

ẢNH HƯỞNG CỦA FUCOIDAN BỔ SUNG VÀO THỨC ĂN LÊN TĂNG TRƯỞNG CỦA CÁ RÔ PHI (*Oreochromis niloticus*) GIAI ĐOẠN GIỐNG VÀ KHẢ NĂNG CẢI THIỆN TỈ LỆ SỐNG CỦA CÁ KHI GÂY NHIỄM VI KHUẨN *Aeromonas veronii*

Trần Ánh Tuyết*, Nguyễn Thị Mai, Nguyễn Thị Dung, Trần Thị Năng Thu

Khoa Thủy sản, Học Viện Nông Nghiệp Việt Nam

*Tác giả liên hệ: trananhtuyet@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 18.05.2021

Ngày chấp nhận đăng: 21.02.2022

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện để đánh giá ảnh hưởng của hoạt chất fucoidan chiết xuất từ rong nâu *Sargassum swartzii* lên tăng trưởng, tỉ lệ sống, hệ số chuyển hóa thức ăn và khả năng kháng bệnh đối với vi khuẩn *Aeromonas veronii* ở cá rô phi giống (*Oreochromis niloticus*). Cá (23,2 ± 2,7g) được cho ăn thức ăn công nghiệp 35% protein có bổ sung fucoidan ở các hàm lượng khác nhau (0%; 0,05%; 0,1%; 0,5%) trong 6 tuần, mỗi loại thức ăn được lặp lại 3 lần. Kết quả cho thấy fucoidan không ảnh hưởng ($P > 0,05$) đến tăng trưởng, tỉ lệ sống và hệ số thức ăn của cá thí nghiệm. Sau khi kết thúc 6 tuần nuôi trên, cá được cảm nhiễm vi khuẩn *A. veronii* với liều LD50 được xác định là $7,82 \times 10^4$ CFU/ml, số cá chết được theo dõi trong 10 ngày sau đó. Tỉ lệ sống của cá khi bị nhiễm *A. veronii* đã tăng từ 30% ở nghiệm thức không bổ sung fucoidan và 36,7% ở nghiệm thức bổ sung tỉ lệ thấp (0,05%) lên đến 76,6-80% ở nghiệm thức bổ sung fucoidan với nồng độ cao hơn (0,1% và 0,5%). Trong nghiên cứu này, chúng tôi kết luận rằng bổ sung fucoidan chiết xuất từ rong biển *Sargassum swartzii* vào thức ăn với tỉ lệ 0,1% và 0,5% sẽ làm tăng sức đề kháng của cá rô phi giống đối với bệnh do vi khuẩn *Aeromonas veronii* gây ra.

Từ khóa: Fucoidan, kháng bệnh, *Aeromonas veronii*, cá rô phi.

Effect of Dietary Fucoidan Supplementation on Growth of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fingerlings and Improvement of Survival Rate of Fish when Infected with *Aeromonas veronii*

ABSTRACT

The study was conducted to evaluate the effect of dietary fucoidan extracted from brown seaweed *Sargassum swartzii* on growth, survival rate, feed conversion ratio (FCR), and disease resistance to *Aeromonas veronii* bacterium in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. Fish (23.2 ± 2.7g) were fed the commercial feed (35%Pr) supplemented with fucoidan at various concentrations (0%, 0.05%, 0.1%, 0.5%) in triplicate for 6 weeks. The results have showed that fucoidan did not significantly affect ($P > 0.05$) the growth, survival, and FCR during the feeding trial. At the end of nutritional trial, fish were infected with *Aeromonas veronii* at dose of LD50 (7.82×10^4 CFU/ml), fish were then monitored for 10 days, the mortality was daily recorded. After 10 days of challenge, the results showed that the survival rate was 76.6% and 80% for 0.1% and 0.5% fucoidan-fed fish, respectively, much higher than other groups (30% and 36.7% for Control and 0.05% fucoidan-fed fish, respectively) ($P < 0.05$). In conclusion, dietary fucoidan extracted from brown seaweed *Sargassum swartzii* at 0.1 and 0.5% enhanced the resistance of tilapia fingerlings against to *Aeromonas veronii*.

Keywords: Fucoidan, resistance, *Aeromonas veronii*, tilapia.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá rô phi là đối tượng nuôi đặc biệt quan trọng của ngành thủy sản thế giới. Hiện Việt Nam đứng vị trí thứ 8 trong bảng xếp hạng các

quốc gia có sản lượng cá rô phi lớn của thế giới, với hơn 200.000 tấn/năm (Tổng cục Thủy sản, 2019). Cùng với sự phát triển trên của ngành công nghiệp nuôi là sự bùng nổ của dịch bệnh trên cá rô phi.

Phần lớn các bệnh ở cá rô phi là do vi khuẩn gây ra nên kháng sinh thường được dùng phổ biến để điều trị. Vi khuẩn *Aeromonas veronii* là loài vi khuẩn hiện nay đang gây tỉ lệ chết cao trên cá rô phi. Tại Ấn Độ, từ tháng 1 đến tháng 3/2018, dịch bệnh do vi khuẩn này gây nên đã làm chết lên tới 40-60% cá rô phi trong nhiều khu trang trại tại đây (Raj & cs., 2019). Năm 2015 tại Thái Lan, vi khuẩn này đã xuất hiện tại các trang trại nuôi cá rô phi lồng dọc sông Mê Kông tại tỉnh Nong Khai (phía Bắc Thái Lan), gây ra hiện tượng cá chết hàng loạt và thiệt hại kinh tế lớn (Dong & cs., 2015). Vi khuẩn này cũng là nguyên nhân gây chết hàng loạt trên cá rô phi tại nước Đông Nam Á khác như Malaysia (Azmai, 2018). Theo Dong & cs. (2017), ngoài *Aeromonas hydrophila* gây bệnh trên cá rô phi, còn có vi khuẩn *Aeromonas* sp. khác cũng gây ra trên cá rô phi, trong đó có *Aeromonas veronii* (tên khác là *Aeromonas ichthiosmia*, *Aeromonas culicicola* và *A. allosaccharophila*).

Dịch bệnh xảy ra gây thiệt hại cho người nuôi và cho nền kinh tế nói chung. Để điều trị bệnh và làm sạch môi trường nuôi, người nuôi thường dùng hóa chất hoặc chất kháng sinh, tuy nhiên sử dụng nhiều sẽ ảnh hưởng tới môi trường, có thể dẫn đến sự xuất hiện hiện tượng kháng kháng sinh ở vi sinh vật gây bệnh. Ngoài ra, tồn dư thuốc kháng sinh hoặc hóa chất trong sản phẩm thủy sản sau điều trị bệnh cũng là một mối nguy cho sức khỏe người tiêu dùng. Do vậy, việc tìm ra phương pháp phòng tránh dịch bệnh mà không làm hại tới môi trường là vấn đề đang được các nhà quản lý, nhà khoa học và người nuôi quan tâm. Một trong những biện pháp đó là tăng cường hệ thống miễn dịch cho động vật thủy sản, biện pháp này hiện đang được cho là an toàn, thân thiện với môi trường và mang lại hiệu quả cao.

