

THÔNG BÁO KHOA HỌC

**KHẢ NĂNG CHỊU SỐC ĐỘ MẶN VÀ SỰ TƯƠNG TÁC CỦA ĐỘ MẶN VỚI  
NHIỆT ĐỘ LÊN ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC VÀ SINH SẢN CỦA LOÀI COPEPODA  
*Pseudodiaptomus annandalei***

**TOLERANCE TO SALINITY SHOCK AND SALINITY-TEMPERATURE INTERACTION ON  
SURVIVAL, BIOLOGICAL CHARACTERISTICS AND REPRODUCTION OF THE COPE-  
POD *Pseudodiaptomus annandalei***

**Đoàn Xuân Nam<sup>1</sup>, Phạm Quốc Hùng<sup>1</sup>, Đinh Văn Khương<sup>1</sup>**

Ngày nhận bài: 08/08/2019; Ngày phân biệt thông qua: 21/11/2019; Ngày duyệt đăng: 11/12/2019

**TÓM TẮT**

Hai thí nghiệm được thực hiện để đánh giá khả năng chịu sốc độ mặn và sự tác động đồng thời của độ mặn và nhiệt độ lên tỷ lệ sống, sức sinh sản, tỷ lệ nở thành công, số naupli/cái và khả năng sinh sản của loài giáp xác chân chèo *Pseudodiaptomus annandalei*. Ở thí nghiệm 1, naupli, copepodit, copepoda đực và cái trưởng thành được kiểm tra khả năng chịu sốc độ mặn ở 9 nồng độ muối khác nhau: 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 ppt. Mỗi nghiệm thức có 3 lần lặp, tổng số 27 đơn vị thí nghiệm. Tỷ lệ sống sau 24 giờ và 48 giờ được xác định. Để đánh giá ảnh hưởng của sốc độ mặn lên tỷ lệ nở, số naupli nở ra/cái, các cá thể copepoda cái mang hai bọ trứng được chia ngẫu nhiên vào 9 độ mặn (tổng số 27 đơn vị thí nghiệm, 12 cái/đơn vị thí nghiệm) trong 30 giờ. Ở thí nghiệm 2, tác động đồng thời của hai yếu tố độ mặn và nhiệt độ, naupli mới nở F1 được nuôi trong các cốc nhựa 1 lít cho tới khi quần thể trưởng thành 100% ở 2 nhiệt độ (30°C và 34°C) kết hợp với 7 độ mặn (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 ppt), mỗi nghiệm thức có 5 lần lặp. Kích thước copepoda trưởng thành, sức sinh sản, tỷ lệ nở thành công, số naupli nở ra/copepoda được xác định. Để tiến hành xác định khả năng sinh sản (số naupli sinh ra trong 10 ngày bởi mỗi copepoda cái), 50 đực và 50 cái được bố trí ngẫu nhiên vào 5 đơn vị thí nghiệm. Số naupli sinh ra được đánh giá trong 10 ngày. Kết quả cho thấy sự thay đổi đột ngột về độ mặn ảnh hưởng đến tỷ lệ sống, tỷ lệ nở và số naupli/cái *P. annandalei*; sự kết hợp độ mặn - nhiệt độ ảnh hưởng đến kích thước, sức sinh sản, số naupli/cái và khả năng sinh sản (số naupli sinh ra) của copepoda *P. annandalei*. Khả năng chịu được sự thay đổi độ mặn của copepoda trưởng thành tốt hơn so với giai đoạn copepodit và naupli. Trứng copepoda không nở khi bị sốc độ mặn 0 ppt và 40 ppt. Kết quả thí nghiệm cho thấy, *P. annandalei* là loài rộng muối, chúng có thể sống và sinh sản ở độ mặn từ 5 đến 35 ppt trong điều kiện nhiệt độ 30 và 34°C. Loài *P. annandalei* có kết quả sinh sản cao nhất ( $157 \pm 3,0$  naupli trong 10 ngày/cái) ở tổ hợp độ mặn 15 ppt và nhiệt độ 30°C.

Từ khóa: Độ mặn và nhiệt độ, *Pseudodiaptomus annandalei*, sức sinh sản, sinh sản, tỷ lệ sống, tỷ lệ nở thành công

**ABSTRACT**

Two experiments were conducted to determine the effects of salinity shock and the combined effects of salinities and temperatures on survival, fecundity, hatching rate, nauplii production per female and reproduction ability of the copepod *Pseudodiaptomus annandalei*. In the salinity shocking experiment, nauplii, copepodites, adult males and adult females were directly introduced into one of nine different salinities 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 ppt from the culture salinity of 20 ppt without acclimation. Each treatment had three replicates and a total 27 experimental units. The survival was determined after 24h and 48h. Additionally, the hatching success and hatching nauplii were determined when ovigerous females were shocked in one of the same 9 salinities (27 experimental units, 12 female per experimental unit). In the salinity - temperature experiment, newly hatched

<sup>1</sup> Viện Nuôi trồng Thủy sản, Trường Đại học Nha Trang

nauplii F1 were cultured in 1-L plastic cups at two temperature regimes (30°C và 34°C) combined with seven different salinities (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 ppt) with five replicates per treatment. The adult size, fecundity, hatching success and nauplii/copepod were determined. In addition, 50 adult males and 50 adult females from each treatment were cultured (5 experimental units of 10 males and 10 females each). Nauplii production were observed for 10 days. Results indicate salinity shocking affects survival, hatching success, nauplii/female; the salinity - temperature combination affects adult size, fecundity and reproduction of copepod *P. annandalei*. Adult copepods dealt better with salinity shock than copepodites and nauplii. There was no hatching success at 0 ppt and 40 ppt. *P. annandalei* is euryhaline species that can growth and reproduction in a wide range of salinity from 5 to 35 ppt at 30 to 34°C. Our results suggest that the optimal salinity - temperature combination for the reproduction of this species ( $157 \pm 3.0$  nauplii/female in 10 days) is 15 ppt and 30°C.

Keywords: Salinity and temperature, *Pseudodiaptomus annandalei*, fecundity, reproduction, survival, hatching success

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ương nuôi ấu trùng là một trong những giai đoạn khó khăn nhất trong sản xuất giống cá biển. Thời điểm ăn đầu tiên ấu trùng cá thường có tỷ lệ chết cao do không được cung cấp đúng loại thức ăn. Trong các sinh vật phù du đang được sử dụng làm thức ăn sống, giáp xác chân chèo (copepoda) được cho là loại phù hợp cho ấu trùng cá biển hơn so với luân trùng và *Artemia*. Copepoda là thức ăn sống tự nhiên của ấu trùng cá biển, với hàm lượng DHA và EPA cao hơn so với luân trùng và *Artemia* đã được làm giàu, tỷ lệ DHA/EPA khoảng 2 (Shields và ctv, 1999, Conceição và ctv, 2010), với hơn 50% lipid là phospholipid (Bell và ctv, 2003) nên có thể đáp ứng đủ nhu cầu dinh dưỡng cho ấu trùng cá biển (Toledo và ctv, 1999, Garcia và ctv, 2008, Koedijk và ctv, 2010, Tam.T.D và Tung. H, 2015, Santhanam và ctv, 2019, Kassim và ctv, 2019). Nghiên cứu trên loài copepoda *Pseudodiaptomus annandalei* cho thấy thành phần cơ thể copepoda vẫn có hàm lượng HUFA cao cho dù được nuôi bằng loài tảo không có DHA như *Tetraselmis chuii*. Nghiên cứu này chứng tỏ thành phần axit béo trong cơ thể của loài *P. annandalei* không phụ thuộc hoàn toàn vào thành phần axit béo trong thức ăn như luân trùng và *Artemia* (Rayner và ctv, 2017). Đây là một lý do quan trọng giúp loài *Pseudodiaptomus annandalei* đang được quan tâm nghiên cứu nuôi sinh khối làm thức ăn sống trong nuôi trồng thủy sản hiện nay (Doi và ctv, 1997, Liao và ctv, 2001, Lee và ctv,

2010, Rayner và ctv, 2015). Nguồn copepoda *P. annandalei* trong ao nuôi thủy sản tại Việt Nam đang bị suy giảm bởi sự biến động của điều kiện môi trường tự nhiên (Grønning và ctv, 2019). Độ mặn và nhiệt độ được cho là những yếu tố sinh thái giới hạn chính ảnh hưởng lớn tới đặc điểm sinh học cơ bản của loài copepoda *P. annandalei* (Beyrend-Dur và ctv, 2011). Do vậy, việc tiến hành các nghiên cứu ảnh hưởng của độ mặn và sự tác động đồng thời của độ mặn cùng với yếu tố nhiệt độ lên loài *P. annandalei* là cần thiết, góp phần nâng cao hiệu quả nuôi sinh sản loài copepoda này, giúp giải quyết khó khăn trong khâu sản xuất giống các loài cá biển và từ đó thúc đẩy nghề nuôi cá biển phát triển bền vững.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Copepoda thí nghiệm

Loài copepoda *P. annandalei* được thu ngoài ao nuôi thủy sản diện tích 5.000 m<sup>2</sup>, có độ sâu trung bình 1,2 m và độ mặn nước 20 – 23 ppt tại trại thực nghiệm Cam Ranh, Viện Nuôi Trồng Thủy Sản, Trường Đại Học Nha Trang. Những *P. annandalei* cái mang bọc trứng được phân lập bằng cách sử dụng ống pipet hút ra từng cá thể dưới kính hiển vi soi nổi và sử dụng để gây nuôi tạo quần thể copepoda sống ở điều kiện phòng thí nghiệm: nhiệt độ 27 - 30°C và độ mặn 20 ppt. Quần thể *P. annandalei* này được sử dụng làm nguồn copepoda cho các thí nghiệm.

