ẢNH HƯỞNG CỦA HÀM LƯỢNG DHA LÀM GIÀU LUÂN TRÙNG (*Brachionus plicatils*) VÀ ARTEMIA (*Artemia franciscana*) LÊN TĂNG TRƯỞNG, BIẾN THÁI VÀ TỶ LỆ SỐNG CỦA ẤU TRÙNG CỦA CÁ KHOANG CỔ CAM (*Amphiprion percula* Lacepède, 1802)

EFFECTS OF DHA CONTENT ENRICHED ROTIFER AND ARTEMIA ON GROWTH, METAMORPHOSIS AND SURVIVAL OF ORANGE CLOWNFISH (*Amphiprion percula* Lacepède, 1802) LARVAE

Nguyễn Thị Thúy[1], Nguyễn Tấn Sỹ[2], Phạm Thị Khanh[2], Đặng Trung Thành[3], Trần Văn Dũng[2*]

[1]Chi cục Thủy sản An Giang

[2]Viện Nuôi trồng Thủy sản, Trường Đại học Nha Trang

[3]Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Nha Trang

[*]Tác giả liên hệ: Trần Văn Dũng; (Email: tvdung@ntu.edu.vn)

Ngày nhận bài: 14/11/2022; Ngày phản biện thông qua: 24/12/2022; Ngày duyệt đăng: 28/12/2022

TÓM TẮT

DHA và các axít béo không no có vai trò quan trọng trong việc cải thiện kết quả ương ấu trùng cá biển nói chung. Trong nghiên cứu hiện tại, các hàm lượng DHA làm giàu thức ăn sống khác nhau (50, 100, 150 và 200 mg/L và đối chứng 0 mg/L) được thử nghiệm nhằm đánh giá ảnh hưởng lên tốc độ tăng trưởng, tỷ lệ sống và tỷ lệ biến thái của ấu trùng cá khoang cổ cam. Ấu trùng cá khoang cổ cam được ương trong các bể kính 30 lít với mật độ 1 con/ 1,5 lít nước. Ấu trùng được cho ăn thức ăn sống làm giàu DHA (A1 DHA Selco), gồm luân trùng (3 ngày đầu) và metanauplius Artemia (từ ngày thứ 2 trở đi). Thí nghiệm được thực hiện với 3 lần lặp trong thời gian 45 ngày. Kết quả nghiên cứu cho thấy việc bổ sung DHA làm giàu ở bất kỳ hàm lượng nào (50 – 200 mg/L) cũng cải thiện đáng kể tốc độ tăng trưởng, tỷ lệ sống và biến thái của ấu trùng cá khoang cổ cam so với đối chứng ($P < 0,05$). Trong đó, hàm lượng bổ sung 150 mg/L được xác định là tối ưu. Việc gia tăng hàm lượng lên mức 200 mg/L không những không cải thiện mà còn làm giảm kết quả ương so với mức 150 mg/L. Từ nghiên cứu này có thể kết luận rằng ấu trùng cá khoang cổ cam nên được cho ăn thức ăn làm giàu DHA (150 mg/L) nhằm đạt được các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống và biến thái tối ưu.

Từ khóa: *Amphiprion percula, biến thái, cá khoang cổ cam, sinh trưởng, tỷ lệ sống.*

ABSTRACT

DHA and other polyunsaturated fatty acids play an important role in improving the larval performance of marine finfish in general. In the present study, different concentrations of livefeed - enriched DHA (50, 100, 150 and 200 mg/liter and control, 0 mg/liter) were tested to evaluate the effect of this ingredient on growth, survival and metamorphosis of orange clownfish larvae. Larvae were reared in 30-liter glass tanks at a density of 1 fish/1.5 liters of water. Larvae were fed livefeed - enriched with DHA (A1 DHA Selco), consisting of rotifers (first 3 days) and metanauplius Artemia (from day 2 onwards). All treatements were conducted with three replicates for a period of 45 days. The study results showed that the enrichment of livefeed with DHA at any concentration (50 - 200 mg/liter) significantly improved the growth, survival and metamorphosis rates of orange clownfish larvae compared with the control ($P < 0.05$). In which, the supplement content of 150 mg/liter was determined to be optimal for this fish. Increasing the concentration to 200 mg/liter not only did not improve but also reduced the rearing results compared to the level of 150 mg/liter. From this study, it can be concluded that orange clownfish larvae should be fed livefeed - enriched DHA at the concentration of 150 mg/liter to achieve optimal growth, survival and metamorphosis rates.

Keywords: *Amphiprion percula, growth, metamorphosis, orange clownfish, survival rate.*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thức ăn là một trong những yếu tố ảnh hưởng lớn nhất đến kết quả ương giai đoạn đầu của ấu trùng cá biển [10, 17]. Trong điều kiện nuôi, với nguồn thức ăn hạn chế, việc thỏa mãn nhu cầu dinh dưỡng cho ấu trùng gặp nhiều khó khăn [8, 26]. Trong số này, luân trùng, Artemia, và Copepoda được sử dụng ngày càng phổ biến nhờ khả năng cung cấp chủ động và kích cỡ phù hợp. Trong khi luân trùng được sử dụng cho giai đoạn đầu thì các giai đoạn khác nhau của Artemia và Copepoda được sử dụng cho đến khi ấu trùng cá biển ăn được thức ăn viên [29]. Chế độ cho ăn không phù hợp, đặc biệt ở giai đoạn bắt đầu dinh dưỡng ngoài, là nguyên nhân gây thiếu hụt dinh dưỡng, làm chậm quá trình phát triển, tăng tỷ lệ dị hình, thậm chí gây chết ấu trùng đã được đề cập trên nhiều đối tượng nuôi, ví dụ cá tráp đỏ (*Pagrus major*) hay cá bơn vỉ (*Paralichthys olivaceus*) [10, 12, 36]. Mặc dù được sử dụng phổ biến, nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng cả luân trùng và Artemia đều thiếu hụt một số thành phần dinh dưỡng thiết yếu, đặc biệt là axít béo không no [13, 29]. Trong khi đó, cá biển nói chung không có khả năng tổng hợp thành phần này mà phải dựa hoàn toàn vào nguồn thức ăn [32, 35]. Để giải quyết vấn đề này, kỹ thuật làm giàu được sử dụng nhằm bổ sung dinh dưỡng [12, 29]. Do tính chủ động, tiện lợi trong quá trình sử dụng và bảo quản, các sản phẩm làm giàu thương mại như Selco, Algamac, A1 DHA... được sử dụng ngày càng phổ biến trong ương ấu trùng cá biển [14]. DHA là một trong những axít béo không no họ n-3 HUFA được chú ý hơn cả và việc bổ sung thành phần này đã được chứng minh là cải thiện đáng kể kết quả ương ấu trùng các loài cá biển [9, 12, 15]. Nhu cầu axít béo không no họ n-3 HUFA có sự khác biệt theo loài, giai đoạn phát triển, dao động từ 0,05 – 4,00% [19]. Cho đến nay, các nghiên cứu về nhu cầu axít béo không no HUFA nói chung và DHA nói riêng trong ương ấu trùng các loài cá khoang cổ vẫn còn rất hạn chế.