Chất kích thích miễn dịch được coi là công cụ hiệu quả để nâng cao tình trạng sức khỏe của vật nuôi. Trong đó, fucoidan - một polysaccharide sunfat đang được nghiên cứu trên động vật thủy sản như tôm, cá với mục đích làm nâng cao hệ miễn dịch, tăng cường sức đề kháng chống lại các tác nhân gây bệnh như vi

khuẩn, virus, làm tăng tỉ lệ sống. Yang & cs. (2014) chứng minh khẩu phần có chứa fucoidan chiết xuất từ rong nâu *Sargassum horneri* có tác động rõ ràng tới miễn dịch không đặc hiệu ở cá trê vàng (*Pelteobagrus fulvidraco*) (các chỉ số superoxide dismutase (SOD), phagocytic index (PI), respiratory burst (RB)). Theo El-Boshy & cs. (2014), fucoidan có trong thức ăn sẽ cải thiện sức đề kháng của cá trê Mỹ (*Clarias gariepinus*) trong môi trường ô nhiễm kim loại nặng. Fucoidan cũng được chứng minh tính hiệu quả của nó khi được trộn vào thức ăn, làm tăng tỉ lệ sống, tăng khả năng đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu sau khi nhiễm vi khuẩn *Aeromonas hydrophila* trên cá trôi Ấn (*Labeo rohita*) (Gora & cs., 2018), tăng tốc độ sinh trưởng, tăng khả năng đáp ứng miễn dịch, cải thiện sinh lý máu ở cá tráp biển đỏ (*Pagrus major*) (Sony & cs., 2018), tăng đáng kể khả năng miễn dịch bẩm sinh của cá da trơn (*Clarias sp.*) (Cahyono & cs., 2019). Với tôm, nghiên cứu của Madasamy & cs. (2014) cho thấy khi cho tôm sú (*Penaeus monodon*) ăn thức ăn chứa fucoidan chiết xuất từ tảo nâu, tôm có tăng trưởng cao hơn, tỉ lệ chết sau khi cảm nhiễm với vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* giảm, các thông số miễn dịch (THC, hoạt động thực bào, hoạt động kháng khuẩn) tăng. Nghiên cứu của Immanuel & cs. (2012) cũng kết luận rằng tôm sú (*P. monodon*) được nuôi bằng fucoidan (chiết xuất từ rong nâu *S. wightii*) bổ sung trong thức ăn sẽ cải thiện được khả năng miễn dịch bẩm sinh (THC, hoạt động thực bào) và tăng sức đề kháng chống lại sự lây nhiễm WSSV. Mặc dù đã có nhiều nghiên cứu được thực hiện để đánh giá hiệu quả của fucoidan trong việc nâng cao khả năng miễn dịch của cá, nhưng đánh giá hiệu quả của fucoidan lên tăng trưởng, tỉ lệ sống, hệ số thức ăn và đặc biệt là hiệu quả của nó đối với khả năng kháng bệnh trên cá rô phi và *O. niloticus* gây ra bởi vi khuẩn *Aeromonas veronii* đến nay chưa được nghiên cứu. Do đó, nghiên cứu này sẽ trình bày kết quả về tăng trưởng, tỉ lệ sống, hiệu quả sử dụng thức ăn và khả năng kháng bệnh do vi khuẩn *Aeromonas veronii* khi nuôi cá rô phi giống bằng các thức ăn công nghiệp có bổ sung chiết xuất fucoidan từ rong nâu.

Ảnh hưởng của fucoidan bổ sung vào thức ăn lên tăng trưởng của cá rô phi (*Oreochromis niloticus*) giai đoạn giống và khả năng cải thiện tỉ lệ sống của cá khi gây nhiễm vi khuẩn *Aeromonas veronii*

Nghiên cứu này được chúng tôi thực hiện dựa trên giả thuyết rằng fucoidan đã có những tác động tích cực đến tăng trưởng, hệ miễn dịch của người và một số động vật thủy sản khác cũng mang lại những tác động tốt trên cá rô phi.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thí nghiệm 1. Ảnh hưởng của hàm lượng thức ăn bổ sung chất fucoidan lên tốc độ tăng trưởng, tỉ lệ sống và hệ số thức ăn của cá rô phi giai đoạn giống

- Bố trí thí nghiệm:

Cá rô phi giống có nguồn gốc từ Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản 1 (Từ Sơn, Bắc Ninh), khối lượng trung bình $23,2 \pm 2,7g$, được nuôi trong hệ thống bể composit với mật độ 25 con/bể 200 lít. Thời gian nuôi thí nghiệm: 6 tuần. Thức ăn công nghiệp dành cho cá rô phi được bổ sung fucoidan theo các hàm lượng sau: NT1: thức ăn không bổ sung fucoidan (đối chứng). NT2: thức ăn bổ sung 0,05% fucoidan (0,5g fucoidan/kg thức ăn). NT3: thức ăn bổ sung 0,1% fucoidan (1g fucoidan/kg thức ăn). NT4: thức ăn bổ sung 0,5% fucoidan (5g fucoidan/kg thức ăn). Mỗi nghiệm thức được lặp lại 03 lần.

Fucoidan chiết xuất từ rong nâu *Sargassum swartzii* (85% tinh khiết) được cung cấp bởi nhà máy chuyên sản xuất fucoidan tại Việt Nam. Fucoidan được trộn vào thức ăn theo phương pháp như sau: thức ăn công nghiệp hàm lượng protein 35% được nghiền thành bột bằng máy nghiền, sau đó bổ sung fucoidan với các liều lượng đã xác định ở các nghiệm thức khác nhau. Trộn 500ml nước cất cho 1kg thức ăn, sau đó mỗi hỗn hợp được ép viên với đường kính 2mm. Viên thức ăn được sấy khô bằng máy sấy ở nhiệt độ 38°C trong 8 tiếng. Thức ăn chuẩn bị xong được đóng gói, dán nhãn, có thể sử dụng cho cá ăn ngay sau đó bảo quản trong tủ lạnh ở nhiệt độ -4°C trong 3-4 tuần. Thức ăn đối chứng được chuẩn bị tương tự nhưng không bổ sung fucoidan.

