. El-Sayed A.F.M. & Izquierdo M. (2022), "The importance of vitamin E for farmed fish—A review", *Aquaculture*, 14(2), pp. 688-703.
47. Eo J. & Lee K.J. (2008), "Effect of dietary ascorbic acid on growth and non-specific immune responses of tiger puffer (*Takifugu rubripes*)", *Fish shellfish immunology*, 25(5), pp. 611-616.
48. Esmaeili N. (2021), "Blood Performance: A New Formula for Fish Growth and Health", *Biology*, 10(12), pp. 1236.
49. Falcon D.R., Barros M.M., Pezzato L.E., Sampaio F.G. & Hisano H. (2007), "Physiological responses of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed vitamin C and lipid supplemented diets and submitted to low temperature stress", *Journal of the World Aquaculture Society*, 38(2), pp. 287-295.
50. FAO (2023), "Cultured Aquatic Species Information Programme Trachinotus spp (*T. carolinus*, *T. blochii*)", *Fisheries and Aquaculture*.
51. Fletcher T.C. & White A. (1976), "The lysozyme of the plaice *Pleuronectes platessa* L", *Comparative Biochemistry Physiology* 55(2), pp. 207-210.
52. Galaz G.B., Kim S.S. & Lee K.J. (2010), "Effects of different dietary vitamin E levels on growth performance, non-specific immune responses, and disease resistance against *Vibrio anguillarum* in parrot fish (*Oplegnathus fasciatus*)", *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 23(7), pp. 916-923.
53. Gao J., Koshio S., Ishikawa M., Yokoyama S., Mamauag R.E.P. & Han Y. (2012), "Effects of dietary oxidized fish oil with vitamin E supplementation on growth performance and reduction of lipid peroxidation in tissues and blood of red sea bream *Pagrus major*", *Aquaculture*, 356, pp. 73-79.
54. Gatta, Pirini, Testi, Vignola & Monetti (2000), "The influence of different levels of dietary vitamin E on sea bass (*Dicentrarchus labrax*) flesh quality", *Aquaculture Nutrition*, 6(1), pp. 47-52.

55. Grinde B., Lie Ø., Poppe T. & Salte R. (1988), "Species and individual variation in lysozyme activity in fish of interest in aquaculture", *Aquaculture*, 68(4), pp. 299-304.
56. Hamre K. (2011), "Metabolism, interactions, requirements and functions of vitamin E in fish", *Aquaculture Nutrition*, 17(1), pp. 98-115.
57. Hamre K. & Lie Ø. (1995), "Minimum requirement of vitamin E for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) at first feeding", *Aquaculture Research*, 26(3), pp. 175-184.
58. Han M., Yang R., Chen X., Fu Z., Ma Z. & Yu G. (2021), "Transcriptional response of golden pompano (*Trachinotus ovatus*) larvae to cold and heat stress", *Aquaculture Reports*, 20, pp. 100755.
59. Hardie L., Fletcher T. & Secombes C. (1991), "The effect of dietary vitamin C on the immune response of the Atlantic salmon (*Salmo salar* L.)", *Aquaculture*, 95(3-4), pp. 201-214.
60. Hardie L., Fletcher T. & Secombes C. (1994), "Effect of temperature on macrophage activation and the production of macrophage activating factor by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) leucocytes", *Developmental Comparative Immunology*, 18(1), pp. 57-66.
61. Horváth M. & Babinszky L. (2018), "Impact of selected antioxidant vitamins (Vitamin A, E and C) and micro minerals (Zn, Se) on the antioxidant status and performance under high environmental temperature in poultry. A review", *Acta Agriculturae Scandinavica*, 68(3), pp. 152-160.
62. Huang A., Vita J.A., Venema R.C. & Keaney J.F. (2000), "Ascorbic acid enhances endothelial nitric-oxide synthase activity by increasing intracellular tetrahydrobiopterin", *Journal of biological chemistry*, 275(23), pp. 17399-17406.
63. Huang C.H., Higgs D.A., Balfry S.K. & Devlin R.H. (2004), "Effect of dietary vitamin E level on growth, tissue lipid peroxidation, and erythrocyte fragility of transgenic coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*)", *Comparative Biochemistry and Physiology*, 139(2), pp. 199-204.
64. Huang C.H. & Huang S.L. (2004), "Effect of dietary vitamin E on growth, tissue lipid peroxidation, and liver glutathione level of juvenile hybrid tilapia

- (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) fed oxidized oil", *Aquaculture*, 237(1-4), pp. 381-389.
65. Huang W., Yan X., Liu H., Tan B., Suo X., Pan S., Li T., Yang Y. & Dong X. (2022), "Effects of vitamin E supplementation of a high-lipid diet on the growth and biochemical parameters of hybrid groupers (♀)", *Frontiers in Marine Science*, 9, pp. 924018.
 66. Hwang D.F. & Lin T.K. (2002), "Effect of temperature on dietary vitamin C requirement and lipid in common carp", *Comparative Biochemistry Physiology* 131(1), pp. 1-7.
 67. Islam M.J., Kunzmann A. & Slater M.J. (2021), "Responses of aquaculture fish to climate change induced extreme temperatures: A review", *Journal of the World Aquaculture Society*, 53(2), pp. 314-366.
 68. Jobling M. & Bendiksen E.Å. (2003), "Dietary lipids and temperature interact to influence tissue fatty acid compositions of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr", *Aquaculture Research*, 34(15), pp. 1423-1441.
 69. Kiron V. (2012), "Fish immune system and its nutritional modulation for preventive health care", *Animal Feed Science and Technology*, 173(1-2), pp. 111-133.
 70. Kumar S., Choubey A.K. & Srivastava P.K. (2022), "The effects of dietary immunostimulants on the innate immune response of Indian major carp: A review", *Fish Shellfish Immunology*, 123, pp. 36-49.
 71. Kumari J., Sahoo P., Swain T., Sahoo S., Sahu A. & Mohanty B. (2006), "Seasonal variation in the innate immune parameters of the Asian catfish (*Clarias batrachus*)", *Aquaculture*, 252(2-4), pp. 121-127.
 72. Lall S.P. & Kaushik S. (2021), "Nutrition and metabolism of minerals in fish", *Animals*, 11(09), pp. 2711.
 73. Le M.H., Dinh K.V., Pham D.H., Phan V.U. & Tran V.H. (2021), "Extreme temperature differently alters the effects of dietary vitamin C on the growth, immunity and pathogen resistance of waigieu seaperch (*Psammoperca waigiensis*)", *Aquaculture Research*, 52(11), pp. 5383-5396.
 74. Lee G.Y. & Han S.N. (2018), "The Role of Vitamin E in Immunity", *Nutrients*, 10(11).

75. Lee J.W. & Balasubramanian B. (2023), "Impacts of temperature on the growth, feed utilization, stress, and hemato-immune responses of Cherry salmon (*Oncorhynchus masou*)", *Animals*, 13(24), pp. 3870.
76. Lewis E.D., Meydani S.N. & Wu D. (2019), "Regulatory role of vitamin E in the immune system and inflammation", *IUBMB Life*, 71(4), pp. 487-494.
77. Li J., Liang X.F., Tan Q., Yuan X., Liu L., Zhou Y. & Li B. (2014), "Effects of vitamin E on growth performance and antioxidant status in juvenile grass carp *Ctenopharyngodon idellus*", *Aquaculture*, 430, pp. 21-27.
78. Li R.X., Amenyogbe E., Lu Y., Jin J.H., Xie R.T. & Huang J.S. (2023), "Effects of low temperature stress on intestinal structure, enzyme activities and metabolomic analysis of juvenile golden pompano (*Trachinotus ovatus*)", *Frontiers in Marine Science*, 10, pp. 1114120.
79. Li S., Lian X., Chen N., Wang M. & Sang C. (2018), "Effects of dietary vitamin E level on growth performance, feed utilization, antioxidant capacity and nonspecific immunity of largemouth bass (*Micropterus salmoides*)", *Aquaculture Nutrition*, 24(6), pp. 1679-1688.
80. Lin M.F. & Shiau S.Y. (2005), "Requirements of vitamin C (l-ascorbyl-2-sulphate and l-ascorbyl-2-polyphosphate) and its effects on non-specific immune responses of grouper (*Epinephelus malabaricus*)", *Aquaculture Nutrition*, 11(3), pp. 183-189.
81. Lin Y.H. & Shiau S.Y. (2005), "Dietary vitamin E requirement of grouper (*Epinephelus malabaricus*) at two lipid levels, and their effects on immune responses", *Aquaculture*, 248(1-4), pp. 235-244.
82. Love R.M. (1957), *The biochemical composition of fish*. The physiology of fishes, Brown M.E. Vol. Metabolism. Academic Press INC, New York.
83. Lozano A.R., Borges P., Robaina L., Betancor M., Hernández Cruz C.M., García J.R., Caballero M.J., Vergara J.M. & Izquierdo M. (2017), "Effect of different dietary vitamin E levels on growth, fish composition, fillet quality and liver histology of meagre (*Argyrosomus regius*)", *Aquaculture*, 468, pp. 175-183.
84. Ma Z., Zhang N., Qin J.G., Fu M. & Jiang S. (2016), "Water temperature induces jaw deformity and bone morphogenetic proteins (BMPs) gene