Cá khoang cổ cam (*Amphiprion percula*) thuộc giống cá khoang cổ (Amphiprion, Pomacentridae), phân bố tự nhiên ở các rạn san hô vùng biển nhiệt đới thuộc Ấn Độ - Thái Bình Dương [31]. Cá khoang cổ cam có màu sắc đẹp, giá trị kinh tế cao, được thị trường ưa chuộng nhờ khả năng thích nghi cao với điều kiện nuôi, tập tính sống cộng sinh độc đáo với hải quỳ. Cho đến nay, hầu hết các loài trong giống cá khoang cổ đã được sản xuất giống nhân tạo thành công [8]. Ở Việt Nam, cá khoang cổ cam được sản xuất giống thành công từ năm 2017, nối tiếp sau sự thành công trong sản xuất giống các loài cá khoang cổ đỏ (*A. frenatus*) và khoang cổ nemo (*A. ocellaris*) [2, 5]. Mặc dù đã được sản xuất giống thành công, tỷ lệ sống trong ương ấu trùng cá khoang cổ cam nói riêng và cá khoang cổ nói chung vẫn còn thấp, dao động từ 40 – 50% [2]. Số lượng và chất lượng con giống vẫn chưa đáp ứng được yêu cầu thị trường [2]. Nguyên nhân được cho là dinh dưỡng trong giai đoạn đầu khi ương ấu trùng cá mới nở chưa được tối ưu hóa. Việc bổ sung các a xít béo không no (HUFA) là một trong những giải pháp hiệu quả để cải thiện tỷ lệ sống và chất lượng ấu trùng ở nhiều loài cá biển như đã phân tích ở trên, tuy nhiên, điều này vẫn chưa được nghiên cứu và ứng dụng trên cá khoang cổ cam. Do đó, việc xác định hàm lượng DHA làm giàu thức ăn sống (luân trùng, Artemia) có ý nghĩa quan trọng trong việc cải thiện kết quả ương, qua đó, góp phần hoàn thiện quy trình công nghệ sản xuất giống nhân tạo loài cá cảnh biển này.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được tiến hành từ tháng 6 – 9/2022, tại Trại sản xuất giống cá cảnh biển Phường Vĩnh Hòa (Nha Trang, Khánh Hòa). Cá khoang cổ cam mới nở (chiều dài 3,18 ± 0,13 mm, khối lượng 0,63 ± 0,10 mg/con) được sản xuất tại trại, sử dụng cho các nghiệm thức thí nghiệm. Cá đưa vào thí nghiệm đảm bảo khỏe mạnh, màu sắc tự nhiên, không có biểu hiện bệnh. Cá được ương trong các bể kính, thể tích 30 lít/bể (kích thước: dài × rộng × cao: 40 × 30 × 30 cm), mật độ ương 20 con/bể. Bể ương được sục khí 24/24. Hệ thống bể thí

nghiệm được đặt dưới mái che, chế độ chiếu sáng tự nhiên.

Ấu trùng cá khoang cổ cam được cho ăn hoàn toàn bằng luân trùng và Artemia. Luân trùng được cấp vào bể ương trong vòng 3 ngày đầu, mật độ 15 – 20 con/ml, chia làm 2 lần/ngày (8h00 và 14h00). Artemia làm giàu (tương ứng với từng nghiệm thức thí nghiệm) được cấp từ ngày thứ 2 cho đến khi kết thúc thí nghiệm (ngày thứ 45) với mật độ 2 – 3 con/ml, chia làm 3 lần/ngày (8h00, 11h30 và 15h30).

Ảnh hưởng của hàm lượng DHA (A1 DHA Selco) làm giàu thức ăn sống (luân trùng và Artemia) lên sinh trưởng, tỷ lệ sống và biến thái của ấu trùng cá khoang cổ cam được thử nghiệm với năm nghiệm thức:

Nghiệm thức 1: ấu trùng được cho ăn thức ăn sống không làm giàu (đối chứng)

Nghiệm thức 2: ấu trùng được cho ăn thức ăn sống làm giàu DHA 50 mg/L.

Nghiệm thức 3: ấu trùng được cho ăn thức ăn sống làm giàu DHA 100 mg/L.

Nghiệm thức 4: ấu trùng được cho ăn thức ăn sống làm giàu DHA 150 mg/L.

Nghiệm thức 5: ấu trùng được cho ăn thức ăn sống làm giàu DHA 200 mg/L.

Nguồn gốc của DHA (A1 DHA Selco):

Phương pháp làm giàu thức ăn sống: Luân trùng được sử dụng trong thí nghiệm là loài *Brachionus plicatilis*. Luân trùng được nuôi tại trại bằng men bánh mì theo phương pháp nuôi, thu bán liên tục hiện áp dụng trong các trại sản xuất giống cá biển. Artemia được sử dụng là loài *Artemia franciscana* (Century, Mỹ). Artemia được ấp nở và thu theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Sau khi thu, luân trùng và metanauplius Artemia (10 tiếng sau khi nở) được làm giàu với mật độ lần lượt là 500 con và 50 – 70 con/ml. Hàm lượng chất làm giàu tương ứng với từng nghiệm thức thí nghiệm (0 – 200 mg/L). Quy trình làm giàu luân trùng và Artemia theo hướng dẫn của nhà sản xuất (INVE, Thái Lan). Thời gian làm giàu là 12 tiếng, chất làm giàu được hấp thu vào trong cơ thể con mồi. Trước khi cho ăn, luân trùng và Artemia được rửa sạch để loại bỏ nguy cơ gây ô nhiễm môi trường nước. Tiếp theo, chúng được định lượng và bổ sung vào bể ương cho ấu trùng.

