

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NHA TRANG

TRẦN VĂN DŨNG

NGHIÊN CỨU CẢI THIỆN MÀU SẮC CÁ KHOANG CỎ  
NEMO (*Amphiprion ocellaris* Cuvier, 1830) TRONG ĐIỀU KIỆN  
NUÔI NHÓT

LUẬN ÁN TIẾN SĨ

KHÁNH HÒA – 2025

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NHA TRANG

TRẦN VĂN DŨNG

NGHIÊN CỨU CẢI THIỆN MÀU SẮC CÁ KHOANG CỎ  
NEMO (*Amphiprion ocellaris* Cuvier, 1830) TRONG ĐIỀU KIỆN  
NUÔI NHÓT

Ngành đào tạo: Nuôi trồng Thủy sản  
Mã số: 9620301

LUẬN ÁN TIẾN SĨ

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

1. GS. TS. PHẠM QUỐC HÙNG
2. PGS. TS. HỨA THÁI NHÂN

KHÁNH HÒA – 2025

**Công trình được hoàn thành tại Trường Đại học Nha Trang**

**Hướng dẫn khoa học: 1. GS. TS. Phạm Quốc Hùng  
2. PGS. TS. Hứa Thái Nhân**

**Phản biện 1: PGS.TS. Nguyễn Văn Huy - Trường Đại học Nông Lâm Huế**

**Phản biện 2: PGS.TS. Đinh Thế Nhân - Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh**

**Phản biện 3: GS.TS. Đoàn Như Hải – Viện Hải dương học Nha Trang**

**Luận án được bảo vệ tại Hội đồng đánh giá Luận án cấp Trường, họp tại Trường Đại học Nha Trang vào lúc ..... ngày ..... tháng ..... năm 2025.**

**Có thể tìm hiểu kết quả của luận án tại: Thư viện Quốc gia và Thư viện Trường Đại học Nha Trang.**

## LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của tôi. Các kết quả nghiên cứu chính trong luận án này là thành quả từ một số đề tài nghiên cứu khoa học và công nghệ các cấp, bao gồm: (1) Đề tài nghiên cứu KH &CN cấp Bộ Giáo dục và Đào tạo B2022 – TSN – 08: “*Ứng dụng một số nguồn carotenoids tự nhiên cải thiện sắc tố cá khoang cổ nemo Amphiprion ocellaris Cuvier, 1830*” do ThS. Lương Thị Hậu chủ nhiệm, tôi là thành viên chính thực hiện phần lớn các nội dung nghiên cứu của đề tài; (2) Đề tài nghiên cứu KH&CN cấp Trường Đại học Nha Trang TR2023 – 13 - 09: “*Đánh giá ảnh hưởng của việc bổ sung astaxanthin chiết xuất từ vỏ tôm lên chất lượng cá khoang cổ nemo (Amphiprion ocellaris Cuvier, 1830)*” do TS. Đoàn Xuân Nam chủ nhiệm, tôi là thành viên chính thực hiện phần lớn các nội dung nghiên cứu của đề tài; (3) Đề tài NCKH của sinh viên SV2021-13-09: “*Ảnh hưởng của màu bẻ lên sinh trưởng, tỷ lệ sống và màu sắc của cá khoang cổ nemo (Amphiprion ocellaris Cuvier, 1830)*” do SV Nguyễn Hữu Khang (60 NTTS - 2) chủ nhiệm, tôi là người định hướng nghiên cứu và là giảng viên hướng dẫn; (4) Đề tài NCKH của sinh viên SV2021-13-10: “*Ảnh hưởng của độ mặn lên sinh trưởng, tỷ lệ sống và màu sắc của cá khoang cổ nemo (Amphiprion ocellaris Cuvier, 1830)*” do SV Võ Duy Quang (60 NTTS - 2) chủ nhiệm, tôi là người định hướng nghiên cứu và là giảng viên hướng dẫn.

Tôi được các chủ nhiệm đề tài cho phép sử dụng toàn bộ các kết quả nghiên cứu có liên quan cho luận án tiến sĩ của mình. Tôi xin cam đoan các kết quả, số liệu trong luận án là trung thực, đã được xử lý thống kê, đảm bảo độ tin cậy và không trùng lặp. Một số nội dung của luận án đã được công bố trên các tạp chí khoa học chuyên ngành trong và ngoài nước (*chi tiết trong danh mục công trình đã công bố*). Các nguồn tham khảo được trích dẫn đầy đủ và rõ ràng theo quy định trong chương trình đào tạo tiến sĩ của Trường Đại học Nha Trang.

Khánh Hòa, ngày 06 tháng 01 năm 2025

Nghiên cứu sinh



**Trần Văn Dũng**



## LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành chương trình đào tạo tiến sĩ và luận án này, tôi đã nhận được sự hỗ trợ quý báu của nhiều cơ quan/tổ chức và cá nhân. Qua đây, tôi xin được bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc, lời cảm ơn chân thành đến:

GS. TS. Phạm Quốc Hùng (Trường Đại học Nha Trang) và PGS. TS. Hứa Thái Nhân (Trường Đại học Cần Thơ), hai giảng viên hướng dẫn, đã tận tình chỉ bảo, dẫn dắt tôi trên con đường khoa học, luôn động viên và tạo điều kiện tốt nhất cho tôi trong suốt quá trình định hướng/triển khai nghiên cứu, hoàn thành luận án và công bố bài báo trên các tạp chí chuyên ngành trong và ngoài nước.

Ban Giám hiệu, Viện Nuôi trồng Thủy sản, Phòng Đào tạo Sau Đại học, Phòng Khoa học và Công nghệ, Trung tâm Thí nghiệm – Thực hành Trường Đại học Nha Trang, và Trại sản xuất giống Cá cảnh biển Vĩnh Hòa đã tạo điều kiện cho tôi được nghiên cứu, thực hiện thí nghiệm và hoàn thiện các nội dung nghiên cứu của mình.

Bộ Giáo dục và Đào tạo, Trường Đại học Nha Trang, Quỹ Đổi mới sáng tạo Vingroup (VinIF) – Viện Nghiên cứu Dữ liệu lớn – Tập đoàn VINGROUP đã hỗ trợ kinh phí nghiên cứu thông qua các đề tài, dự án các cấp, và học bổng đào tạo tiến sĩ trong nước, tạo điều kiện thuận lợi để tôi triển khai các nội dung/thí nghiệm, đồng thời, nâng cao chất lượng nghiên cứu và công bố khoa học.

TS. Đặng Trung Thành, ThS. Lê Thiên Sa (Khoa Công nghệ Thực phẩm), TS. Trần Ngọc Lệ (Trung tâm Thí Nghiệm – Thực hành), và GS. TS. Augustine Arukwe (Đại học Khoa học và Công nghệ Nauy), bên cạnh giảng viên hướng dẫn, đã hỗ trợ tận tình trong việc phân tích về sắc tố, sinh hóa và enzyme trong phòng thí nghiệm, viết/chỉnh sửa bản thảo và đăng bài báo trên các tạp chí uy tín trong và ngoài nước.

ThS. Lương Thị Hậu, TS. Đoàn Xuân Nam, SV. Nguyễn Hữu Khang, và SV. Võ Duy Quang đã hỗ trợ tích cực trong quá trình thực hiện các thí nghiệm liên quan, và cho phép tôi sử dụng các dữ liệu của họ phục vụ cho việc hoàn thành luận án của mình.

Trại sản xuất giống cá cảnh biển Vĩnh Hòa, cá nhân cô Nguyễn Thị Kim Bích, em Nguyễn Thị Nhật Anh (58 CNSH), em Dương Nguyễn Hoàng (60 NTTS), em Phạm Thị Mỹ Toàn (59 CNTP), em Nguyễn Đức Khánh Dương (63 NTTS) và các em sinh

viên tham gia học tập, nghiên cứu và sản xuất tại trại cá đã tận tình hỗ trợ nguồn cá giống, cơ sở vật chất, giúp tôi chăm sóc cá, thu mẫu, phân tích mẫu trong phòng thí nghiệm và nhiều hoạt động khác trong quá trình thực hiện các đề tài nghiên cứu và luận án của mình.

Các thầy cô, bạn bè, đồng nghiệp tại Viện Nuôi trồng Thủy sản, Trường Đại học Nha Trang đã nhiệt tình giảng dạy, hỗ trợ chuyên môn, động viên và ủng hộ tôi trong suốt thời gian làm việc, học tập và nghiên cứu tại Trường Đại học Nha Trang.

Cuối cùng, tôi xin bày tỏ lời cảm ơn sâu sắc tới gia đình, cha mẹ, vợ Lê Thị Trà My, con gái Trần Lê Diệu Khánh (bé nemo), và mọi người thân luôn bên cạnh, tin tưởng, động viên, ủng hộ tôi cả về vật chất, tinh thần, dành thời gian tạo điều kiện cho tôi để tôi chuyên tâm học tập, nghiên cứu, và hoàn thành chương trình đào tạo tiến sĩ cùng luận án này.

*Khánh Hòa, ngày 06 tháng 01 năm 2025*

Nghiên cứu sinh



**Trần Văn Dũng**

## MỤC LỤC

<b>LỜI CAM ĐOAN</b> .....	<b>i</b>
<b>LỜI CẢM ƠN</b> .....	<b>ii</b>
<b>MỤC LỤC</b> .....	<b>iv</b>
<b>DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CHỮ VIẾT TẮT</b> .....	<b>viii</b>
<b>DANH MỤC BẢNG</b> .....	<b>ix</b>
<b>DANH MỤC HÌNH, ĐỒ THỊ, SƠ ĐỒ</b> .....	<b>xi</b>
<b>TÓM TẮT NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN</b> .....	<b>xiv</b>
<b>KEY FINDINGS</b> .....	<b>xv</b>
<b>MỞ ĐẦU</b> .....	<b>1</b>
<b>CHƯƠNG 1 – TỔNG QUAN</b> .....	<b>4</b>
1.1. Tổng quan về nghề nuôi cá cảnh biển.....	4
1.1.1. Lịch sử hình thành và phát triển.....	4
1.1.2. Các đối tượng nuôi chính.....	4
1.1.3. Tình hình sản xuất, khai thác và tiêu thụ.....	5
1.1.4. Thách thức, cơ hội và định hướng phát triển.....	6
1.2. Tổng quan về cá khoang cổ nemo.....	7
1.2.1. Phân loại và hình thái.....	7
1.2.2. Phân bố và sinh thái.....	9
1.2.3. Sinh trưởng, phát triển và vòng đời.....	10
1.2.4. Dinh dưỡng.....	11
1.2.5. Sinh sản.....	12
1.2.6. Tình hình nghiên cứu và sản xuất giống.....	13
1.3. Chất lượng cá cảnh và các yếu tố ảnh hưởng.....	14
1.3.1. Khái niệm và tiêu chí đánh giá chất lượng cá cảnh.....	14
1.3.2. Ảnh hưởng của di truyền và chất lượng giống.....	15
1.3.3. Ảnh hưởng của môi trường và kỹ thuật nuôi.....	16
1.3.4. Ảnh hưởng của dinh dưỡng và bệnh.....	17
1.4. Màu sắc của cá cảnh.....	19
1.4.1. Vai trò và sự đa dạng màu sắc ở cá.....	19
1.4.2. Sắc tố và các tế bào sắc tố ở cá.....	20
1.4.3. Cơ chế hình thành và kiểm soát sắc tố ở cá.....	21

1.4.4. Các yếu tố ảnh hưởng đến màu sắc ở cá.....	25
1.4.4.1. Thức ăn và dinh dưỡng bổ sung.....	25
1.4.4.2. Môi trường, sinh thái.....	35
1.4.4.3. Di truyền và chọn giống.....	42
1.4.5. Các phương pháp đánh giá chất lượng màu sắc ở cá.....	46
<b>CHƯƠNG 2 – VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....</b>	<b>48</b>
2.1. Thời gian, địa điểm và đối tượng nghiên cứu.....	48
2.2. Nội dung nghiên cứu.....	49
2.3. Phương pháp tiếp cận.....	50
2.3.1. Tiếp cận lịch sử.....	50
2.3.2. Tiếp cận thực nghiệm.....	51
2.3.3. Tiếp cận hệ thống.....	51
2.3. Vật liệu nghiên cứu.....	51
2.3.1. Nguồn cá thí nghiệm.....	51
2.3.2. Nguồn nước và xử lý nước.....	52
2.3.3. Hệ thống bể thí nghiệm.....	52
2.3.4. Chuẩn bị nguồn carotenoids.....	53
2.3.5. Chuẩn bị thức ăn thí nghiệm và bổ sung carotenoids.....	54
2.4. Phương pháp nghiên cứu.....	56
2.4.1. Ảnh hưởng của môi trường nuôi lên màu sắc và tăng trưởng của cá khoang cổ nemo.....	56
2.4.1.1. Ảnh hưởng của màu sắc bể nuôi (TN1).....	56
2.4.1.2. Ảnh hưởng của độ mặn (TN2).....	57
2.4.2. Ảnh hưởng của chế độ bổ sung carotenoids vào thức ăn lên màu sắc và tăng trưởng của cá khoang cổ nemo.....	58
2.4.2.1. Ảnh hưởng của một số nguồn carotenoids thực vật (TN3).....	59
2.4.2.2. Ảnh hưởng của một số nguồn carotenoids động vật (TN4).....	60
2.4.2.3. Ảnh hưởng của hàm lượng carotenoids từ ớt chuông (TN5).....	60
2.4.2.4. Ảnh hưởng của hàm lượng carotenoids từ vỏ tôm (TN6).....	61
2.4.2.5. Ảnh hưởng của thời gian bổ sung carotenoids từ vỏ tôm (TN7).....	62
2.4.3. Đánh giá hiệu quả kết hợp môi trường và bổ sung carotenoids cải thiện màu sắc cá khoang cổ nemo (TN8).....	63

2.5. Chăm sóc, quản lý, thu thập và đánh giá kết quả thí nghiệm.....	65
2.5.1. Chăm sóc, quản lý.....	65
2.5.2. Thu thập và đánh giá kết quả.....	66
2.5.2.1. Màu sắc da cá.....	67
2.5.2.2. Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá.....	69
2.5.2.3. Các chỉ tiêu đánh giá tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn.....	69
2.5.2.4. Thành phần sinh hóa và hoạt tính enzyme tiêu hóa.....	71
2.6. Phương pháp xử lý số liệu.....	73
<b>CHƯƠNG 3 – KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....</b>	<b>74</b>
3.1. Ảnh hưởng của môi trường nuôi lên cá khoang cổ nemo.....	74
3.1.1. Ảnh hưởng của màu sắc bể nuôi.....	74
3.1.1.1. Màu sắc da cá.....	74
3.1.1.2. Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá.....	75
3.1.1.3. Các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn.....	76
3.1.2. Ảnh hưởng của độ mặn.....	78
3.1.2.1. Màu sắc da cá.....	78
3.1.2.2. Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá.....	79
3.1.2.3. Các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn.....	80
3.1.3. Thảo luận về ảnh hưởng của môi trường nuôi.....	81
3.1.3.1. Ảnh hưởng của màu sắc bể nuôi.....	81
3.1.3.2. Ảnh hưởng của độ mặn.....	87
3.2. Ảnh hưởng của chế độ bổ sung carotenoids vào thức ăn lên cá khoang cổ nemo...	91
3.2.1. Ảnh hưởng của một số nguồn carotenoids thực vật.....	91
3.2.1.1. Màu sắc da cá.....	91
3.2.1.2. Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá.....	93
3.2.1.3. Các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn.....	94
3.2.2. Ảnh hưởng của một số nguồn carotenoids động vật.....	95
3.2.2.1. Màu sắc da cá.....	95
3.2.2.2. Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá.....	97
3.2.2.3. Các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn.....	98
3.2.3. Ảnh hưởng của hàm lượng carotenoids từ ớt chuông.....	99
3.2.3.1. Màu sắc da cá.....	99

3.2.3.2. Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá.....	101
3.2.3.3. Các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn.....	102
3.2.3.4. Thành phần sinh hóa cơ thể và hoạt tính enzyme tiêu hóa của cá .....	104
3.2.4. Ảnh hưởng của hàm lượng carotenoids từ vỏ tôm .....	105
3.2.4.1. Màu sắc da cá.....	105
3.2.4.2. Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá.....	106
3.2.4.3. Các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn.....	107
3.2.4.4. Thành phần sinh hóa cơ thể và hoạt tính enzyme tiêu hóa của cá .....	109
3.2.5. Ảnh hưởng của thời gian bổ sung carotenoids từ vỏ tôm .....	110
3.2.5.1. Màu sắc da cá.....	110
3.2.5.2. Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá.....	112
3.2.5.3. Các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn.....	113
3.2.6. Thảo luận về ảnh hưởng của chế độ bổ sung carotenoids lên cá khoang cổ nemo .....	114
3.2.6.1. Màu sắc da và hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá.....	114
3.2.6.2. Các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn.....	122
3.2.6.3. Thành phần sinh hóa cơ thể và hoạt tính enzyme tiêu hóa của cá .....	126
3.3. Đánh giá hiệu quả kết hợp môi trường và bổ sung carotenoids cải thiện màu sắc cá khoang cổ nemo .....	129
3.3.1. Màu sắc da cá .....	129
3.3.2. Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá.....	132
3.3.3. Các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn .....	133
<b>CHƯƠNG 4 - KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....</b>	<b>138</b>
4.1. Kết luận.....	138
4.2. Kiến nghị.....	138
<b>DANH MỤC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ CỦA TÁC GIẢ.....</b>	<b>140</b>
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO.....</b>	<b>141</b>
<b>PHỤ LỤC .....</b>	<b>I</b>
1. Phụ lục số liệu .....	I
2. Phụ lục hình ảnh.....	XXXIV

## DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CHỮ VIẾT TẮT

$\Delta E^*_{ab}$ :	Color difference	Chênh lệch màu sắc tổng thể giữa hai mẫu
$a^*$ :	Red - green	Cường độ đỏ - xanh lá cây
AOAC:		Hiệp hội các nhà hóa phân tích chính thức
$b^*$ :	Yellow – blue	Cường độ vàng - xanh dương
$C^*_{ab}$ :	Chroma	Độ bão hòa màu hay độ tinh khiết màu
CF:	Condition factor	Hệ số điều kiện
$CV_L, CV_W$ :	Coefficient of variation	Hệ số phân đàn chiều dài, khối lượng
DO:	Dissolved oxygen	Hàm lượng oxy hòa tan
FF, FL:		Lượng thức ăn cho cá ăn, lượng thức ăn dư
FCR:	Feed conversion ratio	Hệ số chuyển hóa thức ăn
FI:	Feed intake	Lượng thức ăn cá tiêu thụ
$h^*_{ab}$ :	hue angle	Tông màu hay góc sắc độ màu
$L^*$ :	Lightness – darkness	Độ sáng – tối
$L_1, L_2$ :	Total length	Chiều dài cá tại thời điểm ban đầu, kết thúc
$N_1, N_2, N$ :		Số lượng cá ban đầu, kết thúc, và tổng số cá
PER:	Protein efficiency ratio	Hiệu quả sử dụng protein
RGB:	Red – green - blue	Hệ màu kết hợp màu đỏ - xanh lá - xanh dương
S, V:	Salinity, volume	Độ mặn, thể tích
SD, SE:	Standard deviation/error	Độ lệch chuẩn, sai số chuẩn
$SGR_L, SGR_W$ :	Specific growth rate	Tốc độ tăng trưởng CD, KL đặc trưng
SR:	Survival rate	Tỷ lệ sống
TAN:	Total ammonia nitrogen	Hàm lượng ammonia tổng số
TCVN:		Tiêu chuẩn Việt Nam
Astaxanthin TH		Astaxanthin tổng hợp
TL, BW:	Total length, body weight	Chiều dài toàn thân, khối lượng toàn thân cá
TN:		Thí nghiệm
UV-Vis:	UV-Vis Spectrophotometer	Máy đo quang phổ tử ngoại - khả kiến
$W_1, W_2$ :	Body weight	Khối lượng cá tại thời điểm ban đầu, kết thúc

## DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1: Các loại tế bào sắc tố liên quan đến màu sắc ở cá.....	20
Bảng 1.2: Một số nguồn thực vật, động vật và vi sinh vật giàu carotenoids .....	29
Bảng 1.3: Nghiên cứu bổ sung carotenoids vào khẩu phần ăn của một số loài cá.....	33
Bảng 1.4: Ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường nuôi lên một số loài cá, tôm.....	38
Bảng 2.1: Công thức và thành phần nguyên liệu thức ăn thí nghiệm (g/kg) .....	55
Bảng 3.1: Tăng trưởng và tỷ lệ sống của cá khoang cổ nemo được nuôi trong các bể có màu sắc khác nhau .....	76
Bảng 3.2: Hiệu quả sử dụng thức ăn của cá khoang cổ nemo được nuôi trong các bể có màu sắc khác nhau .....	77
Bảng 3.3: Tăng trưởng và tỷ lệ sống của cá khoang cổ nemo được nuôi ở các mức độ mặn khác nhau .....	80
Bảng 3.4: Hiệu quả sử dụng thức ăn của cá khoang cổ nemo được nuôi ở các mức độ mặn khác nhau .....	81
Bảng 3.5: Tăng trưởng và tỷ lệ sống của cá khoang cổ nemo được nuôi với các nguồn carotenoids thực vật bổ sung khác nhau .....	94
Bảng 3.6: Hiệu quả sử dụng thức ăn của cá khoang cổ nemo được nuôi với các nguồn carotenoids thực vật bổ sung khác nhau .....	95
Bảng 3.7: Tăng trưởng và tỷ lệ sống của cá khoang cổ nemo được nuôi với các nguồn carotenoids động vật bổ sung khác nhau.....	98
Bảng 3.8: Hiệu quả sử dụng thức ăn của cá khoang cổ nemo được nuôi với các nguồn carotenoids động vật bổ sung khác nhau.....	99
Bảng 3.9: Tăng trưởng và tỷ lệ sống của cá khoang cổ nemo được nuôi với các hàm lượng carotenoids bổ sung từ ớt chuông khác nhau .....	102
Bảng 3.10: Hiệu quả sử dụng thức ăn của cá khoang cổ nemo được nuôi với các hàm lượng carotenoids bổ sung từ ớt chuông khác nhau .....	103
Bảng 3.11: Thành phần sinh hóa cơ thể của cá khoang cổ nemo (% khối lượng ướt) được nuôi với các hàm lượng carotenoids bổ sung từ ớt chuông.....	104
Bảng 3.12: Hoạt tính các enzyme tiêu hóa trong cơ quan tiêu hóa của cá khoang cổ nemo (U/mg) được nuôi với các hàm lượng carotenoids bổ sung từ ớt chuông.....	104



Bảng 3.13: Tăng trưởng và tỷ lệ sống của cá khoang cổ nemo được nuôi với các hàm lượng carotenoids bổ sung khác nhau.....	108
Bảng 3.14: Hiệu quả sử dụng thức ăn của cá khoang cổ nemo được nuôi với các hàm lượng carotenoids bổ sung khác nhau.....	109
Bảng 3.15: Thành phần sinh hóa cơ thể của cá khoang cổ nemo (% khối lượng ướt) được nuôi với các hàm lượng carotenoids bổ sung khác nhau .....	109
Bảng 3.16: Hoạt tính các enzyme tiêu hóa trong cơ quan tiêu hóa của cá khoang cổ nemo (U/mg) được nuôi với các hàm lượng carotenoids bổ sung khác nhau .....	110
Bảng 3.17: Tăng trưởng và tỷ lệ sống của cá khoang cổ nemo được nuôi với các khoảng thời gian bổ sung carotenoids khác nhau .....	113
Bảng 3.18: Hiệu quả sử dụng thức ăn của cá khoang cổ nemo được nuôi với các khoảng thời gian bổ sung carotenoids khác nhau .....	114
Bảng 3.19: Tăng trưởng và tỷ lệ sống của cá khoang cổ nemo ở nhóm ứng dụng và đối chứng.....	133
Bảng 3.20: Hiệu quả sử dụng thức ăn của cá khoang cổ nemo ở nhóm ứng dụng và đối chứng.....	134

## DANH MỤC HÌNH, ĐỒ THỊ, SƠ ĐỒ

Hình 1.1: Cá khoang cổ nemo <i>Amphiprion ocellaris</i> Cuvier, 1830 .....	8
Hình 1.2: Phân bố địa lý của cá khoang cổ nemo (màu đỏ).....	9
Hình 1.3: Vòng đời của cá khoang cổ nemo [166].....	10
Hình 1.4: Hình thái ngoài của cá khoang cổ [170].....	19
Hình 1.5: Ảnh hưởng của di truyền, môi trường và sự tương tác lên màu sắc cơ thể cá [119].....	23
Hình 1.6: Thành phần, công thức cấu tạo của các dạng carotenoids [123].....	26
Hình 1.7: Các carotenoids chính trong chuỗi thức ăn của sinh vật biển [153] .....	26
Hình 1.8: Con đường chuyển hóa astaxanthin ở cá biển [123].....	28
Hình 2.1: Cá khoang cổ nemo giống .....	48
Hình 2.2: Sơ đồ khối nội dung nghiên cứu của đề tài luận án .....	49
Hình 2.3: Hệ thống bể thí nghiệm .....	52
Hình 2.4: Bố trí thí nghiệm về ảnh hưởng của màu sắc bể nuôi .....	56
Hình 2.5: Bố trí thí nghiệm về ảnh hưởng của độ mặn.....	58
Hình 2.6: Bố trí thí nghiệm về ảnh hưởng của nguồn carotenoids thực vật .....	59
Hình 2.7: Bố trí thí nghiệm về ảnh hưởng của nguồn carotenoids động vật .....	60
Hình 2.8: Bố trí thí nghiệm về ảnh hưởng của hàm lượng carotenoids từ.....	61
ớt chuông.....	61
Hình 2.9: Bố trí thí nghiệm về ảnh hưởng của hàm lượng carotenoids từ vỏ tôm.....	62
Hình 2.10: Bố trí thí nghiệm về ảnh hưởng của thời gian bổ sung carotenoids từ vỏ tôm .....	63
Hình 2.11: Bố trí thí nghiệm đánh giá hiệu quả kết hợp môi trường và bổ sung carotenoids cải thiện màu sắc cá khoang cổ nemo .....	64
Hình 2.12: Biểu diễn hệ tọa độ màu CIE Lab ( $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ ) và LCh ( $L^*$ , $C^*_{ab}$ , $h^*_{ab}$ ).....	67
Hình 2.13: Thang đo màu Clownfish Exercise [175].....	68
Hình 2.14: Phương pháp đo chiều dài (mũi tên) và màu sắc da cá (vòng tròn).....	70
Hình 3.1: Các chỉ số màu sắc da của cá khoang cổ nemo được nuôi trong các bể có màu sắc khác nhau: (A) $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ và (B) $C^*_{ab}$ , $h^*_{ab}$ , $\Delta E^*_{ab}$ .....	74

Hình 3.2: Màu sắc của cá khoang cổ nemo được nuôi trong các bể màu khác nhau ...	75
Hình 3.3: Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá khoang cổ nemo ( $\mu\text{g/g}$ ) được nuôi trong các bể có màu sắc khác nhau .....	76
Hình 3.4: Các chỉ số màu sắc da của cá khoang cổ nemo được nuôi ở các mức độ mặn khác nhau: (A) $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ và (B) $C^*_{ab}$ , $h^*_{ab}$ , $\Delta E^*_{ab}$ .....	78
Hình 3.5: Màu sắc cá khoang cổ nemo được nuôi trong các bể có độ mặn khác nhau.....	79
Hình 3.6: Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá khoang cổ nemo ( $\mu\text{g/g}$ ) được nuôi ở các mức độ mặn khác nhau.....	79
Hình 3.7: Các chỉ số màu sắc da của cá khoang cổ nemo được nuôi với các nguồn carotenoids thực vật bổ sung khác nhau: (A) $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ và (B) $C^*_{ab}$ , $h^*_{ab}$ , $\Delta E^*_{ab}$ .....	92
Hình 3.8: Màu sắc của cá khoang cổ nemo được nuôi với các nguồn carotenoids thực vật bổ sung khác nhau.....	93
Hình 3.9: Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá khoang cổ nemo ( $\mu\text{g/g}$ ) được nuôi trong các bể có màu sắc khác nhau .....	93
Hình 3.10: Các chỉ số màu sắc da của cá khoang cổ nemo được nuôi với các nguồn carotenoids động vật bổ sung khác nhau: (A) $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ và (B) $C^*_{ab}$ , $h^*_{ab}$ , $\Delta E^*_{ab}$ .....	96
Hình 3.11: Màu sắc của cá khoang cổ nemo được nuôi với các nguồn carotenoids động vật bổ sung khác nhau.....	97
Hình 3.12: Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá khoang cổ nemo ( $\mu\text{g/g}$ ) được nuôi với các nguồn carotenoids động vật bổ sung khác nhau.....	97
Hình 3.13: Các chỉ số màu sắc da của cá khoang cổ nemo được nuôi với các hàm lượng khác nhau của carotenoids từ ớt chuông: (A) $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ và (B) $C^*_{ab}$ , $h^*_{ab}$ , $\Delta E^*_{ab}$ .....	100
Hình 3.14: Màu sắc của cá khoang cổ nemo được nuôi với các hàm lượng khác nhau của carotenoids bổ sung từ ớt chuông.....	101
Hình 3.15: Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy ở cá khoang cổ nemo ( $\mu\text{g/g}$ ) được nuôi với các hàm lượng khác nhau của carotenoids bổ sung từ ớt chuông.....	101
Hình 3.16: Các chỉ số màu sắc da của cá khoang cổ nemo được nuôi với các hàm lượng carotenoids bổ sung khác nhau: (A) $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ và (B) $C^*_{ab}$ , $h^*_{ab}$ , $\Delta E^*_{ab}$ .....	105
Hình 3.17: Màu sắc của cá khoang cổ nemo được nuôi với các hàm lượng carotenoids bổ sung khác nhau.....	106

Hình 3.18: Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá khoang cổ nemo ( $\mu\text{g/g}$ ) được nuôi với các hàm lượng sắc tố bổ sung khác nhau.....	107
Hình 3.19: Các chỉ số màu sắc da của cá khoang cổ nemo được nuôi với các khoảng thời gian bổ sung carotenoids khác nhau: (A) $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ và (B) $C^*_{ab}$ , $h^*_{ab}$ , $\Delta E^*_{ab}$ .....	111
Hình 3.20: Màu sắc của cá khoang cổ nemo được nuôi với các khoảng thời gian bổ sung carotenoids khác nhau.....	112
Hình 3.21: Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá khoang cổ nemo ( $\mu\text{g/g}$ ) được nuôi với các khoảng thời gian bổ sung khác nhau.....	112
Hình 3.22: Các chỉ số màu sắc da của cá khoang cổ nemo ở các nhóm đối chứng, ứng dụng và tự nhiên: (A) $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ và (B) $C^*_{ab}$ , $h^*_{ab}$ , $\Delta E^*_{ab}$ .....	130
Hình 3.23: Màu sắc da theo thang đo màu Clownfish Exercise của cá khoang cổ nemo ở các nhóm đối chứng, ứng dụng và tự nhiên.....	131
Hình 3.24: Hình thái cá khoang cổ nemo ở các nhóm đối chứng (giữa), ứng dụng (trái) và tự nhiên (phải).....	131
Hình 3.25: Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá khoang cổ nemo ( $\mu\text{g/g}$ ) ở nhóm đối chứng, ứng dụng và tự nhiên.....	132

## TÓM TẮT NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

**Đề tài luận án:** Nghiên cứu cải thiện màu sắc cá khoang cổ nemo (*Amphiprion ocellaris* Cuvier, 1830) trong điều kiện nuôi nhốt.

**Ngành:** Nuôi trồng Thủy sản

**Mã số:** 9620301

**Nghiên cứu sinh:** Trần Văn Dũng

**Khóa:** 2020

**Người hướng dẫn:** 1. GS. TS. Phạm Quốc Hùng  
2. PGS. TS. Hứa Thái Nhân

**Cơ sở đào tạo:** Trường Đại học Nha Trang

### Nội dung:

Luận án có những đóng góp mới quan trọng về khoa học và thực tiễn trong lĩnh vực nuôi cá cảnh nói chung và cá khoang cổ nemo nói riêng, cụ thể:

1. Chứng minh màu bể xanh dương và độ mặn 33‰ là điều kiện lý tưởng giúp cải thiện vượt trội màu sắc cá, đồng thời nâng cao sinh trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn.
2. Xác định bổ sung vỏ tôm 600 mg/kg thức ăn trong 45 ngày cho màu sắc cá đẹp nhất, song song cải thiện đáng kể sinh trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn, thành phần sinh hóa cơ thể và hoạt tính enzyme tiêu hóa.
3. Ứng dụng thành công các giải pháp kỹ thuật tối ưu vào thực tiễn sản xuất. Kết quả cho thấy cá khoang cổ nemo sản xuất có màu sắc vượt trội so với cá đối chứng và cá tự nhiên, thể hiện ở màu cam đỏ đậm, sâu, tươi sáng, sắc nét và hài hòa. Điều này nâng cao đáng kể giá trị thương mại, sức cạnh tranh của sản phẩm trên thị trường.
4. Đóng góp quan trọng nâng cao chất lượng cá khoang cổ nemo nhân tạo, đáp ứng thị hiếu khách hàng, thúc đẩy phát triển bền vững nghề nuôi và giảm áp lực khai thác lên nguồn lợi tự nhiên.

Các kết quả nghiên cứu, đặc biệt về màu sắc, có giá trị khoa học và ý nghĩa thực tiễn sâu sắc. Đây là những đóng góp mới, lần đầu công bố ở Việt Nam, bổ sung thêm bằng chứng khoa học quý báu cho các nghiên cứu trên thế giới, góp phần hoàn thiện quy trình sản xuất cá khoang cổ nemo chất lượng cao, đáp ứng các tiêu chuẩn khắt khe trong nuôi trồng thủy sản.