- Chăm sóc và quản lý: Cá được nuôi thích nghi trong vòng 7 ngày bằng thức ăn công

nghiệp 35% protein. Sau thời gian nuôi thích nghi, cá được bố trí ngẫu nhiên vào các bể thí nghiệm. Cá được cho ăn theo nhu cầu, 2 lần/ngày (8h và 16h). Bể cá được xi phông hàng ngày trước mỗi lần cho cá ăn, bể được thay nước 2 ngày/lần, mỗi lần thay 70% thể tích nước trong bể.

- Thu thập số liệu:

Các yếu tố môi trường như nhiệt độ, oxy, pH theo dõi 2 lần/ngày bằng máy đo cầm tay, các yếu tố như NH₃, NO₂ theo dõi 1 lần/tuần bằng test Sera. Sau 6 tuần thí nghiệm, cá được để nhịn đói 36 tiếng, sau đó cá được đếm và cân khối lượng mỗi con trong từng bể để xác định tỉ lệ sống, tốc độ tăng trưởng. Cân được sử dụng là cân điện tử, độ chính xác 10⁻² gram. Lượng thức ăn được ghi chép hàng ngày để xác định các chỉ số thức ăn.

Tốc độ tăng trưởng tương đối (theo khối lượng) SGR (%/ngày) = $100 \times (\ln(W1) - \ln(W0)) / \Delta T$ (trong đó W0 là khối lượng cá ban đầu, W1 là khối lượng cá khi thu, ΔT là thời gian nuôi tính theo ngày).

Hệ số thức ăn FCR = Tổng khối lượng cá tăng trọng / Tổng khối lượng thức ăn ăn vào.

Tỉ lệ sống SR (%) = $100 \times \text{Số lượng cá khi thu} / \text{Số lượng cá ban đầu}$.

2.2. Thí nghiệm 2. Xác định liều gây chết 50% (LD50) của vi khuẩn *Aeromonas veronii* đối với cá rô phi vằn giai đoạn giống

Vi khuẩn *Aeromonas veronii* trên cá bệnh được phân lập và sử dụng để xác định liều gây chết (LD50). Thí nghiệm được bố trí với 7 nồng độ vi khuẩn với 3 lần lặp. Cá sau khi tiêm được nuôi nhốt trong các bể nhựa có thể tích 200l, mỗi bể bố trí 10 cá rô phi giống (50 g/con). Cá sau khi được gây mê bằng tinh dầu đinh hương (50 mg/l) sẽ được tiêm vào xoang bụng với liều lượng 0,1ml dung dịch huyền phù của dịch nuôi vi khuẩn với nồng độ pha loãng từ nồng độ nuôi cấy đạt mật độ tối đa (10⁹ CFU/ml) sau 24h, pha loãng từ 1 đến 7 lần, tương đương với các nồng độ 10⁹, 10⁸, 10⁷, 10⁶, 10⁵, 10⁴, 10³ CFU/ml. Ở nghiệm thức đối chứng, cá được tiêm 0,1ml nước muối sinh lý.

Bảng 1. Các yếu tố môi trường trong 6 tuần nuôi cá rô phi bằng cá thức ăn bổ sung fucoidan ở các tỉ lệ khác nhau

Chỉ tiêu	Giá trị	NT1	NT2	NT3	NT4
	Tỉ lệ bổ sung fucoidan	0%	0,05%	0,1%	0,5%
Nhiệt độ (°C)	Mean ± SD	22,6 ± 1,3	22,7 ± 1,2	22,6 ± 1,2	22,6 ± 1,1
	Min	19	20	19	19
	Max	25	25	25	25
DO (mg/l)	Mean ± SD	6 ± 0,8	5,9 ± 0,8	5,9 ± 0,8	6 ± 0,8
	Min	5	5	5	5
	Max	7	7	7	7
pH	Min	7,3	7,3	7,3	7,5
	Max	7,7	7,7	7,7	7,7
NH ₄ ⁺ /NH ₃ ⁻	Mean ± SD	0,05 ± 0,14	0,03 ± 0,12	0,05 ± 0,15	0,01 ± 0,08
	Min	0,00	0,00	0,00	0,00
	Max	0,50	0,50	0,50	0,50
NO ₂ ⁻		0	0	0	0

Cá sau khi tiêm được theo dõi trong vòng 10 ngày với tần suất theo dõi 4 lần/ngày, số lượng cá chết được ghi chép hàng ngày. Số cá chết tương ứng và nồng độ tiêm sẽ được biểu diễn dưới dạng hàm số mũ: $y = a \times \ln(x) + b$ Trong đó: y là số cá chết trong lô thí nghiệm khi được tiêm, $\ln(x)$ là nồng độ tương ứng, a, b là hằng số. Vậy LD50 chính là nồng độ mà tại đó số cá chết sẽ là một nửa (y) trong đó $y = 1/2$ số cá chết 100% khi tiêm. Vì vậy LD50 sẽ được tính theo công thức:

$$LD50 = x = e^{\frac{y-b}{a}} \text{ (CFU/ml)}$$

2.3. Thí nghiệm 3. Đánh giá ảnh hưởng của hàm lượng bổ sung fucoidan lên khả năng kháng bệnh do vi khuẩn *Aeromonas veronii* của cá rô phi giai đoạn giống

Sau khi 6 tuần nuôi của thí nghiệm 1, cá ở 3 bể nuôi bằng cùng một loại thức ăn được gộp lại và cảm nhiễm với vi khuẩn *Aeromonas veronii*, (lặp lại 3 lần cho 1 nghiệm thức). Tiến hành tiêm 0,1ml dịch huyền phù vi khuẩn với mật độ là giá trị LD50 đã được xác định tại thí nghiệm 2 vào xoang bụng cá. Cá trước khi tiêm sẽ được gây mê bằng tinh dầu đinh hương

(50 mg/l). Biểu hiện của cá và số lượng cá chết được theo dõi và ghi chép hàng ngày.

2.4. Xử lý số liệu

Số liệu được biểu diễn dưới dạng giá trị trung bình ± SD, được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2016 và SPSS 16.0, sử dụng phương pháp phân tích ANOVA một nhân tố và phép thử Tukey để so sánh sự khác biệt giữa các nghiệm thức với $P < 0,05$.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của hàm lượng fucoidan bổ sung vào thức ăn lên tốc độ tăng trưởng, tỉ lệ sống và hệ số thức ăn của cá rô phi giai đoạn giống

3.1.1. Biến động các yếu tố môi trường trong quá trình thí nghiệm nuôi tăng trưởng

Kết quả thu thập các yếu tố môi trường trong thời gian thí nghiệm được trình bày tại bảng 1.