## 2. Bố trí thí nghiệm

**Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của sức độ mặn:** từ 20 ppt vào các độ mặn từ 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 ppt đến tỷ lệ sống của copepoda sau 24 giờ, 48 giờ và tỷ lệ nở thành công, số naupli nở ra sống/cái

*P. annandalei* được phân lập từ ao nuôi và nuôi sinh khối ở độ mặn 20 ppt, nhiệt độ 28 - 30°C. Bốn nhóm copepoda được sử dụng trong thí nghiệm này là (1) naupli N4 - N6, (2) copepodit C2 - C4, (3) copepoda đực trưởng thành, (4) copepoda cái trưởng thành. Các cá thể *P. annandalei* ở từng giai đoạn thu được từ bể nuôi sinh khối ở độ mặn 20 ppt sẽ được bố trí trực tiếp vào các nghiệm thức độ mặn từ 0 đến 40 ppt, không qua giai đoạn thuần độ mặn. Giai đoạn naupli được giữ trong các giếng nuôi có 3 ml nước; copepodit, copepoda đực và cái trưởng thành được nuôi giữ trong các đĩa petri nhựa có 10 ml nước. Thiết kế thí nghiệm cho 4 nhóm copepoda như nhau là: 9 độ mặn (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 ppt) × 3 lần lặp = 27 đơn vị thí nghiệm. Mỗi đơn vị thí nghiệm gồm 10 cá thể tương ứng tổng số 270 cá thể ở mỗi nhóm. Copepoda không được cho ăn trong 48 giờ thí nghiệm. Các đĩa petri được đặt trên bàn trong điều kiện nhiệt độ phòng thí nghiệm 29,5 - 30,5°C. Tỷ lệ sống các giai đoạn tại thời điểm 24 giờ và 48 giờ được xác định.

Để đánh giá tỷ lệ nở thành công và xác định số naupli/copepoda cái được bố trí trong các vi nuôi và cũng gồm 27 đơn vị thí nghiệm ứng 9 độ mặn như trên. Mỗi đơn vị thí nghiệm gồm 12 cá thể cái mang 2 bọc trứng, mỗi copepoda được nuôi trong 1 giếng nuôi chứa 3 ml nước có độ mặn tương ứng với mỗi nghiệm thức từ 0 đến 40 ppt. Copepoda được cho ăn tảo *Isochrysis galbana* 1 lần với mật độ tảo 30.000 đến 35.000 tế bào/ml để tránh copepoda đói ăn naupli. Các vi nuôi được đặt trên bàn trong nhiệt độ phòng thí nghiệm 29,5 - 30,5 °C. Sau 30 giờ nuôi, xác định số giếng có naupli nở ra, cố định và đếm số naupli trong mỗi giếng.

**Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng đồng thời của 2 yếu tố độ mặn và nhiệt độ đến kích thước trưởng thành, sức sinh sản, tỷ lệ nở thành công, số naupli nở ra/cái và tổng số naupli sinh ra**

**trong 10 ngày của copepoda *P. annandalei*:**

Thí nghiệm được thiết kế: 2 nhiệt độ (30°C và 34°C) × 7 độ mặn (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 ppt) × 5 lần lặp = 70 đơn vị thí nghiệm.

*P. annandalei* trưởng thành được lọc thu từ ao có độ mặn 20 - 23 ppt và nhiệt độ 26 - 29°C, được nuôi thuần về nhiệt độ và độ mặn thí nghiệm trong 3 - 4 ngày. Sau đó, các cá thể cái mang trứng được phân lập cho sinh sản. 30 cá thể cái mang trứng được nuôi trong 1 cốc nhựa 1 lít. Sau 30 giờ, những cá thể cái được lọc bằng vợt lọc có mắt lưới 200 μm và chỉ giữ lại nước có naupli F1 mới nở trong mỗi cốc tương ứng với mỗi đơn vị thí nghiệm. Các cốc chứa naupli được đặt trong các bể ổn nhiệt độ có thiết bị điều khiển nhiệt độ về nhiệt độ thí nghiệm 30°C và 34°C. Copepoda được cho ăn một lần trong ngày bằng tảo *Chaetoceros muelleri*. *P. annandalei* sẽ được nuôi cho tới khi tất cả các cá thể phát triển đến giai đoạn trưởng thành ở ngày tuổi thứ 13. Các cá thể trưởng thành được sử dụng để bố trí xác định các thông số như: kích thước cá thể đực và cái trưởng thành; sức sinh sản; tỷ lệ nở thành công và số naupli nở ra ở mỗi copepoda cái.

50 copepoda đực và 50 copepoda cái trưởng thành được thu từ mỗi nghiệm thức và bố trí vào 5 đơn vị thí nghiệm. Mỗi đơn vị thí nghiệm gồm 10 copepoda đực và 10 copepoda cái trưởng thành được nuôi trong một cốc nhựa 1 lít nước. Hàng ngày lọc thu naupli để đếm, loại bỏ cá thể đực và cái chết trong thời gian 10 ngày.

## 3. Chế độ chăm sóc và quản lý thí nghiệm

Trong thí nghiệm 2: Thức ăn nuôi *P. annandalei* là tảo *C. muelleri* với mật độ cho ăn khoảng 87.000 tế bào/ml, ngày 1 lần. *P. annandalei* được nuôi trong nước đã được lọc sạch bằng lõi lọc có kích thước 0,5 μm. Nước có độ mặn từ 5 đến 30 ppt sẽ được pha từ nước biển sạch có độ mặn 33 ppt với nước ngọt 0 ppt; nước có độ mặn 35 ppt có được từ phơi nắng nước biển 33 ppt.

Chế độ chiếu sáng 12 sáng: 12 tối bằng ánh sáng đèn huỳnh quang 36W dài 1,2 m từ trần phòng thí nghiệm. Nhiệt độ thí nghiệm được kiểm soát bằng các thiết bị ổn nhiệt (heater)

đặt trong các bể ổn nhiệt có chứa nước và được theo dõi ngày 4 lần.

#### 4. Phương pháp thu và phân tích mẫu

##### Thí nghiệm 1:

Tỷ lệ sống ở thời điểm 24 giờ và 48 giờ được tính bằng số copepoda còn sống chia cho số copepoda ban đầu (10 copepoda) trong mỗi đơn vị thí nghiệm.

Tỷ lệ nở thành công sau 30 giờ ấp nở được tính cho số *P. annandalei* cái mang trứng có naupli nở ra trong giếng trên tổng số 12 *P. annandalei* cái đưa vào ấp nở ở mỗi đơn vị thí nghiệm (12 con/vi nuôi, 12 giếng nuôi trong 1 vi nuôi), 3 vi nuôi ở mỗi nghiệm thức.

Số naupli trung bình nở ra từ mỗi *P. annandalei* cái được tính bằng tổng số naupli chia cho 12 *P. annandalei* cái mang trứng ở mỗi đơn vị thí nghiệm. Naupli được cố định bằng Lugol 4% trước khi đếm số lượng dưới kính hiển vi soi nổi.

##### Thí nghiệm 2:

Kích thước *P. annandalei* trưởng thành (50 đực và 50 cái mỗi nghiệm thức) được đo bằng kính hiển vi soi nổi (Olympus SZ61) có gắn thước đo trên thị kính: được tính từ đỉnh đầu đến hết phần đầu ngực (Prosome length). Sau đó kích thước trên được quy đổi ra kích thước thực tế (với độ chính xác là 10 μm) thông qua tính toán từ phép đo thước chuẩn (1 mm = N số vạch) trên kính soi nổi ở cùng vật kính. Kích thước thực tế (μm) = số vạch \* 1000/N.