**Người hướng dẫn**

**Nghiên cứu sinh**



**GS. TS. Phạm Quốc Hùng PGS. TS. Hứa Thái Nhân**

**Trần Văn Dũng**

## KEY FINDINGS

**Dissertation title:** Enhancing the coloration of captive - bred false clownfish (*Amphiprion ocellaris* Cuvier, 1830).

**Major:** Aquaculture

**Major code:** 9620301

**Ph.D. Student:** Tran Van Dung

**Course:** 2020

**Supervisors:** 1. Prof. Dr. Pham Quoc Hung  
2. Assoc. Prof. Dr. Hua Thai Nhan

**Institution:** Nha Trang University

### Key findings:

The doctoral dissertation has made significant new contributions to science and practice in the field of ornamental fish farming in general and clownfish in particular, specifically:

1. Demonstrating that blue tank color and 33‰ salinity are ideal conditions for vastly improving fish coloration while enhancing growth and feed utilization efficiency.
2. Determining that supplementing 600 mg/kg of shrimp shell in feed for 45 days yields the best fish coloration, while simultaneously significantly improving growth, feed utilization efficiency, body biochemical composition, and digestive enzyme activities.
3. Successfully applying optimized technical solutions to production practices. Results show that the commercially produced clownfish exhibit superior coloration compared to control fish and wild-caught fish, characterized by deep, vivid, bright, well-defined, and harmonious orange-red hues. This substantially enhances the commercial value and competitiveness of the product in the market.
4. Making important contributions to improving the quality of captive-bred clownfish, meeting customer preferences, fostering sustainable development of the farming industry, and reducing pressure on wild populations.

The research findings, particularly those on coloration, have profound scientific value and practical significance. These are novel contributions, first published in Vietnam, providing additional invaluable scientific evidence for global research and contributing to the refinement of high-quality clownfish production processes that meet the stringent standards in aquaculture.

**Supervisors**



**Prof. Pham Quoc Hung & Assoc. Prof. Hua Thai Nhan**

**Ph.D. Student**



**Tran Van Dung**

## MỞ ĐẦU

Nghề nuôi thủy sinh vật cảnh, đặc biệt là cá cảnh biển, ngày càng thu hút được sự quan tâm của người nuôi, các nhà nghiên cứu và các tổ chức bảo tồn [40]. Cá khoang cổ nemo là một trong những loài cá cảnh biển phổ biến nhất và trở thành loài cá biểu tượng trong nghề nuôi cá cảnh biển, đặc biệt là sau khi bộ phim hoạt hình "*Finding Nemo*" được công chiếu vào năm 2004 [110]. Loài cá này được người nuôi rất ưa chuộng, không chỉ ở Việt Nam mà còn trên toàn thế giới, nhờ màu sắc đẹp, tập tính sống cộng sinh độc đáo với hải quỳ, khả năng thích nghi cao với điều kiện nuôi, và đã được sản xuất giống nhân tạo thành công [6]. Tuy nhiên, một trong những thách thức lớn đối với nghề nuôi cá cảnh biển hiện nay là màu sắc của cá trong điều kiện nuôi thường kém sắc sỡ hơn nhiều so với cá khai thác từ tự nhiên [109]. Mặc dù đã có một số thành công bước đầu trong việc sản xuất con giống nhân tạo, nhưng màu sắc kém sắc sỡ, nhợt nhạt và tối sạm vẫn là nguyên nhân làm giảm giá trị, nhu cầu thị trường và gia tăng trở lại áp lực khai thác lên nguồn cá rạn tự nhiên, gây cạn kiệt nguồn lợi và phá hủy hệ sinh thái rạn san hô [40, 156]. Do đó, việc nghiên cứu cải thiện màu sắc của cá khoang cổ nuôi là hết sức cần thiết và có ý nghĩa quan trọng về mặt khoa học cũng như thực tiễn.

Các nghiên cứu cải thiện màu sắc của cá nói chung đã được thực hiện thông qua các giải pháp cải tiến di truyền, bổ sung dinh dưỡng và thay đổi điều kiện môi trường [109, 119, 205]. Trong đó, bổ sung dinh dưỡng, cụ thể là các sắc tố thuộc nhóm carotenoids, có nhiều lợi thế và đang được ứng dụng phổ biến [60, 109, 172]. Tuy nhiên, nguồn carotenoids đang được sử dụng chủ yếu là các hợp chất tổng hợp, với sự chiếm ưu thế của astaxanthin tổng hợp (astaxanthin TH), vốn tồn tại nhiều nhược điểm như khả dụng sinh học (bao gồm tiêu hóa, hấp thu và hoạt tính sinh học) thấp, thiếu các hợp chất có lợi khác (như lutein,  $\beta$ -carotene...), tiềm ẩn nguy cơ gây suy giảm chất lượng nước và bị hạn chế sử dụng trong một số trường hợp [60, 109, 115]. Do đó, việc nghiên cứu và sử dụng các nguồn carotenoids tự nhiên sẵn có, giá rẻ và thân thiện với môi trường để cải thiện màu cá là một hướng tiếp cận tích cực, hiệu quả và bền vững [60, 172]. Với vị trí địa lý thuận lợi thuộc khu vực nhiệt đới, Việt Nam có nguồn nguyên liệu dồi dào, trong đó nhiều loại chứa hàm lượng carotenoids cao, đặc biệt là gấc, ớt chuông, copepoda, vỏ tôm... [3, 56, 153]. Tuy nhiên, cho đến nay, vẫn chưa có nhiều nghiên cứu về ứng dụng các nguồn carotenoids này để cải thiện màu sắc của cá khoang cổ nemo nói riêng và cá cảnh biển nói chung tại Việt Nam. Vì vậy, luận án này nhằm mục đích đánh giá tiềm năng sử dụng những nguyên liệu sẵn có tại địa phương làm nguồn carotenoids tự nhiên để cải thiện màu sắc của cá khoang cổ nemo nuôi, góp phần nâng cao giá trị thương phẩm và giải quyết những thách thức cho nghề nuôi cá cảnh biển bền vững.

Một số nghiên cứu bước đầu ứng dụng nguồn carotenoids tự nhiên từ cà rốt, khoai lang, củ dền, ớt, hoa, vi tảo... để cải thiện màu da, thịt và trứng cá nói chung đã thu được những kết quả tích cực [60, 109]. Tuy nhiên, hầu hết các nghiên cứu này đều bổ sung

nguồn carotenoids dưới dạng bột thô nguyên liệu, vốn chiếm từ 15 – 35% tổng lượng thức ăn [98, 137, 195]. Phương pháp bổ sung này tồn tại nhiều nhược điểm như khó thực hiện, làm giảm chất lượng thức ăn, hiệu quả tiêu hóa/hấp thu thấp, và tiềm ẩn nguy cơ gây suy giảm chất lượng nước [57, 195]. Đáng chú ý, phương pháp bổ sung này không thể áp dụng với các nguồn nguyên liệu có hàm lượng carotenoids thấp, ví dụ vỏ tôm, do lượng bột thô nguyên liệu chứa carotenoids có thể vượt quá tổng khối lượng thức ăn thành phẩm [195]. Do đó, việc nghiên cứu chiết xuất nguồn carotenoids dưới dạng tinh chất để bổ sung vào thức ăn sẽ có nhiều ưu điểm vượt trội như hàm lượng thấp (0,1 – 2,0%), tiện lợi trong sử dụng và bảo quản, dễ tiêu hóa và hấp thu [57, 195]. Mặc dù công nghệ chiết xuất các hợp chất có hoạt tính sinh học cao, bao gồm carotenoids, đã được ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực như y dược, thực phẩm và chăn nuôi, song ứng dụng của nó trong nuôi trồng thủy sản vẫn còn rất hạn chế.

Bên cạnh dinh dưỡng, việc cải thiện màu sắc cá thông qua thay đổi các yếu tố môi trường và sinh thái cũng là một hướng đi tích cực và hiệu quả [109]. Cho đến nay, nhiều nghiên cứu đã được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của các yếu tố môi trường như màu sắc thành bể, nền đáy, màu nước hay ánh sáng lên màu sắc của các đối tượng thủy sản nuôi [109, 128, 205]. Kết quả cho thấy màu sắc môi trường nuôi có ảnh hưởng đáng kể đến các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống, hiệu quả sử dụng thức ăn, màu sắc và một số thông số sức khỏe của nhiều loài cá. Môi trường nuôi không phù hợp cũng là một trong những nguyên nhân ảnh hưởng tiêu cực đến chất lượng màu sắc của cá, qua đó, làm giảm giá trị và khả năng tiêu thụ sản phẩm [128, 138]. Mặc dù vậy, các nghiên cứu về ảnh hưởng của màu sắc hệ thống nuôi đến cá cảnh biển vẫn còn hạn chế, không chỉ về số lượng công trình nghiên cứu mà còn về các chỉ tiêu đánh giá được sử dụng. Hơn nữa, sự đa dạng về màu sắc của rạn san hô cùng với độ mặn cao và ổn định trong tự nhiên được cho là những nhân tố quan trọng giúp cá sống trong môi trường tự nhiên đạt được màu sắc đẹp hơn so với cá được nuôi nhân tạo [40, 109]. Do đó, việc xác định môi trường nuôi phù hợp, bao gồm màu sắc và độ mặn, là rất cần thiết nhằm giúp duy trì và tăng cường màu sắc của cá cảnh khi nuôi.

Màu sắc của cá, dù sống ngoài tự nhiên hay trong điều kiện nuôi, đều chịu sự chi phối của nhiều nhân tố như di truyền, môi trường và dinh dưỡng [60, 109, 119, 205]. Trong khi giải pháp về công nghệ di truyền còn nhiều hạn chế, tốn nhiều thời gian, đòi hỏi trang thiết bị hiện đại cũng như nguồn nhân lực trình độ cao [109, 119], việc kết hợp các giải pháp bổ sung dinh dưỡng và thay đổi môi trường lại là một hướng tiếp cận tích cực, hiệu quả và dễ áp dụng [109], đặc biệt phù hợp với bối cảnh nghề nuôi trồng thủy sản ở nước ta hiện nay. Thông qua các thông số tối ưu đạt được từ các nội dung/thí nghiệm của luận án, chúng tôi đã ứng dụng chúng vào thực tiễn sản xuất nhằm nâng cao chất lượng của nguồn cá khoang cổ nemo nuôi tương đương hoặc vượt trội hơn so với nguồn cá khai thác tự nhiên. Kết quả này không chỉ giúp nâng cao chất lượng, giá trị và



khả năng tiêu thụ của nguồn cá sản xuất mà còn góp phần giảm áp lực khai thác lên nguồn lợi cá rạn tự nhiên, bảo vệ đa dạng sinh học và hệ sinh thái rạn san hô, đặc biệt trong bối cảnh biến đổi khí hậu, ô nhiễm môi trường và khai thác không bền vững hiện nay. Xuất phát từ những lý do trên, đề tài luận án "*Nghiên cứu cải thiện màu sắc của cá khoang cổ nemo, (Amphiprion ocellaris Cuvier, 1830) trong điều kiện nuôi nhốt*" đã được thực hiện.

### **Mục tiêu của đề tài:**

**Mục tiêu chung:** Cải thiện màu sắc cá khoang cổ nemo trong điều kiện nuôi nhốt, đạt chất lượng tương đương hoặc vượt trội hơn nguồn cá khai thác tự nhiên, bằng cách kết hợp các giải pháp điều chỉnh môi trường nuôi và bổ sung sắc tố có nguồn gốc từ tự nhiên.

**Mục tiêu cụ thể** là (1) Xác định được màu sắc và độ mặn môi trường nuôi thích hợp; (2) Xác định chế độ bổ sung carotenoids thích hợp (nguồn, hàm lượng và thời gian); và (3) Ứng dụng kết hợp các thông số thích hợp nhất về môi trường nuôi và chế độ bổ sung carotenoids nhằm cải thiện màu sắc cá khoang cổ nemo sản xuất nhân tạo.

**Nội dung của đề tài:** Để đạt được các mục tiêu nêu trên, đề tài tập trung vào 3 nội dung nghiên cứu chính sau đây:

1. Đánh giá ảnh hưởng của môi trường nuôi (màu bể và độ mặn) lên màu sắc cá khoang cổ nemo.
2. Đánh giá ảnh hưởng của chế độ bổ sung carotenoids (nguồn, hàm lượng và thời gian) lên màu sắc cá khoang cổ nemo.
3. Đánh giá hiệu quả kết hợp các yếu tố môi trường nuôi và chế độ bổ sung carotenoids thích hợp nhằm cải thiện màu sắc cá khoang cổ nemo sản xuất nhân tạo.

### **Ý nghĩa của đề tài:**

**Ý nghĩa khoa học:** Kết quả của đề tài sẽ cung cấp cơ sở khoa học và thực tiễn quan trọng về tác động của các yếu tố môi trường nuôi và chế độ bổ sung dinh dưỡng lên tăng trưởng, màu sắc và các chỉ tiêu sinh lý, sinh hóa khác của cá khoang cổ nemo. Đây sẽ là nguồn tài liệu tham khảo có giá trị phục vụ công tác giảng dạy và nghiên cứu khoa học trong lĩnh vực thủy sản trong và ngoài nước.

**Ý nghĩa thực tiễn:** Việc ứng dụng các kết quả nghiên cứu của đề tài sẽ đóng góp quan trọng vào việc nâng cao chất lượng, giá trị thương mại và khả năng cạnh tranh của nguồn cá khoang cổ nemo sản xuất nhân tạo. Từ đó, thúc đẩy sự phát triển bền vững và hiệu quả của nghề nuôi cá khoang cổ nemo nói riêng và cá cảnh biển nói chung, đồng thời giảm áp lực khai thác lên nguồn lợi tự nhiên, góp phần bảo tồn đa dạng sinh học và hệ sinh thái rạn san hô trong bối cảnh biến đổi khí hậu toàn cầu hiện nay.

## CHƯƠNG 1 – TỔNG QUAN

### 1.1. Tổng quan về nghề nuôi cá cảnh biển

#### 1.1.1. Lịch sử hình thành và phát triển

Sự quan tâm đến các loài thủy sinh vật và việc lưu giữ chúng được cho là bắt đầu từ các nền văn minh cổ đại. Từ khoảng năm 2000 trước Công nguyên, người Assyria, Ai Cập và Trung Quốc đã nuôi cá với mục đích duy trì nguồn thực phẩm, phục vụ lý do tôn giáo, và sau đó cá còn mang thêm vai trò trang trí và biểu tượng của địa vị. Người La Mã giàu có tiếp tục xu hướng này bằng cách xây dựng các hồ bơi ven biển kết hợp với thả nuôi cá biển [37]. Người Trung Quốc đã tiên phong trong thương mại thủy sinh vật cảnh khi họ xác định và thuần hóa các kiểu hình độc đáo, nhiều màu sắc của cá chép và cá vàng, từ năm 265 đến 316 sau Công nguyên, và xuất khẩu sang Nhật Bản vào những năm 1500 và châu Âu vào những năm 1700 [37].

Vào những năm 1840, các nhà tự nhiên học Anh bắt đầu thu thập và nuôi giữ các sinh vật biển địa phương trong các bể thủy tinh để quan sát, dẫn đến sự ra đời của triển lãm thủy cung công cộng đầu tiên tại London. Sự mở rộng toàn cầu của sở thích nuôi cá cảnh nước ngọt đã kích thích nhu cầu về nhiều loài sinh vật lạ, thúc đẩy sự gia tăng số lượng các loài thủy sinh vật cảnh được thu thập và xuất khẩu từ Nam Mỹ và Nam Á vào những năm 1800 - 1900 [206]. Sở thích này dần lan rộng sang môi trường nước mặn, đánh dấu sự khởi đầu của thương mại thủy sinh vật cảnh biển, với Sri Lanka trở thành địa điểm thương mại đầu tiên trên thế giới từ những năm 1930 đến 1950, sau đó lan rộng sang Philippines và Hawaii vào những năm 1950 - 1960 [40, 206]. Sự phát triển của nghề nuôi cá cảnh biển giai đoạn 1960 - 1970 được thúc đẩy bởi sự ra đời của muối biển nhân tạo, cùng với những tiến bộ công nghệ như lọc nước, chiếu sáng, kiểm soát nhiệt độ, phân tích các thông số lý, hóa của nước và các kỹ thuật chăm sóc, quản lý khác. Những yếu tố này đã nâng cao khả năng tiếp cận và sự phổ biến của sở thích nuôi cá cảnh biển trong suốt những năm 1970 cho đến nay [30, 37, 156, 164].

#### 1.1.2. Các đối tượng nuôi chính

Thủy sinh vật cảnh biển, bao gồm cá cảnh và các nhóm loài khác, là những sinh vật nước mặn nổi bật với màu sắc đẹp, hình thái độc đáo và đa dạng. Chúng được nuôi

giữ làm cảnh trong các hệ thống bể nhân tạo ở cả quy mô gia đình và thương mại, thường sử dụng các bể kính, mica hay composite trong suốt để thuận tiện cho việc trưng bày và quan sát. Ngoài yếu tố thẩm mỹ, phương thức sống độc đáo của một số loài cũng là tiêu chí quan trọng trong việc lựa chọn của người nuôi. Các loài thủy sinh vật cảnh biển phổ biến bao gồm cá, giáp xác (tôm cảnh, cua cảnh), thân mềm (bạch tuộc, ốc, trai tai tượng), da gai (sao biển, cầu gai), và ruột khoang (san hô, sứa, hải quỳ). Tuy nhiên, trong số này, cá vẫn là đối tượng được quan tâm hơn cả do sự đa dạng về chủng loại, màu sắc, hình dạng và hành vi. Sự phong phú của các loài cá cảnh biển đóng vai trò quan trọng trong việc tạo ra các hệ sinh thái đa dạng và hấp dẫn trong các hệ thống nuôi và thủy cung [40].

Theo các nghiên cứu, ít nhất 338 loài cá cảnh biển thuộc 37 họ đã được ghi nhận và sử dụng trong ngành nuôi cá cảnh, không bao gồm các loài được sử dụng làm thực phẩm [40]. Trong số này, họ Pomacentridae chiếm số lượng lớn nhất với 59 loài, tiếp theo là họ Gobiidae và Syngnathidae, mỗi họ có 44 loài. Tuy nhiên, chỉ khoảng 40% số loài này xuất hiện trên thị trường, và chỉ 18% thường xuyên có mặt, chủ yếu tập trung vào các đại diện thuộc họ Blennidae (37%), Pomacentridae (27%) và Apogonidae (24%). Đáng chú ý, một số loài trong các họ này được liệt kê trong danh sách các loài nguy cấp hoặc có nguy cơ nguy cấp của Liên minh Bảo tồn Thiên nhiên Quốc tế (IUCN), ví dụ như Labridae (13%), Apogonidae (6%), Syngnathidae (23%), Gobiidae (5%) và Pomacentridae (3%). Thậm chí, một số loài còn đang đối mặt với nguy cơ tuyệt chủng, như cá Banggai (*Pterapogon kauderni*) hay cá tang vàng (*Zebrasoma flavescens*) [31, 156].

### **1.1.3. Tình hình sản xuất, khai thác và tiêu thụ**

Thương mại cá cảnh biển khởi nguồn từ những năm 1930 tại Sri Lanka và phát triển mạnh mẽ từ năm 1950 [37]. Tính đến năm 2017, hơn 48 quốc gia xuất khẩu và 38 quốc gia nhập khẩu cá cảnh biển. Ước tính số lượng cá cảnh biển giao dịch trên toàn cầu giai đoạn 2000 – 2010 vào khoảng 26 - 35 triệu con [30]. Mỹ, Châu Âu và Nhật Bản là những thị trường nhập khẩu lớn nhất, trong khi Đông Nam Á, đặc biệt là Philippines, Indonesia và Sri Lanka đóng góp 85% lượng xuất khẩu [30, 164]. Cá cảnh biển chỉ chiếm dưới 10% tổng giá trị thương mại toàn cầu của ngành thủy sinh vật cảnh, trong đó chỉ khoảng 1% có nguồn gốc từ sinh sản nhân tạo [40]. Ước tính giá trị toàn cầu của ngành công nghiệp này dao động từ 15 - 20 tỷ đô la mỗi năm [30].

Gần như tất cả các loài thủy sinh vật cảnh biển (99%) được khai thác tự nhiên, vấn đề này đã và đang gây ra những tác động tiêu cực đến môi trường và nguồn lợi [156, 206]. Việt Nam sở hữu tiềm năng lớn để phát triển nghề khai thác và nuôi thủy sinh vật cảnh biển. Tuy nhiên, nguồn cá cảnh biển cung cấp cho thị trường hiện nay hầu như được khai thác từ tự nhiên với sản lượng ước tính khoảng 100.000 con/tháng [6]. Mỗi năm, Việt Nam xuất khẩu khoảng 20 – 25 triệu cá cảnh, tuy nhiên, cá cảnh biển chỉ chiếm dưới 10% [6]. Sản lượng cá cảnh biển có xu hướng giảm mạnh do nhiều nguyên nhân như khai thác bất hợp pháp, ô nhiễm môi trường và suy giảm diện tích rạn san hô.

Trong khi nghề nuôi cá cảnh nước ngọt đã sản xuất được hơn 90% số loài, nghề nuôi cá cảnh biển mới chỉ sản xuất được khoảng 10 - 15% số loài thương mại [40, 206]. Các nghiên cứu về sinh sản nhân tạo cá cảnh biển đã tập trung chủ yếu vào các họ Pomacentridae, Pseudochromidae, Syngnathidae và một số loài riêng lẻ có giá trị [30, 40, 164]. Tại Việt Nam, nghiên cứu sinh sản nhân tạo cá cảnh biển được khởi xướng từ năm 2005 trên một số loài cá khoang cổ, sau đó mở rộng sang các loài khác như cá ngựa, cá thia đồng tiền, cá bá chủ... Tuy nhiên, các thành công đáng kể mới chỉ được ghi nhận ở một số loài cá khoang cổ và cá ngựa [1, 5, 6, 9].

Việc sinh sản nhân tạo các loài cá đẻ trứng trôi nổi như cá bướm, cá bác sĩ đối mặt với nhiều khó khăn hơn so với các loài cá đẻ trứng dính [40]. Việc áp dụng các biện pháp như thiết kế hệ thống nuôi phù hợp, kích thích sinh sản bằng hormone và thụ tinh nhân tạo là cần thiết để cải thiện hiệu quả sinh sản ở nhóm cá này. Bên cạnh đó, sự kết hợp của các loại thức ăn sống cùng với quá trình tối ưu hóa chế độ nuôi đã giúp cải thiện đáng kể tỷ lệ sống và chất lượng cá giống [44]. Việc áp dụng các kỹ thuật tiên tiến về di truyền phân tử cũng đang mở ra triển vọng mới cho nghề nuôi cá cảnh biển, tuy nhiên việc này cần phải được cân nhắc kỹ lưỡng về các khía cạnh pháp lý, đạo đức và rủi ro tiềm ẩn [109].

#### ***1.1.4. Thách thức, cơ hội và định hướng phát triển***

Nghề nuôi cá cảnh biển đang đối mặt với một số thách thức và cơ hội để phát triển bền vững. Thách thức chính là những hạn chế về kỹ thuật sản xuất giống nhân tạo do đặc điểm sinh học đa dạng của nhiều loài cá cảnh biển [40, 156]. Các yếu tố như khó khăn trong việc nuôi thành thực, kích thích sinh sản cá bố mẹ, cùng với thời gian phát triển phôi, ấu trùng kéo dài và chưa được hiểu rõ là những trở ngại lớn trong sản xuất giống nhân tạo cá cảnh biển [44]. Bên cạnh đó, chi phí sản xuất cao so với đánh bắt tự

nhiên cũng là rào cản đáng kể. Ngoài ra, các quy định pháp lý ngày càng khắt khe về buôn bán, xuất nhập khẩu và nuôi các loài thủy sinh vật biển từ phía các nhà nhập khẩu hiện nay cũng gây áp lực không nhỏ đối với ngành công nghiệp nuôi cá cảnh biển.

Tuy nhiên, những tiến bộ và thành tựu gần đây về các lĩnh vực công nghệ di truyền, lai tạo và sinh học phân tử đang mở ra triển vọng mới cho nghề nuôi cá cảnh biển. Việc áp dụng các kỹ thuật tiên tiến này trong sinh sản nhân tạo hứa hẹn sẽ tạo ra các giải pháp khắc phục những hạn chế về đặc tính sinh học của cá. Các nghiên cứu chuyên sâu về chọn lọc và cải thiện giống, tạo ra các dòng cá lai mới với đặc điểm nổi trội, hoặc khai thác tiềm năng của các loài mới có thể đa dạng hóa và nâng cao chất lượng nguồn cá cảnh nuôi [109, 119]. Như vậy, sự phát triển bền vững của ngành nuôi cá cảnh biển không chỉ mang lại lợi ích kinh tế mà còn góp phần giảm áp lực khai thác tự nhiên và tác động tiêu cực tới hệ sinh thái biển.

Để phát huy tiềm năng, ngành nuôi cá cảnh biển cần định hướng phát triển theo hướng thân thiện với môi trường và bền vững. Cụ thể, cần ưu tiên phát triển các loài bản địa thay vì nhập nội các loài ngoại lai để tránh nguy cơ gây mất cân bằng sinh thái. Bên cạnh đó, ngành cần tận dụng tối đa các thành tựu, kinh nghiệm và hiểu biết có được từ các thành công trong sản xuất giống và nuôi các loài thủy sản làm thực phẩm [44]. Việc ứng dụng những tiến bộ này sẽ góp phần đẩy nhanh tốc độ sản xuất giống và nuôi thương phẩm các loài cá cảnh biển. Đồng thời, việc áp dụng các tiêu chuẩn thực hành nuôi trồng thủy sản tốt cũng là yếu tố quan trọng sẽ nâng cao chất lượng sản phẩm, đáp ứng yêu cầu ngày càng cao của thị trường nhập khẩu. Hơn nữa, ngành cần tăng cường nghiên cứu về nhu cầu thị trường và yêu cầu của người nuôi để có chiến lược sản xuất và tiếp thị phù hợp, nâng cao giá trị gia tăng của sản phẩm cá cảnh [40].

## **1.2. Tổng quan về cá khoang cổ nemo**

### ***1.2.1. Phân loại và hình thái***

Cá khoang cổ (Amphiprion, Pomacentridae) là một trong những nhóm cá cảnh biển được ưa chuộng nhất hiện nay. Giống Amphiprion gồm 30 loài, phân thành 4 giống phụ [184]. Tại Việt Nam, đã ghi nhận ít nhất 11 loài cá khoang cổ, gồm *Amphiprion akindynos*, *A. chrysopterus*, *A. clarkii*, *A. ephippium*, *A. frenatus*, *A. melanopus*, *A. ocellaris*, *A. perideraion*, *A. polymnus*, *A. sandaracinos*, và *A. tricinctus* [5, 10]. Cá khoang cổ nemo (*Amphiprion ocellaris*) được phân loại như sau [14]:

Ngành: Chordata (động vật có dây sống)

Lớp: Osteichthyes (cá xương)

Bộ: Perciformes (cá vược)

Họ: Pomacentridae (cá thia)

Giống: Amphiprion (cá khoang cỏ)

Loài: *Amphiprion ocellaris* (Cuvier, 1830)

Cá khoang cỏ nemo có nhiều tên gọi khác nhau. Tên khoa học là *Amphiprion ocellaris* được Cuvier mô tả năm 1830. Trong tiếng Anh, chúng được gọi là clown anemonefish, common clownfish hay false clown anemonefish. Tại Việt Nam, loài cá này có tên gọi phổ biến là cá khoang cỏ nemo hay cá hải quỳ [6].



**Hình 1.1: Cá khoang cỏ nemo *Amphiprion ocellaris* Cuvier, 1830**

<https://reeflifesurvey.com>

Cá khoang cỏ có kích thước nhỏ, chiều dài tối đa 5 - 36 cm, thân cao, bầu dục và dẹp bên. Vây lưng gồm 8 - 17 tia cứng và 10 - 18 tia mềm, vây hậu môn 2 - 3 tia cứng, vây đuôi phân nhánh. Cơ thể và đầu phủ vảy, mỗi bên đầu có 1 - 2 lỗ mũi. Miệng nằm giữa, vòm miệng không có răng, răng hàm xếp 1 - 2 hàng [14]. Cá khoang cỏ có màu sắc đa dạng, là sự kết hợp của các màu đen, đỏ, cam, trắng, nâu, vàng, và có thể thay đổi theo loài, vùng địa lý, dinh dưỡng, môi trường và giai đoạn sinh lý [166, 170].

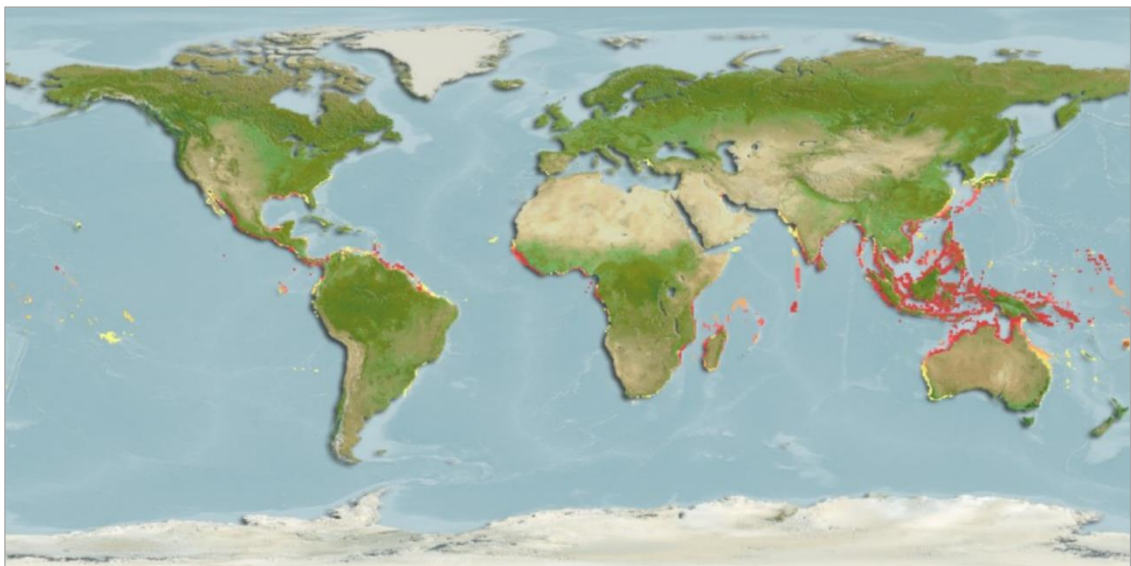
Riêng về loài cá khoang cỏ nemo, chúng có màu cam đến cam đỏ với ba sọc trắng viền đen ở đầu, giữa thân và đuôi. Sọc giữa phình to về phía đầu (Hình 1.1). Công thức vây: D. X - XI, 13 - 17; A. 11 - 13; P. 16 - 18. Vây trên đường bên: 34 - 48; vây đuôi:

56 - 66 tia. Vây từ gốc vây lưng tới đường bên: 4 - 5; từ đường bên tới gốc vây hậu môn: 22 - 25. Răng sắc bén, 28 - 32 chiếc/hàm. Một đặc điểm quan trọng là con cái lớn hơn con đực, với chiều dài tối đa có thể đạt tới 11 cm [14].

### 1.2.2. Phân bố và sinh thái

Cá khoang cổ phân bố rộng rãi ở các rạn san hô trong vùng biển nhiệt đới và cận nhiệt đới của Thái Bình Dương và Ấn Độ Dương. Chúng được tìm thấy ở độ sâu từ 1 - 15 m, thường sống thành từng ổ cộng sinh với hải quỳ (Actiniaria) và ít di cư [68].

Sự phân bố của cá khoang cổ chịu ảnh hưởng đáng kể bởi sự có mặt của hải quỳ và điều kiện môi trường [68]. Giống *Amphiprion* gồm 30 loài với ba kiểu phân bố chính: rộng, hạn chế và rất hạn chế [89]. Trong đó, cá khoang cổ đen đuôi vàng (*A. clarkii*) có phạm vi phân bố rộng nhất, từ vùng biển phía Đông Châu Phi tới các đảo ở Thái Bình Dương [68]. Trái lại, cá khoang cổ nemo phân bố hạn chế hơn, chủ yếu ở vùng biển Đông Nam Á, Úc và miền Tây Thái Bình Dương (Hình 1.2). Tại Việt Nam, cá khoang cổ được ghi nhận chủ yếu ở vùng biển Nam Trung Bộ như Quảng Nam, Đà Nẵng, Phú Yên, Khánh Hòa và Bình Thuận, nơi có nhiều rạn san hô phát triển [5]. Tuy nhiên, do khai thác quá mức và suy thoái sinh cảnh, quần thể cá khoang cổ tại Việt Nam hiện đang phải đối mặt với nguy cơ suy giảm nghiêm trọng.