Thí nghiệm được thực hiện từ giữa tháng 10 đến hết tháng 11/2020 là khoảng thời gian cuối mùa thu, đầu mùa đông nên nhiệt độ khá mát

Ảnh hưởng của fucoidan bổ sung vào thức ăn lên tăng trưởng của cá rô phi (*Oreochromis niloticus*) giai đoạn giống và khả năng cải thiện tỉ lệ sống của cá khi gây nhiễm vi khuẩn *Aeromonas veronii*

mẻ và sự dao động nhiệt trong ngày không đáng kể, nhiệt độ cao nhất trong ngày ghi nhận là 25°C, nhiệt độ thấp nhất đo được trong bể thí nghiệm là 19°C, tuy nhiên trong 6 tuần theo dõi chỉ có vài ngày nhiệt độ bể thí nghiệm đo được dưới 20°C, còn lại phần lớn thời gian, nhiệt độ bể nuôi dao động khoảng 22-24°C. pH dao động từ 7,3-7,7, DO dao động từ 5-7 mg/l đều nằm trong khoảng thích hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của cá rô phi. Hàm lượng NH₄⁺/NH₃⁻ và NO₂⁻ luôn ở ngưỡng thấp (lần lượt trong khoảng 0-0,5 mg/l và 0 mg/l) do bể thí nghiệm được xi phông và thay nước thường xuyên.

Những số liệu về môi trường thu được cho thấy bổ sung fucoidan vào thức ăn không ảnh hưởng tới chất lượng môi trường bể nuôi, các yếu tố môi trường nước luôn ở ngưỡng thích hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của cá thí nghiệm (Popma & Masser, 1999).

3.1.2. Kết quả thí nghiệm nuôi tăng trưởng

Sau 6 tuần nuôi bằng thức ăn thí nghiệm, kết quả tăng trưởng về khối lượng, hệ số thức ăn và tỉ lệ chết của cá thí nghiệm được trình bày ở bảng 2.

Kết quả thể hiện trong bảng 2 cho thấy với cá rô phi giống cùng kích cỡ (23g) sau khi được nuôi với thức ăn có bổ sung fucoidan với tỉ lệ

khác nhau cho khối lượng sau thí nghiệm không sai khác nhau ($P > 0,05$), dao động từ 31-62g. Tương tự như vậy, tốc độ tăng trưởng tương đối về khối lượng của cá (SGR), hệ số chuyển hóa thức ăn (FCR) và tỉ lệ sống (SR) cũng không có sự sai khác có ý nghĩa giữa các nghiệm thức, SGR dao động trong khoảng 1,19-1,32%/ngày, FCR dao động từ 1,49-1,64. Trong suốt quá trình thí nghiệm, không ghi nhận cá chết, tỉ lệ sống SR ở các công thức là như nhau (100%).

Mặc dù hoạt chất fucoidan được chứng minh là một loại poly saccharide sulfate phức tạp (chuỗi đường cao phân tử), các chuỗi phân tử này sẽ phản ứng chéo với protrein myostatin (một loại protein có nhiệm vụ kiểm soát sự phát triển của cơ bắp) thông qua đó ảnh hưởng của nó đến sự phì đại tế bào cơ và phát triển (Ramazanov & cs., 2003). Tuy nhiên trong nghiên cứu này, kết quả lại cho thấy fucoidan lại không ảnh hưởng đến sự tăng trưởng và phát triển của cá trong thời gian thí nghiệm. Mặt khác, khi nhìn vào sự chênh lệch về những con số biểu diễn SGR và FCR giữa các nghiệm thức có thể thấy SGR có xu hướng lớn hơn khi bổ sung tỉ lệ phần trăm fucoidan lớn hơn, cụ thể: ở nghiệm thức không bổ sung fucoidan, SGR là 1,19%, trong khi đó, các nghiệm thức còn lại bổ sung fucoidan 0,05%; 0,1%; 0,5% có SGR tăng dần, lần lượt là 1,24; 1,27 và 1,32%.

Bảng 2. Kết quả tăng trưởng của cá rô phi sau 6 tuần nuôi bằng cá thức ăn bổ sung fucoidan ở các tỉ lệ khác nhau

Chỉ tiêu	Giá trị	NT1	NT2	NT3	NT4
	Tỉ lệ bổ sung fucoidan	0%	0,05%	0,1%	0,5%
W0 (g)	Mean ± SD	23,0 ^a ± 2,8	23,7 ^a ± 2,9	23,0 ^a ± 2,6	23,7 ^a ± 2,6
	Min	20,0	20,0	20,0	20,0
	Max	27,3	27,6	28,0	27,8
W1 (g)	Mean ± SD	38,1 ^a ± 6,5	40,3 ^a ± 8,1	39,5 ^a ± 6,9	40,5 ^a ± 7,1
	Min	32,0	32,0	32,0	32,2
	Max	55,6	62,0	59,8	58,0
SGR (%/ngày)	Mean ± SD	1,19 ^a ± 0,40	1,24 ^a ± 0,37	1,27 ^a ± 0,37	1,32 ^a ± 0,39
FCR	Mean ± SD	1,64 ^a ± 0,94	1,55 ^a ± 0,24	1,49 ^a ± 0,79	1,50 ^a ± 0,22
SR(%)		100	100	100	100

Ghi chú: W0 và W1 là khối lượng của cá ở thời điểm ban đầu và kết thúc thí nghiệm; Số liệu được biểu diễn dưới dạng trung bình của ba lần lặp Mean ± SD, các số liệu trên cùng một hàng có số mũ giống nhau thì không sai khác có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).

Trong khi đó, hệ số thức ăn FCR lại có xu hướng ngược lại, tức là FCR giảm dần khi tỉ lệ bổ sung fucoidan càng tăng, cụ thể: NT1 không bổ sung fucoidan (0%) có FCR cao nhất là 1,64; NT2 (0,05%) có FCR là 1,55; NT3 (0,1%) và NT4 (0,5%) lần lượt có FCR là 1,49 và 1,50. Điều này gợi ý rằng nếu thí nghiệm được kéo dài thêm một khoảng thời gian nữa hoặc tăng hàm lượng fucoidan bổ sung trong thức ăn, sẽ có thể có sự khác nhau có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức thức ăn khác nhau với xu hướng được phân tích như trên.