Sức sinh sản/lần đẻ là số trứng trong hai buồng trứng của mỗi *P. annandalei* cái. Với 50 con cái mang trứng ở mỗi nghiệm thức độ mặn và nhiệt độ được cố định bằng formol 5%, sau đó mổ rạch bọc trứng và đếm số trứng trong 2 bọc trứng dưới kính hiển vi soi nổi (Olympus SZ61).

Số naupli trung bình nở ra từ mỗi *P. annandalei* cái được tính bằng tổng số naupli chia cho số *P. annandalei* cái mang trứng ở mỗi đơn vị thí nghiệm. Naupli được cố định bằng Lugol 4% trước khi đếm số lượng dưới kính hiển vi soi nổi. Mỗi đơn vị thí nghiệm gồm 12 cái/một vi nuôi, 5 vi nuôi ở mỗi nghiệm thức.

Trung bình số naupli được sinh ra bởi mỗi *P. annandalei* cái trong 10 ngày là tổng trung

binh số naupli sinh ra mỗi ngày ở mỗi nghiệm thức. Naupli được lọc thu hàng ngày và cố định bằng Lugol 4% trước khi đếm số lượng dưới kính hiển vi soi nổi. Số naupli trung bình mỗi ngày (sinh ra bởi một copepoda cái) ở mỗi đơn vị thí nghiệm được tính bằng tổng số naupli chia cho tổng số copepoda cái còn sống.

#### 5. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu về tỷ lệ sống, sức sinh sản, tỷ lệ nở thành công, số naupli nở ra và số naupli sinh ra được trình bày dưới dạng giá trị trung bình ± sai số chuẩn (Mean ± SE). Tất cả các số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft excel 2010 và phần mềm SPSS version 22 với phân tích phương sai ba yếu tố (Three-way ANOVA) và một yếu tố (One-way ANOVA), so sánh Duncan với mức ý nghĩa P<0,05.

### III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

#### 1. Ảnh hưởng của sốc độ mặn

##### 1.1. Tỷ lệ sống của *P. annandalei*

Thời gian sốc độ mặn ảnh hưởng đến tỷ lệ sống của *P. annandalei* (P<0,05). 100% ấu trùng (naupli) chết tại thời điểm 24 giờ ở các độ mặn 0, 5, 10, 35, 40 ppt và tại thời điểm 48 giờ ở các độ mặn 15, 25, 30 ppt (Hình 1). Ở độ mặn 20 ppt, naupli có tỷ lệ sống cao đạt 90% và 80% tương ứng với thời điểm 24 giờ và 48 giờ, sai khác có ý nghĩa thống kê với tất cả các độ mặn còn lại (P<0,05). Kết quả thể hiện ở hình 2 cho thấy, tại thời điểm 24 giờ và 48 giờ, tỷ lệ sống của giai đoạn con non (copepodit) đạt hơn 60% ở các độ mặn 20, 25, 30 ppt và sai khác không có ý nghĩa thống kê giữa ba nghiệm thức này (P>0,05). Tỷ lệ sống của copepodit thấp hơn ở những nghiệm thức độ mặn 10, 15, 35, 40 ppt và 100% chết ở độ mặn 0 ppt tại thời điểm 24 giờ. Tại thời điểm 48 giờ, 100% copepodit chết ở độ mặn 5 và 40 ppt, tỷ lệ sống trung bình 6,7% ở các độ mặn 10 và 35 ppt. Tỷ lệ sống copepodit tại thời điểm 24 giờ ở 15 ppt thấp hơn so với độ mặn 20 ppt (P<0,05), nhưng lại sai khác không có ý nghĩa thống kê với nghiệm thức độ mặn 25 và 30 ppt (P>0,05). Tỷ lệ sống trung bình của copepodit tại thời điểm 48 giờ thấp hơn so với tỷ lệ sống tại thời điểm 24 giờ ở tất cả các độ

mặn. Copepoda trưởng thành đực có tỷ lệ sống cao ở độ mặn từ 5 đến 30 ppt đạt tỷ lệ sống từ 80% tại cả 2 thời điểm 24 và 48 giờ (Hình 3), sai khác không có ý nghĩa thống kê giữa các độ mặn này ( $P>0,05$ ). Tỷ lệ sống thấp hơn ở hai độ mặn 35 và 40 ppt, sai khác có ý nghĩa thống kê với nhau và với các độ mặn còn lại ( $P<0,05$ ). Copepoda đực chết hoàn toàn ở độ mặn 0 ppt ngay tại thời điểm 24h. Tỷ lệ sống trung bình của copepoda đực trưởng thành tại thời điểm 48 giờ giảm ở các độ mặn 5, 10, 30, 35, 40 ppt. Copepoda cái trưởng thành đạt tỷ lệ sống 100% ở thời điểm 48 giờ ở các độ mặn từ 10 đến 30 ppt, thấp hơn đạt 86,7% ở độ mặn 5 ppt và 90% ở độ mặn 35 ppt (Hình 4). Tỷ lệ sống sai khác không có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức độ mặn từ 5 đến 35 ppt, ở cả hai thời điểm 24 và 48 giờ ( $P>0,05$ ). Tỷ lệ sống đạt thấp hơn ở độ mặn 40 ppt (40%) và 0 ppt (0%). Đồng thời tỷ lệ sống ở hai độ mặn 40 và 0 ppt sai khác có ý nghĩa thống kê với nhau và với các nghiệm thức độ mặn còn lại ( $P<0,05$ ). Tỷ lệ sống copepoda cái trưởng thành như nhau tại thời điểm 24 giờ và 48 giờ cả tất cả các độ mặn.

Các giai đoạn khác nhau có tỷ lệ sống khác nhau khi bị sốc độ mặn. Cụ thể giai đoạn trưởng thành có tỷ lệ sống cao hơn so với giai đoạn copepodit và thấp nhất ở giai đoạn naupli. Điều này có thể liên quan đến khả năng điều chỉnh áp suất thẩm thấu của cơ thể copepoda với sự thay đổi môi trường ngoài ở cá thể trưởng thành tốt hơn so với các giai đoạn còn non và ấu trùng. Sự tương tác hai yếu tố độ mặn - giai đoạn có ảnh hưởng tới tỷ lệ sống copepoda nhưng sự tương tác của ba yếu tố độ mặn - thời gian sốc-giai đoạn lại không ảnh hưởng đến tỷ lệ sống của copepoda (Bảng 1).

Thử nghiệm về sốc độ mặn nhằm đánh giá được khả năng sống sót của copepoda *P. annandalei* khi môi trường nước nuôi thay đổi đột ngột hoặc khi copepoda được sử dụng để làm thức ăn cho ấu trùng các đối tượng thủy sản ở các độ mặn nuôi khác nhau. Thí nghiệm này cũng có ý nghĩa để dự báo mật độ và khả năng thu sinh khối của copepoda trong các ao nuôi khu vực miền Trung, nơi thường xuyên bị ảnh hưởng bởi