**Hình 1.2: Phân bố địa lý của cá khoang cổ nemo (màu đỏ)**

<http://www.aquamaps.org>

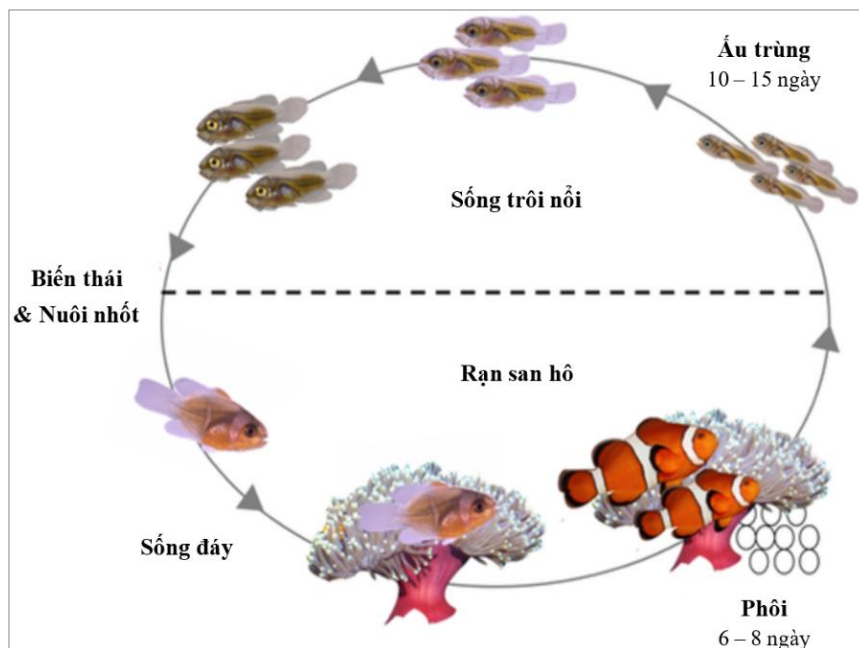
Trong tự nhiên, cá khoang cổ thiết lập mối quan hệ cộng sinh chặt chẽ với hải quỳ. Cá giúp làm sạch các mảnh vụn thức ăn và mô chết trên xúc tu của hải quỳ, đồng thời bảo vệ chúng khỏi các loài cá ăn san hô như cá bướm (Chaetodontidae). Ngược lại,



hải quỳ cung cấp nơi trú ẩn an toàn cho cá khoang cổ nhờ các xúc tu có chứa tuyến độc. Nhờ đó, cá khoang cổ giảm được nguy cơ bị tấn công, tỷ lệ tử vong thấp và kéo dài tuổi thọ [39, 68, 110]. Tuy nhiên, các nghiên cứu cho thấy rằng trong điều kiện nuôi nhân tạo, cá khoang cổ có thể sinh trưởng và sinh sản bình thường mà không cần sự hiện diện của hải quỳ [40, 213]. Ngoài ra, cá khoang cổ còn có mối tương tác sinh thái quan trọng với nhiều loài sinh vật khác trong rạn san hô như tạo cộng sinh với san hô, động vật phù du và ấu trùng cá. Do đó, chúng đóng vai trò không thể thiếu trong việc duy trì cân bằng sinh thái, đa dạng sinh học và sức khỏe của hệ sinh thái rạn san hô [40, 110].

### 1.2.3. Sinh trưởng, phát triển và vòng đời

Trứng cá khoang cổ có hình elip hoặc viên nhộng, dính vào giá thể nhờ các sợi kết dính. Trứng giàu sắc tố carotenoids trong noãn hoàng, có màu từ trắng, cam đến tím, kích thước dao động từ 1,50 - 3,50 mm × 0,80 - 1,85 mm tùy theo loài [179]. Trong quá trình ấp, phôi thay đổi màu sắc rõ rệt từ vàng nhạt (ngày 1), xám đậm (ngày 3), đến đen với ánh bạc của mắt (ngày 4 - 6), những biến đổi này là dấu hiệu dự đoán thời điểm nở [121, 185, 213]. Thời gian phát triển phôi thường kéo dài từ 6 - 8 ngày (ở nhiệt độ 28°C), tuy nhiên có thể kéo dài đến 13,5 ngày ở loài *A. clarkii* [49, 185]. Ấu trùng thường nở vào ban đêm (trong khoảng thời gian từ 18h00 - 21h00) trong khoảng một giờ, khi nở chúng đã có miệng, hậu môn và túi noãn hoàng [179, 185, 213]. Sau khi hết noãn hoàng, ấu trùng bắt đầu bắt mồi, hoàn tất biến thái sau khoảng 23 ngày với chiều dài đạt khoảng 1,5 cm [49, 89].



**Hình 1.3: Vòng đời của cá khoang cổ nemo [166]**



Cá khoang cỏ có kích thước nhỏ và tốc độ tăng trưởng chậm, dao động khoảng 1 - 6%/ngày, và chịu ảnh hưởng bởi các yếu tố bên trong (loài, giai đoạn) và bên ngoài (thức ăn, môi trường, cấu trúc xã hội) [2, 14, 103]. Cá con thường bị chi phối bởi cặp cá bố mẹ thống trị, dẫn đến ít thời gian kiếm ăn do phải ẩn nấp [110, 213]. Khi trưởng thành, cá khoang cỏ ghép đôi, làm tổ và sinh sản. Ấu trùng sống trôi nổi, trải qua nhiều giai đoạn biến thái trước khi định cư trong rạn san hô hoặc cùng hải quỳ, phát triển thành cá trưởng thành, tham gia sinh sản tùy thuộc vào cấu trúc xã hội, và hoàn thành vòng đời (Hình 1.3) [40, 166]. Trong điều kiện nuôi, cá khoang cỏ có thể sống 9 – 30 năm, gấp 2 - 6 lần so với các loài cùng họ cá thia Pomacentridae nhờ mối quan hệ cộng sinh với hải quỳ, giúp làm chậm quá trình lão hóa và kéo dài tuổi thọ [110].

#### **1.2.4. Dinh dưỡng**

Cá khoang cỏ là loài ăn tạp và kiếm ăn cơ hội [14, 213]. Thành phần thức ăn của chúng rất đa dạng, bao gồm thực vật phù du, động vật phù du, ấu trùng động vật thân mềm, ấu trùng giáp xác, giun, cá, và thậm chí cả phôi hồng trong quá trình ấp của cá bố mẹ [5, 14, 68]. Trong sinh sản nhân tạo, việc sử dụng thức ăn sống hoặc chế biến mang lại hiệu quả cao hơn so với thức ăn công nghiệp [40]. Cá khoang cỏ dễ nuôi thành thực hơn các loài cá cảnh biển khác do chúng chấp nhận nhiều loại thức ăn khác nhau, từ thức ăn sống, chế biến, đông lạnh đến thức ăn công nghiệp [40, 44]. Mặc dù nhu cầu dinh dưỡng của cá bố mẹ vẫn chưa được nghiên cứu đầy đủ, việc cho ăn kết hợp nhiều loại thức ăn khác nhau và bổ sung dinh dưỡng được khuyến cáo áp dụng để đảm bảo sức khỏe và chất lượng sinh sản [40]. Chế độ dinh dưỡng phù hợp cho cá bố mẹ nên bao gồm thức ăn tươi (như cá biển, mực, tôm, hào), thức ăn đông lạnh hoặc chế biến (từ các nguồn tươi kể trên), và thức ăn công nghiệp. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra tầm quan trọng của việc bổ sung thêm các chất dinh dưỡng thiết yếu như axit béo không no, vitamin, sắc tố và khoáng chất nhằm nâng cao chất lượng trứng và tinh trùng [44].

Cá khoang cỏ có sự chuyển đổi thức ăn ưa thích theo giai đoạn phát triển. Trong sản xuất giống nhân tạo, ấu trùng được ương thành công bằng cách kết hợp luân trùng, Copepoda, Artemia và thức ăn công nghiệp dành cho ương cá biển [1, 5, 6]. Phương pháp kết hợp này mang lại hiệu quả cao hơn so với cho ăn đơn lẻ từng loại thức ăn, nhờ khả năng đáp ứng đầy đủ nhu cầu dinh dưỡng, cung cấp cỡ môi phù hợp, cải thiện sinh trưởng, biến thái, tỷ lệ sống và màu sắc của ấu trùng [79, 89, 185]. Việc bổ sung các axit

béo không no (như DHA, EPA, ARA), vitamin C và các chất kích thích miễn dịch khác trong quá trình ương ấu trùng cũng đóng vai trò quan trọng giúp nâng cao tăng trưởng, tỷ lệ sống, sức đề kháng và cải thiện màu sắc [2, 44]. Mặc dù vậy, các nghiên cứu về nhu cầu dinh dưỡng của cá khoang cổ vẫn còn hạn chế và có sự khác biệt theo loài cũng như giai đoạn phát triển. Theo một số công bố, nhu cầu protein dao động từ 43 - 60%, trong khi nhu cầu lipid nằm trong khoảng 8 - 18% [50, 125, 186, 203]. Tuy nhiên, để nâng cao hiệu quả sản xuất và chất lượng cá giống, việc tiến hành thêm các nghiên cứu nhằm xác định rõ hơn nhu cầu dinh dưỡng phù hợp cho từng loài và giai đoạn phát triển cụ thể là rất cần thiết.

### **1.2.5. Sinh sản**

Cá khoang cổ là loài lưỡng tính, trải qua quá trình chuyển đổi giới tính từ đực sang cái, với tính đực xuất hiện trước. Sự chuyển đổi giới tính chịu ảnh hưởng của các yếu tố như nội tiết, môi trường và cấu trúc xã hội trong quần đàn [14, 68]. Trong một cặp cá đã chung sống ổn định, cá thể lớn hơn thường là con cái, trong khi cá thể nhỏ hơn là con đực. Nghiên cứu trên cá khoang cổ cam cho thấy con đực chiếm ưu thế ở cỡ < 54,9 mm, con cái ở cỡ > 55,0 mm, và từ 55,0 mm trở lên, cá bắt đầu có sự chuyển đổi giới tính [120].

Cá khoang cổ trải qua sáu giai đoạn phát triển tuyến sinh dục. Ở loài cá khoang cổ Maldive (*A. nigripes*), kích thước thành thục lần đầu tương ứng ở cá đực và cá cái lần lượt là 35 mm và 55 mm [75]. Khi đạt độ thành thục, chúng kết cặp và sống với nhau suốt đời. Hệ số thành thục dao động từ 0,62 – 19,8% với đỉnh cao vào tháng 1 và thấp nhất vào tháng 6 – 9 [75, 120]. Cá khoang cổ đẻ trứng dính, chăm sóc và bảo vệ trứng, dẫn đến sức sinh sản thấp, dao động từ 405 - 5.025 trứng/lần đẻ tùy theo loài, kích cỡ cá thể và chế độ chăm sóc, quản lý [1, 185, 213]. Hoạt động đẻ trứng diễn ra vào ban ngày và kéo dài khoảng 30 - 60 phút [185]. Sau khi đẻ, phôi được chăm sóc bởi con đực, trong khi con cái tăng cường bắt mồi để tích lũy dinh dưỡng cho chu kỳ sinh sản tiếp theo [1, 49].

Tại vùng biển nhiệt đới, cá khoang cổ sinh sản quanh năm, với mùa sinh sản chính vào mùa xuân và hè. Tần suất sinh sản dao động từ 6 - 19 lần đẻ/năm và có mối liên quan đến chu kỳ trăng, giúp ấu trùng mới nở hướng quang lên mặt nước và phát tán [44, 185]. Chu kỳ trăng ảnh hưởng đến nồng độ melatonin trong cơ thể cá, từ đó điều hòa hoạt động sinh sản. Nhiệt độ nước biển cũng đóng vai trò quan trọng trong kích thích sinh sản [75, 89]. Việc cung cấp chế độ dinh dưỡng phong phú và duy trì các thông số môi trường ổn

định có thể cải thiện đáng kể hiệu quả sinh sản của cá khoang cỏ nuôi trong điều kiện nhân tạo [44]. Tuy nhiên, các nghiên cứu sâu hơn về sinh lý sinh sản, nhu cầu dinh dưỡng và điều kiện môi trường tối ưu cho từng loài cụ thể vẫn cần được tiếp tục thực hiện để nâng cao hiệu quả và khả năng ứng dụng trong sản xuất giống nhân tạo.

#### **1.2.6. Tình hình nghiên cứu và sản xuất giống**

Cá khoang cỏ là loài cá đẻ trứng dính, với thời gian phát triển phôi kéo dài từ 6 - 9 ngày ở nhiệt độ 26 - 29°C, tùy thuộc vào loài [89, 179]. Trong quá trình ấp trứng, cá đực đóng vai trò chính trong việc chăm sóc, bao gồm quạt nước để cung cấp oxy và loại bỏ các chất thải, đồng thời làm sạch trứng bằng cách gỡ bỏ các vật chất lạ và trứng không thụ tinh [49, 185]. Trong khi đó, cá cái tập trung vào việc bổ sung dinh dưỡng để chuẩn bị cho đợt sinh sản tiếp theo. Tuy nhiên, hiện tượng hao hụt trứng thường xảy ra trong quá trình ấp, có thể do căng thẳng, chất lượng sản phẩm sinh dục kém hoặc điều kiện môi trường nuôi không phù hợp. Việc tách trứng ra khỏi cá bố mẹ để ấp riêng thường kém hiệu quả hơn so với việc để cá bố mẹ chăm sóc trứng, do trứng dễ bị nhiễm khuẩn khi thiếu sự bảo vệ và chăm sóc từ cá bố mẹ [40].

Những tiến bộ gần đây trong nghiên cứu sản xuất giống cá khoang cỏ tập trung vào việc tối ưu hóa điều kiện ương nuôi, bao gồm mật độ, chế độ cho ăn, sử dụng thức ăn sống làm giàu, và tạo môi trường nuôi phù hợp [40, 44]. Nhờ đó, tỷ lệ sống của một số loài cá khoang cỏ đến giai đoạn giống đã được cải thiện đáng kể, đạt 60,0 - 75,7% [2, 6, 158]. Tuy nhiên, sản xuất giống cá khoang cỏ vẫn gặp phải các trở ngại liên quan đến quản lý chất lượng cá bố mẹ, dinh dưỡng, kiểm soát dịch bệnh, tăng trưởng và chất lượng cá giống cũng như chi phí sản xuất [44, 109].

Tại Việt Nam, các nghiên cứu sản xuất giống cá khoang cỏ được triển khai từ năm 2005, tập trung vào các loài cá khoang cỏ đỏ, khoang cỏ nemo, khoang cỏ cam và khoang cỏ yên ngựa [1, 2, 5, 6, 8]. Ít nhất ba quy trình sản xuất giống nhân tạo đã được xây dựng và hoàn thiện. Theo đó, cá bố mẹ được nuôi thành thực trong hệ thống tuần hoàn, cho ăn bằng thức ăn chế biến. Cá đẻ tự nhiên với chu kỳ 2 - 3 tuần/lần, sức sinh sản 100 - 1.000 trứng/lần đẻ. Trứng được ấp 7 - 10 ngày ở 27 - 30°C. Ấu trùng được ương với luân trùng, nauplius *Artemia* và thức ăn công nghiệp. Mật độ và độ mặn ương nuôi thích hợp là 1 - 3 con/lít và 30 - 35‰. Tỷ lệ sống đạt 30 - 75% cho đến cỡ cá giống với kích thước 3 - 5 cm. Đối với cá khoang cỏ cam, việc tối ưu hóa thời điểm cho ăn và

làm giàu luân trùng/*Artemia* đã cải thiện tăng trưởng và tỷ lệ sống. Ở giai đoạn cá giống, việc bổ sung vitamin C, astaxanthin và tăng tần suất cho ăn đã giúp nâng cao tăng trưởng, tỷ lệ sống và màu sắc [1, 2]. Mặc dù đã đạt được những bước tiến đáng kể, việc sản xuất giống cá khoang cổ thương mại vẫn cần được tiếp tục nghiên cứu và hoàn thiện, đặc biệt là các khía cạnh liên quan đến dinh dưỡng, sức khỏe và di truyền nhằm nâng cao chất lượng và đa dạng hóa sản phẩm cá giống, đáp ứng nhu cầu ngày càng tăng của thị trường cá cảnh trong và ngoài nước.

### **1.3. Chất lượng cá cảnh và các yếu tố ảnh hưởng**

#### ***1.3.1. Khái niệm và tiêu chí đánh giá chất lượng cá cảnh***

Cá cảnh là những loài cá được nuôi và chăm sóc với mục đích thưởng thức vẻ đẹp, sự độc đáo về ngoại hình, màu sắc và hành vi. Chúng được chia thành nhiều nhóm khác nhau dựa trên nguồn gốc, đặc điểm sinh học và yêu cầu chăm sóc. Việc đánh giá chất lượng cá cảnh là một quá trình quan trọng, đòi hỏi sự hiểu biết sâu sắc về đặc điểm sinh học, yêu cầu môi trường sống và các bệnh thường gặp ở từng loài [40]. Một trong những tiêu chí quan trọng nhất để đánh giá chất lượng cá cảnh là ngoại hình và màu sắc. Cá cảnh chất lượng cao thường có hình dáng cân đối, đặc trưng của loài, với màu sắc tươi sáng, rực rỡ và không bị nhạt nhòa [109, 134]. Vây và đuôi của chúng không bị xây xát, tổn thương hay biến dạng, trong khi da và vảy không bị trầy xước, nhiễm khuẩn hoặc ký sinh trùng [40].

Bên cạnh ngoại hình, sức khỏe và hành vi của cá cảnh cũng là những yếu tố quan trọng cần xem xét. Cá khỏe mạnh thường bơi linh hoạt, ăn mồi tích cực. Chúng không có dấu hiệu bệnh lý như bỏ ăn, bơi lội bất thường, da/mang tiết ra nhiều chất nhầy nhớt, xuất huyết/lở loét hay xuất hiện các đốm trắng trên thân [134, 165]. Đồng thời, cá cảnh chất lượng cao cần tương tác tích cực với môi trường và các cá thể khác trong hệ thống nuôi [165]. Ngoài ra, khả năng thích nghi cao với điều kiện nuôi trong bể thủy sinh cũng là một yếu tố đáng xem xét [109]. Nguồn gốc và di truyền của cá cảnh cũng đóng vai trò quan trọng trong việc đánh giá chất lượng. Những cá thể có nguồn gốc rõ ràng, thường là được sinh sản nhân tạo, được ưu tiên lựa chọn do chúng có khả năng thích nghi cao với điều kiện nuôi. Việc kiểm tra các đặc điểm di truyền đặc trưng của loài và dòng cá giúp đảm bảo chất lượng và tính ổn định của đàn cá [40]. Cuối cùng, giá trị thẩm mỹ và sự quý hiếm của cá cảnh cũng là những yếu tố quan trọng trong việc đánh

giá chất lượng. Các cá thể có ngoại hình độc đáo, màu sắc hiếm gặp hoặc các đặc điểm thẩm mỹ đặc biệt thường được đánh giá cao [40].

Đối với cá khoang cổ nemo, dưới góc nhìn của chuyên gia, người sản xuất và người nuôi cá cảnh, nguồn giống đạt chất lượng cao cần có màu cam đậm, rực rỡ và đồng đều trên toàn thân [109]. Theo kinh nghiệm sản xuất và cung cấp cá cho thị trường của Trại sản xuất giống cá cảnh biển Vĩnh Hòa (Nha Trang), màu cam - đỏ (chỉ số  $a^*$ ) là tiêu chí quan trọng nhất đối với cá khoang cổ nemo sản xuất nhân tạo, chỉ số này nên đạt ít nhất 15 (tốt nhất từ 20 – 25<sup>+</sup>), độ vàng màu da - chỉ số  $b^*$  ít nhất 20 (tốt nhất từ 20 – 30), độ bão hòa màu - chỉ số  $C^*_{ab}$  từ 30 – 40, tông màu – chỉ số  $h^*_{ab}$  từ 40 – 50 và độ sáng màu da - chỉ số  $L^*$  từ 40 - 50. Bên cạnh màu sắc, các đặc điểm hoa văn và hình thái khác cũng đóng vai trò quan trọng. Các sọc trắng trên cơ thể phải rõ nét, liên tục và có viền đen sắc nét. Điểm nhấn đặc trưng của loài là vùng quanh mắt và viền các vây có màu đen sẫm. Mép ngoài vây đuôi và vây ngực nên trong suốt, không xuất hiện màu sắc khác. Ngoài ra, kích thước và hình dáng cơ thể cần cân đối, với đường cong lưng và bụng mượt mà. Sự tương phản và hài hòa giữa các màu cam, trắng và đen trên cơ thể tạo nên vẻ đẹp độc đáo và thu hút của loài cá này [40]. Tuy nhiên, việc đạt được những tiêu chuẩn màu sắc lý tưởng này đòi hỏi sự kết hợp của nhiều yếu tố như di truyền, dinh dưỡng, môi trường sống và kỹ thuật chăm sóc [109, 165]. Trong đó, nguồn gốc di truyền đóng vai trò nền tảng, trong khi chế độ dinh dưỡng hợp lý, môi trường sống ổn định và kỹ thuật chăm sóc tối ưu sẽ giúp cá phát triển màu sắc rực rỡ và duy trì sức khỏe tốt [165]. Do đó, việc nghiên cứu và cải thiện màu sắc của cá khoang cổ nemo đòi hỏi sự tích hợp của nhiều lĩnh vực như di truyền, dinh dưỡng, sinh lý và kỹ thuật nuôi. Sự am hiểu sâu sắc về đặc điểm sinh học và yêu cầu môi trường sống đặc thù của loài cá này sẽ giúp người nuôi đạt được những tiêu chuẩn màu sắc lý tưởng, qua đó, nâng cao chất lượng, giá trị và khả năng tiêu thụ của cá khoang cổ nemo trên thị trường cá cảnh.

### ***1.3.2. Ảnh hưởng của di truyền và chất lượng giống***

Trong nuôi cá cảnh, bên cạnh các yếu tố môi trường và dinh dưỡng, di truyền và chọn giống đóng vai trò quan trọng trong việc nâng cao chất lượng cá. Di truyền học và chọn giống góp phần cải thiện các đặc điểm mong muốn của cá cảnh, bao gồm ngoại hình, màu sắc, khả năng thích nghi và sức đề kháng với các tác nhân gây bệnh [119]. Di truyền quyết định nhiều đặc tính quan trọng của cá cảnh, như hình dạng, kích thước,

màu sắc và các đặc điểm thẩm mỹ độc đáo khác [109, 119]. Việc hiểu biết và ứng dụng các nguyên lý di truyền trong chọn giống giúp người nuôi tạo ra các dòng cá có đặc tính mong muốn và ổn định qua các thế hệ. Các phương pháp chọn lọc như chọn lọc cá thể, chọn lọc gia đình và lai tạo được sử dụng để cải thiện chất lượng di truyền của đàn cá. Bên cạnh việc cải thiện ngoại hình và màu sắc, việc chọn giống còn hướng đến mục tiêu nâng cao khả năng thích nghi và sức đề kháng của cá cảnh. Các dòng cá có khả năng chống chịu tốt với các yếu tố môi trường bất lợi và ít bị ảnh hưởng bởi bệnh tật sẽ giúp giảm thiểu tỷ lệ hao hụt và tăng tính bền vững trong quá trình nuôi [24]. Sự kết hợp giữa chọn lọc dựa trên ngoại hình và các đặc tính liên quan đến sức khỏe, khả năng thích nghi sẽ tạo ra các dòng cá cảnh chất lượng cao, đáp ứng tốt nhu cầu của thị trường.

Tuy nhiên, quá trình chọn giống cần được thực hiện một cách khoa học và chặt chẽ để tránh các vấn đề liên quan đến di truyền, như suy giảm đa dạng di truyền, thoái hóa giống và gia tăng tính nhạy cảm với tác nhân gây bệnh [109]. Việc duy trì sự đa dạng di truyền trong quá trình chọn giống là rất quan trọng để đảm bảo sự ổn định và bền vững của đàn cá. Các phương pháp như lai tạo xa, sử dụng nhiều dòng khác nhau và giám sát chặt chẽ sự thay đổi di truyền qua các thế hệ có thể giúp giảm thiểu các rủi ro này [119]. Ngoài ra, việc ứng dụng các kỹ thuật di truyền hiện đại, như chỉ thị phân tử và chọn lọc với sự hỗ trợ của marker (MAS), có thể giúp tăng hiệu quả và độ chính xác của công tác chọn giống. Các nghiên cứu di truyền cũng giúp xác định các gene liên quan đến các đặc tính quan trọng của cá cảnh, tạo tiền đề cho việc phát triển các giống cá chất lượng cao trong tương lai [24, 40, 134]. Tuy nhiên, so với lĩnh vực nuôi trồng thủy sản nói chung, các nghiên cứu và ứng dụng về di truyền, chọn giống trong sản xuất giống cá cảnh biển vẫn còn khá hạn chế, cần được đầu tư và phát triển mạnh mẽ hơn nữa để nâng cao chất lượng và đa dạng hóa sản phẩm cá cảnh.

### ***1.3.3. Ảnh hưởng của môi trường và kỹ thuật nuôi***

Môi trường sống và kỹ thuật nuôi là những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến sự sinh trưởng, phát triển và chất lượng của cá cảnh. Việc tạo ra một môi trường sống tối ưu và áp dụng các kỹ thuật nuôi phù hợp sẽ giúp cá cảnh phát triển khỏe mạnh và đạt được các tiêu chuẩn chất lượng cao [165]. Các yếu tố môi trường như chất lượng nước, nhiệt độ, ánh sáng và không gian sống có sự tác động trực tiếp đến sinh trưởng và sức khỏe của cá cảnh. Việc duy trì các thông số môi trường ở mức thích hợp, như nhiệt độ

ổn định, pH, độ mặn thích hợp, oxy hòa tan đầy đủ và hàm lượng khí độc thấp, sẽ thúc đẩy sự phát triển tốt và giảm nguy cơ mắc bệnh [134]. Cụ thể, đối với cá khoang cổ, khoảng nhiệt độ từ 26 – 31°C và độ mặn từ 10 - 40‰ (tốt nhất từ 30 - 35‰) được khuyến cáo [1, 6, 42]. Bên cạnh đó, việc cung cấp không gian sống đủ rộng với sự bố trí vật dụng, thiết bị phù hợp với tập tính của từng loài cá cũng đóng vai trò rất quan trọng [165].

Áp dụng các kỹ thuật nuôi tiên tiến đóng vai trò quan trọng trong việc nâng cao chất lượng cá cảnh. Hệ thống lọc và tuần hoàn nước hiệu quả hay mô hình aquaponics giúp cải thiện chất lượng nước, tăng cường sự phát triển của vi sinh vật có lợi và giảm thiểu việc sử dụng hóa chất [40]. Kỹ thuật cho ăn và quản lý thức ăn với chế độ 3 - 6 lần/ngày, khẩu phần từ 4 – 8% khối lượng thân, cùng với việc bổ sung dinh dưỡng như vitamin C, axit béo không no, sắc tố carotenoids,  $\beta$ -glucan hay probiotics đã được chứng minh là cải thiện đáng kể tốc độ tăng trưởng, tỷ lệ sống, màu sắc và sức khỏe tổng thể của cá khoang cổ [2, 44, 134]. Phòng ngừa và kiểm soát dịch bệnh cũng là một khía cạnh quan trọng trong kỹ thuật nuôi cá cảnh [165]. Giám sát sức khỏe thường xuyên, áp dụng biện pháp vệ sinh và khử trùng, kết hợp với việc sử dụng vaccine và chế phẩm sinh học giúp ngăn ngừa sự xâm nhập và lây lan của mầm bệnh. Phát hiện sớm và xử lý kịp thời các trường hợp bệnh góp phần hạn chế thiệt hại và duy trì chất lượng đàn cá [40]. Tóm lại, việc tối ưu hóa môi trường sống và áp dụng các kỹ thuật nuôi tiên tiến đóng vai trò quan trọng trong việc nâng cao chất lượng và giá trị của cá cảnh nói chung và cá khoang cổ nói riêng.

#### ***1.3.4. Ảnh hưởng của dinh dưỡng và bệnh***

Dinh dưỡng và tình trạng sức khỏe là hai yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến chất lượng của cá cảnh. Một chế độ dinh dưỡng cân đối, đầy đủ các thành phần cơ bản và bổ sung các chất dinh dưỡng cần thiết sẽ giúp cá sinh trưởng tốt, có sức đề kháng cao và đạt được các tiêu chuẩn chất lượng mong muốn [165]. Protein, lipid, carbohydrate, vitamin và khoáng chất đóng vai trò quan trọng trong sự phát triển và duy trì sức khỏe của cá cảnh. Protein cung cấp các axit amin cần thiết cho sự tăng trưởng và phát triển của cơ, mô và các cơ quan. Lipid cung cấp năng lượng và các axit béo thiết yếu, góp phần vào sự phát triển của não bộ, mắt và hệ thống miễn dịch. Carbohydrate cung cấp năng lượng dễ tiêu hóa và hỗ trợ sự hoạt động của hệ tiêu hóa. Vitamin và khoáng chất tham gia vào nhiều quá trình sinh lý quan trọng [169].

Bên cạnh các thành phần dinh dưỡng cơ bản, việc bổ sung thêm một số chất dinh dưỡng đặc biệt cũng góp phần nâng cao chất lượng cá cảnh. Các chất chống oxy hóa, chất tăng cường miễn dịch, sắc tố carotenoids, axit béo không no omega-3 và omega-6 có vai trò quan trọng trong sự phát triển của não bộ, mắt, hệ thống miễn dịch, cải thiện màu sắc và độ bóng của da và vây cá [40, 115, 134]. Việc cung cấp thức ăn với kích cỡ phù hợp, đầy đủ dinh dưỡng giúp hoàn thiện cấu trúc/chức năng của nhiều cơ quan quan trọng ở giai đoạn ấu trùng, nâng cao tăng trưởng, tỷ lệ sống, hiệu quả sử dụng thức ăn và sức khỏe tổng thể của cá [2, 44, 165]. Đồng thời, bổ sung các chất xơ như FOS (Fructo-oligosaccharides) và MOS (Mannan-oligosaccharides) có thể cải thiện sự phát triển của vi sinh vật đường ruột có lợi, tăng cường hệ thống miễn dịch và giảm nguy cơ nhiễm bệnh [169].

Chất lượng cá cảnh cũng chịu ảnh hưởng lớn từ tình trạng sức khỏe của chúng. Cá khỏe mạnh thường có khả năng sinh trưởng tốt, vận động linh hoạt, màu sắc tươi sáng, hình thái cân đối và ít bị ảnh hưởng bởi các yếu tố bất lợi từ môi trường [134]. Ngược lại, cá bị suy dinh dưỡng hoặc nhiễm bệnh thường có biểu hiện sinh trưởng chậm, màu sắc xỉn, dễ bị tổn thương và giảm sức đề kháng [165]. Vì vậy, duy trì sức khỏe tốt cho cá thông qua chế độ dinh dưỡng hợp lý, môi trường sống thích hợp và phòng bệnh định kỳ là rất quan trọng để đảm bảo chất lượng cá cảnh. Ngoài ra, ứng dụng các chế phẩm sinh học như probiotic và prebiotic cũng được xem là một giải pháp tiềm năng nhằm cải thiện sức khỏe và nâng cao chất lượng cá cảnh [44].

Bệnh là một trong những thách thức lớn đối với nghề nuôi cá cảnh biển. Các tác nhân gây bệnh phổ biến bao gồm vi rút (Lymphocystis, Betanodavirus, Picornavirus), vi khuẩn (*Vibrio* spp., *Aeromonas hydrophila*), nấm (*Exophiala* sp., *Cladosporium* sp.), ký sinh trùng (*Brooklynella* spp., *Cryptocaryon* spp., *Amyloodinium ocellatum*, sán lá đơn chủ) và các yếu tố vô sinh/môi trường [4]. Cá nhiễm bệnh thường có các dấu hiệu như tổn thương cơ học trên da, nội tạng, xuất huyết, lở loét, giảm ăn, bơi bất thường, tiết nhiều nhày nhớt, và có thể gây chết rải rác đến hàng loạt nếu không được xử lý kịp thời [4, 165]. Tuy nhiên, các nghiên cứu về bệnh do yếu tố vô sinh (môi trường và dinh dưỡng) trên cá cảnh biển vẫn còn hạn chế và chưa đầy đủ, do đó, cần có thêm nhiều nghiên cứu chuyên sâu và hệ thống hơn [4]. Ngoài ra, môi trường bất lợi như mật độ cao, nhiệt độ tăng giảm bất thường, hàm lượng ammonia cao, căng thẳng, tổn thương

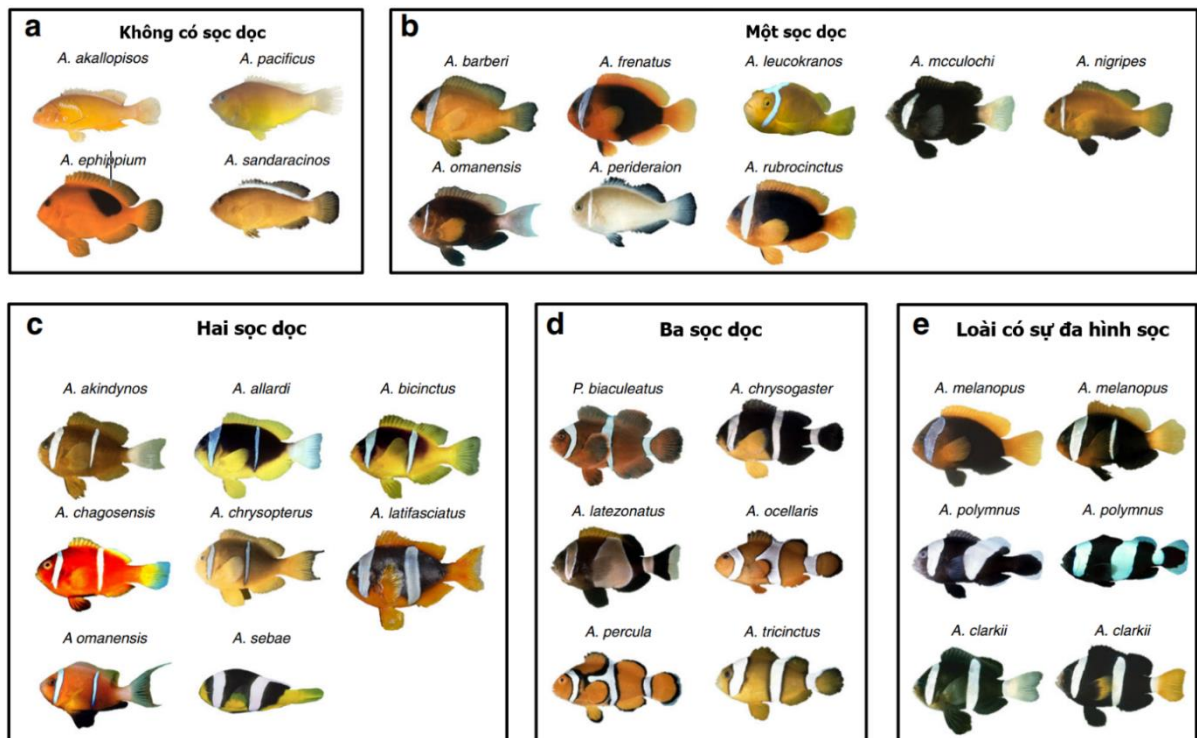


do khai thác, vận chuyển, cá tấn công lẫn nhau cũng là các yếu tố tác động tiêu cực đến tỷ lệ sống và chất lượng cá [71].