- expression in golden pompano *Trachinotus ovatus* larvae", *Springerplus*, 5, pp. 1-12.
85. Magnadottir B., Lange S., Gudmundsdottir S., Bogwald J. & Dalmo R.A. (2005), "Ontogeny of humoral immune parameters in fish", *Fish Shellfish Immunology*, 19(5), pp. 429-439.
 86. Mellery J., Geay F., Tocher D.R., Kestemont P., Debier C., Rollin X. & Larondelle Y. (2016), "Temperature increase negatively affects the fatty acid bioconversion capacity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed a linseed oil-based diet", *PLoS One*, 11(10), pp. 0164478.
 87. Minton K. (2021), "Red blood cells join the ranks as immune sentinels", *Nature Reviews Immunology*, 21(12), pp. 760-761.
 88. Montero D., Tort L., Robaina L., Vergara J.M. & Izquierdo M.S. (2001), "Low vitamin E in diet reduces stress resistance of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles", *Fish Shellfish Immunology*, 11(6), pp. 473-90.
 89. Moreau R. & Dabrowski K. (2003), "Alpha-tocopherol downregulates gulonolactone oxidase activity in sturgeon", *Free Radical Biology and Medicine*, 34(10), pp. 1326-1332.
 90. Narra M.R., Rajender K., Reddy R.R., Rao J.V. & Begum G. (2015), "The role of vitamin C as antioxidant in protection of biochemical and haematological stress induced by chlorpyrifos in freshwater fish *Clarias batrachus*", *Chemosphere*, 132, pp. 172-178.
 91. National N.R.C. (2011), *Nutrient requirements of fish and shrimp*, Washington, D.C., The National Academies
 92. Nayak S., Swain P. & Mukherjee S. (2007), "Effect of dietary supplementation of probiotic and vitamin C on the immune response of Indian major carp, *Labeo rohita* (Ham.)", *Fish shellfish immunology*, 23(4), pp. 892-896.
 93. Nguyen H.P. & Van Do T. (2021), "Digested soybean protein and taurine influence bile acid level, lipase activity, lipid digestibility, and growth performance of pompano (*Trachinotus blochii*)", *Fish Physiology Biochemistry*, 47(4), pp. 1199-1209.
 94. Njinkoue J., Gouado I., Tchoumboungang F., Ngueguim J.Y., Ndinteh D., Fomogne Fodjo C. & Schweigert F. (2016), "Proximate composition, mineral

- content and fatty acid profile of two marine fishes from Cameroonian coast: *Pseudotolithus typus* (Bleeker, 1863) and *Pseudotolithus elongatus* (Bowdich, 1825)", *NFS journal*, 4, pp. 27-31.
95. Norambuena F., Rombenso A. & Turchini G.M. (2016), "Towards the optimization of performance of Atlantic salmon reared at different water temperatures via the manipulation of dietary ARA/EPA ratio", *Aquaculture*, 450, pp. 48-57.
 96. O'keefe T. (2001), "Ascorbic acid and stable ascorbate esters as sources of vitamin C in aquaculture feeds", *Singapore: American Soybean Association – United Soybean Board*.
 97. Pearce J., Harris J.&Davies S. (2003), "The effect of vitamin E on the serum complement activity of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum)", *Aquaculture nutrition*, 9(5), pp. 337-340.
 98. Peng L. & Gatlin Iii D. (2009), "Dietary vitamin E requirement of the red drum (*Sciaenops ocellatus*)", *Aquaculture Nutrition*, 15(3), pp. 313-319.
 99. Pham H.D., Siddik M.A.B., Phan U.V., Le H.M. & Rahman M.A. (2021), "Enzymatic tuna hydrolysate supplementation modulates growth, nutrient utilisation and physiological response of pompano (*Trachinotus blochii*) fed high poultry by product meal diets", *Aquaculture Reports*, 21.
 100. Pham N.N., Bui T.B.H., Nguyen T.P., Kestemont P. & Do T.T.H. (2022), "Effects of guava (*Psidium guajava* L.) and bhumi amla (*Phyllanthus amarus* Chum et Thonn) extracts on haematological parameters and oxidative stress of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) fingerlings exposed to high-temperature stress", *CTU Journal of Innovation Sustainable Development*, 14(3), pp. 78-91.
 101. Phromkunthong W., Boonyaratpalin M. & Storch V. (1997), "Different concentrations of ascorbyl-2-monophosphate-magnesium as dietary sources of vitamin C for seabass (*Lates calcarifer*)", *Aquaculture*, 151(1-4), pp. 225-243.
 102. Prabu D.L., Kalidas C., Ranjith L., Ebeneezar S., Kavitha M., Zacharia P., Vijayagopal P., Babu A.M. & Muniswaran B.R. (2023), "Effect of water temperature on growth, blood biochemistry, digestive, metabolic enzymology,

- and antioxidant defences of *Trachinotus blochii* juveniles", *Aquaculture International*, 31(3), pp. 1499-1522.
103. Rahman M.M., Hajar S. & Yunus K.B. (2020), "Comparative analysis of chemical composition of some commercially important fishes with an emphasis on various Malaysian diets", *Open Chemistry*, 18(1), pp. 1323-1333.
 104. Ramesh Kumar P., Samal A.K., Nazar A., Tamilmani G., Sakthivel M., Jayakumar R., Anikuttan K. & Rao G. (2017), "*Diseases and disorders of silver pompano (Trachinotus blochii)*".
 105. Ruiz M.A., Hernández Cruz C.M., Caballero M.J., Fernandez Palacios H., Saleh R., Izquierdo M.S. & Betancor M.B. (2019), "Appearance of systemic granulomatosis is modulated by the dietary supplementation of vitamin E and C in meagre (*Argyrosomus regius*) larvae fed inert microdiets", *Aquaculture*, 506, pp. 139-147.
 106. Saheli M., Islami H.R., Mohseni M. & Soltani M. (2021), "Effects of dietary vitamin E on growth performance, body composition, antioxidant capacity, and some immune responses in Caspian trout (*Salmo caspius*)", *Aquaculture Reports*, 21, pp. 100857.
 107. Sau S., Paul B., Mohanta K. & Mohanty S. (2004), "Dietary vitamin E requirement, fish performance and carcass composition of rohu (*Labeo rohita*) fry", *Aquaculture*, 240(1-4), pp. 359-368.
 108. Saurabh S. & Sahoo P.K. (2008), "Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system", *Aquaculture Research*, 39(3), pp. 223-239.
 109. Scharsack J.P. & Franke F. (2022), "Temperature effects on teleost immunity in the light of climate change", *Journal of Fish Biology*, 101(4), pp. 780-796.
 110. Secombes C. & Ellis A. (2012), The immunology of teleosts, in: *Fish Pathology: Fourth Edition*-Wiley-Blackwell. pp. 144-166.
 111. Shameena S.S., Kumar S., Kumar K. & Raman R.P. (2021), "Role of temperature and co-infection in mediating the immune response of goldfish", *Microbial Pathogenesis*, 156, pp. 104896.
 112. Sharifzadeh E., Yeganeh S., Firouzbakhsh F. & Oraji H. (2017), "Effects of L-carnitine and vitamin C on the growth indices, body composition and serum

- biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles", *Journal of Veterinary Research*, 72(2), pp. 173-182.
113. Stuart L.M. & Ezekowitz R.A. (2008), "Phagocytosis and comparative innate immunity: learning on the fly", *Nature Reviews Immunology*, 8(2), pp. 131-41.
 114. Taşbozan O. & Gökçe M.A. (2017), *Fatty acids in fish*. Vol. 1. Croatia, National and University Library in Zagreb.
 115. Thompson I., White A., Fletcher T., Houlihan D. & Secombes C. (1993), "The effect of stress on the immune response of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed diets containing different amounts of vitamin C", *Aquaculture*, 114(1-2), pp. 1-18.
 116. Tocher D.R., Mourente G., Van der Eecken A., Evjemo J.O., Diaz E., Bell J.G., Geurden I., Lavens P. & Olsen Y. (2002), "Effects of dietary vitamin E on antioxidant defence mechanisms of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.), halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) and sea bream (*Sparus aurata* L.)", *Aquaculture Nutrition*, 8(3), pp. 195-207.
 117. Tort L., Balasch J. & Mackenzie S. (2003), "Fish immune system. A crossroads between innate and adaptive responses", *Inmunología*, 22(3), pp. 277-286.
 118. Tort L., Rotllant J., Liarte C., Acerete L., Hernández A., Ceulemans S., Coutteau P. & Padros F. (2004), "Effects of temperature decrease on feeding rates, immune indicators and histopathological changes of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) fed with an experimental diet", *Aquaculture*, 229(1-4), pp. 55-65.
 119. Trichet V.V. (2010), "Nutrition and immunity: an update", *Aquaculture Research*, 41(3), pp. 356-372.
 120. Trichet V.V., Santigosa E., Cochin E. & Gabaudan J. (2015), "The effect of vitamin C on fish health", *Dietary Nutrients, Additives, Fish Health*, pp. 151-171.
 121. Verlhac V. & Gabaudan J. (1994), "Influence of vitamin C on the immune system of salmonids", *Aquaculture Research*, 25(1), pp. 21-36.

122. Waagbø R. (1994), "The impact of nutritional factors on the immune system in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): a review", *Aquaculture Research*, 25(2), pp. 175-197.
123. Wang J., Xu H., Zuo R., Mai K., Xu W. & Ai Q. (2016), "Effects of oxidised dietary fish oil and high-dose vitamin E supplementation on growth performance, feed utilisation and antioxidant defence enzyme activities of juvenile large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)", *British Journal of Nutrition*, 115(9), pp. 1531-1538.
124. Wang L., Ma B., Chen D., Lou B., Zhan W., Chen R., Tan P., Xu D., Liu F. & Xie Q. (2019), "Effect of dietary level of vitamin E on growth performance, antioxidant ability, and resistance to *Vibrio alginolyticus* challenge in yellow drum *Nibea albiflora*", *Aquaculture*, 507, pp. 119-125.
125. Wang Z., Mai K., Liufu Z., Ma H., Xu W., Ai Q., Zhang W., Tan B. & Wang X. (2006), "Effect of high dietary intakes of vitamin E and n-3 HUFA on immune responses and resistance to *Edwardsiella tarda* challenge in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*, Temminck and Schlegel)", *Aquaculture Research*, 37(7), pp. 681-692.
126. Wu X. & Gatlin III D.M. (2014), "Effects of altering dietary protein content in morning and evening feedings on growth and ammonia excretion of red drum (*Sciaenops ocellatus*)", *Aquaculture*, 434, pp. 33-37.
127. Xiao L., Mai K., Ai Q., Xu W., Wang X., Zhang W. & Liufu Z. (2010), "Dietary ascorbic acid requirement of cobia, *Rachycentron canadum* Linnaeus", *Aquaculture Nutrition*, 16(6), pp. 582-589.
128. Yang Q. (2016), "Effect of temperature on growth, survival and occurrence of skeletal deformity in the golden pompano *Trachinotus ovatus* larvae", *Indian Journal of Fisheries*, 63(1), pp. 74-82.
129. Yi X., Shen H., Li J., Wei Z., Shentu J., Zhang W. & Mai K. (2018), "Effects of dietary vitamin E and astaxanthin on growth, skin colour and antioxidative capacity of large yellow croaker *Larimichthys crocea*", *Aquaculture Nutrition*, 24(1), pp. 472-480.
130. Zhang G., Wang S., Chen C., Ma Y., Xie D., Wang Y., Sun L., You C. & Li Y. (2019), "Effects of dietary vitamin C on growth, flesh quality and antioxidant

- capacity of juvenile golden pompano *Trachinotus ovatus*", *Aquaculture Research*, 50(10), pp. 2856-2866.
131. Zhang G.R., Xu C., You C.H., Wang S.Q., Xie D.Z., Hasan A.M., Ma Y.C. & Li Y.Y. (2021), "Effects of dietary vitamin E on growth performance, antioxidant capacity and lipid metabolism of juvenile golden pompano *Trachinotus ovatus*", *Aquaculture Nutrition*, 27(6), pp. 2205-2217.
 132. Zhang M., Chen C., You C., Chen B., Wang S. & Li Y. (2019), "Effects of different dietary ratios of docosahexaenoic to eicosapentaenoic acid (DHA/EPA) on the growth, non-specific immune indices, tissue fatty acid compositions and expression of genes related to LC-PUFA biosynthesis in juvenile golden pompano *Trachinotus ovatus*", *Aquaculture*, 505, pp. 488-495.
 133. Zhong Y., Lall S.P. & Shahidi F. (2008), "Effects of dietary oxidized oil and vitamin E on the growth, blood parameters and body composition of juvenile Atlantic cod *Gadus morhua* (Linnaeus 1758)", *Aquaculture Research*, 39(15), pp. 1647-1657.
 134. Zhou Q., Wang L., Wang H., Xie F. & Wang T. (2012), "Effect of dietary vitamin C on the growth performance and innate immunity of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*)", *Fish Shellfish Immunology*, 32(6), pp. 969-975.
 135. Zhou Q.C., Wang L.G., Wang H.L., Wang T., Elmada C.Z. & Xie F.J. (2013), "Dietary vitamin E could improve growth performance, lipid peroxidation and non-specific immune responses for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*)", *Aquaculture Nutrition*, 19(3), pp. 421-429.
 136. Zingg J.M. (2015), "Vitamin E: a role in signal transduction", *Annual review of nutrition*, 35, pp. 135-173.

PHỤ LỤC

Phụ lục 1: Thí nghiệm vitamin E

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Lcuoi	Between Groups	1.732	5	.346	117.118	.000
	Within Groups	.035	12	.003		
	Total	1.767	17			
Wcuoi	Between Groups	185.760	5	37.152	20.894	.000
	Within Groups	21.337	12	1.778		
	Total	207.097	17			
SGRL	Between Groups	.017	5	.003	118.207	.000
	Within Groups	.000	12	.000		
	Total	.017	17			
SGRW	Between Groups	.155	5	.031	21.458	.000
	Within Groups	.017	12	.001		
	Total	.172	17			
VSI	Between Groups	4.079	5	.816	1.116	.402
	Within Groups	8.772	12	.731		
	Total	12.852	17			
HSI	Between Groups	.279	5	.056	1.527	.053
	Within Groups	.438	12	.037		
	Total	.717	17			
FCR	Between Groups	.191	5	.038	3.217	.045
	Within Groups	.143	12	.012		
	Total	.334	17			
FI%	Between Groups	.626	5	.125	2.098	.056
	Within Groups	.717	12	.060		
	Total	1.343	17			
PE	Between Groups	.300	5	.060	3.416	.038
	Within Groups	.210	12	.018		
	Total	.510	17			
TRO	Between Groups	8.415	5	1.683	34.745	.000
	Within Groups	.581	12	.048		
	Total	8.996	17			

AM	Between Groups	32.565	5	6.513	14.362	.000
	Within Groups	5.442	12	.453		
	Total	38.007	17			
LIPID	Between Groups	33.059	5	6.612	20.641	.000
	Within Groups	3.844	12	.320		
	Total	36.903	17			
PROTEIN	Between Groups	3.790	5	.758	42.520	.000
	Within Groups	.214	12	.018		
	Total	4.004	17			
LYSOZYME	Between Groups	32.200	5	6.440	22.296	.000
	Within Groups	3.466	12	.289		
	Total	35.666	17			
WBC	Between Groups	6.629	5	1.326	12.430	.000
	Within Groups	1.280	12	.107		
	Total	7.909	17			
RBC	Between Groups	1.191	5	.238	5.428	.008
	Within Groups	.527	12	.044		
	Total	1.718	17			
Hb	Between Groups	14.712	5	2.942	85.423	.000
	Within Groups	.413	12	.034		
	Total	15.125	17			
Hct	Between Groups	84.604	5	16.921	93.428	.000
	Within Groups	2.173	12	.181		
	Total	86.778	17			
PLT	Between Groups	1.611	5	.322	.109	.988
	Within Groups	35.333	12	2.944		
	Total	36.944	17			
Triglyceride	Between Groups	4.107	5	.821	7.333	.002
	Within Groups	1.344	12	.112		
	Total	5.451	17			
Pr-blood	Between Groups	158.316	5	31.663	82.480	.000
	Within Groups	4.607	12	.384		
	Total	162.923	17			