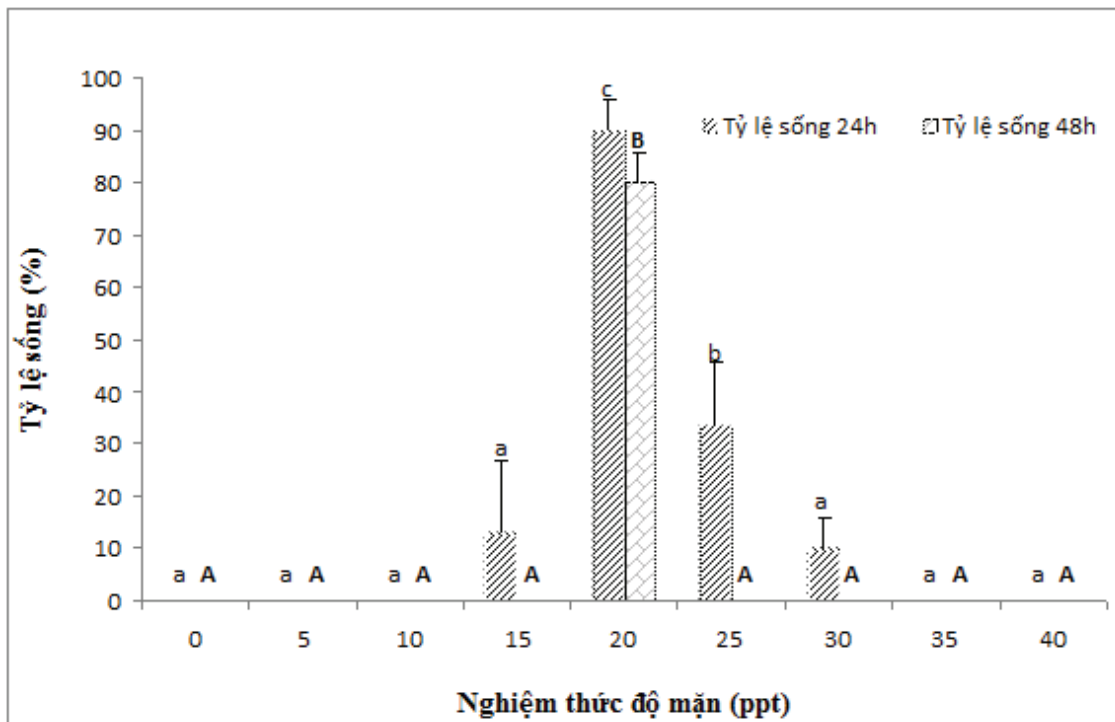
mưa lũ trong những tháng mùa mưa. Khi đó, độ mặn trong các ao nuôi có thể giảm nhanh và duy trì ở độ mặn thấp trong nhiều ngày. Mặc dù, *P. annandalei* là loài rộng muối nhưng vẫn không thể sống sót khi đưa vào nước ngọt, thể hiện tỷ lệ sống bằng 0 % ở tất cả các giai đoạn. Nghiên cứu sốc độ mặn copepoda *Eurytemora affinis* trưởng thành (loài rộng muối) từ độ mặn đang sống là 15 ppt vào nước ngọt 0 ppt cho tỷ lệ chết lên đến hơn 70 % ngay trong một giờ thí nghiệm đầu tiên (Lee, Carol Eunmi và Petersen, Christine H, 2003). Khả năng chịu đựng được sốc độ mặn của copepoda *P. annandalei* cái trưởng thành tốt hơn so với con đực trưởng thành giống như trong nghiên cứu của Chen và ctv (2016). Tuy nhiên khác là trong nghiên cứu của Chen, con cái *P. annandalei* vẫn sống ở độ mặn 0 ppt (tỷ lệ sống còn 26,73 %) tại thời điểm 48 giờ. Giai đoạn trưởng thành *P. annandalei* có khả năng chịu đựng được với sự thay đổi độ mặn tốt hơn so với giai đoạn con non và ấu trùng. Kết quả cho thấy ấu trùng không thể chịu đựng được sự thay đổi độ mặn ở mức từ 5 đơn vị độ mặn (ppt) trong khoảng thời gian dài đến 48 giờ. Điều này cho thấy khả năng điều tiết áp suất thẩm thấu của ấu trùng còn rất kém, có thể cơ quan phục vụ cho chức năng điều tiết áp suất thẩm thấu chưa phát triển ở giai đoạn đầu và chỉ phát triển hoàn thiện ở giai đoạn lớn hơn và trưởng thành. Quá trình điều tiết áp suất thẩm thấu ở copepoda cũng tiêu tốn một phần năng lượng nên làm giảm phần năng lượng dành cho các quá trình quan trọng khác (Goolish và Burton, 1989). Khi bị sốc độ mặn, copepoda cũng tiêu tốn thêm nhiều năng lượng hơn do tăng hoạt động hô hấp (Calliari và ctv, 2006). Kết quả ấu trùng chết khi bị sốc độ mặn có thể do bản thân nguồn dự trữ năng lượng trong cơ thể ấu trùng không đủ để đáp ứng cho hoạt động điều tiết áp suất thẩm thấu. Bên cạnh đó, trong nghiên cứu sốc độ mặn này được tiến hành trong điều kiện không có thức ăn để tránh những ảnh hưởng phụ (confounding effects) do sự thay đổi thành phần dinh dưỡng của tảo khi bị sốc độ mặn gây ra cho copepoda. Do vậy, đây cũng có thể là một nguyên nhân làm tăng tỷ lệ chết copepoda trong nghiên cứu, đặc biệt

giai đoạn ấu trùng, khi không có nguồn năng lượng từ thức ăn bổ sung. Ngược lại, giai đoạn copepoda trưởng thành có nhiều năng lượng dự trữ hơn và có khả năng điều tiết áp suất thẩm thấu tốt hơn nên có thể sống sót tốt hơn trong điều kiện thay đổi độ mặn với khoảng từ 5 đến 15 đơn vị độ mặn (ppt). Nghiên cứu trên loài copepoda *Acartia tonsa* và *A. clausi* cũng cho thấy copepoda trưởng thành có khả năng chịu đựng được sốc độ mặn tốt (Calliariab và ctv, 2008). Kết quả copepoda *P. annandalei* đực

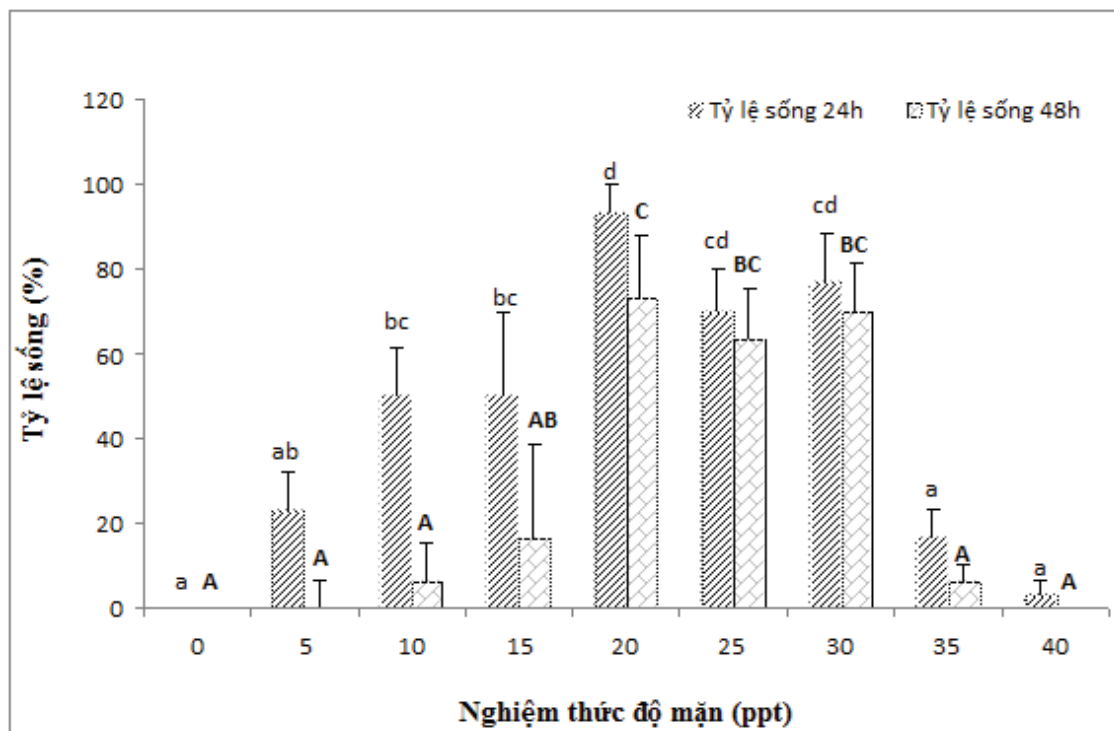
trưởng thành có tỷ lệ sống thấp hơn so với copepoda cái khi sốc vào độ mặn 5, 10, 35, 40 ppt. Có thể do copepoda đực trưởng thành thường di chuyển nhiều hơn so với con cái nên tiêu hao nhiều năng lượng hơn và dễ bị chết hơn. Do vậy, việc thuần độ mặn ở copepoda *P. annandalei* đối với các giai đoạn phát triển naupli và copepodit, đặc biệt giai đoạn ấu trùng thì cần thời gian dài hơn với mức tăng hay giảm độ mặn ở mức biến động nhỏ hơn.