Các thông số chất lượng nước bể ương được xác định định kỳ và duy trì trong phạm vi thích hợp. Chi tiết về thông số, dụng cụ đo, phạm vi, độ chính xác và tần suất đo được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Phương pháp xác định một số thông số môi trường nước

Thông số	Dụng cụ đo	Độ chính xác, phạm vi	Tần suất đo
Nhiệt độ (^oC)	556 MPS (YSI, Mỹ)	± 0,15^oC, -5 – 45	2 lần/ngày, 7h00, 14h00
Độ mặn (‰)	556 MPS (YSI, Mỹ)	± 0,1‰, 0 – 70	2 lần/ngày, 7h00, 14h00
pH	556 MPS (YSI, Mỹ)	± 0,2, 0 – 14	2 lần/ngày, 7h00, 14h00
Oxy hòa tan (mg/L)	556 MPS (YSI, Mỹ)	± 0,2 mg/L, 0 – 50	3 ngày/lần, 7h00, 14h00
TAN (NH_3/NH_4^+) (mg/L)	Hanna HI 96715	± 0,05 mg/L, 0,00 - 9,99	3 ngày/lần, 7h00, 14h00

Chất lượng nước được duy trì nhờ chế độ siphon (loại bỏ phân, chất thải) kết hợp với thay nước (2 lần/ngày, 7h30 và 17h30, 30% lượng nước/lần). Nước ngọt được thêm vào để điều chỉnh độ mặn trong phạm vi thích hợp, 33,0 ± 1,0‰. Bể nuôi, hoạt động của cá, cá chết (nếu có) được quan sát, thu gom và ghi chép hàng ngày để tổng hợp tính toán tỷ lệ sống vào thời điểm kết thúc thí nghiệm.

Thí nghiệm được thực hiện trong thời gian 45 ngày. Mỗi nghiệm thức được thực hiện với 03 lần lặp. Các chỉ tiêu đánh giá gồm chiều dài, khối lượng, hệ số phân đàn, hệ số điều kiện, tỷ lệ biến thái và tỷ lệ sống của cá vào thời điểm kết thúc thí nghiệm.

2. Phương pháp xác định và tính toán một số chỉ tiêu

Các chỉ tiêu tăng trưởng (chiều dài, khối lượng):

Chiều dài toàn thân (TL, total length) của cá tại thời điểm kết thúc thí nghiệm được xác định bằng cách đo toàn bộ số lượng cá còn lại trong bể. Chiều dài được đo bằng thước kẹp điện tử Mitutoyo 500-152 (Japan; 200 mm,

0,01 mm). Khối lượng toàn thân (BW, body weight) cá được xác định bằng cân điện tử Sartorius CPA224S (Germany; 220 g, 0,0001 g). Các thông số đánh giá và công thức xác định cụ thể như sau:

+ Chiều dài tăng lên (LG): LG (mm) = L_2 - L_1

+ Khối lượng tăng lên (WG): WG (mg) = W_2 - W_1

+ Tốc độ tăng trưởng chiều dài ngày (DGR_L): DGR_L (mm/ngày) = (L_2 - L_1) / t

+ Tốc độ tăng trưởng khối lượng ngày (DGR_W): DGR_W (mg/ngày) = (W_2 - W_1) / t

+ Tốc độ tăng trưởng chiều dài đặc trưng (SGR_L): SGR_L (%/ngày) = [(LnL_2 - LnL_1) / t] × 100

+ Tốc độ tăng trưởng khối lượng đặc trưng (SGR_W): SGR_W (%/ngày) = [(LnW_2 - LnW_1) / t] × 100

+ Hệ số điều kiện (CF): CF (g/cm^3) = 100 × W/L^3

+ Hệ số phân đàn chiều dài, coefficient of variation (CV_L): CV_L (%) = SD/Mean × 100

+ Hệ số phân đàn khối lượng, coefficient of variation (CV_W): CV_W (%) = SD/Mean × 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 (mm); t là thời gian thí nghiệm (ngày, 45 ngày); SD là độ lệch chuẩn; N_1, N_2 là số lượng cá ban đầu và kết thúc thí nghiệm.

Tỷ lệ sống (TLS):

Tỷ lệ sống được xác định vào thời điểm kết thúc thí nghiệm, bằng cách đếm tất cả số cá còn lại chia cho số cá đưa vào thí nghiệm (20 con), và được tính toán theo công thức: TLS (%) = (N_2 / N_1) × 100.

Tỷ lệ biến thái (MR) của ấu trùng:

Ấu trùng cá khoang cổ cam và nemo được xác định là hoàn tất biến thái khi xuất hiện đủ cả 3 sọc trắng trên thân và bắt đầu chuyển xuống sống đáy. Tùy theo điều kiện ương, ấu trùng sẽ hoàn tất biến thái sau 15 – 25 ngày [2, 22]. Trong nghiên cứu hiện tại, ngày thứ 20 được lựa chọn để xác định số lượng ấu trùng đã hoàn tất biến thái. Tỷ lệ biến thái (MR, %) ấu trùng được tính là số cá hoàn tất biến thái (xuất hiện đủ cả 3 sọc trắng trên thân) trên tổng số cá đưa vào thí nghiệm và được tính theo công thức: MR (%) = Nm / N_1 x 100, với Nm là số cá đã hoàn tất biến thái ở ngày thứ 20, N_1 là số lượng cá ban đầu.

3. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu sau khi thu thập được tính toán trên phần mềm Microsoft Excel 2016. Giá trị trung bình của các chỉ tiêu đánh giá của các nghiệm thức được phân tích thống kê bằng phương pháp phân tích phương sai một yếu tố (one-way ANOVA) trên phần mềm SPSS 22.0. Kiểm định Duncan được sử dụng để so sánh sự khác biệt giữa các giá trị trung bình ở mức ý nghĩa $p < 0,05$. Số liệu được trình bày dưới dạng Trung bình (Mean) ± Sai số chuẩn (SE), và Trung bình (Mean) ± Độ lệch chuẩn (SD) với các số liệu môi trường.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Kết quả

1.1. Các thông số môi trường nước

Nhìn chung, các thông số môi trường nước trong suốt thời gian thí nghiệm được duy trì trong phạm vi thích hợp nhờ hệ thống được đặt dưới mái che và chế độ thay nước 2 lần/ngày (30%/lần). Nhiệt độ trung bình 28,1 ± 0,71°C (dao động 26,6 – 30,5°C), pH (7,8 – 8,2), độ mặn 32,2 ± 0,56‰ (31,2 – 34,4‰), hàm lượng oxy hòa tan 5,5 ± 0,47 mg/L (5,2 – 6,2 mg/L), và hàm lượng ammonia tổng số (TAN) 0,45 ± 0,19 mg N/L (0,25 – 0,75 mg N/L).