Tương tự như kết quả của thí nghiệm này, một số kết quả nghiên cứu của các tác giả khác cũng chỉ ra rằng fucoidan không ảnh hưởng với tăng trưởng của cá thí nghiệm. Mới đây nhất, tác giả Khanzadel & cs. (2020) đã nuôi cá rô phi ($25 \pm 5g$) trong 60 ngày bằng thức ăn trộn fucoidan (chiết xuất từ *Sargassum* sp.) với tỉ lệ 0,5%, 1% và 2%. Kết quả thí nghiệm chỉ ra rằng không có sự sai khác về tăng trưởng và FCR so với nhóm cho ăn thức ăn đối chứng không trộn Fucoidan. Gora & cs. (2018) nghiên cứu ảnh hưởng của fucoidan chiết xuất từ tảo đỏ và bột của tảo nâu (*Sargassum wightii*) lên tăng trưởng của cá trôi giống (khối lượng cá khoảng 8g), các tỉ lệ bổ sung vào thức ăn là 0%, 1%, 2% fucoidan từ tảo nâu và 3%, 6% bột tảo đỏ, cho thấy không có ảnh hưởng đến tăng trưởng, tỉ lệ sống cũng như FCR của cá thí nghiệm trong 60 ngày nuôi.

Tuy nhiên, một số kết quả lại chỉ ra rằng fucoidan có tác động tích cực lên tốc độ tăng trưởng của cá thí nghiệm nhưng không ảnh hưởng tới FCR hay tỉ lệ sống trong thời gian quan sát. Mahgoub & cs. (2020) tiến hành thí nghiệm với cá rô phi (*Oreochromis niloticus*) kích cỡ 50-60g (12 con/bể, 2 lần lặp), trộn fucoidan vào thức ăn với tỉ lệ 0,4% và 0,8%; 0%, sau 1 tháng nuôi tác giả đã kết luận công thức thức ăn trộn 0,8% fucoidan có tốc độ tăng trưởng SGR cao hơn so với những công thức khác. Năm 2018, Sony & cs. tiến hành nuôi cá tráp biển đỏ (*Pagrus major*) (khối lượng cá trung bình 3,8g) với chế độ cho ăn gồm bột cá và bổ sung thêm hoạt chất fucoidan chiết xuất từ tảo nâu mozuku với tỉ lệ 0% (D1, đối chứng), 0,05% (D2), 0,1% (D3); 0,2% (D4); 0,4% (D5) và 0,8% (D6)

trong 60 ngày. Kết quả cho thấy chế độ cho ăn D5 có hiệu suất tăng trưởng ($P < 0,05$) cao hơn đáng kể so với đối chứng, hiệu suất chuyển hóa thức ăn cũng cao hơn đáng kể ở khẩu phần D5. Bổ sung 0,3-0,4% fucoidan trong khẩu phần ăn sẽ giúp tăng trưởng 2,52%/ngày so với 2,25%/ngày. Tuy nhiên tỉ lệ sống của cá trong các công thức thức ăn không có sự sai khác. Tuller & cs. (2012) trong thí nghiệm tìm ảnh hưởng của fucoidan chiết xuất từ *Undaria pinnatifida* (86% tinh khiết) khi trộn vào thức ăn lên tăng trưởng của cá vược (*Lates calcarifer*) trong 52 ngày nuôi, với 3 nghiệm thức thức ăn là 0%, 0,5% và 1% tỉ lệ fucoidan khác nhau, đã tìm ra rằng cá trong công thức bổ sung 1% cho tăng trưởng cao hơn so với các công thức còn lại, trong khi đó fucoidan không làm ảnh hưởng tới FCR cũng như tỉ lệ sống của cá vược trong quá trình thí nghiệm.

Sự khác nhau trong việc đánh giá ảnh hưởng của fucoidan lên tăng trưởng của cá có thể do một số nguyên nhân, mà một trong những nguyên nhân đó có thể là do sự khác nhau của các loài rong biển chiết xuất ra fucoidan. Theo Isnansetyo & cs. (2016), sự đa dạng và thành phần monosaccharide trong fucoidan phụ thuộc vào các loài tảo khác nhau và hệ sinh thái chúng sinh sống. Đường đơn và các thành phần trong fucoidan rất khác nhau ngay cả trong một loài rong biển, điều này dẫn đến sự khác nhau trong hoạt tính sinh học của chúng. Fucoidan là một loại chất xơ hòa tan, về mặt hóa học, fucoidan là một chuỗi poly saccharide có chứa tỉ lệ phần trăm trọng yếu của L-fucose, nhóm ester sulfate, galactose, mannose, xylose và axit uronic. Cường độ của các hoạt động sinh học của fucoidan thay đổi theo từng loại, khối lượng phân tử, thành phần, cấu trúc và cách dùng. Trong nghiên cứu này, fucoidan được chiết xuất từ rong nâu *Sargassum swartzii*, những nghiên cứu khác, fucoidan được chiết xuất từ những loài rong biển khác.

3.2. Nồng độ gây chết 50% (LD50) của vi khuẩn *Aeromonas veronii* đối với cá rô phi giai đoạn giống

Nồng độ vi khuẩn gây chết 50% được quan sát trong 8 ngày sau khi tiêm cá với các nồng độ

Ảnh hưởng của fucoidan bổ sung vào thức ăn lên tăng trưởng của cá rô phi (*Oreochromis niloticus*) giai đoạn giống và khả năng cải thiện tỉ lệ sống của cá khi gây nhiễm vi khuẩn *Aeromonas veronii*

khác nhau, LD50 được xác định ở giá trị là $7,82 \times 10^4$ CFU/ml. Sau khi tiêm, cá ở lô được tiêm với nồng độ 10^9 chết 100% trong ngày đầu tiên, ngày tiếp theo cá ở lô được tiêm với nồng độ 10^8 chết 100%, cá ở các lô còn lại bắt đầu chết ở ngày thứ 3, thứ 4 và rải rác đến ngày thứ 8. Cá chết ít nhất ở lô tiêm 10^3 và 10^4 CFU/ml (40%).

Raj & cs. (2019) đã nghiên cứu LD50 của *A. veronii* đối với cá rô phi *Oreochromis niloticus* khối lượng 18-23g, xác định giá trị LD50 tìm được là $10^{5,35}$ CFU/ml (tương đương $2,24 \times 10^5$ CFU/ml).