## 1.4. Màu sắc của cá cảnh

### 1.4.1. Vai trò và sự đa dạng màu sắc ở cá

Màu sắc của cá rất đa dạng nhờ các cơ chế đặc biệt, chủ yếu là các tế bào sắc tố. Da cá có thể có bất kỳ màu nào của quang phổ thị giác, là kết quả của quá trình tiến hóa lâu dài. Ba yếu tố liên quan đến màu sắc gồm độ sáng, màu sắc và độ bão hòa [180]. Màu sắc của cá có ba chức năng cơ bản: điều chỉnh nhiệt, giao tiếp cùng loài và giao tiếp khác loài [61]. Sự đa dạng màu sắc ở cá xuất phát từ áp lực chọn lọc trong quá trình tiến hóa, bao gồm các yếu tố như ngụy trang, cạnh tranh, sự linh hoạt thích ứng trong cơ chế biến đổi, và khả năng cảm nhận màu sắc khác với con người [187]. Cá khoang cổ thường thành thường có kiểu màu tương đối đơn giản, với số lượng sọc trắng dao động từ 0 đến 3, được viền đen trên nền màu đa dạng. Các loài cá khoang cổ được phân biệt bằng số lượng sọc trắng, màu sắc và kiểu hoa văn trên thân và vây [170]. Trong các tài liệu phân loại, cá khoang cổ thường được chia thành bốn nhóm chính dựa trên số lượng sọc (Hình 1.4). Bên cạnh đó, một số ít loài thể hiện sự đa dạng về màu da và sọc trắng trải dài dọc lưng [170].



Hình 1.4: Hình thái ngoài của cá khoang cổ [170]

Có bằng chứng cho thấy tổ tiên của cá khoang cổ có ba sọc, nhưng theo thời gian tiến hóa, các sọc mất dần [166, 170]. Ấu trùng mới nở có cơ thể trong suốt, không có sọc, và sau đó xuất hiện sọc trên đầu và giữa thân. Từ hai sọc này, một số loài phát triển thêm sọc ở đuôi, trong khi một số loài mất đi sọc giữa. Nghiên cứu chỉ ra rằng ít nhất 9/30 loài, khi còn nhỏ có số lượng sọc nhiều hơn khi trưởng thành. Quá trình xuất hiện của các sọc diễn ra theo hướng từ đầu tới đuôi, trong khi sự mất đi của sọc lại theo chiều ngược lại. Đáng chú ý là không có loài nào chỉ có một sọc duy nhất trên thân hoặc đuôi [170]. Song song với các sọc, màu sắc và hoa văn bình thường, ngày càng có nhiều dòng cá đột biến với màu sắc đa dạng hơn, được hình thành tự nhiên hoặc nhân tạo bởi các doanh nghiệp, tuy nhiên, việc tiếp cận các thông tin này còn gặp nhiều khó khăn do tính chất bảo mật trong lĩnh vực thương mại.

#### 1.4.2. Sắc tố và các tế bào sắc tố ở cá

Màu sắc của cá được tạo ra bởi các tế bào sắc tố chuyên biệt, có khả năng chứa sắc tố và có khả năng phản xạ ánh sáng [72]. Ở cá, có sáu loại tế bào sắc tố riêng biệt: xanthophore (vàng), erythrophore (cam - đỏ), iridophore (phản xạ/ống ánh), leucophore (trắng), melanophore (nâu - đen), và cyanophore (xanh) [101] (Bảng 1.1). Các tế bào này có nguồn gốc từ các tế bào gốc trung mô phát sinh từ mào thần kinh trong quá trình phát triển phôi và hiện diện ở lớp hạ bì, trung bì và mạch máu - thần kinh ở giai đoạn trưởng thành [101]. Sự khác biệt trong cấu trúc và chức năng của chúng dưới các tác động bên trong và bên ngoài dẫn đến sự thay đổi trong mô hình sắc tố, tạo nên sự đa dạng về màu sắc ở cá [150].

**Bảng 1.1: Các loại tế bào sắc tố liên quan đến màu sắc ở cá**

Tế bào sắc tố	Bào quan chứa	Chất tạo sắc	Màu hiển thị	Tính chất
Melanophore	Melanosomes	Melanin	Đen, nâu	Hấp thụ ánh sáng
Xanthophore	Xanthosome, carotenoid	Pteridines, carotenoids	Vàng, cam	Hấp thụ, phản chiếu
Erythrophore	Erythroosome, carotenoid	Pteridines, carotenoids	Cam, đỏ	Hấp thụ, phản chiếu
Iridophore	Reflecting platelet	Purines, guanine platelet	Màu theo cấu trúc và ánh kim	Phản chiếu
Leucophore	Leucosomes	Uric acids	Trắng	Phản chiếu
Cyanophore	Cyanosome	Chưa rõ	Xanh dương	Hấp thụ, phản chiếu

*Nguồn [119, 180]*

Việc phân biệt giữa các loại tế bào sắc tố không phải lúc nào cũng rõ ràng, đặc biệt là khi chúng xuất hiện dưới dạng kết hợp [72]. Xanthophore chứa sắc tố pteridine màu vàng, trong khi erythrophore chứa carotenoid màu cam hoặc đỏ [180]. Tuy nhiên, trong một số trường hợp, cả hai loại sắc tố này có thể được tìm thấy trong cùng một tế bào. Tế bào xanthophore có khả năng tích lũy sắc tố vàng từ pteridine và carotenoid, trong khi đó sắc tố cam – đỏ của tế bào erythrophore chỉ được tổng hợp từ các carotenoids. Điều này chính là cơ sở cho việc cải thiện màu sắc của cá thông qua bổ sung các nguồn carotenoids từ thức ăn, một phương pháp đã được nghiên cứu và ứng dụng trên nhiều loài [109]. Iridophore và leucophore tạo ra màu sắc lấp lánh hay ánh kim và màu trắng sáng nhờ các tinh thể guanine xếp chồng lên nhau [72]. Melanophore chứa hạt hắc tố melanine hay eumelanine, là nguyên nhân tạo nên màu đen, xám hoặc nâu. Mặc dù đa số các màu xanh lá cây, xanh dương hay tím rực rỡ ở động vật là kết quả của sự phản xạ và khúc xạ ánh sáng trên bề mặt da và vảy, chứ không phải xuất phát từ các sắc tố, nhưng một số nghiên cứu cho thấy ở một số loài cá như cá trạng nguyên, tồn tại các tế bào sắc tố cyanophore chứa sắc tố sinh học màu xanh dương [72].

Trong số các loài cá được nghiên cứu, cá sóc là loài duy nhất sở hữu tới 4/6 loại tế bào sắc tố, tiếp theo là cá thia xanh lá mạ với 3/6 loại [119]. Họ cá la hán và cá vẹt cũng được biết đến với màu sắc rất đa dạng, bao gồm hầu hết các loại sắc tố với tỷ lệ khác nhau. Ngoài ra, các tế bào kết hợp nhiều loại sắc tố cũng được phát hiện ở một số loài cá. Tuy nhiên, cho đến nay, các nghiên cứu về sắc tố trên cá mới chỉ dừng lại ở việc xác định mức độ đơn sắc trên một số loài, trong khi sự tương tác/kết hợp phức tạp, có tổ chức của hai hay nhiều tế bào sắc tố vẫn chưa được làm sáng tỏ [119, 180]. Điều này cho thấy sự cần thiết của các nghiên cứu chuyên sâu hơn về cơ chế tương tác và tổ chức của các tế bào sắc tố, góp phần làm rõ cơ sở khoa học của sự đa dạng màu sắc ở các loài cá cũng như tạo tiền đề cho việc cải thiện màu sắc có chọn lọc ở các loài cá quan trọng trong nuôi trồng thủy sản.

#### ***1.4.3. Cơ chế hình thành và kiểm soát sắc tố ở cá***

*Sự hình thành màu sắc của cá:*

Màu sắc ở sinh vật được tạo nên bởi sắc tố sinh học (biochrome) và cơ chế tạo màu theo cấu trúc (schemochrome) [180]. Sắc tố sinh học, bao gồm carotenoid và pteridine, hấp thụ chọn lọc phần ánh sáng thấy được của quang phổ và cho phép những

bước sóng khác đến mắt người quan sát. Màu thuộc dạng cấu trúc được tạo ra thông qua sự kết hợp của nhiễu xạ, phản xạ hoặc phân tán ánh sáng, với quy mô bằng  $\frac{1}{4}$  bước sóng ánh sáng, giao thoa với các bước sóng khác và truyền sang cấu trúc tương tự, tạo ra sự lấp lánh, đa sắc ở nhiều loài cá [150]. Màu sắc của cá trưởng thành là sự kết hợp của hai kiểu sắc tố, gồm cơ chế màu vân lưng – bụng và tương tác giữa các tế bào sắc tố [87]. Ví dụ, trên cá ngựa vằn, melanophores và iridophores tạo màu tối, trong khi xanthophores và iridophores tạo màu sáng. Khi hạt melanin di chuyển đến nhánh tế bào sắc tố, da cá trở nên sẫm màu; khi các hạt melanin tập trung ở giữa tế bào, cá có màu sáng hơn [101]. Tóm lại, màu sắc cá được quyết định bởi thành phần, số lượng và phân bố của hạt sắc tố, chẳng hạn như eumelanin (nâu – đen) hay pteridine (vàng – đỏ) [35].

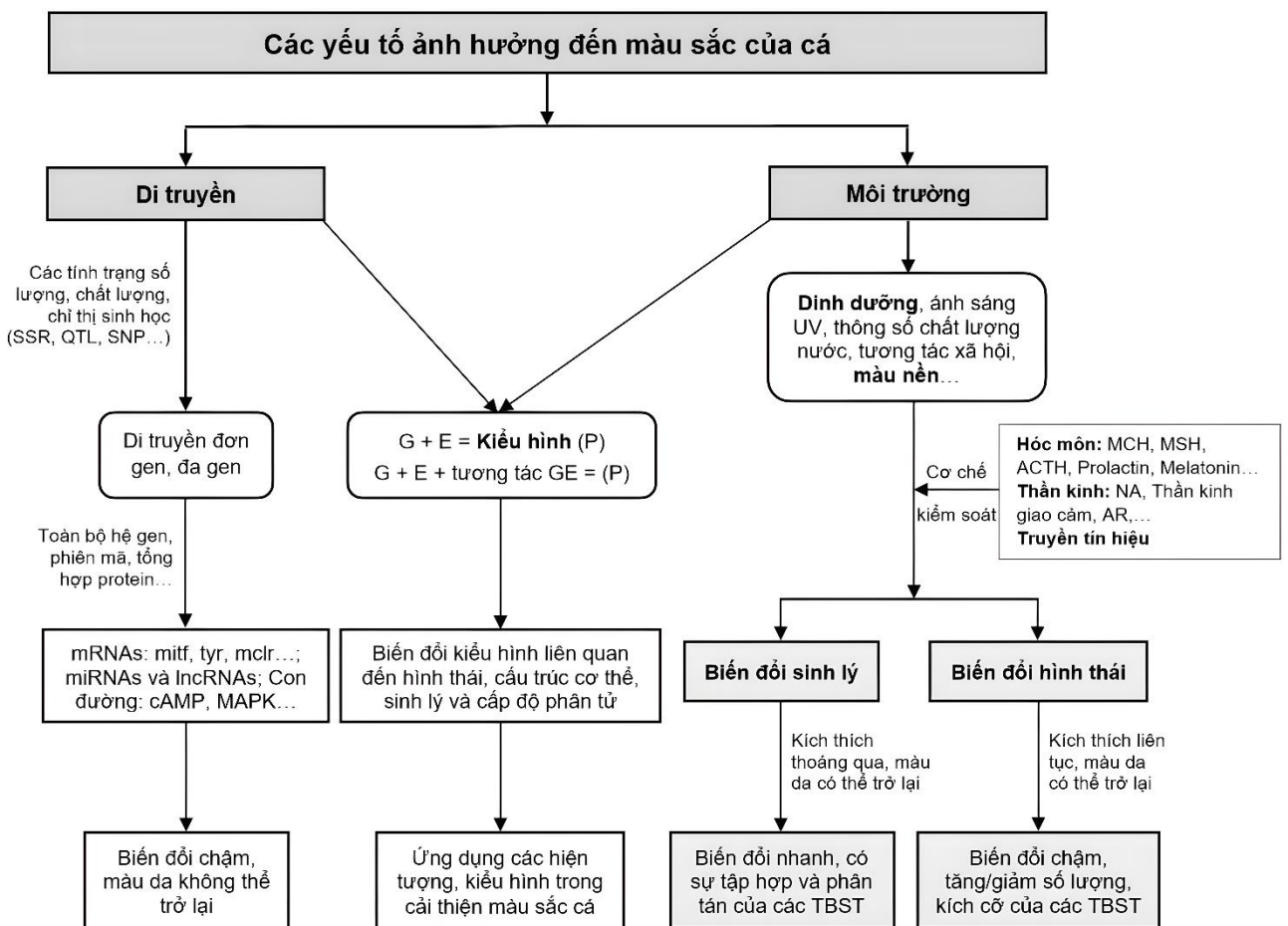
#### *Sự thay đổi màu sắc ở cá:*

Sự di chuyển của tế bào sắc tố gây thay đổi màu sắc ở động vật nhằm phản ứng với môi trường. Ở cá xương, sự biến đổi màu sắc có thể diễn ra theo cơ chế hình thái hoặc sinh lý, chịu tác động của môi trường, dinh dưỡng, trạng thái sinh lý hoặc giai đoạn phát triển [35]. Ấu trùng mới nở thường không có màu ngoại trừ đôi mắt đen, sau đó sắc tố dần hình thành, hoàn thiện và ổn định ở giai đoạn trưởng thành [133]. Có nhiều yếu tố ảnh hưởng đến màu sắc cá và chúng tác động qua lại lẫn nhau (Hình 1.5). Di truyền ở cấp độ phân tử quyết định việc hình thành, lưu giữ tính trạng, trong đó có màu sắc, qua nhiều thế hệ. Các thay đổi môi trường tác động lên hệ thần kinh, nội tiết, dẫn đến phản ứng thay đổi màu sắc. Trong đa số trường hợp, màu sắc cá được quyết định bởi sự kết hợp giữa yếu tố di truyền và yếu tố môi trường. Ngoài ra, thay đổi màu sắc còn liên quan đến giới tính, với những đặc điểm tạm thời hoặc vĩnh viễn, nhằm cạnh tranh sinh sản [105]. Ở nhiều loài, con đực có màu sắc sặc sỡ hơn con cái, thường do gen/locus trên nhiễm sắc thể giới tính quy định. Sự khác biệt màu sắc theo giới tính này có tiềm năng được dùng làm chỉ thị trong lai tạo, chọn giống, đặc biệt khi màu sắc liên quan đến đặc tính mong muốn [106].

#### *Thay đổi màu sắc theo hình thái:*

Thay đổi màu sắc theo hình thái là sự tăng giảm số lượng, mật độ, hình dạng và phân bố của tế bào sắc tố trên da [180]. Sự thay đổi này xảy ra do kích thích lâu dài, diễn ra chậm chạp, từ vài tuần tới vài tháng, khi cá thay đổi phương thức sống, giai đoạn phát triển hay phản ứng với tác động của môi trường, dinh dưỡng và tương tác xã hội

[87, 187, 205]. Khác với thay đổi màu sắc theo sinh lý, thay đổi màu sắc theo hình thái thường không thể đảo ngược hoàn toàn. Tuy nhiên, cá vẫn có khả năng điều chỉnh, thay đổi hình thái ở một giai đoạn nhất định nhằm phản ứng với yếu tố môi trường và sinh thái [180]. Sự thay đổi màu sắc theo hình thái được điều khiển bởi cơ chế thần kinh và nội tiết (hormone), làm thay đổi thành phần và số lượng tế bào sắc tố [187]. Trong môi trường ánh sáng yếu, hormone  $\alpha$ -melanophore ( $\alpha$ -MSH) làm phân tán tế bào sắc tố trên da. Ngược lại, trong ánh sáng mạnh, hormone melanin-concentrating (MCH) làm các tế bào sắc tố tập trung với số lượng lớn, dày đặc hơn [180]. Nghiên cứu cho thấy màu sắc cá rô phi đỏ nhạt hơn trên nền trắng với mức biểu hiện cao của mch mRNA trong não và tối hơn trên nền đen với mức biểu hiện cao của pomc mRNA [209].



**Hình 1.5: Ảnh hưởng của di truyền, môi trường và sự tương tác lên màu sắc cơ thể cá [119]**

(MCH, hormone tập trung melanin; MSH, hormone kích thích melanophore; ACTH, hormone vỏ thượng thận; NA, Noradrenaline; AR, Adrenoreceptor; tyr, tyrosinase; mclr, thụ thể melanocortin-1; G, di truyền; E, môi trường; và G + E tương tác di truyền và môi trường)

Nhằm duy trì trạng thái tối ưu, mật độ và phân bố tế bào sắc tố cũng thay đổi trên da. Ở cá killi, mật độ leucophore tăng khi thích nghi với nền trắng, trong khi số lượng

melanophore và xanthophore giảm. Tương tự, mật độ melanophore, xanthophore và iridophore trong da cá ngựa vằn cũng thay đổi sau khi thích nghi lâu với nền tối hoặc sáng [187]. Cá rô midas (*Amphilophus citrinellus*) phổ biến với màu xám và vàng; tuy nhiên, một số cá thể có thể chuyển từ xám sang vàng hoặc trắng khi trưởng thành [87]. Con non và con cái của cá tetra kiến lửa (*Hyphessobrycon myrmex*) có màu vàng nhạt trong khi con đực chuyển dần sang đỏ hoặc cam khi trưởng thành [152]. Quá trình thay đổi màu sắc hình thái được nghiên cứu chi tiết nhất trên cá ngựa vằn, cho thấy rõ sự di chuyển và tương tác qua lại giữa các tế bào sắc tố tạo nên màu sắc ở các điều kiện môi trường khác nhau [151]. Ở cấp độ sinh thái, sự thay đổi màu sắc hình thái và sinh lý cho thấy tầm quan trọng của tính đa dạng kiểu hình trong khả năng xâm lấn môi trường mới và thích ứng với biến đổi khí hậu của các loài cá [212].

#### *Thay đổi màu sắc theo sinh lý:*

Thay đổi màu sắc sinh lý liên quan đến sự chuyển vị của tế bào sắc tố hoặc tinh thể sắc tố trong bào quan, cũng như sự thay đổi góc độ/cấu trúc và sắp xếp của tinh thể màu trong tế bào biểu bì. Biến đổi màu sắc sinh lý thường xảy ra do kích thích ngắn hạn dẫn đến sự di chuyển, phân bố và sắp xếp lại của tế bào hoặc hạt sắc tố [180]. Quá trình này diễn ra nhanh hơn so với thay đổi màu sắc theo hình thái và có thể đảo ngược về trạng thái màu sắc ban đầu. Sự chuyển dịch khối lượng bào quan sắc tố từ ngoại vi vào trung tâm tế bào sắc tố, hoặc ngược lại, chỉ mất vài phút [119]. Khả năng ngụy trang, bảo vệ khỏi tia cực tím, phòng vệ và giao tiếp xã hội là các lý do chính dẫn đến thay đổi màu sắc sinh lý ở nhiều loài động vật [180].

Thay đổi màu sắc sinh lý ở cá chịu ảnh hưởng và được điều chỉnh bởi tổng hợp các yếu tố vật lý, hóa học, điều hòa thần kinh và nội tiết. Các yếu tố này cùng với cơ chế truyền tín hiệu và phân tử dẫn đến sự tập trung hay phân tán của tế bào/bào quan chứa sắc tố [72]. Các hormone sinh lý liên quan đến thay đổi sắc tố melanin ở cá chủ yếu là MCH, MSH, ACTH và prolactin, chúng làm dịch chuyển và/hoặc thay đổi cấu trúc tế bào sắc tố thông qua điều chỉnh chu kỳ cAMP và  $Ca^{2+}$  nội bào [119]. Thần kinh giao cảm điều chỉnh tế bào thần kinh ở cá, giải phóng noradrenaline, đồng thời quá trình phosphoryl hóa và dephosphoryl hóa làm gia tăng sự tập trung của tế bào sắc tố [180]. Khả năng thay đổi màu sắc nhanh chóng của cá được tăng cường khi tiếp xúc với nhiều dạng màu nền khác nhau như đã được ghi nhận trên một số loài cá [128]. Sự phân bố rộng của melanophores và khả năng di chuyển nhanh của bào quan chứa sắc tố ở cá cho

phép chúng thay đổi màu sắc nhanh chóng nhằm thích ứng với môi trường [22]. Thay đổi màu sắc sinh lý có thể là tiền đề cho thay đổi màu sắc theo hình thái, và các yếu tố điều hòa có thể tham gia vào cả hai cơ chế này (Hình 1.5) [180].

Sự thay đổi màu sắc theo cơ chế sinh lý cũng phụ thuộc vào khả năng phản quang của các tế bào sắc tố như iridophores trong quá trình di chuyển. Nhờ đó, các sọc trên đầu cá đồng có thể chuyển từ xanh dương sang đỏ chỉ trong 0,25 giây [126]. Khác với cơ chế chuyển vị hàng loạt của bào quan sắc tố, sự đổi màu này xuất phát từ sự thay đổi cách sắp xếp (về góc độ hay khoảng cách) của các tinh thể màu trong tế bào, gây nên hiện tượng phản xạ và giao thoa ánh sáng đa sắc [180]. Kiểu thay đổi sắc tố này được bắt gặp trên nhiều loài cá, phổ biến nhất ở những loài có màu xanh dương trong họ cá thia như thia xanh quý, thia lá mạ hay cá xiêm nước ngọt, với khả năng thay đổi nhanh chóng giữa các màu xanh ngọc, xanh dương và xám đen [23].

#### **1.4.4. Các yếu tố ảnh hưởng đến màu sắc ở cá**

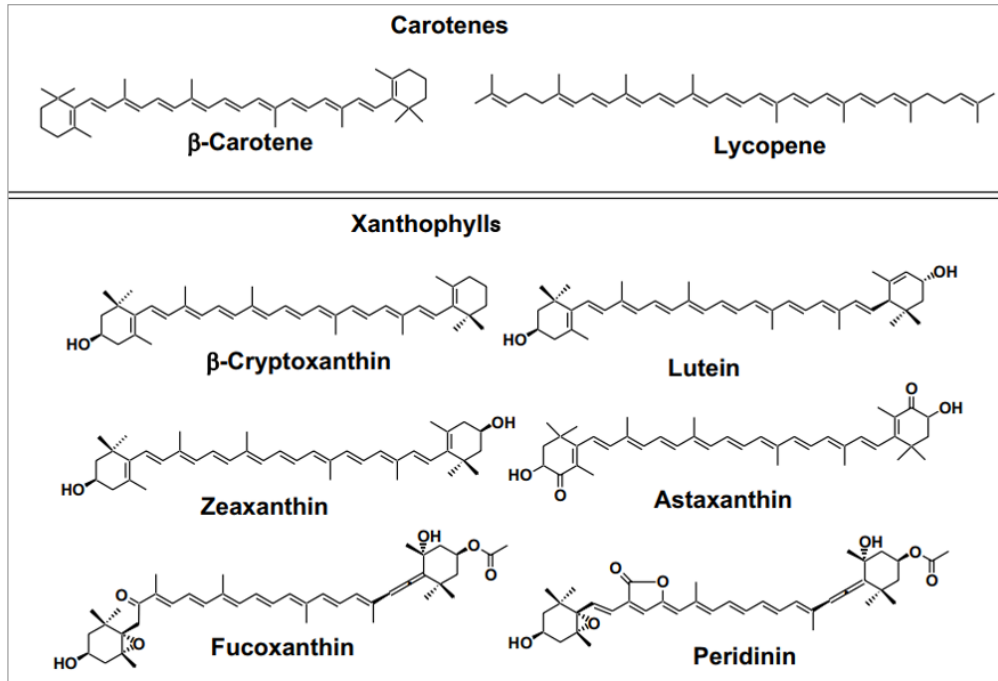
##### **1.4.4.1. Thức ăn và dinh dưỡng bổ sung**

Trong tự nhiên, cá biển nói chung và cá cảnh biển nói riêng có thể tự do lựa chọn các loại thức ăn phù hợp cho từng giai đoạn phát triển. Tuy nhiên, trong điều kiện nuôi, cá hoàn toàn phụ thuộc vào nguồn thức ăn được cung cấp, vốn thường kém đa dạng về thành phần và thiếu hụt dinh dưỡng, đặc biệt đối với cá cảnh biển do thức ăn chuyên dụng chưa sẵn có trên thị trường và người nuôi vẫn phải sử dụng thức ăn công nghiệp của nhóm cá biển làm thực phẩm, loại thức ăn vốn thiếu hụt sắc tố trong công thức [40]. Sự thiếu hụt này không chỉ ảnh hưởng tiêu cực đến sinh trưởng, tỷ lệ sống, khả năng đề kháng, mà còn tác động lớn đến màu sắc da và hàm lượng sắc tố tích lũy trong cơ thể cá [60, 115, 172].

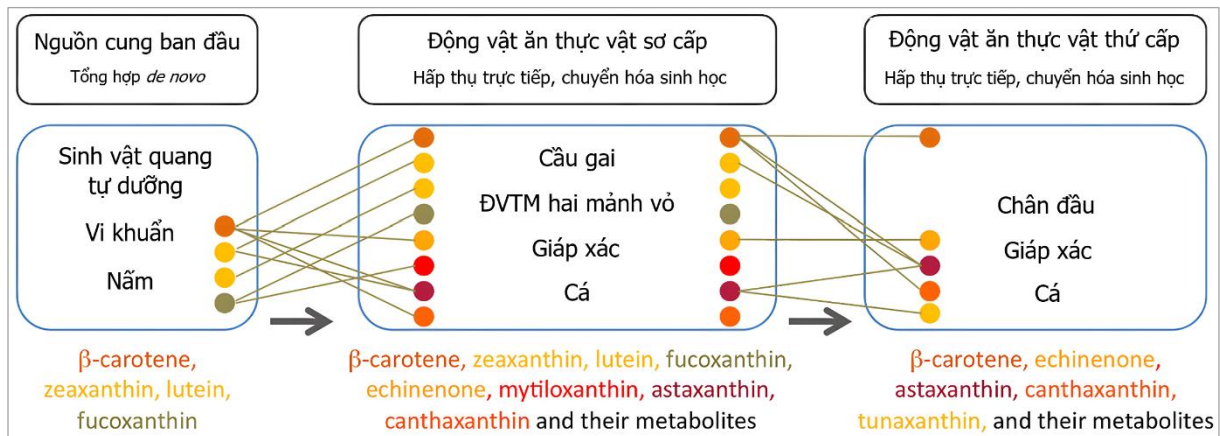
Carotenoids là một nhóm sắc tố hữu cơ tự nhiên quan trọng, bao gồm hơn 1.100 loại, được tìm thấy trong nhiều loài thực vật, nấm, vi tảo, động vật không xương sống và một số loài cá [60, 172]. Trong nuôi trồng thủy sản, carotenoids đóng vai trò thiết yếu trong việc cải thiện màu sắc, tăng cường sức khỏe, khả năng sinh sản và sức đề kháng của vật nuôi. Chúng được chia thành hai nhóm chính là xanthophylls (chứa oxy) và carotene (không chứa oxy), với các dạng khác nhau như lutein, tunaxanthin, doradexanthin (màu vàng);  $\beta$ -carotene, zeaxanthin, canthaxanthin (màu cam); astaxanthin và erichineon (màu đỏ) (Hình 1.6) [123]. Trong những thập kỷ gần đây, việc sử dụng carotenoids trong thức ăn thủy sản đã trở thành một lĩnh vực nghiên cứu và ứng



dụng quan trọng, thu hút sự chú ý đáng kể của các nhà khoa học, nhà sản xuất và người nuôi trồng. Nhiều công trình nghiên cứu đã chỉ ra rằng việc bổ sung carotenoids vào thức ăn có thể cải thiện đáng kể chất lượng và giá trị thương phẩm của nhiều loài cá, tôm, cua và động vật thân mềm nuôi.



**Hình 1.6: Thành phần, công thức cấu tạo của các dạng carotenoids [123]**



**Hình 1.7: Các carotenoids chính trong chuỗi thức ăn của sinh vật biển [153]**

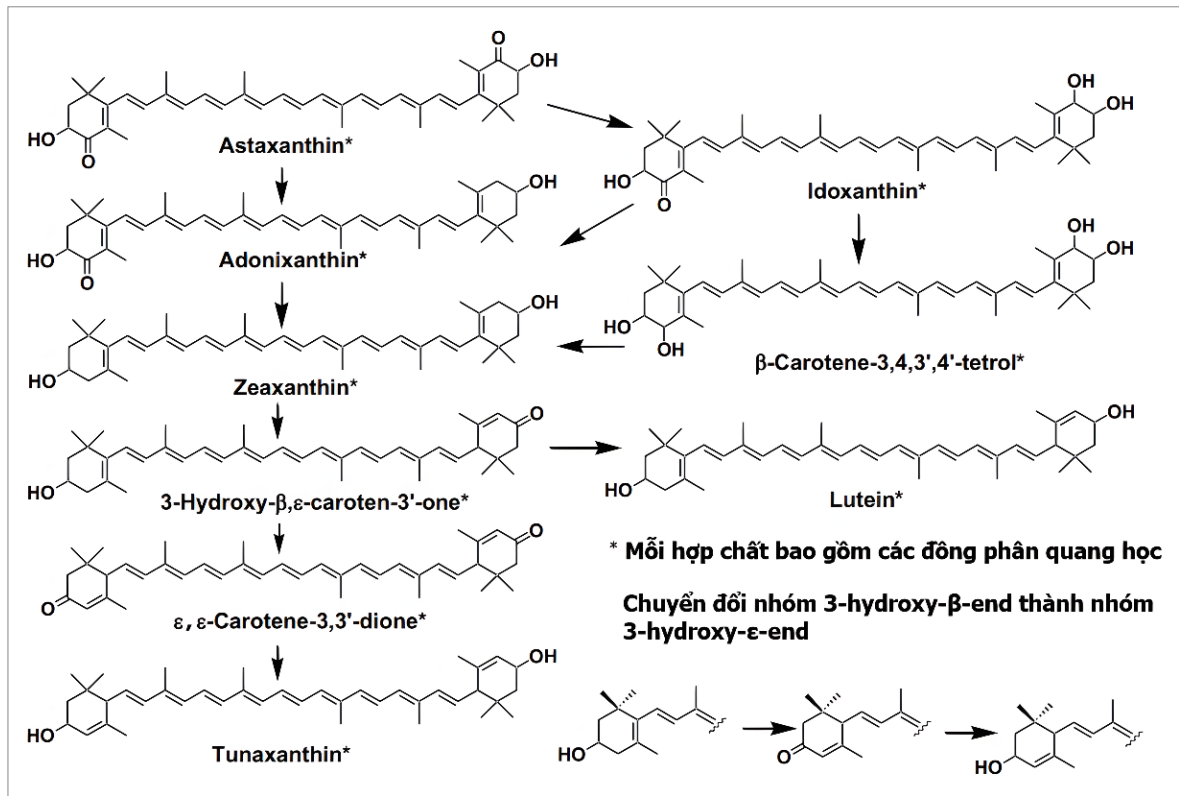
Hầu hết các loài động vật thủy sản không có khả năng tự tổng hợp carotenoids *de novo*, mà chúng phải phụ thuộc hoàn toàn vào nguồn cung cấp từ thức ăn để hình thành nên màu sắc đặc trưng cho loài (Hình 1.7) [82, 123]. Các nguồn carotenoids bổ sung, bao gồm cả dạng tự nhiên và tổng hợp, hiện đang được sử dụng phổ biến trong nuôi trồng thủy sản [60, 109, 115, 153, 172]. Nguồn carotenoids tự nhiên bao gồm thực vật



(cà rốt, ớt đỏ, gấc, hoa cúc), động vật (giáp xác, cá hồi, da gai, trứng gia cầm) và vi sinh vật (nấm men, vi khuẩn, vi tảo) [3, 17, 48, 153]. Ưu điểm của nguồn tự nhiên là sẵn có, an toàn sinh học và chứa các dạng carotenoids hoạt tính cao, tác động đa chiều đến sức khỏe tổng thể của đối tượng nuôi. Tuy nhiên, những nguồn này có nhược điểm về hàm lượng thấp, không ổn định, khó khai thác, chế biến và chi phí cao. Trong khi đó, nguồn carotenoids tổng hợp, chủ yếu là astaxanthin và canthaxanthin, được sản xuất bằng phương pháp hóa học từ các sản phẩm hóa dầu hoặc lên men vi sinh vật biến đổi gen [172]. Ưu điểm của nguồn tổng hợp là độ tinh khiết cao, ổn định, sẵn có trên thị trường, dễ sử dụng, dễ kiểm soát hàm lượng và chi phí thấp [109, 115, 172]. Tuy nhiên, khả dụng sinh học của chúng thấp hơn, kém đa dạng về thành phần, khó gắn kết vào thức ăn, đồng thời có thể gây lo ngại về an toàn sinh học, tính bền vững và ô nhiễm môi trường [12, 17]. Mặc dù carotenoids tổng hợp chiếm tới 95% tổng lượng trên thị trường thức ăn chăn nuôi do các ưu điểm kể trên, nhưng việc nghiên cứu và ứng dụng nguồn carotenoids tự nhiên vẫn nhận được sự quan tâm sâu sắc từ giới khoa học, liên quan đến tác động tích cực đa chiều lên sức khỏe vật nuôi và con người cùng với yếu tố an toàn sinh học và phát triển bền vững. Các quốc gia nhiệt đới như Việt Nam có tiềm năng lớn trong việc khai thác các nguồn carotenoids tự nhiên từ sự đa dạng sinh học phong phú (Bảng 1.2).