**Bảng 1. Phân tích three-way ANOVA: Ảnh hưởng của độ mặn, thời gian sốc, giai đoạn phát triển đến tỷ lệ sống của *P. annandalei***

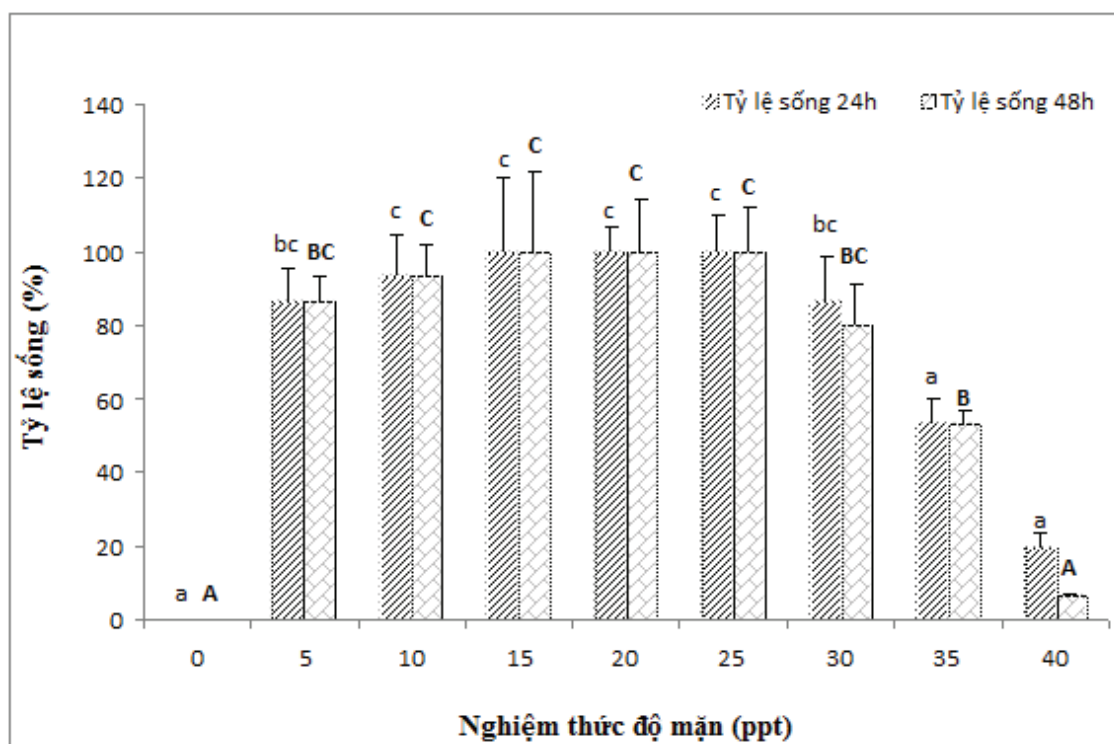
Ảnh hưởng lên tỷ lệ sống (%)	df	F	P
Độ mặn	8	88,069	<0,001
Thời gian sốc	1	7,177	< 0,05
Giai đoạn	3	229,236	< 0,001
Độ mặn * Thời gian sốc	8	0,256	>0,05
Độ mặn * Giai đoạn	24	11,303	< 0,001
Thời gian sốc * Giai đoạn	3	1,800	>0,05
Độ mặn * Thời gian sốc * Giai đoạn	24	0,470	>0,05



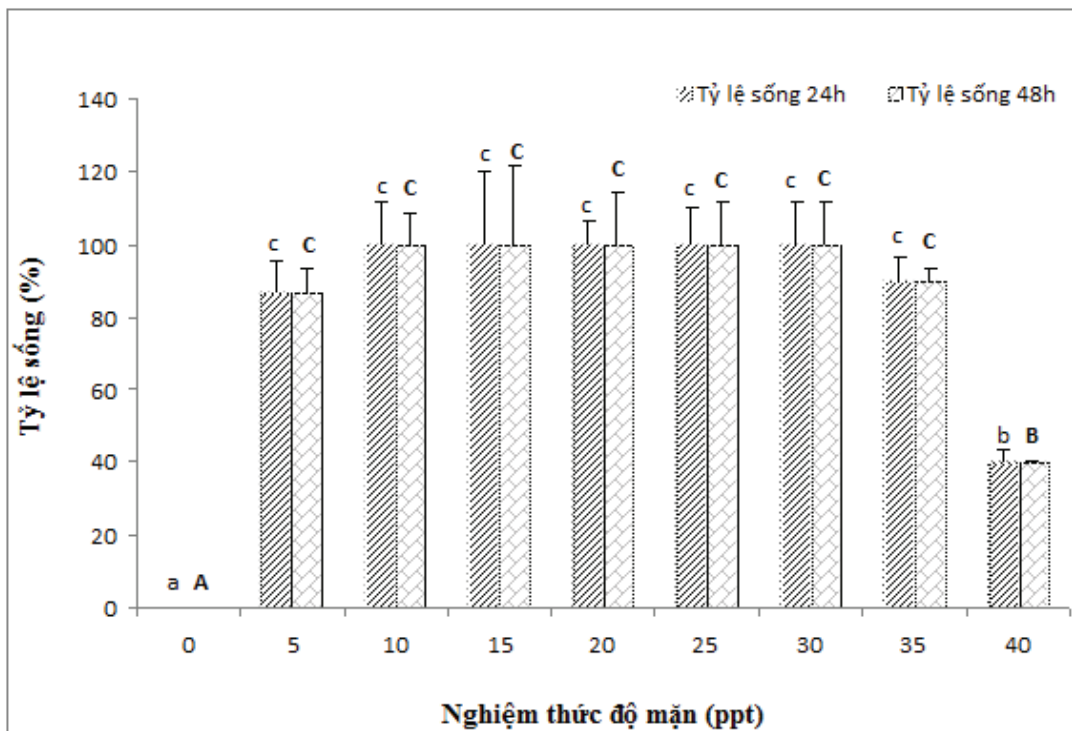
**Hình 1. Ảnh hưởng của sốc độ mặn lên tỷ lệ sống giai đoạn naupli *P. annandalei***



Hình 2. Ảnh hưởng của sức độ mặn lên tỷ lệ sống giai đoạn copepodit *P. annandalei*



Hình 3. Ảnh hưởng của sức độ mặn đến tỷ lệ sống copepoda đực trưởng thành *P. annandalei*



Hình 4. Ảnh hưởng của sức độ mặn đến tỷ lệ sống copepoda cái trưởng thành *P. annandalei*

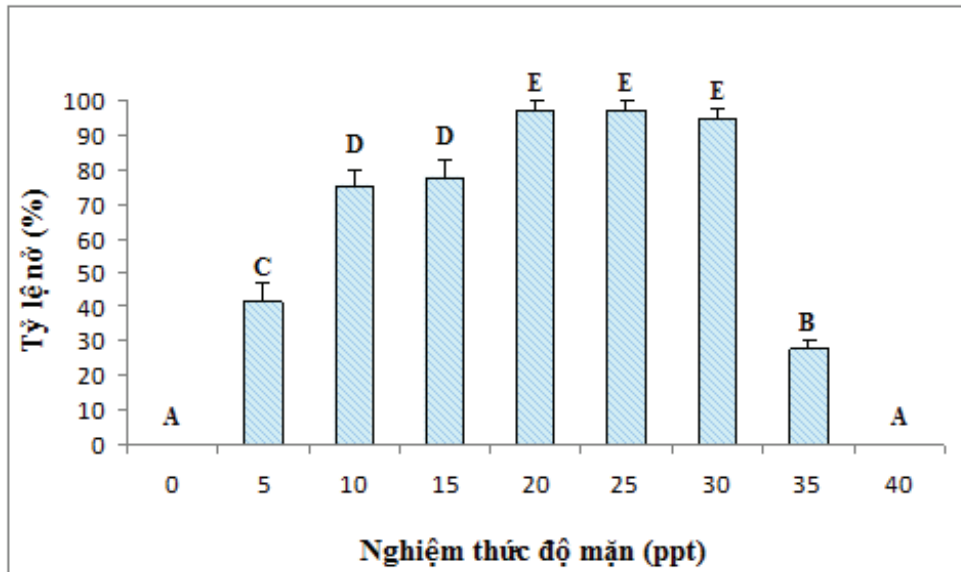
1.2. Tỷ lệ nở thành công và số naupli nở ra/*P. annandalei* cái

Kết quả về ảnh hưởng của sức độ mặn đến sinh sản (Hình 5) cho thấy tỷ lệ nở của trứng copepoda bị ảnh hưởng khi chuyển từ độ mặn 20 ppt vào các độ mặn khác mà không qua thuần độ mặn. Tỷ lệ copepoda cái có trứng nở ra naupli đạt cao nhất ở độ mặn 20, 25, 30 ppt với 95 – 97%, sai khác không có ý nghĩa thống kê giữa 3 nghiệm thức độ mặn này ( $P>0,05$ ), nhưng lại sai khác có ý nghĩa thống kê với các nghiệm thức độ mặn còn lại ( $P<0,05$ ). Tỷ lệ nở bằng 0% ở độ mặn 0 và 40 ppt. Độ mặn 10 và 15 ppt có tỷ lệ nở thành công 75 – 78%. Độ mặn 5 và 35 ppt có tỷ lệ nở trung bình thấp hơn đạt lần lượt là 42 và 28%, sai khác có ý nghĩa thống kê với nhau và với các nghiệm thức độ mặn khác ( $P<0,05$ ). Số naupli nở ra/copepoda cái cũng bị ảnh hưởng bởi sức độ mặn (Hình 6). Độ mặn 20 và 25 ppt có trung bình số naupli nở ra cao nhất đạt 15 – 16 naupli/cái, sai khác không có ý nghĩa thống kê với nhau ( $P>0,05$ ), nhưng lại sai khác có ý nghĩa thống kê với các độ mặn còn lại ( $P<0,05$ ). Ở độ mặn 10, 15 và 30 ppt, số naupli được sinh ra thấp