3.3. Ảnh hưởng của hàm lượng bổ sung fucoidan lên khả năng kháng bệnh vi khuẩn *Aeromonas veronii* của cá rô phi giai đoạn giống

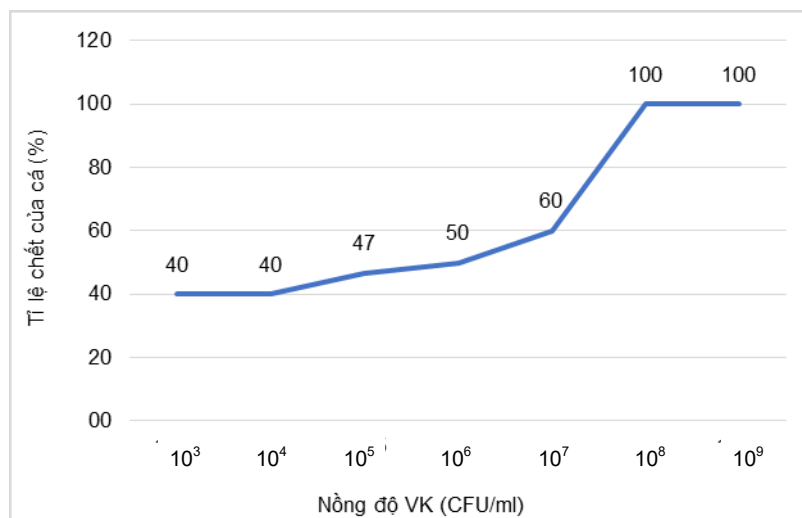
Cá sau khi kết thúc nội dung 1 được cảm nhiễm với vi khuẩn *Aeromonas veronii* với mật độ là LD50 xác định ở nội dung 2. Sau 10 ngày theo dõi, kết quả về tỉ lệ sống của các nghiệm thức được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3 cho thấy nghiệm thức bổ sung fucoidan ở tỉ lệ 0,1% và 0,5% có tỉ lệ sống lớn hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) so với nghiệm thức bổ sung 0,05% và nghiệm thức đối chứng không bổ sung chất kích thích. Tỉ lệ sống của cá rô phi khi bị nhiễm VK *A.veronii* đã tăng từ 30% khi không bổ sung fucoidan và 36,7% khi bổ sung tỉ lệ thấp (0,05%)

lên đến 76,6-80% khi bổ sung fucoidan với nồng độ cao hơn (0,1% và 0,5%).

Hình 2 thể hiện tỉ lệ chết cộng dồn theo ngày của cá sau khi bị cảm nhiễm trong thời gian 10 ngày theo dõi. Trong quá trình theo dõi, ghi nhận được sau 2 ngày cảm nhiễm, cá có biểu hiện bơi chậm, lơ đờ, bỏ ăn, sau đó xuất hiện những biểu hiện như xuất huyết ở xương nắp mang, gốc vây và đuôi. Ở nghiệm thức đối chứng (0%) và nghiệm thức bổ sung tỉ lệ fucoidan ít nhất (0,05%) cá bắt đầu chết ở ngày thứ 2 và tăng liên tục ở các ngày tiếp theo. Hai nghiệm thức có tỉ lệ bổ sung fucoidan cao hơn, cá bắt đầu chết ở ngày thứ 3, sau đó chỉ chết rải rác ở những ngày sau, cá ngừng chết ở ngày thứ 7 sau cảm nhiễm với tỉ lệ chết là 23,3%.

Nhiều nghiên cứu khoa học đã chứng minh rằng fucoidan đã thể hiện các hoạt động sinh học đa dạng như thuốc chống đông máu, chống khối u, điều hòa miễn dịch và các hoạt động chống viêm... (Thangapandi & Inbakandan, 2015; Wijesinghe, 2012). Theo Wang (2019), fucoidan có tác dụng làm giảm phản ứng viêm của cơ thể bằng cách ức chế đáng kể việc giải phóng NO do lipopolysaccharide của vi khuẩn gây ra, từ đó làm giảm viêm. Fucoidan cũng là một phối tử cho thụ thể A của đại thực bào, có thể được tiếp nhận bởi đại thực bào và ức chế sản xuất NO, ức chế sự di chuyển của bạch cầu đến các mô viêm là một biểu hiện khác của hoạt tính chống viêm của fucoidan (Park & cs., 2017, trích bởi Wang, 2019).

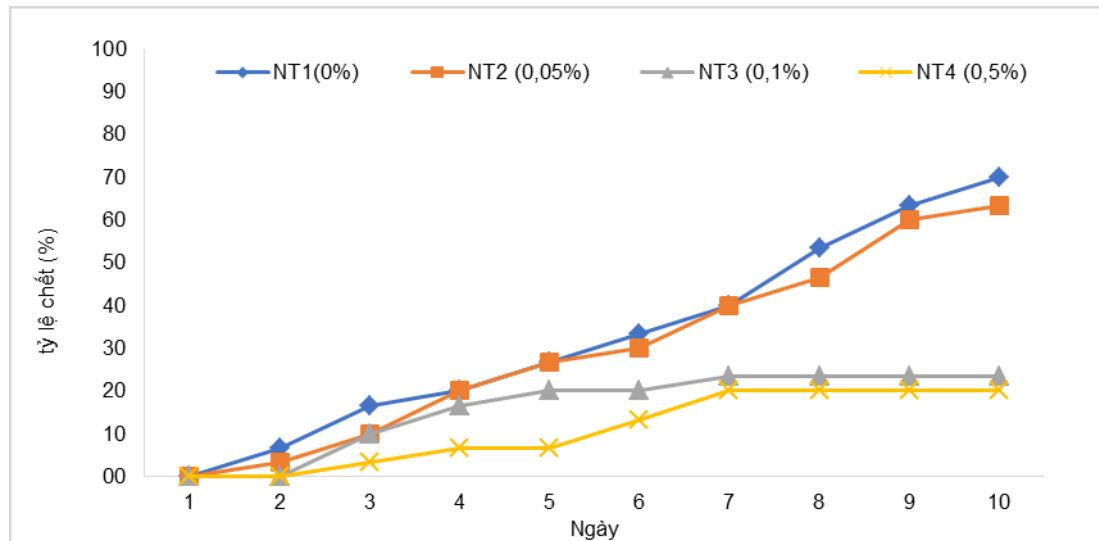


Hình 1. Tỉ lệ chết của cá rô phi trong thí nghiệm xác định liều LD50 của vi khuẩn *Aeromonas veronii*

Bảng 3. Tỷ lệ sống của cá rô phi sau 10 ngày cảm nhiễm với vi khuẩn *Aeromonas veronii*

Giá trị	NT1	NT2	NT3	NT4	P-value
Tỷ lệ bổ sung fucoidan	0%	0,05%	0,1%	0,5%	
Mean \pm D	30,0 ^a \pm 20	36,7 ^a \pm 11,5	76,7 ^b \pm 15,3	80,0 ^b \pm 10,0	0,005
Min	10,0	30,0	60,0	70,0	
Max	50,0	50,0	90,0	90,0	

Ghi chú: Số liệu được biểu diễn dưới dạng số liệu trung bình của ba lần lặp Mean \pm SD, các số liệu trên cùng một hàng có số mũ khác nhau thì sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).