Carotenoids là một thành phần dinh dưỡng đất đỏ, do đó, việc xác định hàm lượng tối ưu bổ sung vào thức ăn là vấn đề được quan tâm đặc biệt, bởi nó liên quan trực tiếp đến hiệu quả sử dụng, chi phí sản xuất và tác động lên đối tượng cũng như môi trường nuôi. Hàm lượng carotenoids bổ sung vào thức ăn thủy sản dao động trong phạm vi rất rộng, từ vài chục đến vài chục nghìn mg/kg thức ăn, tùy thuộc vào loài, giai đoạn phát triển và mục đích sử dụng. Bên cạnh đó, đặc tính của carotenoids sử dụng bao gồm nguồn (tự nhiên hay tổng hợp), dạng bổ sung (tinh chất hay bột thô nguyên liệu) và thời gian bổ sung cũng là những yếu tố ảnh hưởng lớn đến hàm lượng thực tế và tiếp cận/khả dụng sinh học khi bổ sung vào thức ăn. Theo kết quả từ các nghiên cứu đã thực hiện, hàm lượng carotenoids bổ sung có sự khác biệt đáng kể tùy vào dạng bổ sung, dao động từ 15 - 35% đối với bột thô nguyên liệu và 0,01 - 2,0% đối với dạng (bán) tinh chất [51, 57, 86, 109, 137]. Mức độ bổ sung phổ biến nhất với dạng tinh chất dao động từ 50 – 400 mg/kg thức ăn, với mức thấp hơn ở giai đoạn giống và cao hơn ở giai đoạn thương phẩm. Phạm vi khảo sát cũng có sự khác biệt đáng kể theo nhóm cá, có thể liên quan đến vấn đề sức khỏe người tiêu dùng. Cụ thể, hàm lượng này thấp hơn ở nhóm cá làm thực phẩm (từ 2 – 200 mg/kg) và cao hơn ở nhóm cá cảnh (20 – 20.000 mg/kg thức ăn)

(Bảng 1.3). Do đó, việc xác định hàm lượng tối ưu cho từng trường hợp cụ thể đòi hỏi sự hiểu biết sâu sắc về nhu cầu dinh dưỡng và đặc điểm sinh lý của đối tượng nuôi, cũng như sự cân nhắc kỹ lưỡng về hiệu quả kinh tế và tính bền vững.



**Hình 1.8: Con đường chuyển hóa astaxanthin ở cá biển [123]**

Bên cạnh nguồn và hàm lượng, thời gian bổ sung cũng là một trong những yếu tố cần phải xác định nhằm tối ưu hóa hiệu quả bổ sung carotenoids vào thức ăn trong nuôi trồng thủy sản. Tuy nhiên, việc xác định thời gian bổ sung tối ưu cho từng đối tượng nuôi cụ thể vẫn là một thách thức và đòi hỏi nhiều nghiên cứu chuyên sâu hơn nữa. Cho đến nay, số lượng nghiên cứu chuyên biệt đánh giá tác động của thời gian bổ sung carotenoids vào thức ăn cho cá nói chung và cá cảnh nói riêng còn rất hạn chế. Hầu hết các nghiên cứu đều thiết kế thời gian cố định ngay từ đầu và khảo sát hàm lượng hay nguồn carotenoids bổ sung. Theo đó, thời gian bổ sung trong các nghiên cứu này dao động từ vài tuần đến toàn bộ chu kỳ nuôi, tùy thuộc vào đặc tính của nguồn carotenoids sử dụng (tự nhiên hay tổng hợp, tinh chất hay nguyên liệu thô và hàm lượng bổ sung), mục đích sử dụng (màu sắc hay sức khỏe), đặc điểm sinh học của đối tượng nuôi (loài, giai đoạn) và môi trường nuôi. Khoảng thời gian khảo sát phổ biến nhất là từ 8 – 12 tuần (Bảng 1.3). Do sự thiếu hụt thông tin về thời gian bổ sung carotenoids, việc nghiên cứu yếu tố này là rất cần thiết nhằm nâng cao hiệu quả kinh tế, kỹ thuật và môi trường của quá trình nuôi cá cảnh nói chung và cá khoang cô nemo nói riêng.

**Bảng 1.2: Một số nguồn thực vật, động vật và vi sinh vật giàu carotenoids**

Nguồn	Hàm lượng (mg/kg ứót)	Carotenoids chính	Nguồn tham khảo
<b>Thực vật</b>			
Gấc, <i>Momordica cochinchinensis</i>	741,4	Lycopene, $\beta$ -carotene, $\alpha$ -carotene	[3]
Rau muống, <i>Ipomoea aquatica</i>	175,4	$\beta$ -carotene, lutein, zeaxanthin	[3]
Cải xanh, <i>Brassica juncea</i>	162,0	$\beta$ -carotene, lutein, zeaxanthin	[3]
Cà rốt, <i>Daucus carota</i>	121,4	$\beta$ -carotene, $\alpha$ -carotene	[3]
Rau húng, <i>Ocimum basilicum</i>	88,4	$\beta$ -carotene, lutein, zeaxanthin	[3]
Cải xoong, <i>Nasturtium officinale</i>	85,9	$\beta$ -carotene, lutein, zeaxanthin	[3]
Cải bó xôi, <i>Spinacia oleracea</i>	72,6	$\beta$ -carotene, lutein, zeaxanthin	[3]
Bí đỏ/ngô, <i>Cucurbita moschata</i>	68,0	$\beta$ -carotene, $\beta$ -cryptoxanthin, lutein	[3]
Dưa hấu, <i>Citrullus lanatus</i>	49,2	Lycopene, $\beta$ -carotene	[3]
Ớt chuông, <i>Capsicum annuum</i>	24,9	$\beta$ -carotene, capsanthin, capsorubin	[3]
Khoai lang, <i>Ipomoea batatas</i>	14,7	$\beta$ -carotene, lutein, zeaxanthin	[3]
<b>Động vật</b>			
Vỏ tôm he, <i>Penaeus spp.</i>	38 - 100	Astaxanthin, canthaxanthin	[153]
Cá hồi, <i>Oncorhynchus spp.</i> , <i>Salmon spp.</i>	1,3 - 87	Astaxanthin, canthaxanthin	[153]
Trứng ốc BV, <i>Pomacea canaliculata</i>	313,5	Astaxanthin, canthaxanthin, lutein, $\beta$ -carotene	[143]
Trứng gà, <i>Gallus gallus localus</i>	12,5	Lutein, canthaxanthin, $\beta$ -carotene	[3]
Copepoda	400 – 17.000	Astaxanthin, canthaxanthin, $\beta$ -carotene	[153]
Trứng cầu gai	1.500 - 27.000	Echinenone, $\beta$ -carotene, fucoxanthin, astaxanthin	[48]
Artemia, <i>Artemia spp.</i>	42 - 220	Canthaxanthin, $\beta$ -carotene, astaxanthin, lutein	[107]
<b>Khác</b>			
Tảo đỏ, <i>Haematococcus pluvialis</i>	5.010 - 40.000	Astaxanthin, $\beta$ -carotene	[56]
Tảo Spirulina, <i>Spirulina platensis</i>	2.000 – 4.000	$\beta$ -carotene, zeaxanthin, echinenone	[56]
Tảo Chlorella spp.	820 – 11.700	Lutein, $\beta$ -carotene, violaxanthin, astaxanthin	[56]
Vi khuẩn, <i>Paracoccus spp.</i>	50 - 400	Astaxanthin, canthaxanthin	[145]
Nấm men, <i>Phaffia rhodomyza</i>	10.000	Astaxanthin, $\beta$ -carotene	[82]

Vai trò của việc bổ sung carotenoids, đặc biệt là astaxanthin, vào thức ăn của động vật thủy sản đã được chứng minh qua nhiều nghiên cứu. Tác động tích cực của carotenoids thể hiện trên nhiều khía cạnh, bao gồm cải thiện màu sắc, thúc đẩy tăng trưởng và tăng cường sức khỏe (Bảng 1.3). Cụ thể, việc bổ sung carotenoids từ các nguồn thực vật (như ớt, cà rốt, vi tảo), động vật (vỏ tôm) vào thức ăn đã cải thiện đáng kể sắc tố đỏ, cam và vàng trên da và cơ của nhiều loài cá cảnh, cá làm thực phẩm và giáp xác [60, 109, 172]. Bên cạnh đó, sự bổ sung này còn mang lại nhiều lợi ích về mặt sinh lý và sinh hóa, như tăng tốc độ tăng trưởng, nâng cao tỷ lệ sống ở giai đoạn ấu trùng, cải thiện hiệu quả sử dụng thức ăn, tối ưu hóa thành phần sinh hóa cơ thể, tăng cường hoạt tính của các enzyme tiêu hóa và cải thiện cấu trúc mô học ruột ở cá giống [19, 230]. Đặc biệt, carotenoids còn đóng vai trò quan trọng trong việc tăng cường sức khỏe tổng thể của cá thông qua việc nâng cao các chỉ tiêu về khả năng miễn dịch, khả năng chống oxy hóa và khả năng chống chịu với các điều kiện bất lợi của môi trường [114, 115]. Tuy nhiên, hiệu quả của việc bổ sung carotenoids phụ thuộc vào loài, giai đoạn phát triển và chế độ bổ sung, do đó cần tiến hành những nghiên cứu cụ thể trên từng đối tượng nuôi.

Mặc dù đã có nhiều nghiên cứu về ứng dụng các nguồn carotenoids để nâng cao chất lượng màu sắc của cá, sự hiểu biết về cơ chế tiêu hóa, hấp thu và chuyển hóa loại sắc tố này ở cá vẫn còn hạn chế (Hình 1.8) [117]. Quá trình chuyển hóa và hấp thu carotenoids trong các mô của cá không tuân theo một con đường chung [17]. Các loài cá khác nhau có khả năng tích lũy, chuyển hóa và hấp thu carotenoids theo những cách thức riêng biệt. Nhằm tăng cường hiểu biết và tối ưu hóa hiệu quả lên màu sắc ở nhiều đối tượng nuôi thủy sản, cần có thêm các nghiên cứu về cơ chế chuyển hóa và hấp thu carotenoids, đặc biệt là việc ứng dụng các thành tựu về sinh học phân tử đang phát triển nhanh chóng trong vài năm trở lại đây [104, 117].

Trong bối cảnh ngày càng quan tâm đến việc sử dụng các nguồn carotenoids tự nhiên, sẵn có và giá cả phải chăng để cải thiện màu sắc và chất lượng thịt/trứng của động vật thủy sản [60, 109, 172], việc bổ sung dưới dạng (bán) tinh chất là một hướng tiếp cận đầy triển vọng. Đáng chú ý, hầu hết các nghiên cứu trước đây đã thực hiện bổ sung carotenoids dưới dạng bột thô nguyên liệu với hàm lượng carotenoids thấp (< 100 mg/kg), phương pháp này tồn tại nhiều nhược điểm. Việc bổ sung bột thô với tỷ lệ lớn

trong tổng thành phần nguyên liệu sản xuất thức ăn (20 - 100%) có thể gây khó khăn, dẫn đến giảm hiệu quả ăn mồi, tiêu hóa, hấp thu của cá và tiềm ẩn nguy cơ suy giảm chất lượng nước [57, 195]. Ngược lại, bổ sung dưới dạng (bán) tinh chất mang lại nhiều ưu điểm như tính tiện lợi, đơn giản, hiệu quả và thân thiện với môi trường. Do đó, việc nghiên cứu và ứng dụng các nguồn carotenoids tự nhiên dưới dạng chiết xuất là một hướng đi cần thiết và hiệu quả nhằm khắc phục những hạn chế của phương pháp bổ sung truyền thống hiện nay trong nuôi trồng thủy sản.

Qua tổng quan tài liệu, chúng tôi nhận thấy nhiều nguồn nguyên liệu tự nhiên giàu carotenoid như tảo đỏ (*Haematococcus pluvialis*), tảo spirulina (*Spirulina platensis*), tảo Chlorella (*Chlorella* spp.), nấm men (*Phaffia rhodozyma*) và trứng cào gai đã được nghiên cứu và cho thấy tiềm năng lớn trong việc cải thiện màu sắc của cá cảnh nói chung và cá khoang cổ nemo nói riêng (Bảng 1.2). Tuy nhiên, căn cứ vào tính sẵn có, sự ổn định của nguồn cung, số lượng và giá cả thị trường thuận lợi trong điều kiện tại Khánh Hòa nói riêng và Việt Nam nói chung, chúng tôi dự kiến lựa chọn 4 loại thực vật (ớt chuông, gấc, cà rốt, bí đỏ) và 4 loại động vật (vỏ tôm, copepoda, trứng ốc bươu vàng, trứng gà) làm đối tượng nghiên cứu. Các nguồn nguyên liệu này cũng đã được chứng minh là có hiệu quả trong việc cải thiện màu sắc ở một số nhóm đối tượng thủy sản. Bên cạnh đó, việc lựa chọn đa dạng các nguồn nguyên liệu giúp đánh giá toàn diện tiềm năng ứng dụng của nhiều loại nguyên liệu tự nhiên giàu carotenoids, mở ra định hướng ứng dụng đa dạng trong tương lai. Đồng thời, chúng tôi cũng tiến hành so sánh hiệu quả trong việc cải thiện màu sắc và tăng trưởng của cá khoang cổ nemo khi sử dụng các nguồn carotenoids tự nhiên so với astaxanthin tổng hợp (Carophyll Pink, DSM). Kết quả so sánh này sẽ là cơ sở quan trọng để đánh giá tính khả thi của việc thay thế carotenoids tổng hợp bằng các nguồn tự nhiên, hướng tới mục tiêu tuyển chọn được nguồn nguyên liệu tự nhiên phù hợp, có thể ứng dụng hiệu quả và tiết kiệm vào sản xuất, đáp ứng nhu cầu thực tiễn của người nuôi cá cảnh.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi lựa chọn hàm lượng bổ sung ban đầu là 250 mg/kg thức ăn cho tất cả các nguồn nguyên liệu thực vật và động vật. Mức này nằm trong phạm vi phổ biến (50 - 400 mg/kg) được áp dụng cho dạng tinh chất carotenoids trong các nghiên cứu khảo sát, lựa chọn nguyên liệu trước đây trên nhiều loài cá, cả nhóm làm thực phẩm và cá cảnh (Bảng 1.3), đảm bảo cung cấp đủ carotenoids trong khi

vẫn thể hiện được khả năng cải thiện màu sắc. Sau khi xác định được nguồn thực vật (ớt chuông) và động vật (vỏ tôm) thích hợp nhất, chúng tôi tiến hành khảo sát phạm vi rộng hơn (0 - 1500 mg/kg với ớt chuông và 0 - 1000 mg/kg với vỏ tôm) để xác định hàm lượng tối ưu. Phạm vi này bao quát gần như toàn bộ các mức bổ sung đã được công bố trên cá cảnh (Bảng 1.3), giúp làm rõ xu hướng đáp ứng theo liều lượng và xác định điểm cân bằng tối ưu giữa hiệu quả sử dụng và chi phí. Ngoài ra, việc lựa chọn phạm vi khảo sát rộng hơn cho nguồn thực vật so với động vật dựa trên cơ sở khoa học về hiệu quả và chi phí thấp hơn của nguồn  $\beta$ -carotene (từ ớt chuông) so với astaxanthin (từ vỏ tôm) từng được đề cập trong các nghiên cứu trước đây [51, 195, 222], là một cân nhắc hợp lý và có căn cứ để đảm bảo hiệu quả kinh tế và kỹ thuật. Về thời gian bổ sung carotenoids, chúng tôi lựa chọn 75 ngày, nằm trong khoảng phổ biến nhất (8 - 12 tuần) đã được áp dụng trong các nghiên cứu tương tự (Bảng 1.3). Thời gian này đủ dài để carotenoids phát huy tác dụng lên màu sắc và các chỉ tiêu sinh lý, sinh hóa ở cá khoang cổ nemo, đồng thời phù hợp với chu kỳ ương từ con giống tới khi đạt kích cỡ thương mại cung cấp cho thị trường của loài cá này, giúp tối ưu hóa việc sử dụng carotenoids trong thực tiễn sản xuất. Việc lựa chọn nguyên liệu, hàm lượng và thời gian bổ sung dựa trên nền tảng khoa học vững chắc và định hướng ứng dụng cao, sẽ cung cấp những thông tin quan trọng cho việc sử dụng hiệu quả các nguồn tự nhiên giàu carotenoids trong nuôi cá cảnh nói chung và cá khoang cổ nemo nói riêng.

**Bảng 1.3: Nghiên cứu bổ sung carotenoids vào khẩu phần ăn của một số loài cá**

Tên thường gọi, tên khoa học	Nguồn, lượng (mg/kg), thời gian	Tác động/kết quả	Nguồn tham khảo
<i>Cá khoang cổ nemo, Amphiprion ocellaris</i>	Ớt chuông, 20.000; 60 ngày	Nâng cao tăng trưởng, màu sắc da (đỏ, vàng), hàm lượng carotenoids tích lũy; không ảnh hưởng đến hiệu quả sử dụng thức ăn, thành phần sinh hóa cơ thể, hoạt tính enzyme tiêu hóa.	[57]
	Astaxanthin, lutein, 5.000 – 15.000; 80 – 90 ngày	Astaxanthin hiệu quả hơn so với lutein và đối chứng trong tăng cường độ đỏ màu da và hàm lượng carotenoids tích lũy trên da; tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn không có sự khác biệt.	[51]
	Astaxanthin*, 90 – 270, 56 ngày	Tăng độ đỏ màu da cá theo mức tăng của hàm lượng bổ sung; tăng trưởng không có sự khác biệt.	[175]
	Astaxanthin*, $\beta$ -carotene*, canthaxanthin*, 20 – 100; 56 ngày	Astaxanthin làm tăng độ đỏ màu da, hàm lượng astaxanthin trên da cá; $\beta$ -carotene và canthaxanthin không ảnh hưởng đến độ đỏ màu da.	[222]
	Astaxanthin*; 40 – 160; 90 ngày	Tăng cường màu sắc da, hàm lượng carotenoids tích lũy.	[88]
	<i>Spirulina platensis</i> , 15 – 30% 12 tuần	Nâng cao tăng trưởng và độ đỏ màu da so với đối chứng; TAN giảm khi tăng hàm lượng <i>Spirulina</i> bổ sung.	[83]
<i>Cá đuôi kiếm, Xiphophorus helleri</i>	$\beta$ -carotene (cà rốt, cải bó xôi); 200 – 300, 35 ngày	Tăng cường màu cam, đỏ trên da cá; cà rốt tăng màu đỏ, cải bó xôi tăng màu cam.	[207]
<i>Cá đĩa, Symphysodon spp.</i>	Astaxanthin*; 50 – 400 8 tuần	Hàm lượng cao giảm tăng trưởng, hệ số FCR; khi tăng hàm lượng và thời gian bổ sung, tỷ lệ tích lũy astaxanthin giảm đáng kể dù khả năng chống oxy hóa tăng; mức khuyến nghị 200 mg/kg thức ăn.	[183]
<i>Cá dottyback, Pseudochromis fridmani</i>	<i>H. pluvalis</i> , Astaxanthin*, 25 – 100 70 ngày	Cả hai nguồn đều tăng cường màu sắc da; nguồn tự nhiên tốt hơn tổng hợp.	[96]
<i>Cá chép koi, Cyprinus carpio</i>	<i>S. platensis</i> , 2,5 – 10% 8 tuần	Tăng trưởng của cá ở mức bổ sung 7,5 và 10% > 2,5%; độ đỏ màu da, hàm lượng carotenoids tích lũy trong da tăng theo hàm lượng tảo bổ sung; hoạt tính protease, lipase và amylase ở nhóm bổ sung 10% > đối chứng; hoạt tính enzyme trong gan giảm theo mức tăng của lượng tảo bổ sung.	[19]
	Carotenoids, 10 – 30; phycocyanin 100 – 300 từ <i>S. platensis</i> ; 90 ngày	Carotenoids cải thiện màu sắc, phycocyanin cải thiện tăng trưởng.	[157]
<i>Cá hồng két, Cichlasoma citrinellum</i>	Astaxanthin*, <i>H. pluvalis</i> , $\beta$ -carotene* 80 – 160 8 tuần	Astaxanthin hiệu quả hơn $\beta$ -carotene giúp tăng màu da, hàm lượng carotenoids tích lũy; sự tích lũy có sự khác nhau giữa các bộ phận của cơ thể, cao nhất ở tuyến sinh dục, vây và da.	[147]

<i>Cá vàng, Carassius auratus</i>	<i>Chlorella vulgaris</i> Astaxanthin*, 45 – 120, 5 tuần	Tăng cường màu sắc da cá; không ảnh hưởng đến tăng trưởng và hệ số FCR.	[80]
<i>Cá hồi vân, Oncorhynchus mykiss</i>	Astaxanthin*, 40 – 200 Astaxanthin, 40 – 100 10 – 16 tuần	Nâng cao tăng trưởng, tỷ lệ sống; tăng khả năng chống oxy hóa, đáp ứng miễn dịch; tăng hàm lượng astaxanthin trong huyết thanh, da và cơ; cải thiện màu sắc da và cơ.	[60]
	Astaxanthin*, 0 – 125 mg/kg; 9 tuần	Hàm lượng 25 - 75 mg/kg tăng cường niêm mạc ruột, khả năng tiêu hóa, hấp thu của ruột; tăng cường khả năng chống oxy hóa và miễn dịch. Mức bổ sung quá cao (125 mg/kg) làm giảm tăng trưởng.	[130]
	Lucantin Pink 0,1% (LP) Carophyll Pink 0,1% (CP) Essention Pink 0,1% (EP) <i>Phaffia rhodozyma</i> 1% (PR) <i>Haematococcus pluvialis</i> 1% (HP) 56 ngày	Độ đỏ và hàm lượng asxanthin tích lũy trong thịt cá ở nhóm cho ăn astaxanthin tổng hợp (LP, CP, EP) cao hơn tự nhiên (PR, HP); bổ sung EP cá tăng trưởng tốt nhất; bổ sung astaxanthin cải thiện hình thái ruột và hàm lượng protein thô tích lũy; giảm cholesterol toàn phần, hoạt tính ALT, AST trong huyết tương; hoạt tính chống oxy hóa và miễn dịch tự nhiên (lysozyme, bổ thể) được tăng cường, cao nhất ở nhóm bổ sung HP.	[230]
<i>Cá hồi Đại Tây Dương, Salmo salar</i>	Astaxanthin*, 2,1 - 50 Astaxanthin, 84,2; 15 tuần	Tăng cường màu hồng, đỏ trên da, thịt; tăng hàm lượng astaxanthin tích lũy trong da và cơ;	[60]
<i>Cá tráp, Pagrus pagrus</i>	Astaxanthin*, 25 - 50 Astaxanthin, 40 – 3.300 $\beta$ -carotene, lycopene 100 canthaxanthin 40 - 100 10 – 25 tuần	Astaxanthin tăng cường độ đỏ màu da, hàm lượng carotenoids tích lũy trên da cá, tương đương cá tự nhiên; $\beta$ -carotene, canthaxanthin và lycopene không có tác dụng đáng kể. Các chỉ tiêu tăng trưởng, sinh hóa không bị ảnh hưởng.	[43, 191] [97]
<i>Cá đù vàng lớn, Larimichthys croceus</i>	Astaxanthin*, 37,5 – 75 Xanthophylls*, 37,5 – 75 9 tuần	Tăng cường màu vàng của da cá, tăng hàm lượng carotenoids tích lũy trong da; không ảnh hưởng đến tăng trưởng.	[223]
<i>Cá bon vĩ, Paralichthys olivaceus</i>	Astaxanthin*, astaxanthin, 100 – 200; 8 tuần	Tăng cường màu sắc da; tăng khả năng chống oxy hóa.	[154]
<i>Cá mú chấm bé, Plectropomus leopardus</i>	Astaxanthin*, astaxanthin ( <i>H. lacustris</i> ), 200; 14 tuần	Nâng cao tăng trưởng, tăng cường độ đỏ và vàng màu da cá; Astaxanthin tự nhiên hiệu quả hơn tổng hợp; xác định được các gen liên quan đến màu sắc.	[229]
<i>Cá diêu hồng, O. mossambicus</i>	Astaxanthin*, paprika, capsicum, 40 – 60; 45 ngày	Tăng trưởng, FCR tốt nhất ở nhóm bổ sung paprika; tất cả các nguồn đều tăng cường màu sắc của cá so với đối chứng.	[224]

\*nguồn tổng hợp



#### 1.4.4.2. Môi trường, sinh thái

Màu sắc của cá không chỉ là yếu tố thẩm mỹ, mà còn là chỉ thị sinh học quan trọng phản ánh nhiều khía cạnh của sinh lý và tập tính loài. Màu sắc được chia thành màu tĩnh và màu động, mỗi loại phục vụ các chức năng riêng biệt và được kiểm soát bởi cơ chế phức tạp [180]. Màu tĩnh mang tính di truyền, thể hiện đặc điểm nhận diện loài và ít biến đổi trong ngắn hạn. Ngược lại, màu động thể hiện sự thay đổi màu sắc linh hoạt do tác động của yếu tố môi trường, dinh dưỡng hoặc biến đổi nội tiết, thông qua hoạt động của các tế bào sắc tố [187]. Sự kết hợp giữa màu tĩnh và màu động tạo nên hệ thống thông tin đa chiều, giúp cá giao tiếp, ngụy trang, thu hút bạn tình, hoặc thích ứng với môi trường sống [72, 180]. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra sự ảnh hưởng đáng kể của các yếu tố sinh thái và môi trường lên biểu hiện màu da và sự tích lũy sắc tố ở nhiều loài cá [172].

##### *Màu sắc của môi trường nuôi:*

Cá có khả năng thích nghi với sự thay đổi của ánh sáng và màu sắc môi trường thông qua độ nhạy thị giác, các tế bào cảm thụ, sắc tố thị giác và protein opsin (các protein cảm quang trong tế bào hình nón và hình que của mắt) [119, 180]. Kết quả nghiên cứu trên hầu hết các loài cá nuôi hiện nay chỉ ra rằng chúng đều có thể phân biệt và cảm nhận được sự thay đổi màu sắc của môi trường. Tác động của màu sắc bể lên cá đã được nghiên cứu từ đầu thế kỷ XX và ngày càng được xem xét ở cấp độ chuyên sâu hơn, bao gồm quá trình tiến hóa, biểu hiện hành vi, sự thay đổi về mặt tế bào và cấu trúc phân tử [128]. Những nghiên cứu này đóng vai trò quan trọng trong việc tối ưu hóa điều kiện nuôi và nâng cao chất lượng, giá trị thương phẩm của sản phẩm cá nuôi.

Trong nhiều thập kỷ qua, hơn 10 tông màu với các cường độ đậm nhạt khác nhau đã được thử nghiệm trên nhiều đối tượng nuôi nhằm xác định ảnh hưởng của chúng lên màu sắc, sinh trưởng, tỷ lệ sống, tập tính, hiệu quả sử dụng thức ăn, thành phần sinh hóa, enzyme tiêu hóa và các chỉ số sức khỏe/căng thẳng ở cá. Các màu được khảo sát bao gồm: màu đen, màu trắng, màu xanh (biển, lá cây, lá cây nhạt - đậm), màu xám (nhạt, than, đậm), màu trong suốt, màu nâu, màu đỏ, màu vàng, màu hồng, màu cam, màu be và màu hạt dẻ [109, 128].

Nghiên cứu chỉ ra rằng màu sắc hệ thống nuôi có thể tác động lên sự thay đổi màu sắc da hoặc cơ thịt của cá theo hai cách: tạm thời (sinh lý) hoặc lâu dài (hình thái) [119, 180]. Xu hướng chung cho thấy màu trắng/vàng làm tăng độ sáng, trong khi màu

đen/nâu/xám làm tăng độ tối màu, và các màu còn lại như đỏ/xanh làm tăng các sắc đỏ/cam/vàng. Cụ thể, nuôi cá vàng và cá khoang cổ nemo trong bể màu trắng làm màu cá trở nên nhạt, trắng, sáng hơn thay vì đỏ/cam/vàng, dẫn đến giảm giá trị thương mại [51, 62, 139, 221]. Các bằng chứng cho thấy cơ chế điều khiển màu sắc liên quan đến sự thay đổi nồng độ các hormone như ir-MCH và  $\alpha$ -MSH [128, 133]. Những phát hiện này mở ra hướng nghiên cứu mới về mối quan hệ phức tạp giữa môi trường, nội tiết tố và biểu hiện màu sắc ở cá.

Bên cạnh tác động lên màu sắc, màu bể cũng ảnh hưởng đến một số chỉ tiêu khác. Kết quả quan sát cho thấy bể màu đen và nâu làm tăng tỷ lệ ăn nhau (với cá nhỏ), cắn nhau (với cá lớn) và hành vi tụ đàn. Ngoài ra, bể màu đen giúp giảm hệ số thức ăn, tuy nhiên, cùng với bể màu đỏ, chúng lại làm tăng các biểu hiện căng thẳng ở một số loài cá. Các kết quả cũng chỉ ra rằng màu sắc bể ít ảnh hưởng đến sinh trưởng và tỷ lệ sống của cá. Tổng hợp các nghiên cứu cho thấy các chỉ tiêu về sinh trưởng, tỷ lệ sống, hiệu quả sử dụng thức ăn, màu sắc da, hàm lượng sắc tố tích lũy và các chỉ tiêu căng thẳng ở cá được nuôi trong các bể màu xanh thể hiện xu hướng tốt hơn so với các màu sắc còn lại [128]. Kết quả này gợi ý rằng việc sử dụng bể nuôi có màu xanh có thể là lựa chọn tối ưu cho các trang trại sản xuất cá thương phẩm.

Nghiên cứu về tác động của màu bể (trắng, xanh lá cây, xanh dương và đỏ) lên cá khoang cổ nemo đã chỉ ra rằng môi trường nuôi có màu xanh dương hoặc xanh lá cây làm tăng cường các tông màu cam đỏ trên da cá, trong khi nền trắng lại có xu hướng làm tăng tông màu sáng và giảm độ bão hòa màu sắc [51, 221]. Tuy nhiên, nghiên cứu này vẫn tồn tại một số hạn chế đáng lưu ý. *Thứ nhất*, việc sử dụng phương pháp phân tích hình ảnh đơn giản thay vì các thiết bị đo màu chuyên dụng với hệ thống màu đa chiều (Xem thêm Mục 1.4.5) có thể dẫn đến kết quả chưa phản ánh chính xác và toàn diện sự thay đổi màu sắc trên cơ thể cá. *Thứ hai*, hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trên da, cơ hay thân cá chưa được xác định, gây khó khăn cho việc làm sáng tỏ cơ chế sinh lý đằng sau sự thay đổi màu sắc. *Cuối cùng*, các chỉ tiêu quan trọng như sinh trưởng, tỷ lệ sống, hiệu quả sử dụng thức ăn, thành phần sinh hóa, hoạt tính của enzyme tiêu hóa, mức độ căng thẳng... chưa được đánh giá đầy đủ, dẫn đến sự thiếu hụt cơ sở để đưa ra kết luận toàn diện về ảnh hưởng của màu sắc môi trường lên đối tượng nuôi. Vì vậy, việc tiến hành các nghiên cứu bổ sung là cần thiết nhằm khắc phục những hạn chế

trên, từ đó làm rõ tác động đa chiều và cơ chế chi tiết của màu sắc môi trường nuôi lên các đặc tính sinh học, sinh lý và khả năng thích nghi của cá khoang cổ nemo.

Tóm lại, màu sắc môi trường nuôi đóng vai trò quan trọng đối với cá cảnh, có ảnh hưởng sâu sắc đến nhiều khía cạnh như màu sắc, sinh trưởng, tỷ lệ sống, tập tính, hiệu quả sử dụng thức ăn, thành phần sinh hóa, hoạt tính enzyme tiêu hóa và các chỉ số sức khỏe/căng thẳng. Tuy nhiên, mức độ tác động của màu sắc lên cá thể hiện sự khác biệt đáng kể tùy thuộc vào loài, giai đoạn phát triển, cũng như có sự tương tác phức tạp với các yếu tố môi trường và dinh dưỡng khác. Đặc biệt, ảnh hưởng của màu sắc môi trường ương (ở giai đoạn cá bột) lên sự phát triển sau này (ở giai đoạn cá giống) thường thể hiện rõ nét hơn so với các giai đoạn khác. Vì vậy, việc lựa chọn màu sắc bể nuôi hợp lý cho từng loài, giai đoạn cụ thể cùng với sự thấu hiểu sâu sắc về cơ chế sinh lý của sự thay đổi màu sắc ở cá là yếu tố quan trọng giúp người nuôi tối ưu hóa sự phát triển, sức khỏe và nâng cao giá trị thương mại của đối tượng nuôi.