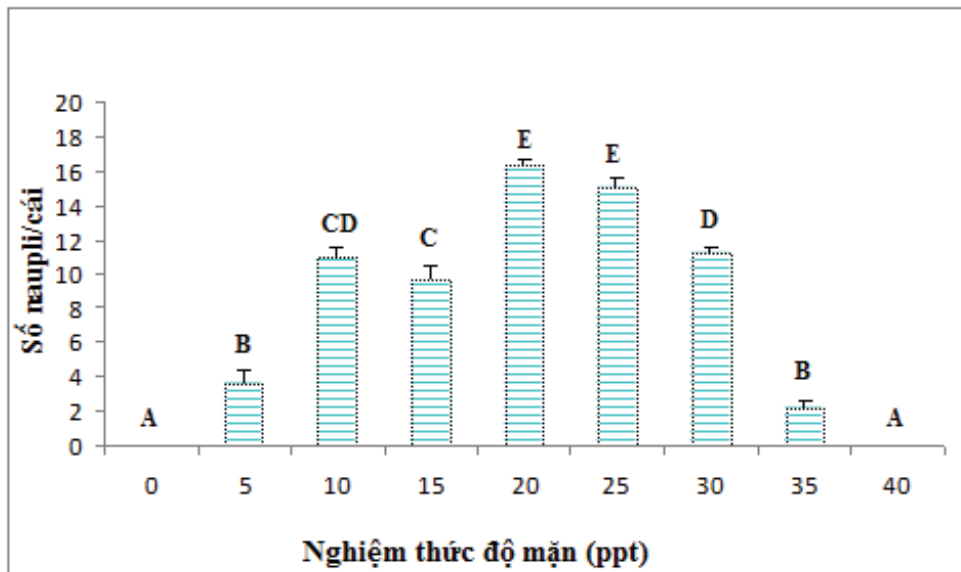
hơn, chỉ đạt trung bình từ 10 – 11 naupli/cá thể cái. Số naupli được sinh ra thấp nhất ở độ mặn 35 ppt, trung bình đạt 2 naupli/cá thể cái, sai khác không có ý nghĩa thống kê với độ mặn 5 ppt (4 naupli/cái) ( $P>0,05$ ), nhưng lại sai khác có ý nghĩa thống kê với các độ mặn còn lại ( $P<0,05$ ). Toàn bộ trứng không nở ở độ mặn 0 và 40 ppt.

Kết quả cho thấy ở độ mặn từ 10 đến 30 ppt có tỷ lệ nở thành công và số naupli nở ra/cái cao. Do copepoda cái có khả năng năng chịu đựng và điều tiết áp suất thẩm thấu tốt ở khoảng độ mặn này, với tỷ lệ sống cao 100% ở kết quả sức độ mặn (Hình 4). Có thể copepoda cái điều tiết được áp suất thẩm thấu của môi trường dịch trong bọc trứng tương đồng với môi trường nước ngoài. Đồng thời, phôi trong trứng nằm trong bọc trứng cũng có cơ chế nào đó điều chỉnh phù hợp với môi trường dịch bên ngoài giúp giảm sự ảnh hưởng hơn đến quá trình nở của trứng. Tỷ lệ nở thành công và số naupli nở ra nhiều khi đưa copepoda cái mang bọc trứng vào độ mặn 25 và 30 ppt. Điều này cho thấy việc sử dụng loài *P. annandalei* làm thức ăn cho ương nuôi ấu trùng cá biển là phù hợp.





Hình 5. Ảnh hưởng của sức độ mặn lên tỷ lệ nở thành công.



Hình 6. Ảnh hưởng của sức độ mặn lên số naupli nở ra/cái.

**2. Ảnh hưởng của độ mặn và nhiệt độ đến kích thước copepoda trưởng thành, sức sinh sản, tỷ lệ nở, số naupli/cái và tổng số naupli sinh ra trong 10 ngày của mỗi *P. annandalei* cái**

Kết quả trình bày ở bảng 2 cho thấy độ mặn và nhiệt độ ảnh hưởng đến loài copepoda *P. annandalei*.

Kích thước trung bình của copepoda cái trưởng thành (823 – 871 μm) và đực trưởng thành (725 – 772 μm) ở 30°C lớn hơn so với

copepoda cái trưởng thành (769 – 807 μm) và đực trưởng thành (670 – 720 μm) ở 34°C cùng độ mặn. Copepoda cái và đực trưởng thành có kích thước trung bình nhỏ nhất tại độ mặn 35 ppt ở cả 2 điều kiện nhiệt độ. Copepoda đực trưởng thành ở độ mặn 10 – 25 ppt có kích thước trung bình lớn hơn so với kích thước đực ở các độ mặn còn lại. Copepoda cái trưởng thành có kích thước trung bình lớn nhất tại độ mặn 15 ppt (Bảng 3). Sức sinh sản trung bình ở nhiệt độ 30°C (13 – 17 trứng/cái) cao hơn so với sức sinh

sản của copepoda cái ở 34°C (12 – 13 trứng/cái) cùng độ mặn. Ở 30°C, sức sinh sản cao nhất tại 15 ppt và sai khác có ý nghĩa thống kê với các độ mặn còn lại ( $P < 0,05$ ). Ở 34°C, sức sinh sản trung bình ở các độ mặn 15, 20, 25 ppt cao hơn so với các độ mặn còn lại, nhưng chỉ có khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa độ mặn 20 ppt và 35 ppt ( $P < 0,05$ ) (Bảng 3). Nhiệt độ, độ mặn và sự tương tác của hai yếu tố này ảnh hưởng đến kích thước copepoda đực, cái trưởng thành và sức sinh sản của copepoda *P. annandalei* (Bảng 2).

Tỷ lệ nở thành công trung bình ở điều kiện nhiệt độ 30°C (78 – 97%) luôn cao hơn so với tỷ lệ nở ở 34°C (68 – 89%) cùng độ mặn (Bảng 3). Tỷ lệ nở trung bình cao hơn ở độ mặn 15, 20, 25 ppt tại nhiệt độ 30°C, và cao hơn ở độ mặn 15, 20 ppt tại nhiệt độ 34°C so với các độ mặn còn lại. Tỷ lệ nở trung bình ở độ mặn 35 ppt là thấp nhất. Số naupli/cái trung bình ở nhiệt độ ở 30°C (5,3 – 10,7 naupli/cái) nhiều hơn so với số naupli/cái ở 34°C (4 – 8 naupli/cái) cùng độ mặn (Bảng 3). Ở nhiệt độ 30°C, số naupli nở ra trung bình/cái cao tại các độ mặn 10, 15, 20 ppt, khác biệt có ý nghĩa thống kê với các độ mặn còn lại ( $P < 0,05$ ). Trong khi ở nhiệt độ 34°C, số naupli trung bình/cái cao ở hai độ mặn 15, 20 ppt và khác biệt có ý nghĩa thống kê với các độ mặn 5, 10, 30, 35 ppt ( $P < 0,05$ ). Số naupli trung bình/cái thấp nhất ở độ mặn 35 ppt ở cả hai nhiệt độ. Nhiệt độ và độ mặn ảnh hưởng đến tỷ lệ nở thành công và số naupli/cái copepoda *P. annandalei* nhưng sự tương tác của hai yếu tố nhiệt độ và độ mặn lại không ảnh hưởng đến hai chỉ tiêu này (Bảng 2).

Tổng số naupli sinh ra bởi mỗi copepoda cái trung bình trong 10 ngày ở nhiệt độ ở 30°C (92 – 157 naupli/cái) nhiều hơn so với naupli sinh ra bởi mỗi copepoda cái ở 34°C (40 – 87 naupli/cái) trong cùng điều kiện độ mặn. Hai độ mặn 10 và 15 ppt có số naupli sinh ra nhiều nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê với các độ mặn còn lại ở cả hai điều kiện nhiệt độ ( $P < 0,05$ ). Số naupli thấp nhất ở độ mặn 35 ppt ở cả hai nhiệt độ (Bảng 3). Nhiệt độ, độ mặn và sự tương tác của hai yếu tố này ảnh hưởng đến khả năng sinh sản của copepoda *P. annandalei*

(Bảng 2).