Hình 2. Tỷ lệ chết cộng dồn của cá rô phi theo ngày sau khi cảm nhiễm với vi khuẩn *Aeromonas veronii*

Fucoidan có khả năng tăng cường phản ứng miễn dịch bằng cách kích thích các dấu hiệu chính của cả khả năng miễn dịch bẩm sinh cũng như đặc hiệu (Mir, 2018). Các nhóm sunphat của fucoidan giúp cho hoạt chất này có tiềm năng hoạt tính sinh học để được sử dụng trong thức ăn thủy sản (Mir, 2018). Các nhóm sunfat cũng tạo thành một thành phần của fucoidan và các hoạt động sinh học của fucoidan liên quan chặt chẽ đến hàm lượng sulphat của nó (Yang & cs., 2008, trích bởi Mir, 2018).

Đã có nhiều nghiên cứu về ảnh hưởng của fucoidan lên hệ miễn dịch, khả năng kháng một số bệnh do vi khuẩn gây ra lên cá rô phi. Rani & cs. (2020) tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của fucoidan bổ sung trong thức ăn tới khả năng kháng bệnh của cá rô phi (*Oreochromis mossambicus*) (khối lượng 30g) ở các nồng độ bổ sung khác nhau: 0,1%; 0,2%; 0,3% trong thời

gian nuôi là 60 ngày, sau đó cá được cảm nhiễm vi khuẩn *Aeromonas hydrophila*, kết quả là: nghiệm thức cho ăn 0,2 và 0,3% fucoidan cho tỷ lệ sống lên đến 75, 80%, cao hơn lô đối chứng 65-70%. Isnansetyo & cs. (2016) tiến hành tiêm fucoidan chiết xuất từ rong nâu *S. cristaefolium* vào cá rô phi (*Oreochromis niloticus*). Thí nghiệm được tiến hành như sau: cá rô phi khối lượng 125g được tiêm fucoidan với liều lượng lần lượt là: 0,1; 0,2; 0,4 và 0,6 mg/kg cá. Fucoidan được hòa tan trong dung dịch muối vô trùng có đệm phosphate (PBS), liều lượng tiêm là 0,1 ml/con, nhóm đối chứng cũng được tiêm 0,1 ml/con dung dịch PBS. Mỗi con được tiêm 3 lần, mỗi lần tiêm cách nhau 3 ngày. Sau ngày thứ 5, 10 và 15 sẽ lấy máu xét nghiệm. Kết quả cho thấy ở liều lượng tiêm 0,4-0,6 mg/kg cá sẽ làm tăng hiệu quả các thông số miễn dịch bẩm sinh của cá. Điều này chứng minh fucoidan có

Ảnh hưởng của fucoidan bổ sung vào thức ăn lên tăng trưởng của cá rô phi (*Oreochromis niloticus*) giai đoạn giống và khả năng cải thiện tỉ lệ sống của cá khi gây nhiễm vi khuẩn *Aeromonas veronii*

tiềm năng được sử dụng làm chất kích thích miễn dịch để kiểm soát bệnh của cá. Tác giả Hebatallah (2018) nghiên cứu bệnh trắng da bạc mang (Columnaris) do vi khuẩn *Flavobacterium columnare* đối với cá rô phi (40-60g) khi cho ăn thức ăn trộn fucoidan (8 g/kg thức ăn) trong thời gian 17 ngày, kết quả cho thấy fucoidan trong thức ăn làm giảm tỉ lệ chết xuống còn 0% và chữa khỏi các vảy bị ăn mòn, những nốt lở loét trên cơ thể của cá bị bệnh.

Những nghiên cứu trên những loài cá khác cũng chỉ ra ảnh hưởng tích cực của fucoidan lên hệ miễn dịch và khả năng kháng bệnh của chúng. Yang & cs. (2014) chứng minh khẩu phần có chứa fucoidan chiết xuất từ rong nâu *Sargassum horneri* có tác động rõ rệt tới miễn dịch không đặc hiệu ở cá trê vàng (*Pelteobagrus fulvidraco*), tuy nhiên lại không giảm tỉ lệ chết khi cá được cảm nhiễm với vi khuẩn *Aeromonas hydrophila*. Theo El-Boshy & cs. (2014), fucoidan có trong thức ăn sẽ cải thiện sức đề kháng của cá trê Mỹ (*Clarias gariepinus*) trong môi trường ô nhiễm kim loại nặng. Fucoidan cũng được chứng minh tính hiệu quả của nó khi được trộn vào thức ăn, làm tăng tỉ lệ sống, tăng khả năng đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu sau khi nhiễm vi khuẩn *Aeromonas hydrophila* trên cá trôi Ấn (*Labeo rohita*) (Gora & cs., 2018), tăng tốc độ sinh trưởng, tăng khả năng đáp ứng miễn dịch, cải thiện sinh lý máu ở cá tráp biển đỏ (*Pagrus major*) (Sony & cs., 2018), tăng đáng kể khả năng miễn dịch bẩm sinh của cá da trơn (*Clarias sp.*) (Cahyono & cs., 2019).

4. KẾT LUẬN

Tỉ lệ fucoidan bổ sung trong thức ăn (0,05%, 0,1%; và 0,5%) không ảnh hưởng tới tăng trưởng, FCR và tỉ lệ sống của cá rô phi trong 6 tuần.

Giá trị LD50 của vi khuẩn *Aeromonas veronii* đối với cá rô phi giai đoạn giống tìm được là $7,82 \times 10^4$ CFU/ml.

Hoạt chất fucoidan có ảnh hưởng tích cực đến tỉ lệ sống của cá rô phi sau khi cảm nhiễm vi khuẩn *Aeromonas veronii*, ở tỉ lệ bổ sung 1-5 g/kg là tốt cho cá, làm tăng tỉ lệ sống của cá từ 30% ở nghiệm thức không bổ sung lên đến

76% (NT3 bổ sung 1 g/kg thức ăn) và 80% (NT4 bổ sung 5 g/kg thức ăn).