**Bảng 1.4: Ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường nuôi lên một số loài cá, tôm**

Tên thường gọi, tên khoa học	Màu bể, thời gian	Tác động/kết quả	Nguồn tham khảo
<b>Màu nền, màu bể</b>			
<i>Cá khoang cổ nemo, Amphiprion ocellaris</i>	Trắng, xanh lá, xanh dương, đỏ; 4 tuần	Màu xanh lá, xanh dương và đỏ tăng cường màu đỏ, cam so với màu trắng.	[221]
	Nền trắng, đen và đèn chiếu trắng và đỏ	Cá ở bể đen có màu da đỏ đậm, sọc đen rõ ràng; cá ở bể trắng có màu da hơi vàng, sọc đen mờ; ánh sáng đèn chiếu không ảnh hưởng đến màu sắc cơ thể.	[51]
<i>Cá khoang cổ đỏ, Amphiprion frenatus</i>	Trắng, vàng, xanh dương, đen; 61 ngày	Tỷ lệ biến thái cao hơn ở bể đen so với các bể còn lại; bể trắng làm tăng hàm lượng cortisol toàn thân.	[55]
<i>Cá da trơn, Clarias magur, Pangasius pangasius</i>	Trắng, xanh lá, xanh dương, đỏ, đen; 4 tuần	Tăng trưởng cao nhất ở bể trắng, SR cao nhất ở bể đen với <i>Clarias magur</i> . Tăng trưởng cao nhất ở bể đen, SR cao nhất ở bể xanh lá với <i>P. pangasius</i> .	[70]
<i>Cá chép koi, Cyprinus carpio</i>	Trắng, vàng, xanh dương, đỏ, đen; 8 tuần	Không ảnh hưởng tăng trưởng, SR; FCR thấp nhất ở bể xanh dương; hàm lượng cortisol cao nhất ở bể đỏ.	[58]
	Trắng, xanh, đen; 14 tuần	Cá ở bể trắng tăng trưởng nhanh hơn, FCR và hàm lượng cortisol huyết tương thấp hơn so với cá ở bể đen. Cá ở bể đen có lipid trong gan thấp hơn, lipid trong huyết tương cao hơn so với cá trong bể trắng và xanh.	[148]
<i>Cá măng, Chanos chanos</i>	Trắng, vàng, xanh dương	Tăng trưởng, SR cao nhất ở bể vàng.	[26]
<i>Cá vàng, Carassius auratus</i>	Trắng, xanh dương, đỏ, đen; 3 - 8 tuần	Tăng trưởng cao hơn ở bể trắng; cortisol huyết tương cao ở bể đỏ; lysozyme huyết tương ở bể trắng, đen gấp đôi bể đỏ, xanh; cá nhạt màu trong bể trắng.	[62, 133]
<i>Cá hồi vân, Oncorhynchus mykiss</i>	Trắng, xanh dương, đen; 77 ngày	Tăng trưởng cao nhất ở bể trắng = xanh dương > đen; FCR bể đen < xanh dương = trắng; protein cơ thể cao nhất ở bể trắng = xanh dương > đen.	[149]
	Xám nhạt, xanh lá, xám đậm, be	Tăng trưởng của cá ở bể màu be > xanh lá = xám nhạt > xám đậm; FCR, CF của cá không khác biệt.	[199]
<i>Cá hồi ĐTD, Salmo salar</i>	Xanh lá, xám nhạt	Tăng trưởng không khác biệt; cá ở bể xám thích ứng với nước ngọt tốt hơn.	[128]
<i>Cá đổi môi mỏng, Liza ramada</i>	Trắng, trong, vàng, xanh lá, xanh dương, đỏ, đen	Tăng trưởng và FI tốt nhất ở bể trong suốt, vàng, trắng; SR cao nhất ở bể trong suốt và trắng, kém nhất ở bể đen; thành phần sinh hóa không khác biệt.	[59]
<i>Cá tráp,</i>	Trắng, đỏ, đen	Độ sáng da cao hơn ở bể trắng; độ đỏ da cao nhất ở bể đỏ; Không khác về hàm lượng cortisol, glucose và $\alpha$ -MSH.	[201]

<i>Pagrus pagrus</i>	2 tuần		
Cá chẽm, <i>Lates calcarifer</i>	Trắng, trong suốt, xanh lá, xanh dương, đỏ, đen; 10 tuần	Tăng trưởng tốt nhất ở bể xanh lá, trong suốt, thấp nhất ở bể xanh dương, đen; FCR tốt nhất ở bể đen = trắng = trong suốt, kém nhất ở bể xanh dương.	[171]
Cá ngựa, <i>Hippocampus spp.</i>	Trắng, trong suốt, xanh lá, xanh dương, cam, đỏ, đen; 15 ngày	Không khác biệt về tăng trưởng, SR.	[91]
Cá bon vôi, <i>Paralichthys olivaceus</i>	Trắng, xanh lá, xanh dương, vàng, xám nhạt.	Tăng trưởng ở bể trắng > các bể còn lại; độ sáng màu da cao nhất ở bể trắng, thấp nhất ở xanh dương; NPY và MCH mRNA của não cá ở bể trắng và xám > các bể còn lại, mRNA POMC não cá ở bể xanh dương/lá > các bể còn lại.	[93]
Cá bon châu Âu, <i>Scophthalmus maximus</i>	Trắng, hồng, đỏ, xám nhạt, nâu, đen	Tăng trưởng, FI, cao nhất ở bể xanh dương và trắng; cá hoạt động tích cực ở bể trắng, kém nhất ở bể đen.	[113]
Cá sặc rằn, <i>Trichopodus pectoralis</i>	Trắng, xanh lá, xanh dương, đỏ, đen; 8 tuần	Tăng trưởng cao nhất ở bể xanh dương; FCR ở bể xanh dương < đen; hàm lượng glucose máu cao nhất ở bể đen; màu sắc bình thường ở bể xanh dương.	[138]
Cá mú chấm đỏ, <i>Epinephelus akaara</i>	Trắng, xanh lá, xanh dương, vàng đỏ, đen	Ăn mồi và tăng trưởng tốt nhất ở bể vàng, thấp nhất ở bể xanh và đỏ; tỷ lệ sống cao nhất ở bể vàng và trắng, thấp nhất ở xanh và đỏ.	[174]
Cá mú chấm cam, <i>Epinephelus coioides</i>	Trắng, xanh dương, đen 60 ngày	Không khác biệt về SGR, CF, SR, thành phần sinh hóa, cortisol huyết tương; FI cao hơn, FCR và PER thấp hơn ở bể xanh dương; VSI thấp nhất, hematocrit cao nhất ở bể trắng; glucose máu cao hơn ở bể xanh dương.	[74]
Cá cam, <i>Seriola dumerili</i>	Trắng, xanh lá, đen	Không khác biệt về tăng trưởng; SR cao nhất ở bể trắng; Mức độ biểu hiện gen (mRNA) của các yếu tố tăng trưởng IGF-I, II và BP 2-5 cao hơn ở bể trắng.	[198]
Cá mú chấm bé, <i>Plectropomus leopardus</i>	Trắng, trong suốt, xanh dương, đỏ, đen; 8 tuần	Da cá đỏ trong bể trắng, đen trong bể đen; melanin, tyrosinase và $\alpha$ -MSH cao nhất trong bể đen; carotenoids cao ở bể đỏ/trắng, lutein cao ở bể trong suốt; biểu hiện gen <i>scarb1</i> cao nhất ở bể xanh/trắng, thấp nhất ở bể đen.	[181]
Cá diêu hồng, <i>O. mossambicus</i>	Trắng, xám nhạt, đen 25 ngày	Hàm lượng hắc tố trên da cá ở bể đen cao hơn bể trắng (43% so với 10%); không khác biệt về hàm lượng $\alpha$ MSH trong huyết tương và tuyến yên.	[202]
Cá rô phi, <i>Oreochromis niloticus</i>	Xanh dương nhạt/đậm, xanh lá, đỏ, đen; 9 tuần	Tăng trưởng, FCR không khác biệt; SR ở bể xanh dương nhạt cao hơn; phản ứng cortisol thấp nhất ở bể đỏ cao nhất ở các bể xanh.	[129]
	Xanh dương, trong , đen	SGR, SR, FCR cao nhất ở bể xanh, thấp nhất ở bể đen, CF không khác.	[144]

<b>Ánh sáng, nhiệt độ, độ mặn</b>			
Cá khoang cổ nemo, <i>A. ocellaris</i>	20 – 3.500 lux; 5 tuần	Toàn thân sáng hơn ở cường độ ánh sáng thấp; màu cam trên các vây tăng lên theo cường độ ánh sáng; không khác biệt về hàm lượng $\beta$ -carotene.	[220]
Cá thiên thần đuôi vàng, <i>Apolemichthys xanthurus</i>	250 – 2.000 lux; 120 ngày	Tăng trưởng, SR và FCR tốt hơn ở cường độ ánh sáng thấp (250 – 500 lux) so với các nhóm còn lại; không khác biệt về hàm lượng carotenoids tích lũy.	[161]
Cá khoang cổ đen đuôi vàng, <i>Amphiprion clarkia</i>	Ánh sáng tự nhiên, nhân tạo (2.700-3.500 lux); 60 ngày	Tăng trưởng, màu sắc tốt hơn ở cường độ ánh sáng cao; cường độ ánh sáng cao làm tăng sự tương phản màu sắc (đen, cam, nâu) trên cơ thể cá.	[200]
Cá molly cam <i>Poecilia sphenops</i>	Chu kỳ chiếu sáng (L:D): 18:8, 12:12, 10:14; 60 ngày	Da cá sáng hơn, carotenoids tích lũy cao hơn, các chỉ số huyết học tốt hơn ở chế độ chiếu sáng dài; tỷ lệ sống, mức độ căng thẳng không bị ảnh hưởng.	[232]
Cá tetra vây bướm, <i>Crenuchus spilurus</i>	Màu đất: đáy cát, đáy đất sét, lá cây	Cá thay đổi màu sắc nhanh chóng ở nơi có môi trường màu nền tương phản cao để thích ứng với khả năng săn mồi.	[155]
Cá vàng, <i>C. auratus</i>	22, 24, 26, 28, 30°C	Màu sắc đạt được tốt nhất ở nhiệt độ 26 - 30°C.	[80]
Cá điêu hồng, <i>Oreochromis sp.</i>	12L:12D, 18L:16D, 24L:0D, 90 ngày	Tăng thời gian chiếu sáng (24L:0D) nâng cao tăng trưởng và hàm lượng $\beta$ -carotene tích lũy cao hơn, cá ít đốm đen hơn.	[176]
Cá rô phi, <i>O. niloticus</i>	0 và 25‰; 3 tháng	Sau 1 tháng, chiều dài và diện tích cơ thể cá ở độ mặn 25‰ < 0‰; cá tăng trưởng bù khi nuôi trở lại 0‰; tỷ lệ sống và màu sắc không khác biệt.	[13]
Cá bống, <i>Bathygobius soporator</i>	18 và 28°C 8,5, 17,0, 25,5 và 34‰	Màu cá nhạt, có nhiều đốm ở nhiệt độ thấp; da cá sẫm màu ở độ mặn thấp kèm nhiệt độ cao, nhạt màu ở độ mặn cao kèm nhiệt độ thấp.	[65]
Cá Antarctic <i>Notothenia gibberifrons</i> , <i>Trematomus newnesi</i>	26, 28, 30, 32, 34, 36, 38‰	Màu sắc cá có xu hướng chuyển từ nhạt nhạt sang tối màu tương ứng với mức tăng dần của độ mặn.	[66]
Lươn thủy tinh, <i>Anguilla anguilla</i>	0,4 – 20,1°C 0 – 29,2‰	Nhiệt độ được làm tăng nhanh quá trình sắc tố hóa, trong khi độ mặn đóng vai trò thứ cấp làm chậm quá trình này.	[36]
Cá chốt sọc, <i>Mystus vittatus</i>	0 và 10‰, 3 tháng	Độ mặn cao và biến động độ mặn làm màu cá trở nên nhạt, mờ và xỉn hơn so với nhóm đối chứng (0‰).	[160]
Tôm sú, <i>Penaeus monodon</i>	12 loại khoáng chất	Thiếu hụt hay mất cân bằng khoáng chất gây mất, bất thường sắc tố/màu sắc ở tôm sú (màu nâu đỏ, tối, nhạt nhạt); xuất hiện hội chứng co rút đuôi, bệnh mềm vỏ, lột xác bất thường.	[197]

*Ánh sáng (màu sắc, cường độ, chu kỳ chiếu sáng):*

Ánh sáng, bao gồm phổ màu, cường độ và chu kỳ chiếu sáng, có ảnh hưởng đáng kể đến hoạt động sống và màu sắc của cá (Bảng 1.4). Khả năng cảm thụ ánh sáng của cá thay đổi theo loài, giai đoạn và loại ánh sáng thông qua các tế bào cảm thụ ở mắt và tuyến tùng [32]. Tế bào sắc tố của cá có thể phản ứng trực tiếp với ánh sáng tới, theo cơ chế độc lập hoặc dưới sự kiểm soát của quá trình nội tiết, và quá trình này thậm chí có thể quan sát thấy từ giai đoạn phôi [72]. Khi được chiếu sáng, các protein cảm thụ ánh sáng hình nón (opsin) xuất hiện trong các tế bào sắc tố, dẫn đến sự tăng cường tập trung, phân tán hạt sắc tố hoặc sắp xếp lại cấu trúc tùy thuộc vào thời gian tiếp xúc với các bước sóng nhất định [45, 100]. Ngoài tác động trực tiếp, ánh sáng còn ảnh hưởng đến sắc tố của cá thông qua cơ chế liên quan đến hệ thần kinh và nội tiết. Ví dụ, ánh sáng xanh làm màu đỏ của cá tráp nhạt hơn do sự thay đổi về hàm lượng melanin,  $\alpha$ -MSH và cortisol trong huyết tương, đồng thời thúc đẩy sự phân tán hạt sắc tố melanin và tăng cường sinh tổng hợp MCH ở cá bơn [188, 219].

Trong nuôi cá cảnh, đèn chiếu là thiết bị quan trọng giúp tăng tính thẩm mỹ và tác động tích cực đến sinh trưởng, màu sắc và chỉ tiêu sinh lý của cá. Nghiên cứu cho thấy ánh sáng LED màu xanh dương và xanh lá cây giúp cá khoang cổ cam và đen đuôi vàng đạt được tăng trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn, màu sắc tốt hơn và giảm căng thẳng so với ánh sáng trắng hoặc đỏ [142, 178]. Tuy nhiên, với cá khoang cổ nemo, dinh dưỡng và màu bề lại có tác động rõ rệt hơn so với ánh sáng [51]. Cường độ ánh sáng và chu kỳ chiếu sáng cũng ảnh hưởng sâu sắc đến màu sắc và các chỉ tiêu khác của cá. Ánh sáng yếu làm cơ thể cá khoang cổ nemo sáng hơn trong khi ánh sáng mạnh tăng cường màu cam trên thân cá [220]. Chu kỳ quang tác động lên hệ nội tiết, làm thay đổi hàm lượng melatonin trong tế bào, qua đó ảnh hưởng đến màu sắc cá [205]. Ấu trùng cá bơn nuôi ở điều kiện chiếu sáng liên tục có tỷ lệ sắc tố bất thường cao hơn và màu sắc nhạt hơn so với chế độ chiếu sáng tự nhiên do sự tích tụ  $\alpha$ -MSH trong tế bào melanophore [94]. Việc kéo dài thời gian chiếu sáng phù hợp cũng có thể làm tăng độ sáng màu da ở một số loài cá [76] (Bảng 1.4).

*Các yếu tố khác:*

Màu sắc cá bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố như nguy trang, bắt chước, sinh sản, chuyển đổi giới tính và tương tác xã hội (Bảng 1.4). Để thích nghi, một số loài cá sử dụng chiến lược nguy trang bằng cách hòa nhập với màu nền, tạo bóng mờ, trở nên trong

suốt hoặc thay đổi các đường và đốm trên thân [180]. Chiến lược bắt chước hình dạng, màu sắc của các loài khác cũng là một cách nguy trang hiệu quả [163]. Màu sắc khác biệt giữa con đực và cái đóng vai trò quan trọng trong sinh sản, việc thu hút bạn tình và đe dọa đối thủ. Ở nhiều loài, con đực thường có màu sắc sặc sỡ hơn con cái [105]. Sự khác biệt về mô hình màu sắc có thể giải thích cho hành vi kết đôi và hung dữ ở một số loài. Màu sắc còn phản ánh thứ bậc, cấu trúc xã hội trong quần đàn. Các cá thể yếu thể chịu căng thẳng do tính hung hăng của cá thể thống trị, dẫn đến hiện tượng sạm da, tối màu [90]. Sự thể hiện màu sắc liên quan đến vị trí thống trị xã hội và hành vi đánh dấu lãnh thổ [15]. Tương tác xã hội, hành vi của cá trong quần đàn cũng được cho là có liên quan đến màu bề nuôi [90, 131].

Môi trường nuôi nhốt khác biệt đáng kể so với môi trường tự nhiên, gây ảnh hưởng sâu sắc đến sinh lý, hành vi và màu sắc cá [62, 172]. Các thao tác chăm sóc, quản lý hàng ngày và sự thay đổi các yếu tố môi trường nước đều tác động trực tiếp hoặc gián tiếp lên trạng thái sinh lý, sức khỏe và sự biểu hiện của các tế bào sắc tố [173]. Bên cạnh đó, quá trình thu hoạch cũng gây ảnh hưởng không nhỏ. Nhiệt độ cao làm kết tụ và nhiệt độ thấp làm phân tán các nhiễm sắc thể [72, 80]. Những thay đổi môi trường nuôi có thể gây ra tình trạng căng thẳng cấp tính hoặc mãn tính ở cá [173]. Trong tình trạng căng thẳng, cá tiết ra lượng lớn catecholamine và cortisol, gây ảnh hưởng trực tiếp đến màu sắc, dẫn đến hiện tượng sạm da hoặc nhợt nhạt tùy theo loài (Bảng 1.4). Tình trạng căng thẳng kéo dài còn ảnh hưởng tiêu cực đến hệ vi sinh vật đường ruột và các hoạt động sinh lý, thần kinh, nội tiết, thậm chí có thể gây ra chứng rối loạn sắc tố ở một số loài cá [205].

#### *1.4.4.3. Di truyền và chọn giống*

*Cơ sở di truyền, các gen quy định về màu da cá:*

Di truyền ở cá, bao gồm tính trạng số lượng và chất lượng, đã được nghiên cứu và ứng dụng trong lai tạo, chọn giống [119]. Màu sắc ở cá tuân theo quy luật di truyền tính trạng chất lượng, có cơ chế phức tạp, do một hay vài gen quy định trên nhiễm sắc thể thường hoặc nhiễm sắc thể giới tính. Các gen này mang tính trội, lặn hoặc tương tác theo nhiều quy luật di truyền [101]. Cơ chế di truyền các tính trạng màu sắc ở cá thuộc nhóm đa dạng và phức tạp nhất trong tự nhiên, bị chi phối bởi nhiều yếu tố, dẫn đến sự biến động số lượng cá thể mang màu sắc, dạng hoa văn, tỷ lệ diện tích màu, từ đó gây khó khăn cho công tác lai tạo, chọn giống (Hình 1.5) [109, 119].



Nghiên cứu về các gen liên quan đến màu sắc và cơ chế di truyền ở cấp độ phân tử đã được tiến hành trên một số loài cá. Ở cá vàng, sắc tố được kiểm soát bởi hai gen trội (Dp và Dpd), trong khi chúng bạch tạng được quy định bởi hai gen trên nhiễm sắc thể thường (p và c), và tính trạng lặn do gen (g) quy định. Ở cá chép koi, màu cam được kiểm soát bởi hai gen lặn (b1 và b2), trong khi màu xanh và trắng được quy định bởi các gen lặn (r) và (sự kết hợp của b1, b2 và r). Màu đen của cá koi có tính di truyền riêng biệt và trội hơn màu đỏ, đỏ trên nền trắng và trắng; riêng màu đỏ được kiểm soát bởi ít nhất ba gen khác nhau. Ở cá rô phi lai, màu đỏ chiếm ưu thế hơn màu đen và được kiểm soát bởi một gen duy nhất (R) [119]. Nhiều kỹ thuật di truyền phân tử hiện đại như AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism - Đa hình chiều dài đoạn cắt nhân bản), SNP (Single Nucleotide Polymorphism - Đa hình đơn nucleotide), SSR (Simple Sequence Repeats - Trình tự lặp lại đơn giản), SCAR (Sequence Characterized Amplified Region - Vùng khuếch đại đặc trưng trình tự)... kết hợp với các phương pháp phân tích như BSA (Bulked Segregant Analysis - Phân tích hỗn hợp phân ly), QTL (Quantitative Trait Loci - Vị trí tính trạng số lượng)... đã được ứng dụng thành công để xác định các gen/vùng gen liên quan và thiết lập bản đồ gen kiểm soát màu sắc da và cơ ở nhiều loài cá [109, 119].

Màu sắc của cá đa dạng hơn các loài động vật có xương sống khác do có sự liên quan đến cơ chế sao chép toàn bộ hệ gen (FSGD – Fish Specific Genome Duplication, Sự nhân đôi hệ gen đặc trưng ở cá). Trong quá trình này, các gen kiểm soát sắc tố ở cá, vốn nhiều hơn 30% so với động vật bốn chân, thường được ưu tiên giữ lại trong các bản sao gen [35]. Rất nhiều gen chức năng cùng cơ chế di truyền liên quan trực tiếp hoặc gián tiếp đến sự hình thành và biểu hiện màu da, sắc tố của cá đã được xác định và nghiên cứu kỹ lưỡng, đặc biệt là các gen liên quan đến quá trình tổng hợp melanine, pteridine, qua đó tạo cơ sở vững chắc cho công tác nhân giống và chọn tạo giống mới ở cấp độ phân tử [109]. Các gen liên quan đến quá trình di chuyển và phát triển của tế bào mào thần kinh cũng được xác định là có tương tác, liên kết, và có thể gây đột biến với các gen khác chi phối sự hình thành, biệt hóa, tăng sinh, di chuyển, biểu hiện màu của các tế bào sắc tố [180]. Ngoài ra, các yếu tố di truyền khác như các gen điều hòa quá trình phiên mã, hệ thống melanocortin, họ gen tyrosinase, và các thụ thể tăng cường/ngăn cản sự vận chuyển, hấp thu sắc tố từ môi trường cũng được chứng minh là có vai trò thiết yếu và tác động mạnh mẽ đến quá trình hình thành và biến đổi màu sắc ở cá [119].

### *Ứng dụng, tiềm năng, trở ngại trong cải thiện màu cá:*

Tạo giống cá dựa trên cơ sở di truyền là một quá trình phức tạp, bao gồm các bước chọn lọc dòng đột biến và nuôi cấy để tạo ra giống mới. Một trong những kỹ thuật tiên tiến ở cấp độ phân tử là kỹ thuật chuyển gen, cho phép kết hợp các gen ngoại sinh vào bộ gen của loài nhận, giúp phát triển nhanh và hiệu quả các tính trạng mong muốn [119]. Trong lĩnh vực cải thiện màu sắc cá, nghiên cứu chuyển gen đã đạt được một số tiến bộ đáng kể, như việc chuyển thành công các gen mã hóa protein huỳnh quang vào bộ gen của cá ngựa vằn, cá thiên thần và cá vàng. Tuy nhiên, do sự đa dạng và phức tạp của cơ chế di truyền quy định màu sắc, việc ứng dụng kỹ thuật này vào thực tiễn sản xuất vẫn còn nhiều thách thức cần phải vượt qua [109].

Bên cạnh đó, các kỹ thuật sinh học phân tử như giải trình tự toàn bộ hệ gen (genome sequencing), nghiên cứu proteome (proteomics - nghiên cứu tổng thể protein), nghiên cứu phiên mã (transcriptomics - nghiên cứu tổng thể các phân tử RNA), và nghiên cứu chuyển hóa (metabolomics - nghiên cứu tổng thể các chất chuyển hóa) đã được ứng dụng trên một số loài cá. Những nghiên cứu này giúp xác định cơ sở di truyền của các kiểu hình màu sắc, từ đó xây dựng chiến lược cải thiện và sản xuất con giống mang các tính trạng mong muốn [208]. Với hơn 340 bộ gen quy định màu sắc ở cá đã được giải trình tự, các kỹ thuật tin sinh học đã cung cấp những hiểu biết sâu sắc về nhiều cơ chế di truyền phức tạp liên quan đến sự biến đổi màu da và sắc tố ở cá [119]. Đặc biệt, các ứng dụng của quá trình phiên mã, điều hòa RNA không mã hóa và kỹ thuật chỉnh sửa bộ gen như CRISPR/Cas9 cũng cho thấy tiềm năng lớn trong cải thiện màu sắc cá [208]. Tuy nhiên, sự thành công của kỹ thuật chỉnh sửa bộ gen phụ thuộc vào việc xác định chính xác vị trí của vùng gen mục tiêu và kiểm soát được các đột biến ngoài ý muốn. Do đó, cần thêm nhiều nghiên cứu và thời gian để hoàn thiện kỹ thuật này trước khi áp dụng vào thực tiễn sản xuất [208]. Nhìn chung, mặc dù việc tạo giống cá với màu sắc mong muốn đã đạt được những tiến bộ đáng kể nhờ các kỹ thuật di truyền và tin sinh học, vẫn còn tồn tại nhiều thách thức cần giải quyết. Hướng nghiên cứu trong tương lai cần tập trung vào việc làm sáng tỏ cơ chế di truyền chi phối màu sắc ở các loài cá có giá trị kinh tế, cũng như hoàn thiện các kỹ thuật chỉnh sửa bộ gen để có thể ứng dụng hiệu quả và an toàn vào thực tiễn sản xuất [109, 119].

Tóm lại, màu sắc và hoa văn trên cá cảnh có thể được điều chỉnh thông qua các giải pháp về di truyền, môi trường và dinh dưỡng. Mặc dù các kỹ thuật di truyền đang

phát triển mạnh mẽ và hứa hẹn tạo ra các dạng đột biến với nhiều màu sắc và hoa văn khác nhau, việc ứng dụng hiệu quả trên quy mô thương mại vẫn còn nhiều thách thức. Để giải quyết vấn đề này, các nghiên cứu trong tương lai cần làm sáng tỏ nhiều khía cạnh phức tạp như cơ chế tạo màu ở cấp độ tế bào, ảnh hưởng và chuyển hóa của các nguồn sắc tố từ thức ăn, cơ sở lý thuyết của các kỹ thuật cải thiện màu sắc, và các yếu tố điều khiển hoạt động của tế bào sắc tố. Bên cạnh đó, việc áp dụng các kỹ thuật di truyền đòi hỏi công nghệ tiên tiến, trình độ chuyên môn cao và thời gian nghiên cứu lâu dài, gây khó khăn cho việc triển khai rộng rãi trong điều kiện thực tế. Hơn nữa, do nhiều gen liên quan đến màu sắc cũng đóng vai trò quan trọng trong các quá trình sinh tồn và phát triển khác, việc chỉnh sửa di truyền cần được cân nhắc kỹ lưỡng để tránh gây xáo trộn nghiêm trọng đến sự phát triển và sinh tồn của cá. Ngoài ra, việc sử dụng cá chỉnh sửa gen và đột biến nếu không được quản lý chặt chẽ có thể gây ra những tác động tiêu cực đến đa dạng sinh học, một vấn đề đang được nhiều nhà bảo tồn quan tâm.

Trong khi chờ đợi các tiến bộ từ di truyền, các giải pháp dựa trên môi trường và dinh dưỡng vẫn được coi là hướng tiếp cận tích cực, đơn giản, hiệu quả và phù hợp với điều kiện thực tế trong nghề nuôi cá cảnh ở Việt Nam. Việc bổ sung vào chế độ ăn các nguồn carotenoids tự nhiên (như tảo, thực vật và giáp xác) và nhân tạo (như astaxanthin, canthaxanthin) đã được chứng minh là phương pháp hiệu quả để tăng cường màu sắc, độ sáng của cơ thể, đồng thời cải thiện sức khỏe tổng thể của cá cảnh. Bên cạnh đó, việc tối ưu hóa các yếu tố môi trường như màu sắc của bể nuôi, cường độ và quang phổ của ánh sáng, nhiệt độ và độ mặn của nước cũng đóng vai trò thiết yếu trong việc kích thích sự phát triển và biểu hiện của tế bào sắc tố. Sự kết hợp hài hòa giữa các giải pháp về môi trường và dinh dưỡng hứa hẹn sẽ mang lại hiệu quả tích cực và ổn định trong việc cải thiện màu sắc và hoa văn trên cá cảnh.

Xuất phát từ bối cảnh đó, luận án này tập trung nghiên cứu, đánh giá và ứng dụng các giải pháp kết hợp giữa việc cải thiện môi trường nuôi và bổ sung các nguồn sắc tố tự nhiên nhằm nâng cao chất lượng màu sắc của cá khoang cổ nemo sản xuất nhân tạo. Kết quả của luận án không chỉ góp phần nâng cao năng suất, chất lượng, giá trị kinh tế và khả năng cạnh tranh của sản phẩm cá cảnh này trên thị trường, mà còn đóng góp vào sự phát triển ổn định, hiệu quả và bền vững của nghề nuôi cá cảnh biển tại Việt Nam. Đồng thời, sự phát triển của nghề nuôi cá khoang cổ nemo nhân tạo cũng góp phần giảm áp lực khai thác lên các quần thể tự nhiên của loài này và các loài cá cảnh biển khác, hỗ trợ công tác bảo tồn đa dạng sinh học biển.

#### ***1.4.5. Các phương pháp đánh giá chất lượng màu sắc ở cá***

Màu sắc là một chỉ tiêu quan trọng ảnh hưởng đến chất lượng và giá trị thương mại của cá cảnh. Mặc dù có thể đánh giá màu sắc bằng cảm quan, tính chủ quan và sự khác biệt giữa các cá nhân gây khó khăn trong việc đưa ra kết quả khách quan và nhất quán. Do đó, nhiều phương pháp đánh giá màu sắc đã được phát triển nhằm cung cấp thông tin chính xác và tin cậy hơn [102, 192, 215].

*Phương pháp đánh giá cảm quan sử dụng bảng so màu* là phương pháp truyền thống và phổ biến nhất trong đánh giá màu sắc cá. Phương pháp này dựa trên việc so sánh trực quan giữa màu sắc cá và các mẫu chuẩn trên các bảng màu như Munsell, Pantone, Clownfish Exercise, SalmoFan hay Shrimp Color Fan [172, 175, 192]. Ưu điểm chính của phương pháp này là tính đơn giản, nhanh chóng và chi phí thấp. Tuy nhiên, kết quả phụ thuộc nhiều vào khả năng cảm nhận của người đánh giá, điều kiện ánh sáng và khó truyền đạt cho người khác. Bên cạnh đó, số lượng và độ phân giải màu hạn chế trên bảng và độ chính xác thấp cũng là những điểm yếu của phương pháp.

*Phương pháp sử dụng thiết bị chuyên dụng* như colorimeter, spectrophotometer hay máy đo màu CR-400 Minolta là giải pháp khắc phục các hạn chế của đánh giá cảm quan [215]. Phương pháp này cung cấp các thông số màu đa dạng theo nhiều hệ thống như Munsell, CMYK, RGB, CIE XYZ, Hunter Lab, CIE Lab\* (CIE LAB) và CIE LCh° (CIE LCH) [102]. Trong nghiên cứu, CIE Lab\* và CIE LCh° thường được ưu tiên vì độ chính xác cao và tương đồng với cách con người cảm nhận sự khác biệt màu sắc. Phương pháp này cho kết quả nhanh, khách quan và dễ lặp lại. Tuy nhiên, yêu cầu thiết bị đắt tiền, kiến thức chuyên môn và chỉ cung cấp thông tin về một điểm cụ thể trên bề mặt mẫu là những nhược điểm cần lưu ý.

*Phương pháp phân tích hình ảnh* sử dụng máy ảnh kỹ thuật số và phần mềm xử lý ảnh như Adobe Photoshop hay ImageJ cho phép đánh giá tổng thể sự phân bố và diện tích các vùng màu [88, 222]. Phương pháp này có khả năng tự động hóa và dễ lưu trữ dữ liệu. Tuy nhiên, độ chính xác và tính khách quan của kết quả phụ thuộc vào chất lượng máy ảnh, điều kiện ánh sáng và yêu cầu chi phí cao hơn so với đánh giá cảm quan cho thiết bị và phần mềm chuyên dụng.

*Phương pháp đo phổ hấp thụ/phản xạ và phương pháp định lượng sắc tố* là hai phương pháp xác định hàm lượng các sắc tố như carotenoids hay melanin. Đo phổ sử

dụng thiết bị chuyên dụng để đo phổ hấp thụ/phản xạ, còn định lượng sắc tố dựa trên kỹ thuật sắc ký (HPLC) hoặc quang phổ. Cả hai đều cho kết quả định lượng chính xác, đa dạng chỉ tiêu và thông tin chi tiết về tích lũy sắc tố [73, 162]. Tuy nhiên, chúng đòi hỏi trang thiết bị đắt tiền, quy trình phức tạp và đội ngũ nhân lực chuyên môn cao.

Tóm lại, lựa chọn phương pháp đánh giá màu sắc phụ thuộc vào mục tiêu, điều kiện và nguồn lực của từng nghiên cứu [215]. Kết hợp nhiều phương pháp sẽ cung cấp cái nhìn toàn diện và tin cậy, giúp nghiên cứu hiệu quả các yếu tố ảnh hưởng đến màu sắc và chất lượng cá cảnh. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng kết hợp đánh giá cảm quan, thiết bị đo màu, phương pháp đo phổ hấp thụ/phản xạ và định lượng sắc tố để đánh giá màu sắc của cá khoang cổ nemo dưới các điều kiện môi trường, dinh dưỡng và sản xuất khác nhau, nhằm cung cấp những cơ sở dữ liệu và kiến thức khoa học tin cậy, giúp nâng cao hiệu quả nuôi và chất lượng sản phẩm trong thực tiễn sản xuất.

## CHƯƠNG 2 – VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Thời gian, địa điểm và đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ 1/2021 – 12/2023. Thời gian tiến hành mỗi thí nghiệm từ 45 – 75 ngày tùy theo từng trường hợp cụ thể, không bao gồm thời gian chuẩn bị.