Lcuoi

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
E0	3	13.0500				
E1600	3		13.1967			
E800	3			13.3567		
E400	3				13.5217	
E100	3					13.8617
E200	3					13.8667
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	.912

Wcuoi

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
E0	3	41.5767			
E1600	3	42.7498	42.7498		
E800	3		44.4800	44.4800	
E400	3			45.3517	
E100	3				48.6333
E200	3				50.8050
Sig.		.302	.138	.439	.069

SGRL

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
E0	3	.9773				
E1600	3		.9922			
E800	3			1.0083		
E400	3				1.0247	
E100	3					1.0578
E200	3					1.0583
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	.916

SGRW

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
E0	3	2.7666			
E1600	3	2.8034	2.8034		
E800	3		2.8566	2.8566	
E400	3			2.8820	

E100	3				2.9755
E200	3				3.0333
Sig.		.258	.112	.429	.087

VSI

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05
		1
E0	3	8.0733
E400	3	8.1767
E800	3	8.5467
E100	3	8.8167
E1600	3	8.8967
E200	3	9.4900
Sig.		.092

FCR

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
E200	3	1.1843		
E100	3	1.2404	1.2404	
E400	3	1.3461	1.3461	1.3461
E800	3	1.3707	1.3707	1.3707
E1600	3		1.4336	1.4336
E0	3			1.4814
Sig.		.076	.067	.184

HSI

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
E400	3	1.1517	
E800	3	1.3304	1.3304
E1600	3	1.3473	1.3473
E100	3	1.3757	1.3757
E200	3	1.4849	1.4849
E0	3		1.5434
Sig.		.075	.236

FI%

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
E200	3	2.7513	
E100	3	2.8571	2.8571
E400	3	3.0494	3.0494
E800	3	3.0939	3.0939
E1600	3	3.2045	3.2045
E0	3		3.2887
Sig.		.060	.071

PE

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
E0	3	1.4396		
E1600	3	1.4866	1.4866	
E800	3	1.5559	1.5559	
E400	3	1.5951	1.5951	1.5951
E100	3		1.7198	1.7198
E200	3			1.8120
Sig.		.207	.068	.080

TRO

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
E0	3	3.7433			
E1600	3		4.1700		
E800	3		4.4267		
E400	3			5.0733	
E100	3			5.3967	5.3967
E200	3				5.6600
Sig.		1.000	.179	.097	.169

AM

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
E100	3	66.5433		
E200	3	66.7300		
E400	3		68.1000	
E800	3		68.3133	
E1600	3			69.6167
E0	3			70.1833
Sig.		.740	.705	.323

LIPID

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
E0	3	7.2000		
E1600	3	7.4733		
E800	3		9.2667	
E400	3		9.3433	
E100	3			10.4200
E200	3			10.8133
Sig.		.565	.871	.411

PROTEIN

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
E1600	3	18.5067			
E0	3	18.5167			
E800	3		19.2600		
E400	3		19.3133	19.3133	

E100	3			19.5433	19.5433
E200	3				19.6567
Sig.		.928	.634	.057	.319

LYSOZYME

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
E0	3	6.1133				
E1600	3	6.7833	6.7833			
E800	3		7.4067	7.4067		
E100	3			7.9133	7.9133	
E200	3				8.6667	
E400	3					10.2400
Sig.		.153	.181	.271	.112	1.000

WBC

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
E0	3	5.3333		
E1600	3		6.0667	
E800	3		6.2667	
E100	3		6.3000	
E200	3		6.4000	
E400	3			7.4000
Sig.		1.000	.269	1.000

PLT

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05
		1
E200	3	22.6667
E800	3	22.6667
E1600	3	22.6667
E100	3	23.0000
E0	3	23.3333
E400	3	23.3333
Sig.		.672

RBC

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
E0	3	2.2000		
E1600	3	2.2333		
E800	3	2.3667	2.3667	
E400	3		2.6333	2.6333
E200	3			2.8000
E100	3			2.8333
Sig.		.372	.145	.288

Triglyceride

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
E1600	3	4.1333	
E0	3	4.1567	
E100	3	4.2333	
E400	3	4.3967	
E800	3	4.4367	
E200	3		5.5167
Sig.		.330	1.000

Hb

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
E0	3	6.6667			
E1600	3	6.8333			
E800	3		7.2667		
E400	3		7.3667		
E100	3			8.0000	
E200	3				9.3667
Sig.		.293	.522	1.000	1.000

Hct

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
E0	3	19.6333				
E1600	3		21.5333			
E800	3		22.2667	22.2667		
E400	3			22.3667		
E100	3				23.7667	
E200	3					26.7000
Sig.		1.000	.056	.778	1.000	1.000

Pr-blood

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
E0	3	35.1667			
E100	3		36.8000		
E800	3			38.2000	
E1600	3			38.4000	
E400	3			39.3000	
E200	3				44.7000
Sig.		1.000	1.000	.060	1.000

*Phụ lục 2: Thí nghiệm vitamin E*nhệt độ*

Tests of Between-Subjects Effects

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared	
Corrected Model	Lcui	1.662 ^a	5	.332	6.009	.001	.556	
	Wcui	284.921 ^b	5	56.984	21.257	.000	.816	
	SGRL	.019 ^c	5	.004	6.072	.001	.559	
	SGRW	.178 ^d	5	.036	21.104	.000	.815	
	VSI	3.708 ^e	5	.742	14.605	.000	.753	
	HSI	.076 ^f	5	.015	2.748	.042	.364	
	FCR	.217 ^g	5	.043	20.878	.000	.813	
	FI%	1.038 ^h	5	.208	20.949	.000	.814	
	PE	.168 ⁱ	5	.034	21.257	.000	.816	
	Tro	12.782 ^j	5	2.556	5.792	.001	.547	
	Âm	26.181 ^k	5	5.236	4.218	.007	.468	
	L	78.249 ^l	5	15.650	24.154	.000	.834	
	P	6.103 ^m	5	1.221	4.038	.008	.457	
	LYSOZYME	22.004 ⁿ	5	4.401	4.525	.005	.485	
	WBC	9.786 ^o	5	1.957	36.588	.000	.884	
	RBC	5.450 ^p	5	1.090	204.071	.000	.977	
	Hb	17.387 ^q	5	3.477	11.476	.000	.705	
	Hct	90.370 ^r	5	18.074	17.880	.000	.788	
	PLT	10.700 ^v	5	2.140	1.975	.119	.292	
	Triglyceride	4.970 ^w	5	.994	2.853	.037	.373	
	Protein_blood	89.778 ^x	5	17.956	14.924	.000	.757	
	HTTB	203.500 ^y	5	40.700	1.912	.130	.285	
	CSTB	.176 ^z	5	.035	1.719	.169	.264	
	BNHH	.217 ^{aa}	5	.043	10.509	.000	.686	
	Intercept	Lcui	6352.882	1	6352.882	114821.0	.000	1.000
		Wcui	115835.2	1	115835.2	43211.2	.000	.999
SGRL		50.307	1	50.307	81722.8	.000	1.000	
SGRW		435.075	1	435.075	258502.4	.000	1.000	
VSI		1369.622	1	1369.622	26973.31	.000	.999	
HSI		34.144	1	34.144	6141.782	.000	.996	
FCR		71.419	1	71.419	34395.71	.000	.999	
FI%		481.784	1	481.784	48634.22	.000	1.000	
PE		57.466	1	57.466	36256.16	.000	.999	
Tro		707.616	1	707.616	1603.130	.000	.985	
Âm		139094.3	1	139094.3	112052.6	.000	1.000	
L		2180.610	1	2180.610	3365.597	.000	.993	