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện từ nguồn kinh phí đề tài “Nghiên cứu tác động fucoidan bổ sung vào thức ăn lên tăng trưởng, tỉ lệ sống, hệ số chuyển hóa thức ăn và khả năng kháng bệnh do vi khuẩn *Aeromonas veronii* trên cá rô phi (*Oreochromis niloticus*) giai đoạn giống”. Mã số T2020-02-05VB do dự án Việt Bỉ, Học viện Nông nghiệp Việt Nam tài trợ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Azmai Mohammad Noor Amal, Koh C.B., Mohamad Nurliyana, Suhaiba M., Nor-Amalina Z., Santha S., Nadhirah Diyana, Yusof Mohd Termizi, Md Yasin Ina & Saad Mohd (2018). A case of natural co-infection of Tilapia Lake Virus and *Aeromonas veronii* in a Malaysian red hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. mossambicus*) farm experiencing high mortality. *Aquaculture*. 485. 10.1016/j.aquaculture.2017.11.019.
- Cahyono Purbomartono, Alim Isnansetyo, Murwantoko & Triyanto (2019). Dietary Fucoidan from *Padina boergesenii* to Enhance Non-specific Immune of Catfish (*Clarias sp.*). *Journal of Biological Sciences*. 19: 173-180.
- Dong H.T., Nguyen V.V., Le H.D., Sangsuriya P., Jitrakorn S., Saksmerprom V., Senapin S. & Rodkhum C. (2015). Naturally concurrent infections of bacterial and viral pathogens in disease outbreaks in cultured Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) farms. *Aquaculture*. 448: 427-435. doi:10.1016/j.aquaculture.2015.06.027
- Dong H.T., Techatanakitarnan C., Jindakittikul P., Thaiprayoon A., Taengphu S., Charoensapsri, Khunrae P., Rattanarojpong T. & Senapin, S. (2017). *Aeromonas jandaei* and *Aeromonas veronii* caused disease and mortality in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Journal of Fish Diseases*, 40(10): 1395-1403. doi:10.1111/jfd. 12617
- El-Boshy Mohamed. (2014). Dietary fucoidan enhance the non-specific immune response and disease resistance in African catfish, *Clarias gariepinus* immunosuppressed by cadmium chloride. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 162:168-173. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2014.10.001>.
- Gora A.H., Sahu N.P., Sahoo S., Rehman S., Dar S.A., Ahmad I. & Agarwal D. (2018). Effect of dietary

- Sargassum wightii* and its fucoidan-rich extract on growth, immunity, disease resistance and antimicrobial peptide gene expression in *Labeo rohita*. *International Aquatic Research*. 10(2): 115-131. doi:10.1007/s40071-018-0193-6
- Hebatallah Ahmed Mahgoub (2018). Can Fucoidan Decrease the Mortalities Caused by Columnaris Disease in Nile Tilapia? *World Journal of Agricultural Research*. 6(1): 1-4. doi: 10.12691/wjar-6-1-1
- Immanuel Grasian, Madasamy Sivagnanavelmurugan, Thangapandi Marudhupandi, Radhakrishnan Srinivasan & Palavesam Arunachalam (2012). The effect of fucoidan from *Sargassum wightii* on WSSV resistance and immune activity in shrimp *Penaeus monodon* (Fab). *Fish & shellfish immunology*. 32. 551-64. 10.1016/j.fsi.2012.01.003.
- Isnansetyo Alim, Fikriyah Amiqatul, Kasanah Noer & Murwantoko Murwantoko (2015). Non-specific immune potentiating activity of fucoidan from a tropical brown algae (Phaeophyceae), *Sargassum cristaefolium* in tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture International*. 24. 10.1007/s10499-015-9938-z.
- Khanzadeh M., Vazirzadeh A. & Farhadi A. (2020). Effect of Extract and Fucoidan of *Sargassum sp.* on Growth, biochemical, Immunity and antioxidant Parameters of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Isfj Journal Article*. 29(4) : 97-108. URL: <http://isfj.ir/article-1-2259-en.html>.
- Madasamy Sivagnanavelmurugan, Theaddaeus Bergmans, Palavesam Arunachalam & Immanuel Grasian (2014). Dietary effect of *Sargassum wightii* fucoidan to enhance growth, prophenoloxidase gene expression of *Penaeus monodon* and immune resistance to *Vibrio parahaemolyticus*. *Fish & shellfish immunology*. 39. 10.1016/j.fsi.2014.05.037.
- Mahgoub Hebatallah, El-Adl Mohamed, Ghanem Hanaa & Martyniuk Christopher (2020). The effect of fucoidan or potassium permanganate on growth performance, intestinal pathology, and antioxidant status in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish Physiology and Biochemistry*. 46. 10.1007/s10695-020-00858-w.
- Mir Ishfaq, Sushila Ngairangbam, Bhat Irfan, Dar Showkat, Yousuf Jaffer, Muralidhar Ande & Karthireddy Syamala (2018). Fucoidan: A Sulphated Polysaccharide and its Bioactive Potential in Aquaculture. *Aquaculture Times*. 4. 17-21.
- Popma T. & Masser M. (1999). *Tilapia: Life History and Biology*. Southern regional aquaculture center Publ. 283: 4.
- Raj Sundar, Swaminathan T. Raja, Dharmaratnam Arathi, Raja S., Ramraj D. & Lal Kuldeep (2019). *Aeromonas veronii* caused bilateral exophthalmia and mass mortality in cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) in India. *Aquaculture*. 512. 734278. 10.1016/j.aquaculture.2019.734278.
- Ramazanov Z., Jimenez del Rio M. & Ziegenfuss T. (2003) Sulfated polysaccharides of brown seaweed *Cystoseira canariensis* bind to serum myostatin protein. *Acta Physiol Pharmacol Bulg* 27:101-106
- Rani V., Jawahar Paulraj, Jeyashakila R. & Srinivasan Arasan (2020). Effect of Fucoidan of Brown Seaweeds on the Immuno-haematological Change and the Disease Resistance against *Aeromonas hydrophila* in Tilapia *Oreochromis mossambicus*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 9. 636-649. 10.20546/ijcmas.2020.908.071.
- Sony N.M., Ishikawa M., Hossain M.S., Koshio S. & Yokoyama S. (2018). The effect of dietary fucoidan on growth, immune functions, blood characteristics and oxidative stress resistance of juvenile red sea bream, *Pagrus major*. *Fish Physiology and Biochemistry*. doi:10.1007/s10695-018-0575-0
- Thangapandi Marudhupandi & Inbakandan Dhinakarasamy (2015). Polysaccharides in Aquatic Disease Management. *Fisheries and Aquaculture Journal*. 6: 1000135. 10.4172/2150-3508.1000135.
- Tuller J., De Santis C., & Jerry D.R. (2012). Dietary influence of Fucoidan supplementation on growth of *Lates calcarifer* (Bloch). *Aquaculture Research*. 45(4): 749-754. doi:10.1111/are.12029
- Wang Y., Xing M., Cao Q., Ji A., Liang H. & Song S. (2019). Biological Activities of Fucoidan and the Factors Mediating Its Therapeutic Effects: A Review of Recent Studies. *Marine Drugs*. 17(3): 183. doi:10.3390/md17030183.
- Wijesinghe W.A.J.P. & Jeon Y.J. (2012). Biological activities and potential industrial applications of fucose rich sulfated polysaccharides and fucoidans isolated from brown seaweeds: A review. *Carbohydr. Polym.* 88: 13-20.
- Yang Qing, Yang Rui, Li Ming, Zhou Qi-Cun, Liang Xiongpei & Elmada Zacharia (2014). Effects of dietary fucoidan on the blood constituents, anti-oxidation and innate immunity of juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). *Fish & shellfish immunology*. 41: 264-270. doi:10.1016/j.fsi.2014.09.003.