Bảng 2. Các thông số môi trường nước trong quá trình thí nghiệm

Chỉ tiêu	Đối chứng	50 mg/L	100 mg/L	150 mg/L	200 mg/L
Nhiệt độ (°C)	28,1 ± 0,74	28,2 ± 0,67	28,1 ± 0,75	28,2 ± 0,64	28,2 ± 0,79
Độ mặn (‰)	32,1 ± 0,49	32,3 ± 0,57	32,4 ± 0,61	32,2 ± 0,58	32,3 ± 0,52
pH	7,8 – 8,2	7,8 – 8,2	7,8 – 8,2	7,8 – 8,2	7,8 – 8,2
Oxy hòa tan (mg/L)	5,4 ± 0,39	5,5 ± 0,43	5,4 ± 0,51	5,6 ± 0,53	5,5 ± 49
TAN (mg N/L)	0,43 ± 0,15	0,44 ± 0,18	0,46 ± 0,17	0,44 ± 0,21	0,47 ± 0,18

Các thông số môi trường nước trong nghiên cứu hiện tại đều nằm trong phạm vi phù hợp theo khuyến cáo tiêu chuẩn chất lượng nước cho nuôi trồng thủy sản bởi Boyd (1982) [7] và yêu cầu chất lượng nước trong quy trình sản xuất giống và nuôi cá khoang cổ cam [2]. Đáng chú ý, mặc dù hàm lượng TAN trung bình từ 0,43 – 0,47 mg/L nhưng ở mức pH từ 7,8 – 8,2 và nhiệt độ trung bình 28°C, tỷ lệ NH_3/TAN chỉ chiếm khoảng 4,24 – 10,0% [7] tương ứng với hàm lượng 0,02 – 0,05 mg/L. Ở phạm vi này, hàm lượng NH_3 không ảnh hưởng tới sinh trưởng và phát triển của cá khoang cổ cam.

1.2. Ảnh hưởng DHA làm giàu luân trùng và Artemia lên sinh trưởng của cá khoang cổ cam

1.2.1. Tăng trưởng về chiều dài

Các chỉ tiêu tăng trưởng về chiều dài của cá khoang cổ cam ở các mức làm giàu thức ăn sống khác nhau được thể hiện trong Bảng 3. Nhìn chung, cá được cho ăn thức ăn làm giàu ở hàm lượng 150 mg/L đạt chiều dài cuối lớn nhất (17,25 ± 0,54 mm), tiếp theo là các hàm lượng 50, 100 và 200 mg/L (lần lượt là 15,17 ± 0,54 mm, 15,59 ± 0,41 mm và 15,42 ± 0,48 mm), thấp nhất ở nghiệm thức đối chứng (13,37 ± 0,36 mm) ($P < 0,05$). Chiều dài cuối của cá ở các hàm lượng làm giàu 50, 100 và 200 mg/L không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$). Xu hướng tương tự cũng được ghi nhận đối với các chỉ tiêu chiều dài tăng lên (LG, mm), tốc độ tăng trưởng chiều dài theo ngày (DGR_L, mm/ngày) và tốc độ tăng trưởng chiều dài đặc trưng (SGR_L, %/ngày). Trong đó, các chỉ tiêu đạt được tốt nhất ở nghiệm thức làm giàu 150 mg/L và thấp nhất ở nghiệm thức đối chứng, lần lượt là 12,24 ± 0,48 mm, 0,27 ± 0,01 mm/ngày và 5,26 ± 0,10 %/ngày so với 10,19 ± 0,36 mm, 0,22 ± 0,01 mm/ngày và 4,79 ± 0,09 %/ngày ($P < 0,05$). Các chỉ tiêu này ở hàm lượng DHA làm giàu 50, 100 và 200 mg/L không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$) và thấp hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức 150 mg/L ($P < 0,05$; Bảng 3).

Bảng 3. Tăng trưởng về chiều dài của cá ở các hàm lượng DHA làm giàu khác nhau

Chỉ tiêu	Đối chứng	50 mg/L	100 mg/L	150 mg/L	200 mg/L
L_1 (mm)	3,18 ± 0,13	3,18 ± 0,13	3,18 ± 0,13	3,18 ± 0,13	3,18 ± 0,13
L_2 (mm)	13,37 ± 0,36^a	15,17 ± 0,54^b	15,59 ± 0,41^b	17,25 ± 0,54^c	15,42 ± 0,48^b
LG (mm)	10,19 ± 0,36^a	11,99 ± 0,54^b	12,41 ± 0,41^b	14,07 ± 0,54^c	12,24 ± 0,48^b
DGR_L (mm/ngày)	0,22 ± 0,01^a	0,27 ± 0,01^b	0,28 ± 0,01^b	0,31 ± 0,01^c	0,27 ± 0,01^b
SGR_L (%/ngày)	4,79 ± 0,09^a	5,20 ± 0,12^b	5,30 ± 0,09^b	5,63 ± 0,10^c	5,26 ± 0,10^b

Trong cùng hàng, các số liệu mang các ký tự chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, $P < 0,05$.

1.2.2. Tăng trưởng về khối lượng

Xu hướng kết quả tương tự cũng được thể hiện ở các chỉ tiêu đánh giá tốc độ tăng trưởng về khối lượng của cá khoang cổ cam. Trong đó, cá được cho ăn thức ăn sống làm giàu với hàm lượng 150 mg/L đạt khối lượng cuối (L_2, mm), khối lượng tăng lên (WG, mg/con), tốc độ tăng trưởng khối lượng theo ngày (DGR_W, mg/ngày) và tốc độ tăng trưởng khối lượng đặc trưng (SGR_W, %/ngày) cao nhất, lần lượt là 91,90 ± 4,11 mg/con, 91,27 ± 4,10 mg/con, 2,03 ± 0,09 mg/ngày và 16,60 ± 0,15 %/ngày. Các chỉ tiêu này đạt được thấp nhất ở nghiệm thức đối chứng, lần lượt là 43,10 ± 2,80 mg/con, 42,47 ± 2,78 mg/con, 0,94 ± 0,06 mg/ngày và 14,07 ± 0,21 %/ngày ($P < 0,05$). Các chỉ tiêu tăng trưởng khối lượng cá ở các hàm lượng DHA làm giàu 50, 100 và 200 mg/L không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$) và thấp hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức 150 mg/L ($P < 0,05$; Bảng 4).