	P	10953.85	1	10953.85	36238.63	.000	.999
	LYSOZYM	1742.847	1	1742.847	1792.192	.000	.987
	WBC	1330.002	1	1330.002	24862.17	.000	.999
	RBC	149.544	1	149.544	27995.75	.000	.999
	Hb	1690.501	1	1690.501	5579.212	.000	.996
	Hct	15048.32	1	15048.32	14887.04	.000	.998
	PLT	15732.30	1	15732.30	14522.12	.000	.998
	Triglyceride	625.907	1	625.907	1796.872	.000	.987
	Protein_blood	43373.21	1	43373.21	36049.21	.000	.999
	HTTB	162950.7	1	162950.7	7656.258	.000	.997
	CSTB	107.844	1	107.844	5269.274	.000	.995
	BNHH	52.642	1	52.642	12761.75	.000	.998
VITE	Lcuoi	.021	1	.021	.376	.545	.015
	Wcuoi	14.977	1	14.977	5.587	.027	.189
	SGRL	.000	1	.000	.337	.567	.014
	SGRW	.009	1	.009	5.262	.031	.180
	VSI	.125	1	.125	2.463	.130	.093
	HSI	.003	1	.003	.614	.441	.025
	FCR	.010	1	.010	4.883	.037	.169
	FI%	.049	1	.049	4.991	.035	.172
	PE	.009	1	.009	5.587	.027	.189
	Tro	12.186	1	12.186	27.607	.000	.535
	Âm	14.187	1	14.187	11.429	.002	.323
	L	50.000	1	50.000	77.172	.000	.763
	P	3.823	1	3.823	12.649	.002	.345
	LYSOZYME	10.514	1	10.514	10.812	.003	.311
	WBC	4.986	1	4.986	93.201	.000	.795
	RBC	.800	1	.800	149.828	.000	.862
	Hb	7.301	1	7.301	24.097	.000	.501
	Hct	38.307	1	38.307	37.896	.000	.612
	PLT	9.633	1	9.633	8.892	.006	.270
	Triglyceride	1.019	1	1.019	2.926	.100	.109
	Pr_blood	13.467	1	13.467	11.193	.003	.318
	HTTB	100.833	1	100.833	4.738	.040	.165
	CSTB	.024	1	.024	1.149	.294	.046
	BNHH	.046	1	.046	11.252	.003	.319
TEMP	Lcuoi	1.446	2	.723	13.068	.000	.521
	Wcuoi	269.390	2	134.695	50.247	.000	.807
	SGRL	.016	2	.008	13.232	.000	.524
	SGRW	.168	2	.084	50.043	.000	.807
	VSI	3.532	2	1.766	34.776	.000	.743

	HSI	.073	2	.036	6.536	.005	.353
	FCR	.206	2	.103	49.680	.000	.805
	FI%	.987	2	.493	49.800	.000	.806
	PE	.159	2	.080	50.247	.000	.807
	Tro	.234	2	.117	.265	.770	.022
	Âm	7.817	2	3.909	3.149	.061	.208
	L	21.359	2	10.680	16.483	.000	.579
	P	1.808	2	.904	2.991	.069	.200
	LYSOZYME	7.494	2	3.747	3.853	.035	.243
	WBC	4.183	2	2.091	39.095	.000	.765
	RBC	3.428	2	1.714	320.878	.000	.964
	Hb	8.461	2	4.230	13.961	.000	.538
	Hct	42.665	2	21.332	21.104	.000	.638
	PLT	.200	2	.100	.092	.912	.008
	Triglyceride	3.438	2	1.719	4.934	.016	.291
	Pr_blood	67.549	2	33.774	28.071	.000	.701
	HTTB	102.200	2	51.100	2.401	.112	.167
	CSTB	.134	2	.067	3.278	.055	.215
	BNHH	.157	2	.079	19.060	.000	.614
VITE *	Lcuoi	.196	2	.098	1.768	.192	.128
TEMP	Wcuoi	.554	2	.277	.103	.902	.009
	SGRL	.002	2	.001	1.780	.190	.129
	SGRW	.000	2	.000	.087	.917	.007
	VSI	.051	2	.026	.505	.610	.040
	HSI	.000	2	.000	.026	.974	.002
	FCR	.000	2	.000	.072	.930	.006
	FI%	.002	2	.001	.076	.927	.006
	PE	.000	2	.000	.103	.902	.009
	Tro	.363	2	.181	.411	.668	.033
	Âm	4.178	2	2.089	1.683	.207	.123
	L	6.889	2	3.444	5.316	.012	.307
	P	.471	2	.236	.780	.470	.061
	LYSOZYME	3.997	2	1.998	2.055	.150	.146
	WBC	.618	2	.309	5.775	.009	.325
	RBC	1.222	2	.611	114.384	.000	.905
	Hb	1.625	2	.812	2.681	.089	.183
	Hct	9.398	2	4.699	4.649	.020	.279
	PLT	.867	2	.433	.400	.675	.032
	Triglyceride	.513	2	.256	.736	.489	.058
	Protein_blood	8.762	2	4.381	3.641	.042	.233
	HTTB	.467	2	.233	.011	.989	.001
	CSTB	.018	2	.009	.446	.646	.036

Error	BNHH	.013	2	.007	1.586	.225	.117
	Lcui	1.328	24	.055			
	Wcui	64.336	24	2.681			
	SGRL	.015	24	.001			
	SGRW	.040	24	.002			
	VSI	1.219	24	.051			
	HSI	.133	24	.006			
	FCR	.050	24	.002			
	FI%	.238	24	.010			
	PE	.038	24	.002			
	Tro	10.594	24	.441			
	Âm	29.792	24	1.241			
	L	15.550	24	.648			
	P	7.254	24	.302			
	LYSOZYME	23.339	24	.972			
	WBC	1.284	24	.053			
	RBC	.128	24	.005			
	Hb	7.272	24	.303			
	Hct	24.260	24	1.011			
	PLT	26.000	24	1.083			
	Triglyceride	8.360	24	.348			
	Pr_blood	28.876	24	1.203			
	HTTB	510.800	24	21.283			
	CSTB	.491	24	.020			
	BNHH	.099	24	.004			
	Total	Lcui	6355.873	30			
Wcui		116184.4	30				
SGRL		50.341	30				
SGRW		435.293	30				
VSI		1374.549	30				
HSI		34.354	30				
FCR		71.686	30				
FI		483.060	30				
PE		57.673	30				
Tro		730.992	30				
Âm		139150.2	30				
L		2274.408	30				
P		10967.21	30				
LYSOZYM		1788.190	30				
WBC		1341.072	30				
RBC		155.123	30				
Hb	1715.160	30					
Hct	15162.95	30					

Corrected Total	PLT	15769.00	30				
	Triglyceride	639.237	30				
	Pr_blood	43491.87	30				
	HTTB	163665.0	30				
	CSTB	108.512	30				
	BNHH	52.958	30				
	Lcui	2.990	29				
	Wcui	349.257	29				
	SGRL	.033	29				
	SGRW	.218	29				
	VSI	4.927	29				
	HSI	.210	29				
	FCR	.267	29				
	FI%	1.275	29				
	PE	.207	29				
	Tro	23.376	29				
	Åm	55.973	29				
	L	93.799	29				
	P	13.358	29				
	LYSOZYME	45.344	29				
	WBC	11.070	29				
	RBC	5.579	29				
	Hb	24.659	29				
	Hct	114.630	29				
	PLT	36.700	29				
	Triglyceride	13.330	29				
	Protein_blood	118.654	29				
	HTTB	714.300	29				
	CSTB	0.667	29				
	BNHH	.316	29				

Lcui

SGRW

Duncan^{a,b}

TEMP	N	Subset	
		1	2
28	10	14.2456	
31	10		14.6620
34	10		14.7486
Sig.		1.000	.419

Duncan^{a,b}

TEMP	N	Subset		
		1	2	3
28	10	3.7113		
31	10		3.8195	
34	10			3.8938
Sig.		1.000	1.000	1.000

WcuoiDuncan^{a,b}

TEMP	N	Subset		
		1	2	3
28	10	58.2909		
31	10		62.5235	
34	10			65.6007
Sig.		1.000	1.000	1.000

SGRLDuncan^{a,b}

TEMP	N	Subset	
		1	2
28	10	1.2624	
31	10		1.3067
34	10		1.3157
Sig.		1.000	.427

FCRDuncan^{a,b}

TEMP	N	Subset		
		1	2	3
34	10	1.4495		
31	10		1.5282	
28	10			1.6510
Sig.		1.000	1.000	1.000

VSIDuncan^{a,b}

TEMP	N	Subset	
		1	2
28	10	6.2726	
31	10		6.9718
34	10		7.0259
Sig.		1.000	.596

FIDuncan^{a,b}

TEMP	N	Subset		
		1	2	3
34	10	3.8023		
31	10		3.9767	
28	10			4.2433
Sig.		1.000	1.000	1.000