Mặc dù, nghiên cứu này cho thấy loài copepoda *P. annandalei* có thể sống và sinh sản được ở điều kiện độ mặn từ 5 đến 35 ppt tại nhiệt độ 30 và 34°C nhưng những kết quả về kích thước trưởng thành, tỷ lệ nở thành công, số naupli/cái và tổng số naupli sinh ra trong 10 ngày bởi mỗi *P. annandalei* ở nhiệt độ 30°C lại cao hơn so với các chỉ tiêu của copepoda nuôi ở nhiệt độ 34°C ở tất cả các độ mặn từ 5 đến 35 ppt. Cũng trong các nghiên cứu của Đoàn Xuân Nam và ctv (2019) trên cùng loài copepoda tại độ mặn 20 ppt đều cho kết quả về các chỉ tiêu trên cao hơn ở nhiệt độ 30°C so với ở nhiệt độ 34°C (Đoàn Xuân Nam và ctv, 2019, Doan và ctv, 2019). Trong nghiên cứu của Chen và ctv (2006) với điều kiện nhiệt độ thí nghiệm 25 – 28°C, cũng cho thấy độ mặn thích hợp nhất cho sinh sản và phát triển của loài *P. annandalei* là 15 ppt và kém nhất là độ mặn 35 ppt. Nghiên cứu này cũng thể hiện kết quả cao nhất ở độ mặn 15 ppt và thấp nhất ở 35 ppt trong cả hai điều kiện nhiệt độ 30 và 34°C. Có thể mức độ mặn 35 ppt là gần với mức chịu đựng trên của loài nên cho các kết quả đều thấp nhất. Nghiên cứu của Trương Sĩ Hải Trình ở điều kiện nhiệt độ 30°C cũng chỉ ra tỷ lệ sống ấu trùng cao nhất ở độ mặn 15 ppt (Trương Sĩ Hải Trình, 2016). Sức sinh sản, tỷ lệ nở và khả năng sinh sản của *P. annandalei* cũng cao hơn ở độ mặn 15 ppt so với ở hai độ mặn 5 ppt và 25 ppt trong các điều kiện nhiệt độ thí nghiệm 20, 25 và 30°C (Beyrend-Dur và ctv, 2011). Nghiên cứu của chúng tôi và của Beyrend-Dur và ctv (2011), đều cho rằng sự kết hợp của độ mặn và nhiệt độ ảnh hưởng đến sức sinh sản và khả năng sinh sản của loài copepoda *P. annandalei*. Yếu tố độ mặn ở cả hai thí nghiệm này đều ảnh hưởng tới sức sinh sản và khả năng sinh sản. Trong khi ở nghiên cứu của Beyrend-Dur và ctv (2011), họ cho rằng nhiệt độ riêng lẻ không ảnh hưởng đến sức sinh sản, khác với quan sát của chúng tôi trong nghiên cứu này và nghiên cứu năm 2019 là nhiệt độ riêng lẻ vẫn ảnh hưởng đến sức sinh sản của loài (Đoàn Xuân Nam và ctv, 2019). Sự khác nhau này có thể do khác nhau về các mức nhiệt độ nghiên cứu.

**Bảng 2. Phân tích Three way ANOVA về ảnh hưởng của độ mặn và nhiệt độ lên kích thước copepoda đực và cái trưởng thành, tỷ lệ nở thành công, số naupli nở ra/copepoda cái và tổng số naupli sinh ra bởi mỗi copepoda cái trong 10 ngày.**

Kích thước, tỷ lệ nở, số naupli/cái, naupli sinh ra 10 ngày		df	F	P
Nhiệt độ	Kích thước đực	1	427,428	<0,001
	Kích thước cái	1	179,347	<0,001
	Sức sinh sản	1	325,507	<0,001
	Tỷ lệ nở thành công	1	13,567	<0,05
	Số naupli nở ra/copepoda cái	1	40,111	<0,001
	Số naupli sinh ra 10 ngày/cái	1	1489,649	<0,001
Độ mặn	Kích thước đực	6	22,960	<0,001
	Kích thước cái	6	6,115	<0,001
	Sức sinh sản	6	13,049	<0,001
	Tỷ lệ nở thành công	6	5,493	<0,001
	Số naupli nở ra/copepoda cái	6	20,898	<0,001
	Số naupli sinh ra 10 ngày/cái	6	82,031	<0,001
Nhiệt độ * Độ mặn	Kích thước đực	6	4,393	<0,001
	Kích thước cái	6	3,410	<0,05
	Sức sinh sản	6	10,822	<0,001
	Tỷ lệ nở thành công	6	0,378	>0,05
	Số naupli nở ra/copepoda cái	6	2,843	>0,05
	Số naupli sinh ra 10 ngày/cái	6	3,218	<0,01

**Bảng 3. Phân tích One-way ANOVA về ảnh hưởng của độ mặn lên kích thước copepoda đực và cái trưởng thành, tỷ lệ nở và số naupli nở ra/cái, số naupli sinh ra trong 10 ngày/cái ở hai điều kiện nhiệt độ nuôi 30°C và 34°C**

Độ mặn	5 ppt	10 ppt	15 ppt	20 ppt	25 ppt	30 ppt	35 ppt
Đực 30°C	738±3,1 <sup>ab</sup>	747±4,3 <sup>b</sup>	752±4,1 <sup>b</sup>	754±5,3 <sup>b</sup>	772±5,2 <sup>c</sup>	738±7,5 <sup>ab</sup>	725±5,9 <sup>a</sup>
Đực 34°C	693±2,4 <sup>b</sup>	720±3,6 <sup>c</sup>	712±4,3 <sup>de</sup>	699±2,7 <sup>bc</sup>	707±4,0 <sup>cd</sup>	678±4,3 <sup>a</sup>	670±3,3 <sup>a</sup>
Cái 30°C	842±7,1 <sup>ab</sup>	832±6,5 <sup>a</sup>	871±8,8 <sup>c</sup>	832±5,6 <sup>a</sup>	860±8,8 <sup>bc</sup>	847±8,1 <sup>bc</sup>	823±7,3 <sup>a</sup>
Cái 34°C	801±6,3 <sup>c</sup>	790±3,8 <sup>bc</sup>	802±3,1 <sup>c</sup>	799±6,1 <sup>c</sup>	775±7,0 <sup>ab</sup>	807±9,1 <sup>c</sup>	769±10,1 <sup>a</sup>
F 30°C	14±0,2 <sup>a</sup>	16±0,3 <sup>c</sup>	17±0,4 <sup>d</sup>	15±0,3 <sup>b</sup>	15±0,3 <sup>bc</sup>	15±0,3 <sup>b</sup>	13±0,3 <sup>a</sup>
F 34°C	12±0,2 <sup>ab</sup>	12±0,2 <sup>ab</sup>	13±0,2 <sup>ab</sup>	13±0,2 <sup>b</sup>	13±0,2 <sup>ab</sup>	12±0,2 <sup>ab</sup>	12±0,2 <sup>a</sup>
HS 30°C	83±0,0 <sup>ab</sup>	83±4,9 <sup>ab</sup>	97±2,7 <sup>c</sup>	89±5,7 <sup>bc</sup>	92±4,9 <sup>bc</sup>	83±4,9 <sup>ab</sup>	78±2,7 <sup>a</sup>
HS 34°C	78±2,7 <sup>ab</sup>	78±2,7 <sup>ab</sup>	86±3,0 <sup>b</sup>	89±3,0 <sup>b</sup>	80±2,7 <sup>ab</sup>	80±2,7 <sup>ab</sup>	69±5,7 <sup>a</sup>
N 30°C	6,3±0,33 <sup>ab</sup>	10±1,00 <sup>c</sup>	10,7±0,33 <sup>c</sup>	10±0,58 <sup>c</sup>	8±0,58 <sup>b</sup>	6,3±0,67 <sup>ab</sup>	5,3±0,33 <sup>a</sup>
N 34°C	5±0,00 <sup>ab</sup>	6±0,58 <sup>bc</sup>	8±0,58 <sup>d</sup>	7,7±0,67 <sup>d</sup>	7,3±0,33 <sup>cd</sup>	6±0,58 <sup>bc</sup>	4±0,00 <sup>a</sup>
N10-30°C	125±2,4 <sup>c</sup>	152±1,4 <sup>ef</sup>	157±3,0 <sup>f</sup>	146±1,9 <sup>e</sup>	138±3,8 <sup>d</sup>	110±2,7 <sup>b</sup>	92±3,6 <sup>a</sup>
N10-34°C	60±3,2 <sup>b</sup>	87±5,9 <sup>c</sup>	85±1,8 <sup>c</sup>	68±4,8 <sup>b</sup>	70±2,0 <sup>b</sup>	48±2,6 <sup>a</sup>	40±2,2 <sup>a</sup>

Ký hiệu chữ cái khác nhau trên cùng một hàng thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ). Số liệu biểu diễn dưới dạng Trung bình ± Sai số chuẩn. Ký hiệu F là sức sinh sản; HS là tỷ lệ nở thành công; N là số naupli nở ra/cái; N10 là tổng số naupli sinh ra trong 10 ngày của mỗi copepoda cái.