Như vậy, có thể nhận thấy rằng việc bổ sung DHA làm giàu thức ăn sống (luân trùng và Artemia) ở bất kỳ hàm lượng nào cũng cải thiện đáng kể các chỉ tiêu tăng trưởng về chiều dài của ấu trùng cá khoang cổ cam so với nghiệm thức đối chứng. Điều này cho thấy tầm quan trọng của việc làm giàu thức ăn sống đối với tăng trưởng của ấu trùng cá khoang cổ cam.

1.3. Hệ số phân đàn và hệ số điều kiện

Việc làm giàu axít béo không no (DHA) cũng ảnh hưởng đáng kể đến các chỉ tiêu đánh

Bảng 4. Tăng trưởng về khối lượng của cá khoang cổ cam ở các mức làm giàu DHA khác nhau

Chỉ tiêu	Đối chứng	50 mg/L	100 mg/L	150 mg/L	200 mg/L
W_1 (mg/con)	0,63 ± 0,10	0,63 ± 0,10	0,63 ± 0,10	0,63 ± 0,10	0,63 ± 0,10
W_2 (mg/con)	43,10 ± 2,80^a	64,63 ± 5,26^b	72,08 ± 5,71^b	91,90 ± 4,11^c	68,05 ± 6,13^b
WG (mg/con)	42,47 ± 2,78^a	64,00 ± 5,28^b	71,47 ± 5,72^b	91,27 ± 4,10^c	67,43 ± 6,11^b
DGR_W (mg/ngày)	0,94 ± 0,06^a	1,42 ± 0,12^b	1,59 ± 0,13^b	2,03 ± 0,09^c	1,50 ± 0,14^b
SGR_W (%/ngày)	14,07 ± 0,21^a	15,41 ± 0,28^b	15,78 ± 0,27^b	16,60 ± 0,15^c	15,58 ± 0,31^b

Trong cùng hàng, các số liệu mang các ký tự chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, P < 0,05.

giá hệ số phân đàn và hệ số điều kiện của cá khoang cổ cam. Cá được cho ăn thức ăn sống làm giàu DHA với hàm lượng 150 mg/L đạt hệ số phân đàn chiều dài (CV_L, %) thấp hơn (16,00 ± 2,52%) so với các nghiệm thức bổ sung 50 và 200 mg/L (29,67 ± 3,53% và 33,33 ± 5,24%; P < 0,05). Không có sự khác biệt về hệ số phân đàn chiều dài của cá ở các hàm lượng bổ sung 100 mg/L và 0 mg/L (đối chứng) so với các nghiệm thức còn lại (P > 0,05). Hệ số phân đàn về khối lượng của cá (CV_W, %) ở nghiệm thức làm giàu với hàm lượng 150 mg/L (8,67 ± 1,20%) thấp hơn đáng kể so với nghiệm thức 200 mg/L (15,00 ± 2,08%; P < 0,05). Tuy nhiên, hệ số phân đàn khối lượng ở cả hai nghiệm thức này đều không có sự khác biệt so với các nghiệm thức còn lại, 0 – 100 mg/L (P > 0,05; Bảng 5).

Bảng 5. Hệ số phân đàn và hệ số điều kiện của cá ở các hàm lượng DHA làm giàu khác nhau

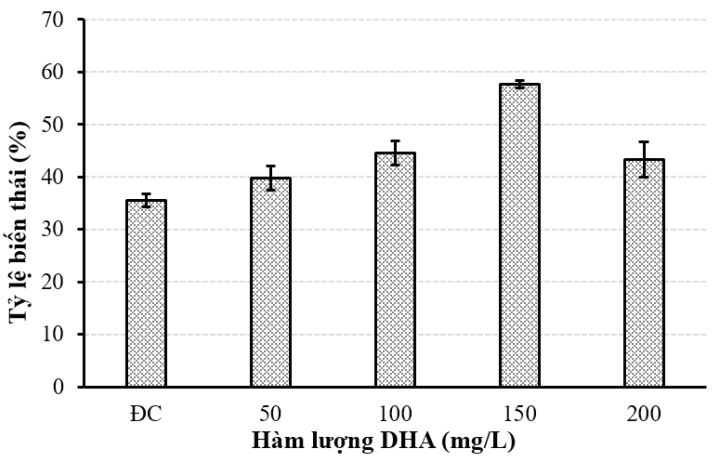
Chỉ tiêu	Đối chứng	50 mg	100 mg	150 mg	200 mg
CV_L (%)	22,33 ± 1,76^{ab}	29,67 ± 3,53^b	26,33 ± 3,18^{ab}	16,00 ± 2,52^a	33,33 ± 5,24^b
CV_W (%)	9,33 ± 1,86^{ab}	14,33 ± 1,76^{ab}	10,00 ± 1,53^{ab}	8,67 ± 1,20^a	15,00 ± 2,08^b
CF	1,80 ± 0,03^a	1,85 ± 0,07^a	1,89 ± 0,02^a	1,86 ± 0,04^a	1,94 ± 0,08^a

Trong cùng hàng, các số liệu mang các ký tự chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê P < 0,05.

Việc làm giàu thức ăn sống ở các hàm lượng DHA bổ sung khác nhau không ảnh hưởng đến hệ số điều kiện của cá (CF, %), dao động từ 1,80 – 1,94 (P > 0,05; Bảng 3).

1.4. Tỷ lệ biến thái ấu trùng

Tỷ lệ hoàn tất biến thái ấu trùng cá khoang cổ cam ở các chế độ làm giàu thức ăn sống khác nhau được thể hiện trong Hình 1. Cụ thể, cá sử dụng luân trùng và Artemia làm giàu DHA ở hàm lượng 150 mg/L đạt tỷ lệ hoàn tất biến thái cao nhất (57,65 ± 0,75%), tiếp theo là các hàm lượng 100 và 200 mg/L (lần lượt là



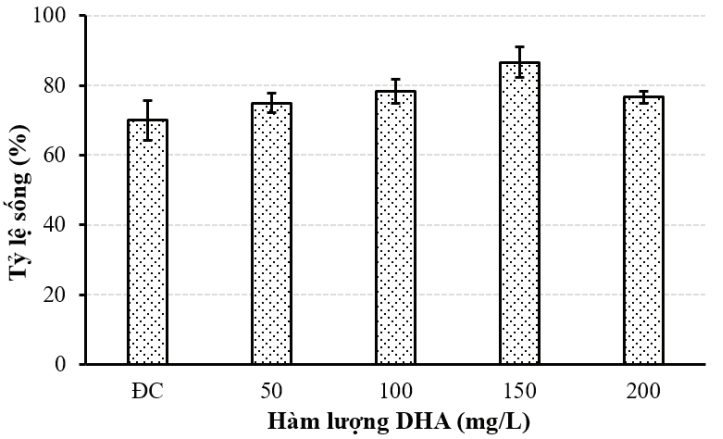
Hình 1. Tỷ lệ biến thái ấu trùng của cá ở các hàm lượng DHA làm giàu khác nhau

Các ký tự chữ cái khác nhau trên các cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (P < 0,05)

44,58 ± 2,29% và 43,33 ± 3,33%), và thấp nhất ở nghiệm thức đối chứng (35,51 ± 1,21%; P < 0,05). Tỷ lệ biến thái ấu trùng cá được làm giàu với hàm lượng 50 mg/L DHA không có sự khác biệt với các nghiệm thức 100 mg/L, 200 mg/L và đối chứng (P > 0,05).