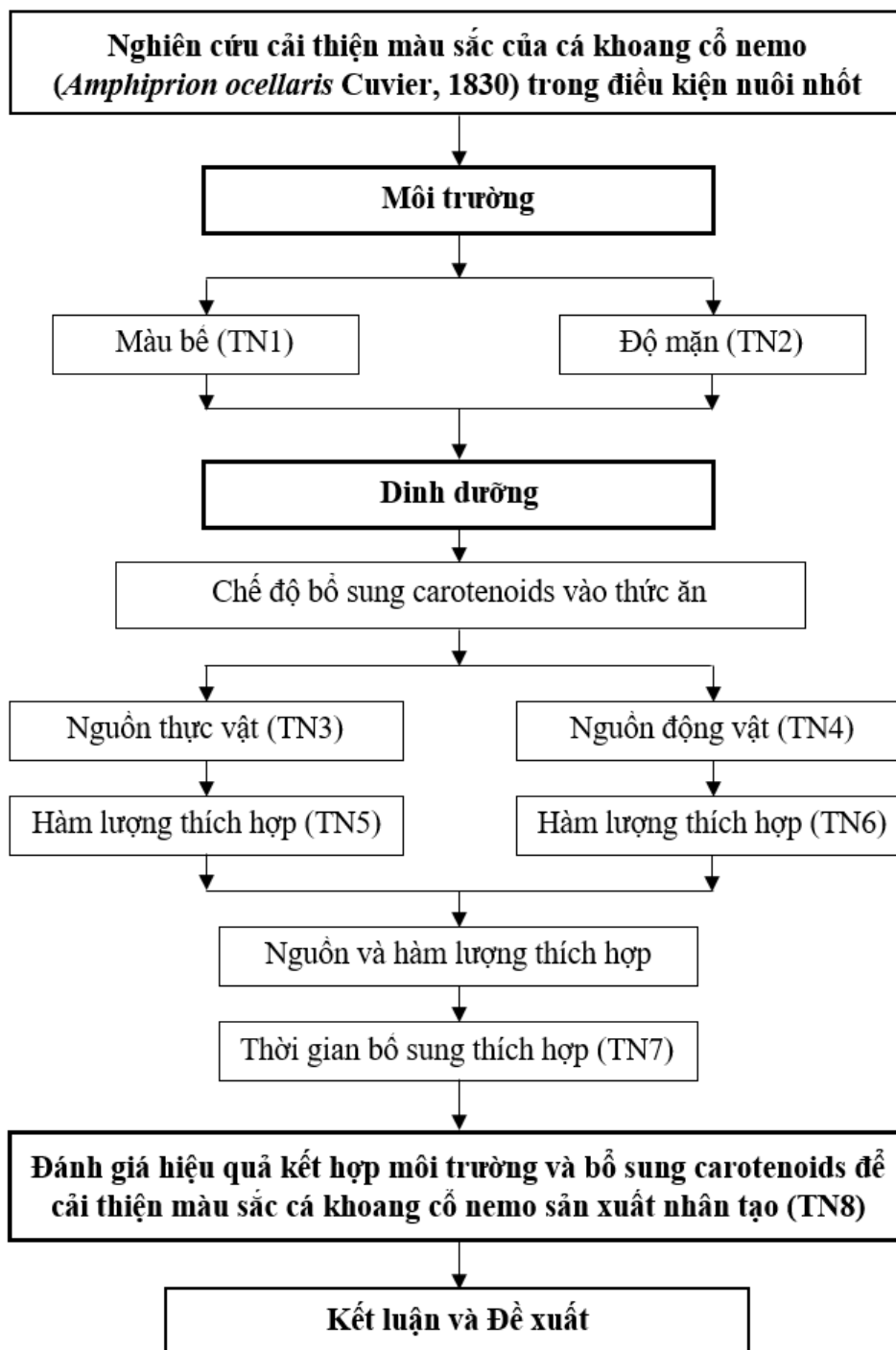
Các thí nghiệm ương, nuôi cá được thực hiện tại Trại sản xuất giống cá cảnh biển Vĩnh Hòa, khóm Đường Đệ, phường Vĩnh Hòa, thành phố Nha Trang, tỉnh Khánh Hòa. Sau khi thu thập, các mẫu được bảo quản và phân tích tại Trung tâm Thí nghiệm – Thực hành, Trường Đại học Nha Trang.



**Hình 2.1: Cá khoang cổ nemo giống**

Đối tượng nghiên cứu là cá khoang cổ nemo (*Amphiprion ocellaris*) hay còn gọi là cá hề giả (Hình 2.1). Các đặc điểm về hình thái và phân loại của cá được mô tả chi tiết trong Mục 1.2.1. Cá khoang cổ nemo được sản xuất nhân tạo tại trại và sử dụng trong các thí nghiệm ở giai đoạn giống, với kích cỡ dao động từ 3,0 – 3,5 cm tùy theo từng nội dung và thí nghiệm cụ thể. Các yếu tố khác như tuổi, nguồn gốc, tình trạng sinh lý và hình thái của cá trong mỗi thí nghiệm được chọn đồng đều để đảm bảo tính khách quan và tin cậy của kết quả.

## 2.2. Nội dung nghiên cứu



**Hình 2.2: Sơ đồ khối nội dung nghiên cứu của đề tài luận án**

Nghiên cứu được thực hiện với 3 nội dung chính, tập trung vào việc đánh giá ảnh hưởng của các yếu tố môi trường, dinh dưỡng bổ sung và ứng dụng vào thực tiễn sản xuất nhằm cải thiện kết quả nuôi, đặc biệt là màu sắc, của cá khoang cổ nemo. Bên cạnh đó, một số thí nghiệm sơ bộ cũng được thực hiện nhằm xác định các thông số và phạm vi thích hợp trước khi thiết lập và triển khai các thí nghiệm nghiên cứu (TN 1 - 7) và ứng dụng vào thực tiễn sản xuất (TN 8). Tổng cộng có 8 thí nghiệm đã được thực hiện

trong phạm vi của luận án với sơ đồ chi tiết được thể hiện trên Hình 2.2. Tất cả các thí nghiệm trong nghiên cứu này đều được lặp lại ít nhất 3 lần và bố trí theo thể thức ngẫu nhiên hoàn toàn để đảm bảo độ chính xác, khách quan và khả năng áp dụng được trong thực tiễn sản xuất.

**Nội dung 1:** *Ảnh hưởng của môi trường nuôi lên màu sắc và tăng trưởng của cá khoang cổ nemo:*

- Ảnh hưởng của màu sắc bể nuôi (Thí nghiệm 1 – TN 1).
- Ảnh hưởng của độ mặn môi trường nuôi (TN 2).

**Nội dung 2:** *Ảnh hưởng của chế độ bổ sung carotenoids vào thức ăn lên màu sắc và tăng trưởng của cá khoang cổ nemo:*

- Ảnh hưởng của một số nguồn carotenoids chiết xuất từ thực vật (TN 3).
- Ảnh hưởng của một số nguồn carotenoids chiết xuất từ động vật (TN 4).
- Ảnh hưởng của hàm lượng carotenoids bổ sung từ ớt chuông (*nguồn tốt nhất từ TN 3*) (TN 5).
- Ảnh hưởng của hàm lượng carotenoids bổ sung từ vỏ tôm (*nguồn tốt nhất từ TN 4*) (TN 6).
- Ảnh hưởng của thời gian bổ sung carotenoids từ vỏ tôm (*hàm lượng bổ sung tốt nhất từ TN 6*) (TN 7).

**Nội dung 3:** *Đánh giá hiệu quả kết hợp môi trường và bổ sung carotenoids để cải thiện màu sắc cá khoang cổ nemo sản xuất nhân tạo:*

- Kết hợp các thông số kỹ thuật thích hợp nhất về môi trường (màu bể, độ mặn) và chế độ bổ sung carotenoids (nguồn, hàm lượng và thời gian) từ các thí nghiệm trước và ứng dụng vào thực tiễn sản xuất cá khoang cổ nemo. Cá thu được từ quy trình sản xuất này sẽ được so sánh với cá sản xuất theo quy trình thông thường hiện nay (đối chứng) và cá khai thác từ tự nhiên (TN 8).

## **2.3. Phương pháp tiếp cận**

### **2.3.1. Tiếp cận lịch sử**

Luận án tiến hành tổng quan và phân tích các nghiên cứu trước đây về ảnh hưởng của môi trường nuôi và chế độ bổ sung carotenoids lên màu sắc của cá nói chung và cá khoang cổ nói riêng. Thông qua việc tổng hợp và đánh giá có hệ thống các kết quả



nghiên cứu đã công bố, luận án xác định những khoảng trống trong kiến thức hiện có và đề xuất hướng nghiên cứu mới nhằm lấp đầy các khoảng trống này.

### **2.3.2. Tiếp cận thực nghiệm**

Luận án thiết kế và tiến hành các thí nghiệm có đối chứng để đánh giá ảnh hưởng của các yếu tố môi trường nuôi (màu bể, độ mặn) và chế độ bổ sung carotenoids (nguồn, hàm lượng, thời gian) lên màu sắc của cá khoang cổ nemo. Thông qua việc thu thập và phân tích dữ liệu bằng các phương pháp thống kê thích hợp, luận án rút ra kết luận về mức độ ảnh hưởng của các yếu tố khảo sát và xác định giá trị thích hợp cho từng yếu tố.

### **2.3.3. Tiếp cận hệ thống**

Luận án xem xét vấn đề cải thiện màu sắc của cá khoang cổ nemo như một hệ thống tổng thể, trong đó các yếu tố môi trường nuôi và chế độ bổ sung carotenoids không chỉ tác động riêng lẻ mà còn tác động qua lại lẫn nhau. Trên cơ sở kết quả nghiên cứu về từng (nhóm) yếu tố riêng lẻ, luận án đề xuất giải pháp kết hợp các (nhóm) yếu tố thích hợp nhất (môi trường và bổ sung carotenoids) nhằm cải thiện màu sắc của cá khoang cổ nemo sản xuất nhân tạo.

## **2.3. Vật liệu nghiên cứu**

### **2.3.1. Nguồn cá thí nghiệm**

Cá khoang cổ nemo (*Amphiprion ocellaris*) giống được sản xuất tại Trại sản xuất giống cá cảnh biển Vĩnh Hòa, áp dụng quy trình sản xuất giống đã được tối ưu hóa dựa trên Quy trình sản xuất giống cá khoang cổ cam (*Amphiprion percula*) [1], kết quả của đề tài nghiên cứu liên quan [2] và kinh nghiệm thực tiễn của tác giả cùng các cộng sự.

Cá bố mẹ được nuôi vỗ trong hệ thống bể kính tuần hoàn, cho ăn bằng thức ăn tự chế biến từ nguyên liệu tươi sống và bổ sung dinh dưỡng đảm bảo nhu cầu sinh lý sinh sản. Trứng được ấp bởi cá bố mẹ trong 7 - 9 ngày trước khi thu hoạch và chuyển sang bể ương ấu trùng. Mật độ ương dao động từ 1 - 3 con/L, sử dụng thức ăn sống (luân trùng, Artemia) và thức ăn công nghiệp với các kích cỡ hạt phù hợp cho từng giai đoạn phát triển. Tảo tươi (*Nannochloropsis oculata*) được bổ sung định kỳ nhằm ổn định môi trường ương và cung cấp dinh dưỡng. Các yếu tố môi trường (nhiệt độ, pH, oxy hòa tan, TAN...) được kiểm soát chặt chẽ và duy trì ở giá trị tối ưu trong suốt quá trình ương.

Sau 2,5 - 3 tháng ương, cá đạt chiều dài tổng (total length, TL) trung bình 3,0 - 3,5 cm và khối lượng thân (body weight, BW) trung bình 0,5 - 0,9 g, sẵn sàng sử dụng cho các thí nghiệm. Cá thí nghiệm được chọn lọc kỹ dựa trên các tiêu chí sức khỏe, hoạt

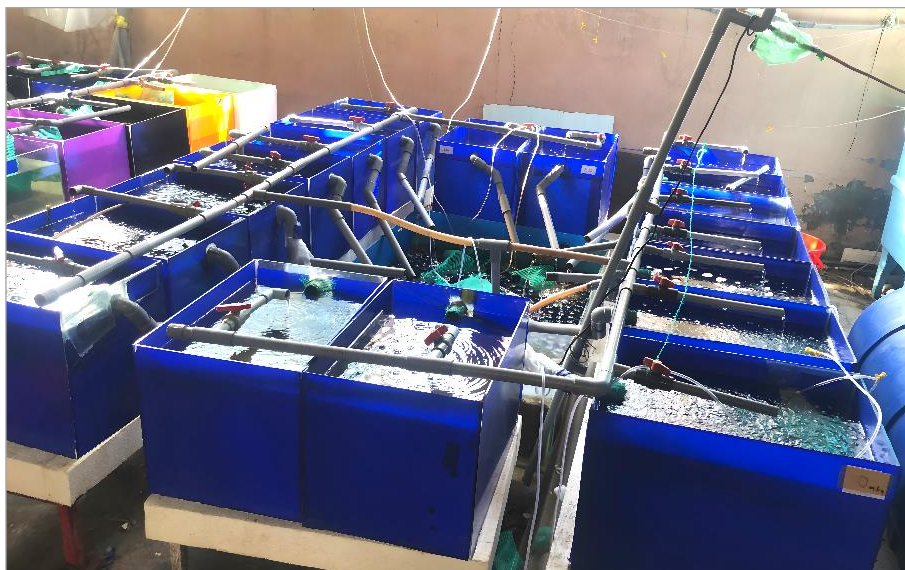
động, ngoại hình, màu sắc và kích cỡ đồng đều giữa các nghiệm thức. Trước khi bố trí thí nghiệm, cá được thuần hóa từ 1 - 2 tuần để thích nghi với điều kiện nuôi và hệ thống thí nghiệm mới. *Chi tiết quy trình sản xuất giống được trình bày ở Phụ lục 3.1.*

### **2.3.2. Nguồn nước và xử lý nước**

Nguồn nước sử dụng cho thí nghiệm là nước biển tự nhiên, được xử lý theo quy trình phổ biến trong các trại sản xuất giống hải sản. Quy trình bao gồm các bước: lắng nước trong 1 - 2 ngày để loại bỏ cặn lơ lửng; xử lý bằng chlorine (dạng bột, 70% hoạt chất) ở nồng độ 10 - 30 ppm trong 24 - 48 giờ, với lượng chlorine được tính toán dựa trên thể tích nước thực tế (ví dụ: 42,9 g cho 1 m<sup>3</sup> nước ở nồng độ 30 ppm); trung hòa chlorine bằng natri thiosulfate (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) tinh khiết 99%, với tỷ lệ 0,563 g Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> cho mỗi 1 g chlorine dư; kiểm tra hàm lượng chlorine tự do còn lại bằng bộ test để đảm bảo không còn dư lượng trước khi sử dụng. Lượng Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> cần sử dụng được tính toán dựa trên hàm lượng chlorine dư thực tế trong nước sau quá trình xử lý và kinh nghiệm thực tiễn. Sau khi xử lý, nước được lưu trữ trong bể 6 m<sup>3</sup> có phủ bạt và sử dụng cho các hoạt động nghiên cứu và sản xuất.

### **2.3.3. Hệ thống bể thí nghiệm**

Hệ thống bể thí nghiệm bao gồm 18 bể kính hình hộp chữ nhật, mỗi bể có kích thước 55 cm (dài) × 35 cm (rộng) × 38 cm (cao), với thể tích hữu dụng là 65 lít. Các bể được kết nối với một bể lọc sinh học tuần hoàn đặt ở trung tâm hệ thống có thể tích khoảng 500 lít. Để đảm bảo cung cấp đủ oxy cho cá trong suốt quá trình thí nghiệm, mỗi bể được bố trí một vòi sục khí (đầu sục khí gồm đá bọt và đá sủ) (Hình 2.3).



**Hình 2.3: Hệ thống bể thí nghiệm**

Hệ thống cấp và thoát nước của bể thí nghiệm được thiết kế với ống cấp và thoát nước hai đầu đối diện tại tầng mặt. Ống cấp và ống thoát là các ống nhựa PVC với đường kính lần lượt là Ø 21 mm và Ø 34 mm. Để ngăn cá thoát ra ngoài, ống thoát nước được bọc lưới. Nước thải từ các bể nuôi được dẫn vào bể lọc sinh học trung tâm (Hình 2.3).

Bể lọc trung tâm được thiết kế với lớp bông lọc để loại bỏ chất thải rắn. Nước thoát khỏi hệ thống lọc bông sẽ được xử lý bởi các vi sinh vật trên các giá thể là hạt nhựa bio-ball (Ø 40 mm) và đá san hô. Sự kết hợp giữa hoạt động của hệ vi sinh vật sống trên giá thể và sục khí liên tục giúp duy trì chất lượng nước trong hệ thống ở trạng thái ổn định.

Nước sau khi xử lý được cấp trở lại bể nuôi bằng bơm chìm (Lifetech AP5300, 80W). Để kiểm soát lưu lượng nước cấp vào và thoát ra khỏi các bể nuôi, van khóa được sử dụng để điều chỉnh và duy trì lưu lượng ổn định trong khoảng 1,4 - 1,6 L/phút, tương ứng với tỷ lệ thay nước khoảng 3.500 – 3.700%/bể/ngày.

Nhằm ổn định các yếu tố môi trường, hệ thống bể thí nghiệm được đặt dưới mái che, với chu kỳ chiếu sáng tự nhiên 12 giờ sáng (L) : 12 giờ tối (D). Bên cạnh đó, để bổ sung ánh sáng vào các thời điểm ánh sáng yếu (sáng sớm, chiều tối và ngày âm u), một hệ thống đèn LED gồm 8 bóng đèn tuýp LED dài (Rạng Đông BD M26, 1.200 mm/40W) và 1 bóng đèn LED bulb (Rạng Đông TR135NĐ1/60W) được lắp đặt cách mặt nước 150 cm, tương ứng với 4 cạnh bên và trung tâm của hệ thống (Hình 2.3).

#### **2.3.4. Chuẩn bị nguồn carotenoids**

Các nguồn carotenoids tự nhiên, bao gồm bí ngô (*Cucurbita moschata*), ớt chuông (*Capsicum annuum*), cà rốt (*Daucus carota*), gấc (*Momordica cochinchinensis*), trứng gà (*Gallus gallus localus*), vỏ tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vannamei*), copepoda (*Pseudodiaptomus annandalei*) và trứng ốc bươu vàng (*Pomacea canaliculata*), được thu thập từ các địa điểm khác nhau trên địa bàn tỉnh Khánh Hòa. Quy trình chiết xuất carotenoids được thực hiện dựa trên phương pháp được mô tả bởi Tran và cộng sự [195], với một số điều chỉnh nhỏ.

Trong quá trình chiết xuất, nguyên liệu thô được xử lý sơ bộ trước khi trộn với dung môi phù hợp theo tỷ lệ 3,5 : 1 (v : w) cho mỗi lần chiết độc lập. Cụ thể, dầu đậu nành được sử dụng làm dung môi cho gấc, trong khi cồn 96% được áp dụng cho các nguyên liệu còn lại. Quá trình chiết xuất được thực hiện với sự hỗ trợ của vi sóng và lặp

lại ba lần để tối ưu hóa hiệu suất thu hồi carotenoids. Dịch chiết từ ba lần chiết được gộp lại, sau đó dung môi được tách ra để thu dịch chiết cô đặc: sử dụng cô quay chân không để loại bỏ cồn đối với dung môi cồn và ly tâm để loại bỏ dầu đối với dung môi dầu. Dịch chiết cô đặc này có hàm lượng carotenoids cao hơn và được sử dụng làm nguyên liệu để bổ sung vào thức ăn cho cá. *Quy trình chiết xuất chi tiết, bao gồm các bước thực hiện và các điều kiện cụ thể*, được trình bày trong Phụ lục 3.2.

Hàm lượng carotenoids tổng số tính theo  $\mu\text{g/g}$  nguyên liệu tươi của các nguồn nguyên liệu như sau: bí ngô 71,7  $\mu\text{g/g}$ , ớt chuông 102,6  $\mu\text{g/g}$ , cà rốt 88,4  $\mu\text{g/g}$ , gấc 463,0  $\mu\text{g/g}$ , lòng đỏ trứng gà 23,7  $\mu\text{g/g}$ , vỏ tôm 52,6  $\mu\text{g/g}$ , copepoda 113,3  $\mu\text{g/g}$  và trứng ốc bươu vàng 81,4  $\mu\text{g/g}$ .

Bên cạnh các nguồn tự nhiên, astaxanthin tổng hợp (Carophyll Pink CWS, DSM Nutritional Products Ltd., Thụy Sĩ) với hàm lượng 10% cũng được sử dụng làm nguồn bổ sung để so sánh hiệu quả của các nhóm sắc tố tự nhiên và tổng hợp. Tất cả các nguồn carotenoids này được đưa vào khẩu phần ăn thử nghiệm cho cá khoang cổ nemo tương ứng với từng nội dung/nghiệm thức thí nghiệm.

### **2.3.5. Chuẩn bị thức ăn thí nghiệm và bổ sung carotenoids**

Thức ăn nền được xây dựng theo nhu cầu dinh dưỡng của cá biển (do chưa có thức ăn chuyên dụng cho cá khoang cổ nemo), với hàm lượng protein và lipid thô lần lượt là 55% và 12% (Bảng 2.1) [50, 116, 125, 135]. Quy trình sản xuất thức ăn bao gồm các bước: cân và trộn nguyên liệu, hấp chín, đùn viên, sấy khô, nghiền và sàng qua rây để đạt kích cỡ phù hợp [195].

Hàm lượng carotenoids bổ sung vào thức ăn được điều chỉnh tùy theo mục tiêu của từng thí nghiệm. Trong Thí nghiệm 3 và 4 (Nội dung 2), hàm lượng carotenoids bổ sung là 250 mg/kg thức ăn. Trong Thí nghiệm 5 và 6 (Nội dung 3), các mức bổ sung carotenoids dao động từ 200 đến 1.500 mg/kg thức ăn. Các nghiệm thức đối chứng không được bổ sung carotenoids mà chỉ bổ sung lượng dầu tương đương.

Dung dịch carotenoids từ các mẫu nguyên liệu (hàm lượng 4,1 – 7,4%) được sử dụng để bổ sung vào thức ăn với khối lượng từ 3,11 – 20,60 g, tùy theo hàm lượng carotenoids cần bổ sung. Lượng dầu đậu nành sử dụng để pha loãng carotenoids và trong công thức thức ăn được cân đối để đảm bảo tổng hàm lượng lipid không vượt quá 12%.

**Bảng 2.1: Công thức và thành phần nguyên liệu thức ăn thí nghiệm (g/kg)**

Thành phần	Khối lượng (g/kg)	Tỷ lệ (%)
Bột cá (Peru) (g)	425,0	42,50
Bột cá (Vietnam) (g)	136,0	13,60
Bột mực (g)	140,0	14,00
Bột đậu nành (g)	75,0	7,50
Bột gluten ngô (g)	85,0	8,50
Bột mỳ (g)	34,0	3,40
Dầu cá (g)	25,7	2,57
Dầu đậu nành (g)	30,0	3,00
Vitamin tổng hợp <sup>1</sup> (g)	10,0	1,00
Lysine (g)	8,0	0,80
Methionine (g)	6,0	0,60
Monocalcium phosphate (g)	6,0	0,60
Guar gum powder (g)	5,0	0,50
Sodium alginate (g)	4,3	0,43
Khoáng tổng hợp <sup>2</sup> (g)	10,0	1,00
Carotenoids bổ sung (g)	0	0
<b>Thành phần sinh hóa cơ bản</b>		
Protein thô (%)	55,00	
Lipid thô (%)	12,01	
Tro (%)	11,09	
Độ ẩm (%)	10,04	
Carotenoids (g)	0,04	

<sup>1</sup> **Vitamin tổng hợp** (mg/kg diet): Vitamin A, 1.000.000 IU; Vitamin D3, 300.000 IU; Vitamin C monophosphate, 10.000 mg; Axít Pantothenic, 2.500 mg; Vitamin E, 2.000 mg; Vitamin B3, 2.000 mg; Vitamin K3, 500 mg; Vitamin B1, 500 mg; Vitamin B6, 500 mg; Vitamin B2, 320 mg; Axít Folic, 200 mg; Biotin, 20 mg; Vitamin B12, 5 mg; Inositol, 10 mg; Choline chloride, 5 mg. Provimi Vietnam Co. Ltd., Bien Hoa city, Dong Nai province, Vietnam.

<sup>2</sup> **Khoáng tổng hợp** (mg/kg diet): Zn (ZnO), 4.750 mg; Mn (MnSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O), 1.900 mg; Mg (MgO), 1.050 mg; Co (CoCO<sub>3</sub>), 47,5 mg; Se (Na<sub>2</sub>SeO<sub>2</sub>), 47,5 mg; I (Ca(IO<sub>2</sub>)<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O), 19,0 mg; P (CaHPO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O), 0,7%; Ca (CaHPO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O), 0,8%; Moisture, 10,0%; Ash, 2,0%; Ethoxyquin, 240,0 mg; Carrier (Dextrose), 86,0%. Provimi Vietnam Co. Ltd., Bien Hoa city, Dong Nai province, Vietnam.

Sau khi bổ sung carotenoids và vitamin tổng hợp, thức ăn được trộn đều theo phương pháp trộn thủ công hai bước, sấy khô ở 60°C đến độ ẩm xấp xỉ 10%, chia vào túi zip, loại bỏ không khí, bọc kín và bảo quản ở nhiệt độ ≤ 4°C.

Thành phần sinh hóa của thức ăn và hàm lượng carotenoids tổng số được phân tích từ mẫu thức ăn thành phẩm (sau sản xuất, bổ sung carotenoids và sẵn sàng cho thí nghiệm), theo phương pháp chuẩn của AOAC (2006) và Ramamoorthy và García-Romero [73, 162]. Chi tiết về Quy trình chuẩn bị thức ăn, hàm lượng và phương pháp bổ sung carotenoids được trình bày trong Phụ lục 3.3.

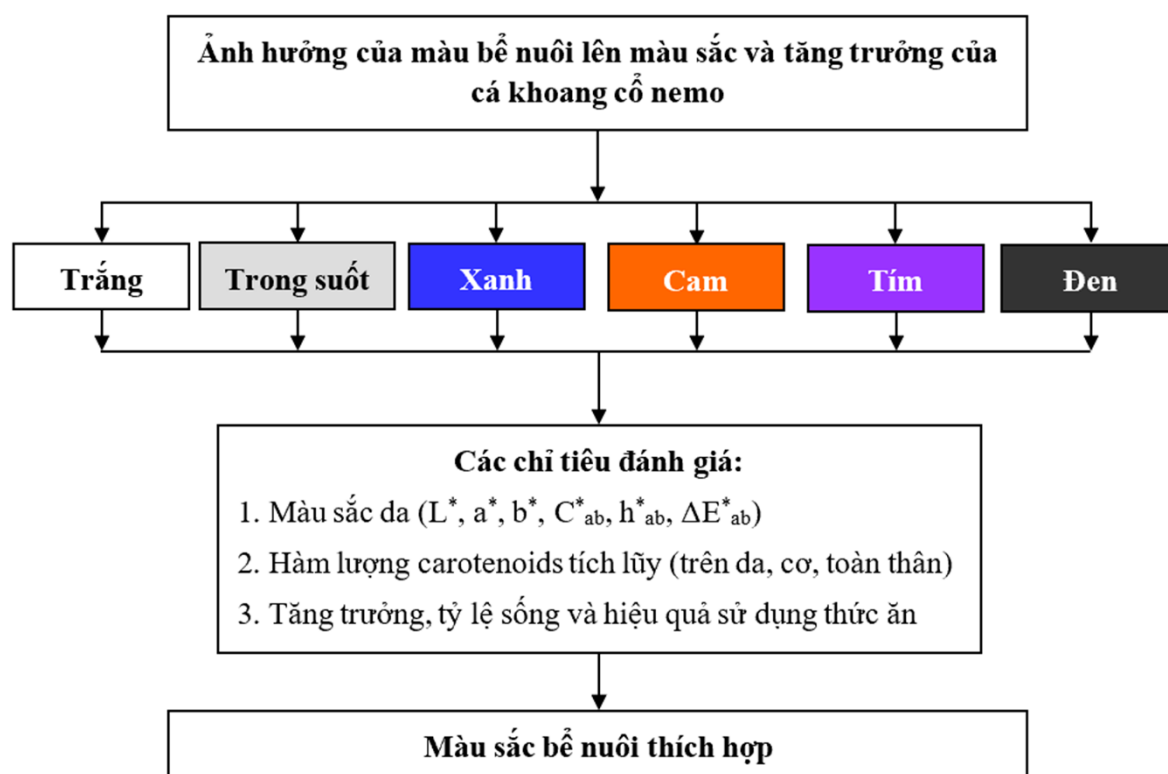
## 2.4. Phương pháp nghiên cứu

### 2.4.1. Ảnh hưởng của môi trường nuôi lên màu sắc và tăng trưởng của cá khoang cổ nemo

Trong nội dung này, tác động của màu bể và độ mặn lên kết quả nuôi cá khoang cổ nemo sẽ được đánh giá, và các thông số thích hợp thu được sẽ là cơ sở để lựa chọn màu bể và độ mặn cho các thí nghiệm tiếp theo.

#### 2.4.1.1. Ảnh hưởng của màu sắc bể nuôi (TN1)

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD) với 6 nghiệm thức tương ứng với 6 màu bể khác nhau: trắng (RGB: 255, 255, 255), trong suốt (đối chứng), xanh dương (RGB: 0, 0, 255, sau đây gọi tắt là màu xanh), cam (RGB: 255, 140, 0), tím (RGB: 148, 0, 211) và đen (RGB: 0, 0, 0). Bể trong suốt được sử dụng làm đối chứng, tương ứng với điều kiện nuôi thông thường. Mỗi nghiệm thức được thực hiện với 3 lần lặp trong 60 ngày. Giấy dán decal màu có keo dính sẵn được sử dụng để tạo màu cho bể nuôi. Sơ đồ bố trí thí nghiệm và các thông số đánh giá được trình bày trên Hình 2.4.



**Hình 2.4: Bố trí thí nghiệm về ảnh hưởng của màu sắc bể nuôi**

Quy trình chuẩn bị bể thí nghiệm bao gồm: vệ sinh sạch sẽ, lau khô hoàn toàn, sau đó dán giấy decal màu lên 5 mặt của bể (4 mặt bên và 1 mặt đáy). Sau khi hoàn

thành, bể được lắp đặt vào hệ thống nuôi cùng với các thiết bị cần thiết như ống cấp, thoát nước, lưới chắn cá và sục khí.

Cá khoang cổ nemo giống, có chiều dài toàn thân (TL) và khối lượng toàn thân (BW) ban đầu lần lượt là  $3,30 \pm 0,02$  cm và  $0,65 \pm 0,02$  g, được thả nuôi với mật độ 15 con/bể. Các tiêu chuẩn về cá thí nghiệm, nguồn gốc và thời gian thích nghi được mô tả trong Mục 2.3.1. Hệ thống nuôi và quản lý, vận hành được mô tả chi tiết trong Mục 2.3.3.

Trong suốt thời gian thí nghiệm, cá được cho ăn thức ăn công nghiệp NRD (INVE, Thái Lan), một loại thức ăn phổ biến trong ương nuôi cá biển và cá cảnh biển, với hàm lượng protein thô 55% và lipid thô 9%. Quy trình chăm sóc, quản lý, thu thập và đánh giá kết quả thí nghiệm (tăng trưởng, tỷ lệ sống, hiệu quả sử dụng thức ăn, màu sắc da và hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá) được mô tả trong Mục 2.5. Mẫu tốt nhất thu được từ TN1 được sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.

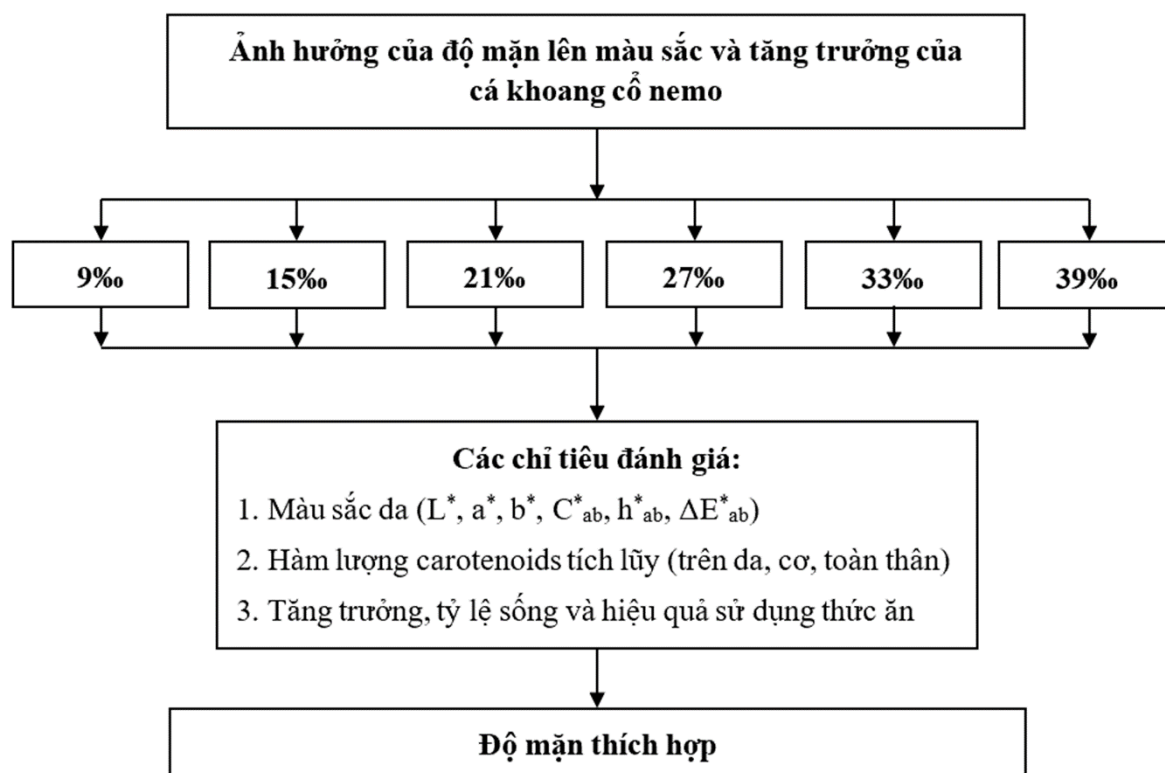
#### 2.4.1.2. Ảnh hưởng của độ mặn (TN2)

Thí nghiệm được bố trí với 6 nghiệm thức, tương ứng với 6 mức độ mặn khác nhau, bao gồm: 9‰, 15‰, 21‰, 27‰, 33‰ (đôi chứng) và 39‰. Mức độ mặn 33‰ sử dụng nước biển tự nhiên, đại diện cho điều kiện độ mặn thông thường tại các vùng rạn san hô và cũng là độ mặn phổ biến trong trại sản xuất và nuôi cá khoang cổ nemo. Mỗi nghiệm thức được thực hiện với 3 lần lặp trong thời gian 60 ngày. Bể nuôi được dán giấy decal màu xanh, là kết quả tốt nhất thu được từ TN1 (Mục 2.4.1.1). Sơ đồ bố trí thí nghiệm và các thông số đánh giá được trình bày trên Hình 2.5.