#### IV. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Sự thay đổi độ mặn đột ngột gây chết ở copepoda *P. annandalei*, đặc biệt giai đoạn ấu trùng và con non. Con trưởng thành chịu được sốc độ mặn tốt hơn so với giai đoạn nhỏ hơn.

Trứng của loài *P. annandalei* không thể nở khi sốc từ độ mặn 20 ppt vào các độ mặn 0 ppt và 40 ppt.

Nhiệt độ và độ mặn riêng lẻ đều ảnh hưởng tới tất các chỉ tiêu nghiên cứu trên. Tuy nhiên sự kết hợp của độ mặn và nhiệt độ chỉ ảnh hưởng tới kích thước trưởng thành, sức sinh sản và

khả năng sinh sản của copepoda *P. annandalei*.

Theo kết quả nghiên cứu, copepoda *P. annandalei* sống và sinh sản được ở độ mặn từ 5 – 35 ppt kết hợp với nhiệt độ 30 – 34°C, nhưng sự kết hợp của độ mặn 15 ppt và nhiệt độ 30°C là thích hợp nhất để nuôi và sinh sản loài *P. annandalei*.

Cần nghiên cứu thêm về khả năng sống và phát triển của naupli đến giai đoạn trưởng thành sau khi được sinh ra từ sốc độ mặn copepoda cái trưởng thành mang bọc trứng.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

##### Tiếng Việt

1. Đoàn Xuân Nam, Bùi Văn Cảnh, Phạm Quốc Hùng & Đinh Văn Khương (2019), Ảnh hưởng của nhiệt độ lên sự phát triển và sinh sản của loài copepoda *Pseudodiaptomus annandalei*, *Tap chí Khoa học - Công nghệ Thủy sản*, 3, 91- 98.
2. Trương Sĩ Hải Trình (2016), Cấu trúc quần xã động vật phù du trong vịnh Bình Cang - Nha Trang và sự vận chuyển cacbon và nitơ từ thực vật phù du sang động vật phù du, *Luận án Tiến Sĩ*.

##### Tiếng Anh

3. Bell, J., McEvoy, L., Estevez, A., Shields, R. & Sargent, J. (2003), Optimising lipid nutrition in first-feeding flatfish larvae, *Aquaculture*, 227, 211-220.
4. Beyrend-Dur, D., Kumar, R., Rao, T. R., Souissi, S., Cheng, S.-H. & Hwang, J.-S. (2011), Demographic parameters of adults of *Pseudodiaptomus annandalei* (Copepoda: Calanoida): temperature–salinity and generation effects, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 404, 1-14.
5. Calliari, D., Andersen, C. M., Thor, P., Gorokhova, E. & Tiselius, P. (2006), Salinity modulates the energy balance and reproductive success of co-occurring copepods *Acartia tonsa* and *A. clausi* in different ways, *Marine Ecology Progress Series*, 312, 177-188.
6. Conceição, L. E., Yúfera, M., Makridis, P., Morais, S. & Dinis, M. T. (2010), Live feeds for early stages of fish rearing, *Aquaculture research*, 41, 613-640.
7. DaniloCalliariab, Marc C.Andersen, BorgcPeterThora, ElenaGorokhovac & PeterTiseliusa (2008), Instantaneous salinity reductions affect the survival and feeding rates of the co-occurring copepods *Acartia tonsa* Dana and *A. clausi* Giesbrecht differently, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 362, 18-25.
8. Doan, N. X., Vu, M. T., Pham, H. Q., Wisz, M. S., Nielsen, T. G. & Dinh, K. V. (2019), Extreme temperature impairs growth and productivity in a common tropical marine copepod, *Scientific reports*, 9, 4550.
9. Doi, M., Toledo, J. D., Golez, M. S. N., de los Santos, M. & Ohno, A. (1997), Preliminary investigation of feeding performance of larvae of early red-spotted grouper, *Epinephelus coioides*, reared with mixed

zooplankton. *Live Food in Aquaculture*: Springer.

10. Garcia, A. S., Parrish, C. C. & Brown, J. A. (2008), Growth and lipid composition of Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae in response to differently enriched *Artemia franciscana*, *Fish Physiology and Biochemistry*, 34, 77-94.
11. Goolish, E. & Burton, R. (1989), Energetics of osmoregulation in an intertidal copepod: effects of anoxia and lipid reserves on the pattern of free amino accumulation, *Functional Ecology*, 81-89, 81-89.
12. Grønning, J., Doan, N. X., Dinh, N. T., Dinh, K. V. & Nielsen, T. G. (2019), Ecology of *Pseudodiaptomus annandalei* in tropical aquaculture ponds with emphasis on the limitation of production, *Journal of Plankton Research*, 41, 741-758.
13. Kassim, Z., Hamzah, A. S., Hashim, H. A. & Hasnan, H. H. (2019), Fatty Acid Composition in Cultured *Amphiascoides neglectus* (Copepoda: Harpacticoida).
14. Koedijk, R., Folkvord, A., Foss, A., Pittman, K., Stefansson, S., Handeland, S. & Imsland, A. (2010), The influence of first-feeding diet on the Atlantic cod *Gadus morhua* phenotype: survival, development and long-term consequences for growth, *Journal of Fish Biology*, 77, 1-19.
15. Lee, C.-H., Dahms, H.-U., Cheng, S.-H., Souissi, S., Schmitt, F. G., Kumar, R. & Hwang, J.-S. (2010), Predation of *Pseudodiaptomus annandalei* (Copepoda: Calanoida) by the grouper fish fry *Epinephelus coioides* under different hydrodynamic conditions, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 393, 17-22.
16. Lee, Carol Eunmi & Petersen. Christine H (2003), Effects of Developmental Acclimation on Adult Salinity Tolerance in the Freshwater-Invading Copepod *Eurytemora affinis*, *Physiological and Biochemical Zoology*, 76.
17. Liao, I. C., Su, H. M. & Chang, E. Y. (2001), Techniques in finfish larviculture in Taiwan, *Aquaculture*, 200, 1-31.
18. Rayner, T. A., Hwang, J.-S. & Hansen, B. W. (2017), Minimizing the use of fish oil enrichment in live feed by use of a self-enriching calanoid copepod *Pseudodiaptomus annandalei*, *Journal of Plankton Research*, 1-8, 1-8.
19. Rayner, T. A., Jørgensen, N. O., Blanda, E., Wu, C.-H., Huang, C.-C., Mortensen, J., Hwang, J.-S. & Hansen, B. W. (2015), Biochemical composition of the promising live feed tropical calanoid copepod *Pseudodiaptomus annandalei* (Sewell 1919) cultured in Taiwanese outdoor aquaculture ponds, *Aquaculture*, 441, 25-34.
20. Santhanam, P., Jeyaraj, N., Jothiraj, K., Ananth, S., Kumar, S. D. & Pachiappan, P. (2019), Evaluation of the Suitability of Marine Copepods as an Alternative Live Feed in High-Health Fish Larval Production, *Basic and Applied Zooplankton Biology*, 277-292, 277-292.
21. Shields, R. J., Bell, J. G., Luizi, F. S., Gara, B., Bromage, N. R. & Sargent, J. R. (1999), Natural copepods are superior to enriched *Artemia* nauplii as feed for halibut larvae (*Hippoglossus hippoglossus*) in terms of survival, pigmentation and retinal morphology: relation to dietary essential fatty acids, *The Journal of nutrition*, 129, 1186-1194.
22. Tam.T.D & Tung. H (2015), Rearing the spotted seahorse *Hippocampus kuda* by feeding live and frozen copepods collected from shrimp ponds, *Aquaculture research*, 46, 1356-1362.
23. Toledo, J. D., Golez, M. S., Doi, M. & Ohno, A. (1999), Use of copepod nauplii during early feeding stage of grouper *Epinephelus coioides*, *Fisheries Science*, 65, 390-397.