1.5. Tỷ lệ sống

Hàm lượng chất làm giàu bổ sung cũng ảnh hưởng đáng kể đến tỷ lệ sống của ấu trùng cá khoangc ổ cam (Hình 2). Cá được cho ăn thức ăn sống làm giàu DHA ở mức 150 mg/L đạt tỷ lệ sống cao hơn so với nghiệm thức đối chứng (86,67 ± 4,41% so với 70,00 ± 5,77%; P < 0,05). Tuy nhiên, tỷ lệ sống của cá ở cả hai nghiệm thức này không có sự khác biệt với các nghiệm thức còn lại, dao động từ 75,00 – 78,33% (P > 0,05).



Hình 2. Tỷ lệ sống của cá ở các hàm lượng DHA làm giàu khác nhau

Các ký tự chữ cái khác nhau trên các cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (P < 0,05)

2. Thảo luận

Việc làm giàu thức ăn sống đã có những ảnh hưởng tích cực đến kết quả ương ấu trùng cá khoang cổ cam trong nghiên cứu này. Ở bất kỳ hàm lượng bổ sung nào, từ 50 – 200 mg/L, các chỉ tiêu tăng trưởng chiều dài và khối lượng của ấu trùng đều cao hơn so với đối chứng (Bảng 1 và Bảng 2). Điều này cho thấy vai trò của việc bổ sung DHA trong ương ấu trùng cá khoang cổ cam. Kết quả này tương tự với các nghiên cứu bổ sung DHA hay HUFA trên các loài cá biển khác như cá chim vây vàng (*Trachinotus ovatus*) [15], cá tráp (*Sparus aurata*) [27], cá chẽm (*Lates calcarifer*) [1] và cá cam (*Seriola quinqueradiata*) [23]. Trên các loài cá khoang cổ khác, việc bổ sung axít béo không no (Super Selco 50 – 200 mg/L hay Algamac 2.000/3.000 0,2 - 0,5 g/triệu luân trùng/Artemia) cũng cải thiện đáng kể tốc độ tăng trưởng của cá so với đối chứng [3, 6, 28]. Sự bổ sung này không chỉ giúp cung cấp năng lượng mà còn duy trì cấu trúc, chức năng của màng tế bào, hoạt động bình thường của các enzyme và hệ thần kinh; do đó, góp phần cải thiện tốc độ tăng trưởng của ấu trùng [16, 35]. Các nghiên cứu sâu hơn ở cấp độ phân tử cho thấy HUFA từ thức ăn làm tăng cường biểu hiện của các gen liên quan đến quá trình sinh tổng hợp DNA, protein và trao đổi chất trong cơ thể cá [21, 30]. Trên cá khoang cổ nemo (*A. ocellaris*), chế độ cho ăn giàu DHA đã tăng cường biểu hiện gen của IGF-2 (yếu tố thúc đẩy tăng trưởng), đồng thời, ức chế biểu hiện gen myostatin (yếu tố kìm hãm tăng trưởng) trong giai đoạn đầu của ấu trùng [6]. Điều này có thể giải thích cho tốc độ tăng trưởng cao hơn ở các nghiệm thức bổ sung DHA trong nghiên cứu hiện tại so với đối chứng.

Tỷ lệ hoàn tất biến thái ấu trùng ở các mức làm giàu DHA 100 – 200 mg/L cao hơn đáng kể so với 0 – 50 mg/L, và đạt tối ưu ở hàm lượng 150 mg/L. Một số nghiên cứu cũng chỉ ra rằng thức ăn có bổ sung n-3/n-6 HUFA (DHA, EPA, ARA) đã cải thiện đáng kể sự phát triển của ấu trùng cá biển. Nhìn chung, nhu cầu DHA và EPA ở giai đoạn đầu của ấu trùng thường cao

hơn các giai đoạn khác bởi tốc độ phát triển nhanh và biến thái diễn ra mạnh mẽ, được báo cáo trên các loài cá bơn (*Paralichthys lethostigma* và *Hippoglossus hippoglossus*) [24, 35]. Hàm lượng DHA/HUFA bổ sung thích hợp thúc đẩy các quá trình trao đổi chất và sinh tổng hợp diễn ra mạnh mẽ hơn, và điều này làm gia tăng tốc độ phát triển cũng như rút ngắn thời gian biến thái ấu trùng [6, 12, 28]. Mức bổ sung 150 mg/L trong nghiên cứu này đã thỏa mãn nhu cầu năng lượng cho cả sự tồn tại (tỷ lệ sống) và phát triển (biến thái) của ấu trùng so với đối chứng. Trên cá khoang cổ nemo, Hồ Sơn Lâm và ctv. (2019) cũng kết luận tỷ lệ sống của cá ở mức bổ sung 100 mg/L Super Selco cao hơn so với 150 – 200 mg/L [3]. Tỷ lệ sống cao hơn khi ấu trùng được cho ăn thức ăn làm giàu n – 3 HUFA cũng được báo cáo trên các loài cá chẽm [1], cá đù (Argyrosomus regius) [20] và cá cam sọc (Seriola dumerili) [34]. Thiếu hụt DHA trong khẩu phần ăn đã ảnh hưởng tiêu cực đến sự hình thành và hoạt động của một số cơ quan (thần kinh, thị giác, vận động…) làm gia tăng các biểu hiện bất thường về tập tính ăn mồi, bơi đi kèm tỷ lệ dị hình và hao hụt cao trong quá trình ương [24, 33].