HSIDuncan^{a,b}

TEMP	N	Subset	
		1	2
28	10	1.0013	
31	10		1.0794
34	10		1.1198
Sig.		1.000	.237

PEDuncan^{a,b}

TEMP	N	Subset		
		1	2	3
28	10	1.2905		
31	10		1.3934	
34	10			1.4682
Sig.		1.000	1.000	1.000

TroDuncan^{a,b}

TEMP	N	Subset
		1
31	10	4.7850
34	10	4.8040
28	10	4.9810
Sig.		.540

LDuncan^{a,b}

TEMP	N	Subset		
		1	2	3
28	10	7.4390		

ÅmDuncan^{a,b}

TEMP	N	Subset	
		1	2
28	10	67.4580	

31	10		8.6420	
34	10			9.4960
Sig.		1.000	1.000	1.000

31	10	68.1090	68.1090
34	10		68.7080
Sig.		.204	.241

PROTEIN

LYSOZYME

Duncan^{a,b}

TEMP	N	Subset	
		1	2
28	10	18.8140	
31	10	19.0960	19.0960
34	10		19.4150
Sig.		.263	.207

Duncan^{a,b}

TEMP	N	Subset	
		1	2
28	10	7.1100	
31	10	7.4560	7.4560
34	10		8.3000
Sig.		.440	.068

WBC

Hb

Duncan^{a,b}

TEMP	N	Subset	
		1	2
28	10	6.1310	
31	10		6.8980
34	10		6.9460
Sig.		1.000	.647

Duncan^{a,b}

TEMP	N	Subset	
		1	2
28	10	6.910	
31	10	7.410	
34	10		8.200
Sig.		.053	1.000

RBC

Duncan^{a,b}

TEMP	N	Subset		
		1	2	3
28	10	1.8310		
31	10		2.2090	
34	10			2.6580
Sig.		1.000	1.000	1.000

PLT

Hct

Duncan^{a,b}

TEMP	N	Subset
		1
34	10	22.80
31	10	22.90
28	10	23.00
Sig.		.690

Duncan^{a,b}

TEMP	N	Subset		
		1	2	3
28	10	20.960		
31	10		22.350	
34	10			23.880
Sig.		1.000	1.000	1.000

Triglyceride

CSTB

Duncan^{a,b}

TEMP	N	Subset	
		1	2
28	10	4.0900	
34	10		4.7790
31	10		4.8340
Sig.		1.000	.837

Duncan^{a,b}

TEMP	N	Subset	
		1	2
28	10	1.8400	
31	10	1.8580	1.8580
34	10		1.9900
Sig.		.781	.050

Protein_bloodDuncan^{a,b}

TEMP	N	Subset		
		1	2	3
28	10	36.130		
31	10		38.140	
34	10			39.800
Sig.		1.000	1.000	1.000

HTTBDuncan^{a,b}

TEMP	N	Subset
		1
28	10	71.800
31	10	73.100
34	10	76.200
Sig.		.054

BNHHDuncan^{a,b}

TEMP	N	Subset		
		1	2	3
28	10	1.2330		
31	10		1.3310	
34	10			1.4100
Sig.		1.000	1.000	1.000

Phụ lục 3: Thí nghiệm vitamin C**ANOVA**

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Lcuoi	Between Groups	4.347	5	.869	3.267	.043
	Within Groups	3.193	12	.266		
	Total	7.540	17			
Wcuoi	Between Groups	118.126	5	23.625	24.186	.000
	Within Groups	11.722	12	.977		
	Total	129.848	17			
VSI	Between Groups	.952	5	.190	.227	.944
	Within Groups	10.068	12	.839		
	Total	11.021	17			

HSI	Between Groups	.008	5	.002	.246	.934
	Within Groups	.082	12	.007		
	Total	.090	17			
SGRL	Between Groups	.047	5	.009	3.368	.039
	Within Groups	.033	12	.003		
	Total	.080	17			
SGRW	Between Groups	.148	5	.030	19.958	.000
	Within Groups	.018	12	.001		
	Total	.166	17			
FCR	Between Groups	.307	5	.061	20.504	.000
	Within Groups	.036	12	.003		
	Total	.343	17			
FI	Between Groups	.878	5	.176	20.333	.000
	Within Groups	.104	12	.009		
	Total	.982	17			
PE	Between Groups	.136	5	.027	19.327	.000
	Within Groups	.017	12	.001		
	Total	.153	17			
TRO	Between Groups	1.211	5	.242	.505	.767
	Within Groups	5.756	12	.480		
	Total	6.967	17			
DOAM	Between Groups	1.767	5	.353	.608	.696
	Within Groups	6.974	12	.581		
	Total	8.741	17			
LIPID	Between Groups	24.996	5	4.999	32.113	.000
	Within Groups	1.868	12	.156		
	Total	26.864	17			
PROTEIN	Between Groups	6.510	5	1.302	38.036	.000
	Within Groups	.411	12	.034		
	Total	6.921	17			
LYSOZYME	Between Groups	29.559	5	5.912	25.455	.000
	Within Groups	2.787	12	.232		
	Total	32.346	17			

WBC	Between Groups	1.919	5	.384	129.401	.000
	Within Groups	.036	12	.003		
	Total	1.955	17			
RBC	Between Groups	.240	5	.048	9.320	.001
	Within Groups	.062	12	.005		
	Total	.302	17			
Hb	Between Groups	.496	5	.099	4.960	.011
	Within Groups	.240	12	.020		
	Total	.736	17			
Hct	Between Groups	31.049	5	6.210	9.883	.001
	Within Groups	7.540	12	.628		
	Total	38.589	17			
PLT	Between Groups	6.278	5	1.256	.611	.694
	Within Groups	24.667	12	2.056		
	Total	30.944	17			
Tryglectrides	Between Groups	1.307	5	.261	.711	.626
	Within Groups	4.408	12	.367		
	Total	5.715	17			
Protein_blood	Between Groups	43.998	5	8.800	17.737	.000
	Within Groups	5.953	12	.496		
	Total	49.951	17			

Lcuoi

FCR

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
C0	3	13.1000	
C50	3	13.8000	13.8000
C800	3		14.2333
C200	3		14.3000
C400	3		14.4000
C100	3		14.5667
Sig.		.122	.122

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
C200	3	1.6108		
C100	3	1.6393		
C50	3	1.6843		
C400	3	1.6931		
C800	3		1.8515	
C0	3			1.9808
Sig.		.113	1.000	1.000

Wcuoi

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
C0	3	36.8000			
C800	3		39.3333		
C400	3			42.1500	
C50	3			42.3333	
C100	3			43.3767	43.3767
C200	3				44.3333
Sig.		1.000	1.000	.173	.259

VSI

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05
		1
C0	3	6.6122
C50	3	6.9313
C100	3	7.0880
C200	3	7.1158
C800	3	7.1667
C400	3	7.3540
Sig.		.385

HSI

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05
		1
C50	3	1.5759
C200	3	1.5819
C0	3	1.5959
C400	3	1.6032
C800	3	1.6156
C100	3	1.6405
Sig.		.400

FI

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
C200	3	3.6264		
C100	3	3.6770		
C50	3	3.7557		
C400	3	3.7713		
C800	3		4.0396	
C0	3			4.2524
Sig.		.102	1.000	1.000

SGRL

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
C0	3	1.0519	
C50	3	1.1262	1.1262
C800	3		1.1708
C200	3		1.1766
C400	3		1.1873
C100	3		1.2039
Sig.		.110	.125

SGRW

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
C0	3	2.7898		
C800	3		2.8737	
C400	3			2.9839
C50	3			2.9907
C100	3			3.0246
C200	3			3.0469
Sig.		1.000	1.000	.087

Tro

PE

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05
		1
C400	3	4.5133
C50	3	4.6633
C800	3	4.8900
C200	3	4.9367
C100	3	5.0767
C0	3	5.3067
Sig.		.228

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
C0	3	1.0747		
C800	3		1.1510	
C400	3			1.2567
C50	3			1.2638
C100	3			1.2985
C200	3			1.3218
Sig.		1.000	1.000	.072

LIPID

DOAM

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
C0	3	7.4133			
C50	3		8.2800		
C800	3		8.8633		
C400	3			9.8633	
C200	3			10.3600	10.3600
C100	3				10.7533
Sig.		1.000	.095	.149	.246