Đáng chú ý, việc bổ sung DHA lên mức 200 mg/L không giúp cải thiện kết quả ương mà thậm chí còn làm giảm sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng. Trong khi đó, sinh trưởng và biến thái của ấu trùng ở mức bổ sung 50 – 100 mg/L thấp hơn đáng kể so với mức 150 mg/L. Do đó, có thể kết luận rằng mức bổ sung 150 mg/L là tối ưu cho ấu trùng cá khoang cổ cam. Kết quả này tương tự với Hồ Sơn Lâm và ctv. (2019) khi nhận thấy hàm lượng 100 mg/L tốt hơn so với 150 – 200 mg/L [3]. Điều này cho thấy nhu cầu DHA bổ sung có sự khác biệt theo loài cũng như giai đoạn phát triển, ví dụ 250 mg/L ở cá chim vây vàng [4], hay 6,0% tổng axít béo ở cá tuyết (Gadus macrocephalus) [11]. Tuy nhiên, một số nghiên cứu lại nhận thấy việc bổ sung DHA không ảnh hưởng đến sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng so với đối chứng, ghi nhận trên các loài cá tráp vây vàng (Acanthopagrus latus) [26], cá vược vằn (Morone saxatilis) [18] hay cá bơn (Solea senegalensis) [25]. Điều này đã khẳng định thêm rằng việc xác định nhu cầu DHA bổ sung là cần thiết với từng loài và thậm chí là từng giai đoạn cụ thể. Việc áp dụng chế độ làm giàu thức ăn sống ở loài này cho loài khác, ngay cả trong cùng một giống, có thể là không phù hợp, ví dụ ở cá khoang cổ nemo và cá khoang cổ cam (Amphiprion). Trong khi hàm lượng 100 mg/L được cho là thích hợp với cá khoang cổ nemo [3], hàm lượng 150 mg/L được xác định là tối ưu cho ương ấu trùng cá khoang cổ cam.

IV. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Việc làm giàu thức ăn sống (luân trùng và Artemia) với DHA đã cải thiện đáng kể kết quả ương ấu trùng cá khoang cổ cam. Trong đó, hàm lượng bổ sung 150 mg/L được xác định là tối ưu.

Các nghiên cứu tiếp theo nên đánh giá sâu hơn ảnh hưởng của hàm lượng DHA làm giàu thức ăn sống lên các chỉ tiêu sinh hóa, enzyme, khả năng chịu sốc và tỷ lệ dị hình của ấu trùng.

Lời cảm ơn

Bài báo được tài trợ kinh phí từ Đề tài nghiên cứu khoa học – công nghệ cấp Bộ Giáo dục và Đào tạo (B2021-TSN-03). *Nhóm tác giả xin gửi lời cảm ơn sâu sắc đến Vụ Khoa học – Công nghệ và Môi trường, Bộ Giáo dục và Đạo tạo, Trường Đại học Nha Trang, và Trại sản xuất Cá cảnh biển Vĩnh Hòa – Nha Trang đã tạo điều kiện để hoàn thành nghiên cứu này.*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tiếng Việt:

1. Lục Minh Diệp, Nguyễn Hữu Dũng, Maria Teresa Dinis, Elin KjØrsvik, Helge R. Reinertsen (2008), "Ảnh hưởng của các loại thức ăn làm giàu đến sự sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng cá chẽm (Lates calcarifer Bloch)", Tạp chí Khoa học – Công nghệ Thủy sản, Số 3: tr. 15 – 21.

2. Trần Văn Dũng (2017), *Nghiên cứu xây dựng quy trình sản xuất giống và nuôi thương phẩm cá khoang cổ cam Amphiprion percula (Lacepede, 1802),* Báo cáo tổng kết đề tài nghiên cứu khoa học công nghệ cấp Bộ Giáo dục và Đào tạo, Mã số B2014-13-09, Trường Đại học Nha Trang.
3. Hồ Sơn Lâm, Nguyễn Thị Nguyệt Huệ, Đinh Trường An, Phạm Thị Khanh (2019), "Ảnh hưởng của làm giàu thức ăn tươi sống bằng HUFA lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng cá khoang cổ nemo (*Amphiprion ocellaris* Cuvier, 1830)", *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Biển*, Tập 19(4A): tr. 191 – 199.
4. 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, Trường Đại học Nha Trang, 207 trang.
5. Nguyễn Thị Thanh Thủy và Hà Lê Thị Lộc (2013), "Tổng quan một số kết quả nghiên cứu nổi bật về nuôi trồng hải sản của viện hải dương học trong thời gian gần đây", Kỷ yếu Hội nghị Quốc tế "Biển Đông 2012", Nha Trang, tr. 189-198.
6. Tài liệu tiếng Anh:
7. Avella, M.A., Olivotto, I., Gioacchini, G., Maradonna, F., Carnevali, O. (2007), "The role of fatty acids enrichments in the larviculture of false percula clownfish *Amphiprion ocellaris*", *Aquaculture* 273: 87–95.
8. Boyd, C.E. (1982), *Water quality management for pond fish culture*, Elsevier Scientific Publishing Co.8
9. Calado, R., Olivotto, I., Oliver, M.P., Holt, G.J. (2017), *Marine ornamental species aquaculture*, Wiley Blackwell.
10. Campoverde, C. and Estevez, A. (2017), "The effect of live food enrichment with docosahexaenoic acid (22:6n-3) rich emulsions on growth, survival and fatty acid composition of meagre (*Argyrosomus regius*) larvae", *Aquaculture* 478: 16–24.
11. Chen, J.Y., Zeng, C., Jerry D.R. and Cobcroft, J.M. (2020), "Recent advances of marine ornamental fish larviculture: broodstock reproduction, live prey and feeding regimes, and comparison between demersal and pelagic spawners", *Reviews in Aquaculture* 12(3): 1518-1541.
12. Choi, J., Han, G.S., Byun, S.G., Oh, H.Y., Lee, T.H., Lee, D.Y., Lee, C.J., Kim, H.S. (2021), "Effects of dietary docosahexaenoic acid enrichment in Artemia feed on the growth, survival, and fatty acid composition of Pacific cod (*Gadus macrocephalus*) larvae", *Aquaculture Research* 53(12): 4353-4362.
13. Conceicao, L. and Tandler, A. (2018), *Success factors for fish larval production*, John Wiley and Sons.
14. Conceição, L.E.C., Yúfera, M., Makridis, P., Morais, S. and Dinis, M.T. (2010), "Live feeds for early stages of fish rearing", *Aquaculture Research* 41: 613-640.
15. Eryalcin, K.M. (2018), "Effects of different commercial feeds and enrichments on biochemical composition and fatty acid profile of rotifer (*Brachionus plicatilis* Müller 1786) and *Artemia franciscana*", *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 18: 81–90.
16. Fu, Z., Yang, R., Zhou, S., Ma, Z. and Zhang, T. (2021), "Effects of rotifers enriched with different enhancement products on larval performance and jaw deformity of golden pompano larvae *Trachinotus ovatus* (Linnaeus, 1758)", *Frontiers in Marine Science* 7, 1232.
17. Glencross, B.D. (2009), "Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species", *Reviews in Aquaculture* 1: 71–124.
18. Hamre, K., Yúfera, M., Rønnestad, I., Boglione, C., Conceição, L.E.C. and Izquierdo, M. (2013), "Fish larval nutrition and feed formulation: knowledge gaps and bottlenecks for advances in larval rearing", *Reviews in Aquaculture* 5: 26 - 58.