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05
		1
C100	3	68.6567
C0	3	68.8500
C50	3	68.9767
C800	3	69.2733
C200	3	69.4600
C400	3	69.4967
Sig.		.245

PROTEIN

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
C0	3	18.0967			
C50	3		18.4600		
C800	3		18.7167		
C400	3			19.1400	
C200	3				19.5700
C100	3				19.8033
Sig.		1.000	.115	1.000	.148

LYSOZYME

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
C0	3	5.3200		
C50	3		6.6300	
C800	3			8.1400
C400	3			8.4567
C100	3			8.7200
C200	3			8.8133
Sig.		1.000	1.000	.138

WBC

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
C0	3	5.9233			
C50	3		6.3167		
C100	3			6.6667	
C200	3			6.7167	
C400	3				6.8167
C800	3				6.8333
Sig.		1.000	1.000	.283	.714

RBC

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
C0	3	2.6000		
C50	3	2.7167	2.7167	
C100	3		2.8167	
C800	3		2.8500	2.8500
C200	3		2.8500	2.8500
C400	3			2.9667
Sig.		.070	.056	.082

Hb

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
C0	3	6.9667	
C50	3		7.3500
C800	3		7.4000
C100	3		7.4233
C400	3		7.4233
C200	3		7.4333
Sig.		1.000	.521

Hct

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
C0	3	19.6333			

PLT

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05
		1
C400	3	22.0000

C50	3	21.0000	21.0000		
C800	3		21.6667	21.6667	
C400	3			22.5000	22.5000
C200	3			23.0000	23.0000
C100	3				23.5667
Sig.		.056	.323	.073	.142

C200	3	22.3333
C100	3	23.0000
C0	3	23.3333
C800	3	23.3333
C50	3	23.6667
Sig.		.221

Protein_blood

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
C0	3	35.8333		
C800	3	36.0000	36.0000	
C400	3		37.2333	
C50	3			38.6667
C100	3			39.5333
C200	3			39.6667
Sig.		.777	.053	.123

Tryglecrides

Duncan^a

NT	N	Subset for alpha = 0.05
		1
C0	3	4.1733
C400	3	4.2367
C50	3	4.3333
C200	3	4.3333
C800	3	4.3333
C100	3	4.9867
Sig.		.163

Phụ lục 4: Thí nghiệm vitamin C * nhiệt độ

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared	
Corrected Model	Âm	463.183a	5	92.637	80.456	.000	.944
	Tro	17.873b	5	3.575	90.814	.000	.950
	Lcuoi	.714c	5	.143	2.688	.046	.359
	Wcuoi	76.102d	5	15.220	6.710	.000	.583
	SGRL	.013e	5	.003	2.680	.046	.358
	SGRW	.098f	5	.020	6.669	.001	.581
	VSI	4.557g	5	.911	1.208	.335	.201
	HSI	.417h	5	.083	6.297	.001	.567
	FCR	.087i	5	.017	6.598	.001	.579
	FI%	.530j	5	.106	6.625	.001	.580
	PE	.066d	5	.013	6.710	.000	.583
	L	52.004k	5	10.401	8.637	.000	.643
	P	3.918l	5	.784	126.557	.000	.963
	LYSOZYME	27.892m	5	5.578	18.874	.000	.797
	WBC	20.509n	5	4.102	21.909	.000	.820
	RBC	6.465o	5	1.293	111.382	.000	.959

	Hb	25.719p	5	5.144	48.227	.000	.909
	Hct	121.986q	5	24.397	25.581	.000	.842
	PLT	35.467u	5	7.093	21.280	.000	.816
	Triglyceride	3.805v	5	.761	1.988	.117	.293
	Protein_blood	47.624w	5	9.525	132.957	.000	.965
	HTTB	254.267x	5	50.853	2.939	.033	.380
	CSTB	.168y	5	.034	2.478	.060	.340
	BNHH	.206z	5	.041	8.217	.000	.631
Intercept	Åm	129506.5	1	129506.5	112478.7	.000	1.000
	Tro	770.235	1	770.235	19568.142	.000	.999
	Lcuoi	5813.760	1	5813.760	109472.1	.000	1.000
	Wcuoi	80953.109	1	80953.109	35690.243	.000	.999
	SGRL	65.424	1	65.424	69330.164	.000	1.000
	SGRW	542.773	1	542.773	184304.5	.000	1.000
	VSI	4917.535	1	4917.535	6519.6	.000	.996
	HSI	143.785	1	143.785	10850.7	.000	.998
	FCR	72.517	1	72.517	27343.6	.000	.999
	FI%	663.685	1	663.685	41465.6	.000	.999
	PE	56.413	1	56.413	28877.8	.000	.999
	L	2031.000	1	2031.000	1686.636	.000	.986
	P	10804.175	1	10804.175	1744954.3	.000	1.000
	LYSOZYME	1706.453	1	1706.453	5773.626	.000	.996
	WBC	1325.345	1	1325.345	7079.080	.000	.997
	RBC	164.034	1	164.034	14130.718	.000	.998
	Hb	1819.900	1	1819.900	17063.161	.000	.999
	Hct	15541.4	1	15541.438	16295.741	.000	.999
	PLT	16054.5	1	16054.533	48163.600	.000	1.000
	Triglyceride	611.557	1	611.557	1597.115	.000	.985
	Protein_blood	42092.3	1	42092.3	587566.8	.000	1.000
HTTB	148966.5	1	148966.5	8610.8	.000	.997	
CSTB	96.410	1	96.410	7113.351	.000	.997	
BNHH	51.117	1	51.117	10213.158	.000	.998	
VITC	Åm	22.516	1	22.516	19.556	.000	.449
	Tro	1.564	1	1.564	39.736	.000	.623
	Lcuoi	.456	1	.456	8.594	.007	.264
	Wcuoi	27.743	1	27.743	12.231	.002	.338
	SGRL	.008	1	.008	8.560	.007	.263
	SGRW	.036	1	.036	12.132	.002	.336
	VSI	.065	1	.065	.086	.772	.004
	HSI	.088	1	.088	6.660	.016	.217
	FCR	.032	1	.032	11.952	.002	.332

	FI%	.192	1	.192	12.019	.002	.334
	PE	.024	1	.024	12.231	.002	.338
	L	4.848	1	4.848	4.026	.056	.144
	P	.225	1	.225	36.393	.000	.603
	LYSOZYME	4.362	1	4.362	14.760	.001	.381
	WBC	1.915	1	1.915	10.230	.004	.299
	RBC	.302	1	.302	26.016	.000	.520
	Hb	.456	1	.456	4.279	.050	.151
	Hct	10.138	1	10.138	10.631	.003	.307
	PLT	6.533	1	6.533	19.600	.000	.450
	Triglyceride	.203	1	.203	.531	.473	.022
	Protein_blood	4.462	1	4.462	62.287	.000	.722
	HTTB	26.133	1	26.133	1.511	.002	.591
	CSTB	.032	1	.032	2.362	.001	.490
	BNHH	.008	1	.008	1.534	.022	.562
TEMP	Åm	437.573	2	218.787	190.020	.000	.941
	Tro	16.294	2	8.147	206.984	.000	.945
	Lcuoi	.256	2	.128	2.413	.111	.167
	Wcuoi	44.467	2	22.234	9.802	.001	.450
	SGRL	.005	2	.002	2.407	.111	.167
	SGRW	.057	2	.029	9.710	.001	.447
	VSI	.730	2	.365	.484	.622	.039
	HSI	.269	2	.135	10.169	.001	.459
	FCR	.051	2	.025	9.551	.001	.443
	FI%	.308	2	.154	9.610	.001	.445
	PE	.038	2	.019	9.802	.001	.450
	L	46.311	2	23.155	19.229	.000	.616
	P	3.684	2	1.842	297.517	.000	.961
	LYSOZYME	23.150	2	11.575	39.164	.000	.765
	WBC	18.047	2	9.024	48.199	.000	.801
	RBC	6.021	2	3.011	259.343	.000	.956
	Hb	24.508	2	12.254	114.890	.000	.905
	Hct	111.570	2	55.785	58.492	.000	.830
	PLT	28.867	2	14.433	43.300	.000	.783
	Triglyceride	3.217	2	1.609	4.201	.027	.259
	Protein_blood	42.663	2	21.331	297.765	.000	.961
	HTTB	208.067	2	104.033	6.013	.008	.334
	CSTB	.131	2	.066	4.841	.017	.287
	BNHH	.184	2	.092	18.354	.000	.605
VITC *	Åm	3.093	2	1.547	1.343	.280	.101
TEMP	Tro	.014	2	.007	.183	.834	.015