19. Harel, M., Koven, W., Lein, I., Bar, Y., Behrens, P., Stubblefield, J., Zohar, Y., Place, A.R. (2002), "Advanced DHA, EPA and ARA enrichment materials for marine aquaculture using single cell heterotrophs, *Aquaculture* 213(1-4): 347-362.
20. Izquierdo, M. (2005), "Essential fatty acid requirements in Mediterranean fish species," in *Mediterranean fish nutrition*, D. Montero, B. Basurco, I. Nengas, M. Alexis, M. Izquierdo, Eds. Zaragoza: CIHEAM, 91-102.
21. Khalil, H.S., Mansour, A.T., Goda, A.M.A., El-Hammady, A.K. and Omar, E.A. (2018), "Effect of poly-unsaturated fatty acids fortification on growth performance, survival, fatty acid composition and antioxidant balance of meagre, *Argyrosomus regius* larvae", *Journal of Aquaculture Research and Development* 9: 529.
22. Kumar, N., Chandan, N.K., Gupta, S.K., Bhushan, S., Patolea, P.B. (2022), "Omega-3 fatty acids effectively modulate growth performance, immune response, and disease resistance in fish against multiple stresses", *Aquaculture* 547: 737506.
23. Madhu, R., Madhu, K., Retheesh, T. (2012), "Life history pathways in false clown *Amphiprion ocellaris* Cuvier, 1830: a journey from egg to adult under captive condition", *Journal of Marine Biological Association of India* 54: 77–90.
24. Matsunari, H., Hashimoto, H., Oda, K., Masuda, Y., Imaizumi, H., Teruya, K., Furuita, H., Yamamoto, T., Hamada, K., Mushiake, K. (2013), "Effects of docosahexaenoic acid on growth, survival and swim bladder inflation of larval amberjack (*Seriola dumerili*, Risso)", *Aquaculture Research* 44: 1696–1705.
25. Mejri, S.C., Tremblay, R., Audet, C., Wills, P.S. and Riche, M. (2021), "Essential fatty acid requirements in tropical and cold-water marine fish larvae and juveniles", *Frontiers in Marine Science* 8: 680003.
26. Morais, S., Narciso, L., Dores, E., Pousao-Ferreira, P. (2004), "Lipid enrichment for Senegalese sole (*Solea senegalensis*) larvae: effect on larval growth, survival and fatty acid profile", *Aquaculture International* 12:281-298.
27. Morshedi, V., Mozanzadeh, M.Y., Hamedi, S., Naserifard, I., Ebrahimi, H., Agh, N., Nafisi, M., Azodi, M., Rashidian, G. (2022), "Enrichment of livefeed with very low level of docosahexaenoic acid (DHA) is enough for yellowtail sea bream (*Acanthopagrus latus*) larvae", *Aquaculture Reports* 26, 101310.
28. Mourente, G., Rodriguez, A., Tocher, D.R., Sargent, J.R. (1993), "Effects of dietary docosahexaenoic acid (DHA; 22: 6n- 3) on lipid and fatty acid compositions and growth in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) larvae during first feeding", *Aquaculture* 112: 79–98.
29. Olivotto, I., Di Stefano, M., Rosetti, S., Cossignani, L., Pugnaloni, A., Giantomassi, F., Carnevali, O. (2011), "Live prey enrichment, with particular emphasis on HUFAs, as limiting factor in false percula clownfish (*Amphiprion ocellaris*, Pomacentridae) larval development and metamorphosis: molecular and biochemical implications", *Comparative Biochemistry and Physiology – Part A Molecular and Integrative Physiology* 159: 207–218.
30. Pan, Y.J., Dahms, H.U., Hwang, J.S. and Souissi, S. (2022), "Recent trends in live feeds for marine larviculture: A mini review", *Frontiers in Marine Science* 9: 864165.
31. Peterson, B.C., Waldbieser, G.C., Bilodeau, L. (2004), "IGF-I and IGF-II mRNA expression in slow and fast growing families of USDA103 channel catfish (*Ictalurus punctatus*)", *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, Molecular and Integrative Physiology* 139: 317–323.
32. Pouil, S., Tlusty, M.F., Rhyne, A.L. and Metian, M. (2019), "Aquaculture of marine ornamental fish:

overview of the production trends and the role of academia in research progress", *Reviews in Aquaculture* 12: 1-14.

33. Rainuzzo, J.R., Reitan, K.I., Olsen, Y. (1997), "The significance of lipids at early stages of marine fish: a review", *Aquaculture* 155: 103–115.
34. Rezek, T.C., Watanabe, W.O., Harel, M. and Seaton, P.J. (2010), "Effects of dietary docosahexaenoic acid (22:6n-3) and arachidonic acid (20:4n-6) on the growth, survival, stress resistance and fatty acid composition in black sea bass *Centropristis striata* (Linnaeus 1758) larvae", *Aquaculture Research* 41: 1302–1314.
35. Roo, J., Hernández-Cruz, C.M., Mesa-Rodriguez, A., Fernández-Palacios, H. and Izquierdo, M.S. (2019), "Effect of increasing n-3 HUFA content in enriched Artemia on growth, survival and skeleton anomalies occurrence of greater amberjack *Seriola dumerili* larvae", *Aquaculture* 500: 651–659.
36. Tocher, D.R. (2010), "Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish", *Aquaculture Research* 41: 717–732.
37. Waqalevu, V., Honda, A., Dossou, S., Khoa, T.N.D., Matsui, H., Mzengereza, K., Matsui, H., Mzengereza, K., Liu, H., Ishikawa, M., Shiozaki, K., Kotani, T. (2019), "Effect of oil enrichment on *Brachionus plicatilis* rotifer and first feeding red sea bream (*Pagrus major*) and Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*)", *Aquaculture* 510: 73–83.