	Lcui	.001	2	.001	.009	.991	.001
	Wcui	3.892	2	1.946	.858	.437	.067
	SGRL	2.269E-05	2	1.134E-05	.012	.988	.001
	SGRW	.005	2	.003	.898	.421	.070
	VSI	3.763	2	1.881	2.494	.104	.172
	HSI	.059	2	.030	2.243	.128	.157
	FCR	.005	2	.003	.969	.394	.075
	FI%	.030	2	.015	.942	.404	.073
	PE	.003	2	.002	.858	.437	.067
	L	.845	2	.422	.351	.708	.028
	P	.008	2	.004	.679	.517	.054
	LYSOZYME	.379	2	.190	.641	.535	.051
	WBC	.547	2	.273	1.460	.252	.108
	RBC	.142	2	.071	6.105	.007	.337
	Hb	.755	2	.377	3.538	.045	.228
	Hct	.278	2	.139	.146	.865	.012
	PLT	.067	2	.033	.100	.905	.008
	Triglyceride	.385	2	.192	.502	.611	.040
	Protein_blood	.499	2	.250	3.484	.047	.225
	HTTB	20.067	2	10.033	.580	.568	.046
	CSTB	.005	2	.002	.172	.843	.014
	BNHH	.014	2	.007	1.421	.261	.106
Error	Am	27.633	24	1.151			
	Tro	.945	24	.039			
	Lcui	1.275	24	.053			
	Wcui	54.437	24	2.268			
	SGRL	.023	24	.001			
	SGRW	.071	24	.003			
	VSI	18.102	24	.754			
	HSI	.318	24	.013			
	FCR	.064	24	.003			
	FI%	.384	24	.016			
	PE	.047	24	.002			
	L	28.900	24	1.204			
	P	.149	24	.006			
	LYSOZYME	7.093	24	.296			
	WBC	4.493	24	.187			
	RBC	.279	24	.012			
	Hb	2.560	24	.107			
	Hct	22.889	24	.954			
	PLT	8.000	24	.333			

	Triglyceride	9.190	24	.383		
	Protein_blood	1.719	24	.072		
	HTTB	415.200	24	17.300		
	CSTB	.325	24	.014		
	BNHH	.120	24	.005		
Total	Åm	129997.3	30			
	Tro	789.052	30			
	Lcuoi	5815.748	30			
	Wcuoi	81083.649	30			
	SGRL	65.459	30			
	SGRW	542.942	30			
	VSI	4940.195	30			
	HSI	144.520	30			
	FCR	72.668	30			
	FI%	664.599	30			
	PE	56.525	30			
	L	2111.903	30			
	P	10808.2	30			
	LYSOZYME	1741.438	30			
	WBC	1350.348	30			
	RBC	170.778	30			
	Hb	1848.178	30			
	Hct	15686.3	30			
	PLT	16098.0	30			
	Triglyceride	624.552	30			
	Protein_blood	42141.6	30			
	HTTB	149636	30			
	CSTB	96.903	30			
	BNHH	51.443	30			
Corrected Total	Åm	490.816	29			
	Tro	18.818	29			
	Lcuoi	1.988	29			
	Wcuoi	130.539	29			
	SGRL	.035	29			
	SGRW	.169	29			
	VSI	22.660	29			
	HSI	.735	29			
	FCR	.151	29			
	FI%	.914	29			
	PE	.112	29			
	L	80.904	29			

P	4.067	29			
LYSOZYME	34.985	29			
WBC	25.002	29			
RBC	6.743	29			
Hb	28.278	29			
Hct	144.875	29			
PLT	43.467	29			
Triglyceride	12.995	29			
Protein_blood	49.344	29			
HTTB	669.467	29			
CSTB	.493	29			
BNHH	.326	29			

Lcui

Duncan^{a,b}

TEMP	N	Subset
		1
31	10	13.8223
34	10	13.8960
28	10	14.0445
Sig.		.051

Tro

Duncan^{a,b}

TEMP	N	Subset		
		1	2	3
34	10	4.2340		
31	10		4.9410	
28	10			6.0260
Sig.		1.000	1.000	1.000

Wcui

Duncan^{a,b}

TEMP	N	Subset	
		1	2
28	10	50.3994	
31	10		52.0655
34	10		53.3745
Sig.		1.000	.064

Am

Duncan^{a,b}

TEMP	N	Subset		
		1	2	3
34	10	60.5550		
31	10		66.8620	
28	10			69.6920
Sig.		1.000	1.000	1.000

SGRL

Duncan^{a,b}

TEMP	N	Subset
		1
31	10	1.4635
34	10	1.4735
28	10	1.4932
Sig.		.051

L

Duncan^{a,b}

TEMP	N	Subset		
		1	2	3
28	10	6.6390		
31	10		8.3730	
34	10			9.6720
Sig.		1.000	1.000	1.000

SGRWDuncan^{a,b}

TEMP	N	Subset	
		1	2
28	10	4.1977	
31	10		4.2586
34	10		4.3043
Sig.		1.000	.072

PDuncan^{a,b}

TEMP	N	Subset		
		1	2	3
28	10	18.5010		
31	10		19.0970	
34	10			19.3340
Sig.		1.000	1.000	1.000

VSIDuncan^{a,b}

TEMP	N	Subset
		1
28	10	12.6342
34	10	12.7645
31	10	13.0104
Sig.		.370

LYSOZYMEDuncan^{a,b}

TEMP	N	Subset		
		1	2	3
28	10	6.4830		
31	10		7.5090	
34	10			8.6340
Sig.		1.000	1.000	1.000

HSIDuncan^{a,b}

TEMP	N	Subset	
		1	2
34	10	2.0824	
31	10	2.1725	
28	10		2.3128
Sig.		.093	1.000

WBCDuncan^{a,b}

TEMP	N	Subset		
		1	2	3
28	10	5.7930		
31	10		6.4770	
34	10			7.6700
Sig.		1.000	1.000	1.000

FCRDuncan^{a,b}

TEMP	N	Subset	
		1	2
34	10	1.5075	
28	10	1.5491	
31	10		1.6077
Sig.		.084	1.000

RBCDuncan^{a,b}

TEMP	N	Subset		
		1	2	3
28	10	1.9010		
31	10		2.1600	
34	10			2.9540
Sig.		1.000	1.000	1.000

FI%Duncan^{a,b}

TEMP	N	Subset	
		1	2
34	10	4.5866	

HbDuncan^{a,b}

TEMP	N	Subset		
		1	2	3
28	10	6.9650		

28	10	4.6903	
31	10		4.8336
Sig.		.079	1.000

31	10		7.3540	
34	10			9.0470
Sig.		1.000	1.000	1.000

PE

Duncan^{a,b}

TEMP	N	Subset	
		1	2
31	10	1.3259	
28	10		1.3748
34	10		1.4132
Sig.		1.000	.064

Hct

Duncan^{a,b}

TEMP	N	Subset		
		1	2	3
28	10	20.4690		
31	10		22.6260	
34	10			25.1870
Sig.		1.000	1.000	1.000

Triglyceride

Duncan^{a,b}

TEMP	N	Subset	
		1	2
28	10	4.0950	
31	10	4.5560	4.5560
34	10		4.8940
Sig.		.109	.234

PLT

Duncan^{a,b}

TEMP	N	Subset		
		1	2	3
28	10	21.90		
31	10		23.20	
34	10			24.30
Sig.		1.000	1.000	1.000

CSTB

Duncan^{a,b}

TEMP	N	Subset	
		1	2
28	10	1.7200	
31	10	1.7780	1.7780
34	10		1.8800
Sig.		.276	.062

Protein_blood

Duncan^{a,b}

TEMP	N	Subset		
		1	2	3
28	10	35.9750		
31	10		37.5030	
34	10			38.8950
Sig.		1.000	1.000	1.000

HTTB

Duncan^{a,b}

TEMP	N	Subset	
		1	2
28	10	67.500	
31	10	70.000	
34	10		73.900
Sig.		.192	1.000

BNHH

Duncan^{a,b}

TEMP	N	Subset		
		1	2	3
28	10	1.2030		
31	10		1.3200	
34	10			1.3930
Sig.		1.000	1.000	1.000

Phụ lục 5: Một số hình ảnh nghiên cứu