Nước biển tự nhiên có độ mặn 33‰ được sử dụng làm cơ sở để pha các mức độ mặn thí nghiệm. Các mức độ mặn thấp hơn (9‰, 15‰, 21‰ và 27‰) được chuẩn bị bằng cách pha loãng nước biển với nước máy đã qua xử lý theo tỷ lệ thể tích thích hợp. Cụ thể, tỷ lệ pha trộn giữa nước biển và nước ngọt để tạo các mức độ mặn 9‰, 15‰, 21‰ và 27‰ lần lượt là 1 : 2,67; 1 : 1,20; 1 : 0,57 và 1 : 0,22 (v/v). Mức độ mặn cao nhất (39‰) được tạo ra bằng cách bổ sung muối hạt vào nước biển 33‰ với tỷ lệ 6,0 g/L. Độ mặn của các nghiệm thức được kiểm tra bằng khúc xạ kế và điều chỉnh để đạt giá trị mong muốn. Quy trình chi tiết về cách pha các mức độ mặn, bao gồm công thức tính toán tỷ lệ pha trộn và lượng muối bổ sung, được trình bày trong Phụ lục 3.4.

Hệ thống bể thí nghiệm được thiết kế tương tự như mô tả trong Mục 2.3.3. Tuy nhiên, mỗi nghiệm thức gồm 3 lần lặp lại, tương ứng với 3 bể thí nghiệm riêng biệt.

Trong mỗi nghiệm thức, một hệ thống lọc sinh học tuần hoàn riêng với thể tích khoảng 100 lít được bố trí để xử lý nước cho cả 3 bể lặp lại. Nguyên tắc thiết kế, bố trí hệ thống và vận hành tương tự như đã trình bày trong Mục 2.3.3.



**Hình 2.5: Bố trí thí nghiệm về ảnh hưởng của độ mặn**

Cá khoang cổ nemo giống (kích thước trung bình  $3,25 \pm 0,08$  cm và khối lượng  $0,67 \pm 0,05$  g) được thả nuôi với mật độ 15 con/bể. Các tiêu chuẩn về cá thí nghiệm, nguồn gốc và chuẩn bị hệ thống nuôi tương tự như được mô tả trong Mục 2.3.1 và 2.3.3. Quá trình điều chỉnh độ mặn được thực hiện từ từ với tốc độ 2‰/ngày (1‰/12 giờ) cho đến khi đạt được độ mặn tương ứng với từng nghiệm thức thí nghiệm, nhằm giảm căng thẳng cho cá [32, 78]. Sau khi đạt độ mặn tương ứng với thiết kế thí nghiệm (0 – 12 ngày), cá tiếp tục được nuôi thêm 2 ngày trước khi bắt đầu tính thời gian thí nghiệm, với tổng thời gian thuần hóa là 14 ngày. Quy trình chăm sóc, quản lý, thu thập và đánh giá kết quả thí nghiệm được mô tả trong Mục 2.5.

#### **2.4.2. Ảnh hưởng của chế độ bổ sung carotenoids vào thức ăn lên màu sắc và tăng trưởng của cá khoang cổ nemo**

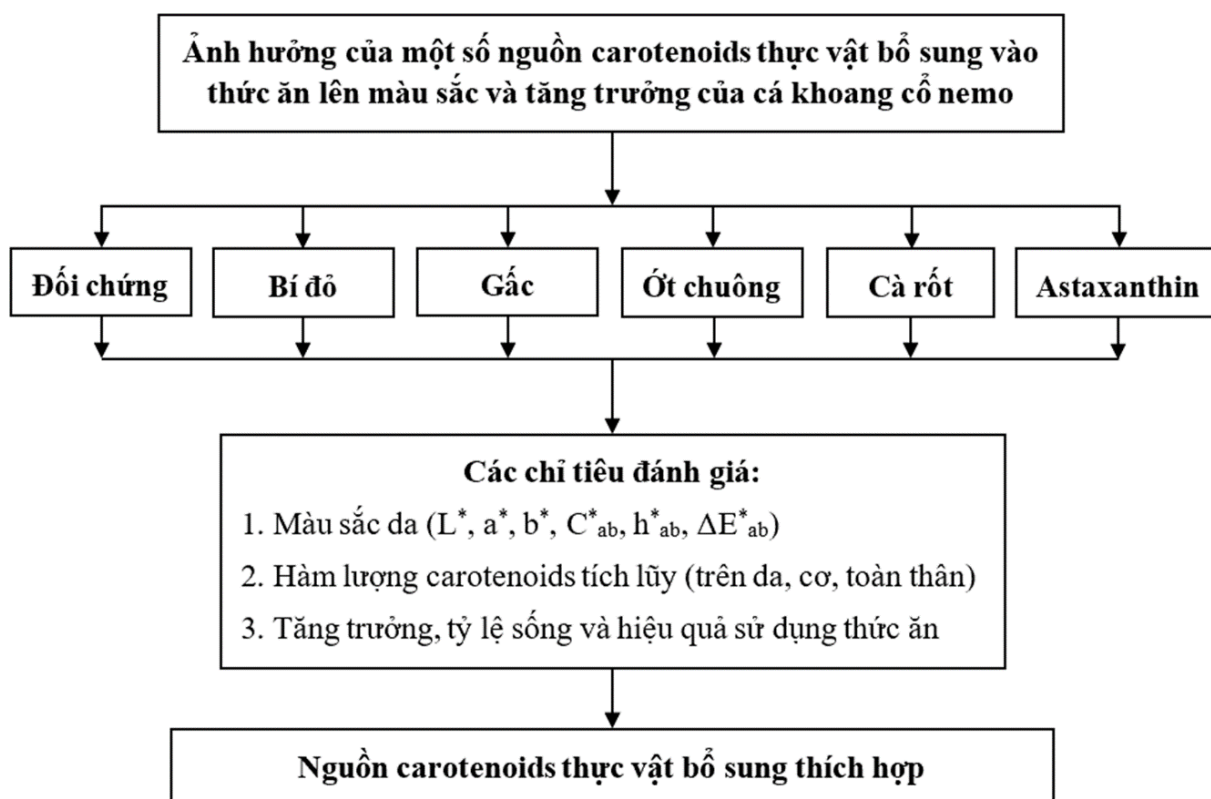
Trong nội dung này, ảnh hưởng của các nguồn carotenoids thực vật và động vật lên màu sắc và tăng trưởng của cá khoang cổ nemo được đánh giá. Các thí nghiệm được



tiến hành trong điều kiện môi trường thích hợp nhất (bể màu xanh và độ mặn 33‰) đã xác định từ Nội dung 1, nhằm loại trừ ảnh hưởng của các yếu tố môi trường và tập trung vào vai trò của chế độ bổ sung carotenoids. Kết quả từ Nội dung 2 sẽ là cơ sở để xác định chế độ bổ sung carotenoids (bao gồm nguồn, hàm lượng và thời gian) tối ưu cho Nội dung 3.

#### 2.4.2.1. Ảnh hưởng của một số nguồn carotenoids thực vật (TN3)

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, với 6 nghiệm thức, bao gồm 4 nguồn carotenoids tự nhiên từ thực vật (bí đỏ, gấc, ớt chuông và cà rốt), 1 nguồn carotenoids tổng hợp là astaxanthin (đối chứng dương) và 1 đối chứng không bổ sung sắc tố (đối chứng âm). Mỗi nghiệm thức được thực hiện với 3 lần lặp trong thời gian 75 ngày (Hình 2.6). Các nguồn carotenoids, phương pháp chuẩn bị và bổ sung vào thức ăn được mô tả chi tiết trong Mục 2.3.4 và 2.3.5.

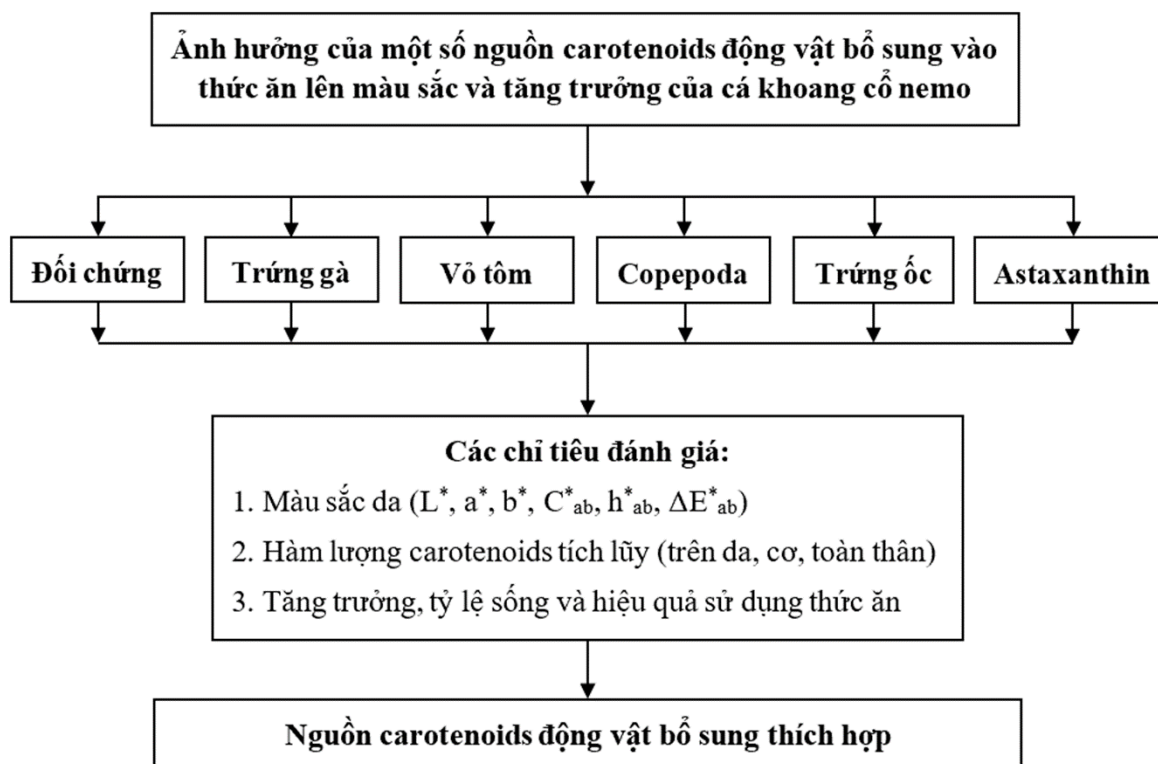


**Hình 2.6: Bố trí thí nghiệm về ảnh hưởng của nguồn carotenoids thực vật**

Cá khoang cổ nemo giống ( $3,21 \pm 0,03$  cm và  $0,61 \pm 0,02$  g) được thả nuôi với mật độ 15 con/bể. Các tiêu chuẩn về cá thí nghiệm, nguồn gốc và chuẩn bị hệ thống nuôi tương tự như được mô tả trong Mục 2.3.1 và 2.3.3. Quy trình chăm sóc, quản lý cá, cũng như phương pháp thu thập và đánh giá kết quả được trình bày cụ thể trong Mục 2.5.

#### 2.4.2.2. Ảnh hưởng của một số nguồn carotenoids động vật (TN4)

Tương tự với thí nghiệm sử dụng nguồn thực vật, thí nghiệm này được bố trí với 4 nguồn carotenoids tự nhiên từ động vật (trứng gà, copepoda, vỏ tôm và trứng ốc bươu vàng), 1 nguồn carotenoids tổng hợp là astaxanthin và 1 đối chứng âm không bổ sung sắc tố. Mỗi nghiệm thức được thực hiện với 3 lần lặp trong thời gian 75 ngày (Hình 2.7).

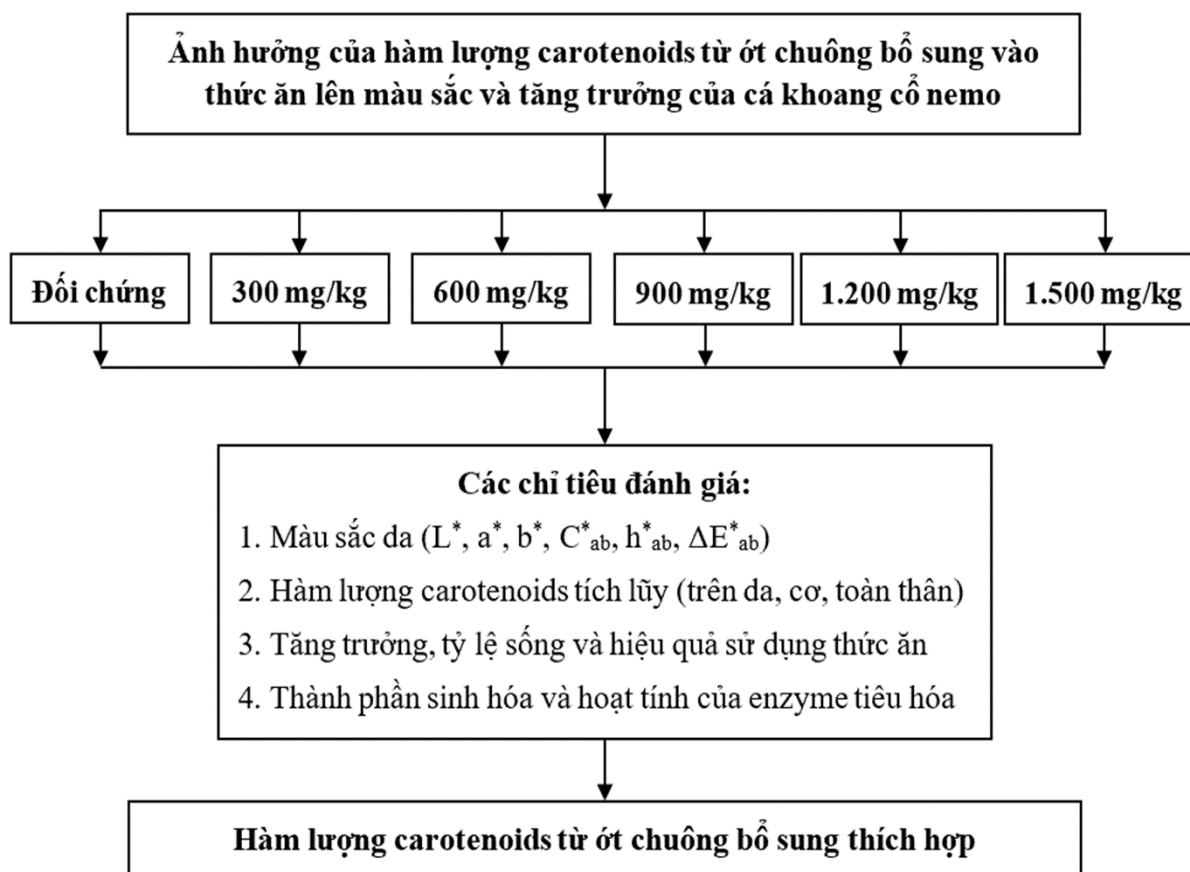


**Hình 2.7: Bố trí thí nghiệm về ảnh hưởng của nguồn carotenoids động vật**

Cá khoang cổ nemo giống ( $3,14 \pm 0,02$  cm và  $0,54 \pm 0,02$  g) được thả nuôi với mật độ 15 con/bể. Các tiêu chuẩn về cá thí nghiệm, chuẩn bị hệ thống nuôi tương tự như được mô tả trong Mục 2.3.1 và 2.3.3. Quy trình chăm sóc, quản lý, thu thập và đánh giá kết quả thí nghiệm như được mô tả trong Mục 2.5.

#### 2.4.2.3. Ảnh hưởng của hàm lượng carotenoids từ ớt chuông (TN5)

Thí nghiệm được thiết kế với 5 hàm lượng carotenoids chiết xuất từ ớt chuông bổ sung vào thức ăn và một nghiệm thức đối chứng.Ớt chuông, nguồn carotenoids cho kết quả tốt nhất trong TN3, được bổ sung vào thức ăn tương ứng với các hàm lượng 0 (Đối chứng), 300, 600, 900, 1.200 và 1.500 mg/kg thức ăn. Mỗi nghiệm thức được thực hiện với 3 lần lặp trong 75 ngày (Hình 2.8). Nguồn carotenoids, phương pháp chuẩn bị và bổ sung vào thức ăn theo quy trình được mô tả chi tiết trong Mục 2.3.4 và 2.3.5.



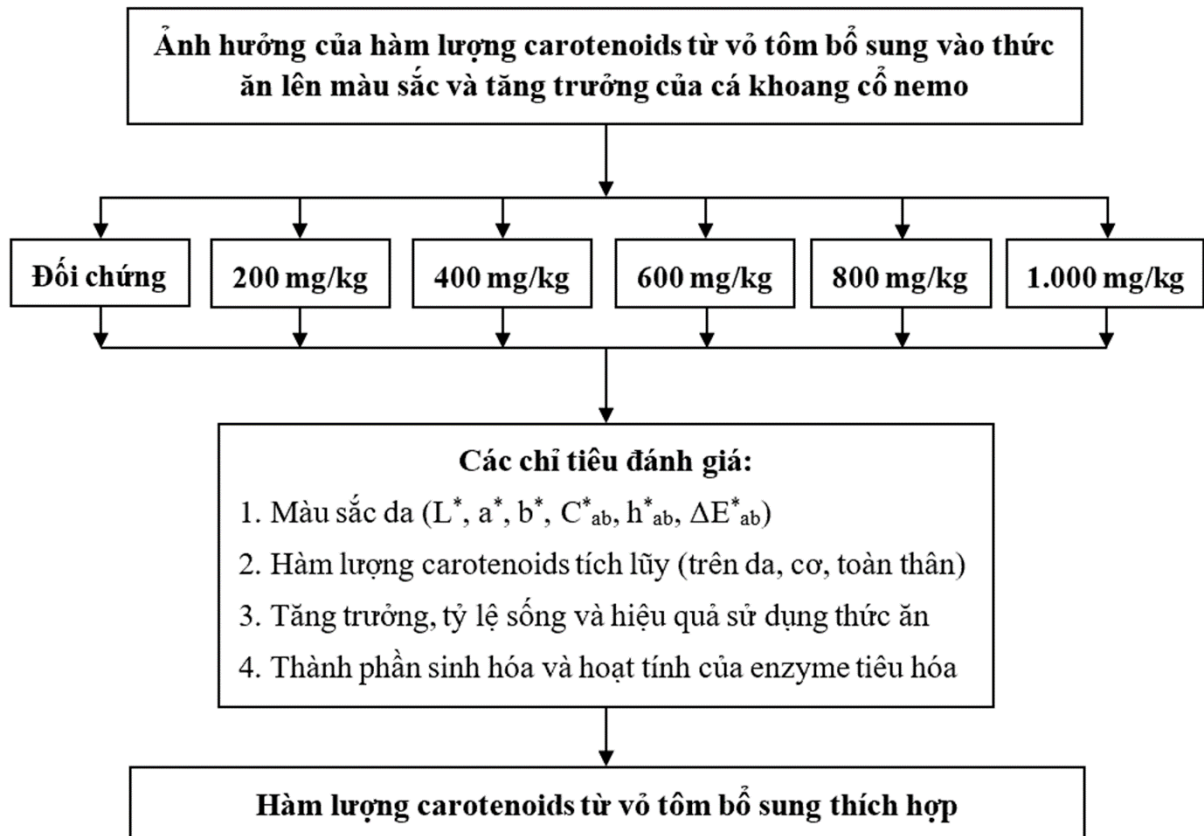
**Hình 2.8: Bố trí thí nghiệm về ảnh hưởng của hàm lượng carotenoids từ ớt chuông**

Cá khoang cổ nemo giống ( $3,40 \pm 0,04$  cm và  $0,72 \pm 0,02$  g) được thả nuôi với mật độ 15 con/bể. Các tiêu chuẩn về cá thí nghiệm, nguồn gốc và chuẩn bị hệ thống nuôi tương tự như được mô tả trong Mục 2.3.1 và 2.3.3. Quy trình chăm sóc, quản lý, thu thập và đánh giá kết quả thí nghiệm như được mô tả trong Mục 2.5. Bên cạnh các chỉ tiêu đánh giá như trong TN1 - 4, thành phần sinh hóa cơ thể cá và hoạt tính của một số enzyme tiêu hóa chính của cá cũng được phân tích và trình bày chi tiết trong Mục 2.5.

#### 2.4.2.4. Ảnh hưởng của hàm lượng carotenoids từ vỏ tôm (TN6)

Thí nghiệm được thiết kế với 5 hàm lượng carotenoids chiết xuất từ vỏ tôm bổ sung vào thức ăn và một nghiệm thức đối chứng. Vỏ tôm, nguồn carotenoids cho kết quả tốt nhất trong TN4, được bổ sung vào thức ăn tương ứng với các hàm lượng 0 (Đối chứng), 200, 400, 600, 800 và 1.000 mg/kg thức ăn. Mỗi nghiệm thức được thực hiện với 3 lần lặp trong thời gian 75 ngày (Hình 2.9). Nguồn carotenoids, phương pháp chuẩn bị và bổ sung vào thức ăn như được mô tả trong Mục 2.3.4 và 2.3.5.

Cá khoang cổ nemo giống ( $3,00 \pm 0,05$  cm và  $0,58 \pm 0,03$  g) được thả nuôi với mật độ 15 con/bể. Các tiêu chuẩn về cá thí nghiệm, chuẩn bị hệ thống nuôi tương tự như được mô tả trong Mục 2.3.1 và 2.3.3. Quy trình chăm sóc, quản lý, thu thập và đánh giá kết quả thí nghiệm như được mô tả trong Mục 2.5. Bên cạnh các chỉ tiêu đánh giá như trong TN1 - 4, thành phần sinh hóa cơ thể cá và hoạt tính của một số enzyme tiêu hóa chính của cá cũng được phân tích và trình bày chi tiết trong Mục 2.5.

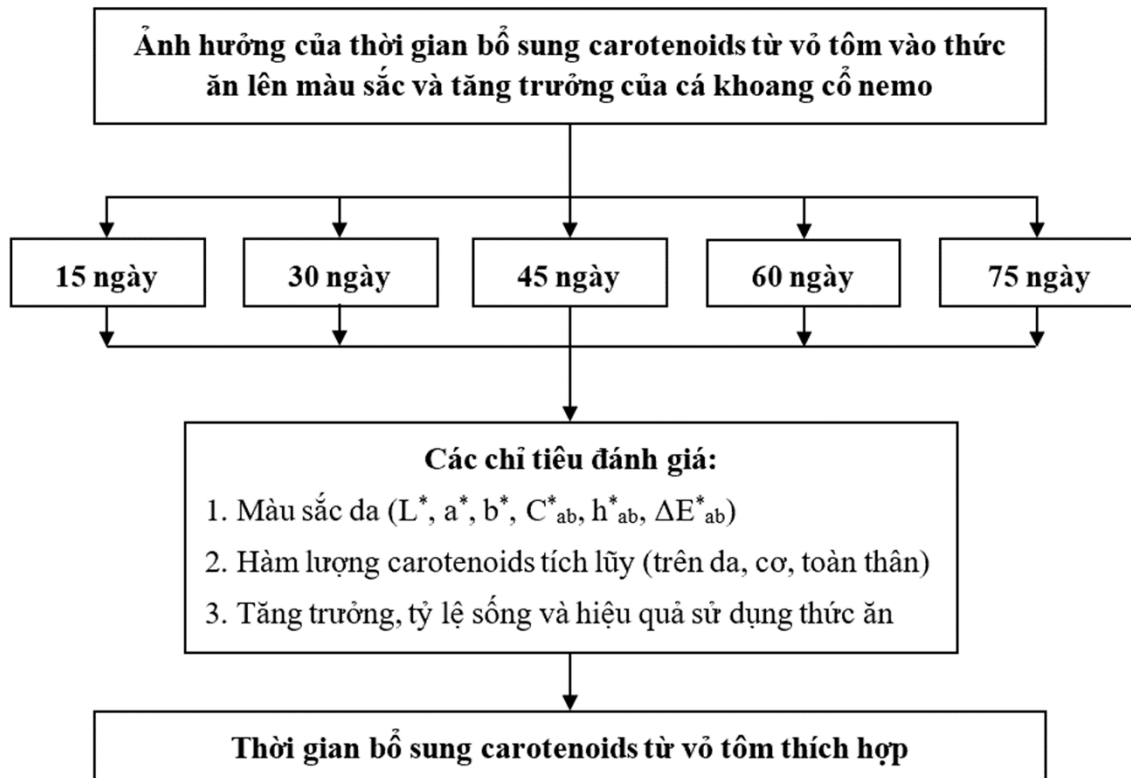


**Hình 2.9: Bố trí thí nghiệm về ảnh hưởng của hàm lượng carotenoids từ vỏ tôm**

#### 2.4.2.5. Ảnh hưởng của thời gian bổ sung carotenoids từ vỏ tôm (TN7)

Thí nghiệm được thiết kế với 5 nghiệm thức tương ứng với 5 khoảng thời gian bổ sung carotenoids khác nhau (75, 60, 45, 30 và 15 ngày), nhằm xác định khoảng thời gian bổ sung thích hợp nhất để cải thiện màu sắc và tăng trưởng của cá khoang cổ nemo. Tất cả các nghiệm thức đều được tiến hành trong 75 ngày, với thời điểm bắt đầu bổ sung carotenoids khác nhau, lần lượt từ ngày 0, 15, 30, 45 và 60 của thí nghiệm. Như vậy, thời gian thực tế cá được ăn thức ăn bổ sung carotenoids tương ứng với thiết kế trên lần lượt là 75, 60, 45, 30 và 15 ngày. Tất cả các nghiệm thức đều được thu mẫu và đánh giá cùng ngày (ngày thứ 75), đảm bảo tính đồng nhất và khả năng so sánh giữa các nghiệm thức khi cá đạt kích cỡ thương mại. Mỗi nghiệm thức được thực hiện với 3 lần lặp trong

thời gian 75 ngày (Hình 2.10). Vỏ tôm được sử dụng làm nguồn carotenoids, với hàm lượng bổ sung 600 mg/kg thức ăn, dựa trên kết quả thích hợp nhất thu được từ các thí nghiệm TN3 - 6. Phương pháp chuẩn bị và bổ sung carotenoids vào thức ăn được thực hiện như mô tả trong Mục 2.3.4 và Mục 2.3.5.



**Hình 2.10: Bố trí thí nghiệm về ảnh hưởng của thời gian bổ sung carotenoids từ vỏ tôm**

Cá khoang cổ nemo giống ( $3,20 \pm 0,02$  cm và  $0,62 \pm 0,04$  g) được thả nuôi với mật độ 15 con/bể. Các tiêu chuẩn về cá thí nghiệm, chuẩn bị hệ thống nuôi tương tự như được mô tả trong Mục 2.3.1 và 2.3.3. Quy trình chăm sóc, quản lý, thu thập và đánh giá kết quả thí nghiệm như được mô tả trong Mục 2.5.

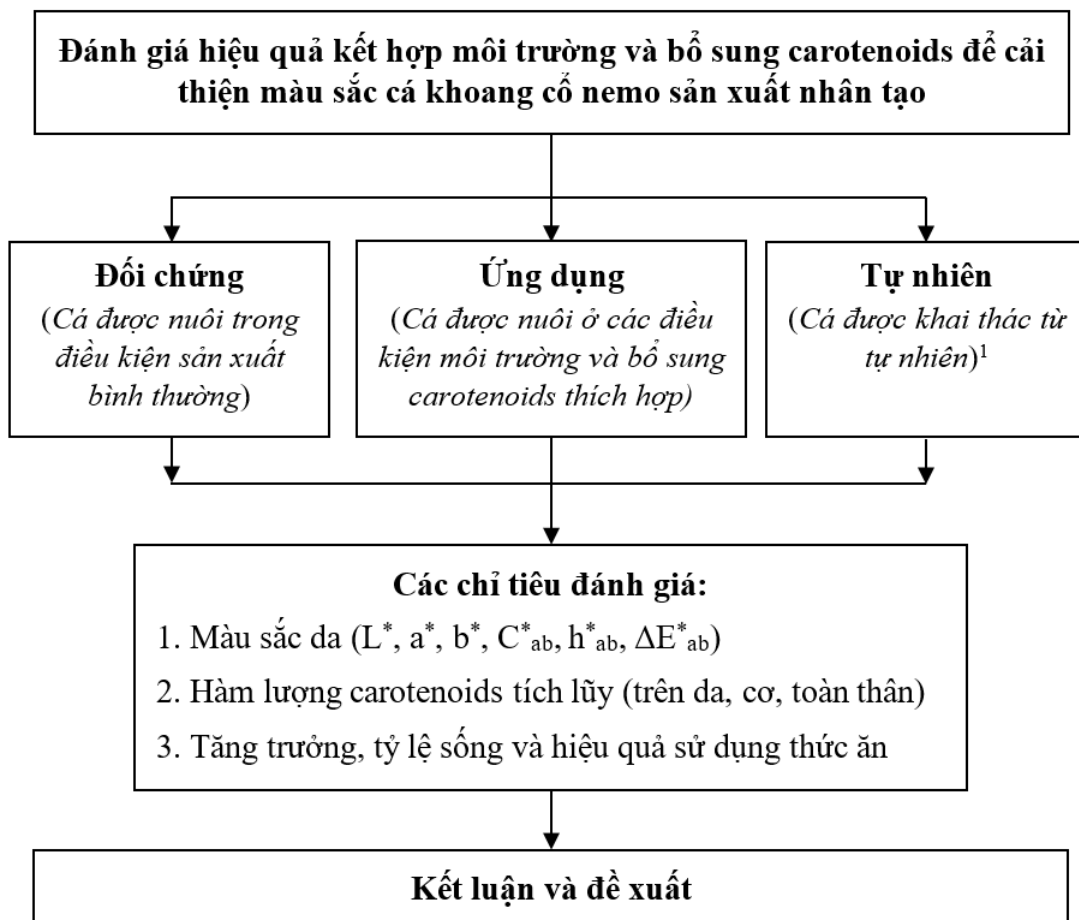
### **2.4.3. Đánh giá hiệu quả kết hợp môi trường và bổ sung carotenoids cải thiện màu sắc cá khoang cổ nemo (TN8)**

Trong thí nghiệm này, các thông số tối ưu thu được từ kết quả của các thí nghiệm trước (TN1 - 7) được tổng hợp nhằm xây dựng quy trình nuôi cá khoang cổ nemo, bao gồm các điều kiện môi trường (màu bể, độ mặn) và chế độ bổ sung carotenoids (nguồn, hàm lượng và thời gian).

Thí nghiệm được bố trí với hai nghiệm thức: (1) Nghiệm thức ứng dụng, áp dụng

các thông số tối ưu gồm bề màu xanh, độ mặn 33‰, bổ sung carotenoids từ vỏ tôm với hàm lượng 600 mg/kg thức ăn trong 45 ngày; và (2) Nghiệm thức đối chứng, nuôi cá trong điều kiện sản xuất thông thường với bề màu trong suốt và không bổ sung carotenoids (Hình 2.11).

Cá được nuôi ở quy mô sản xuất, sử dụng bể kính có thể tích là 500 lít ( $120 \times 75 \times 60$  cm, thể tích 540 lít, cấp nước 500 lít) – loại bể đang được sử dụng để nuôi cá từ giai đoạn chiều dài 3,0 cm tới khi cung cấp cho thị trường (4,0 – 5,0<sup>+</sup> cm nếu nuôi 75 ngày hoặc 3,5 – 4,5 cm nếu nuôi 45 ngày). Cá khoang cổ nemo giống ( $3,17 \pm 0,12$  cm và  $0,59 \pm 0,07$  g) được thả nuôi với mật độ 300 con/bể. Ngoại trừ sự khác biệt về quy mô nuôi, các tiêu chuẩn về cá thí nghiệm, nguồn gốc và chuẩn bị hệ thống nuôi được thực hiện tương tự như mô tả trong Mục 2.3.1 và 2.3.3. Mỗi nghiệm thức được thực hiện với 7 lần lặp, vào các thời điểm khác nhau, tương ứng với các đợt sản xuất khác nhau, kéo dài trong 45 ngày. Quy trình chăm sóc, quản lý, thu thập và đánh giá kết quả thí nghiệm được tiến hành như mô tả trong Mục 2.5.



**Hình 2.11: Bố trí thí nghiệm đánh giá hiệu quả kết hợp môi trường và bổ sung carotenoids cải thiện màu sắc cá khoang cổ nemo**

Vào thời điểm kết thúc thí nghiệm (ngày thứ 45), 30 con cá từ mỗi bể (lần lặp) được thu ngẫu nhiên để xác định các chỉ tiêu màu sắc (da và hàm lượng carotenoids tích lũy), tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn. Thời điểm thu mẫu được lựa chọn dựa trên kết quả của thí nghiệm trước đó (TN7), cho thấy đây là thời gian bổ sung carotenoids tối ưu về hiệu quả kinh tế và kỹ thuật để cải thiện màu sắc cá khoang cổ nemo. Tại thời điểm này, kích cỡ cá thí nghiệm dao động từ 3,5 - 4,5 cm.

Để đảm bảo tính so sánh, mẫu cá tự nhiên (30 con/mẫu) được thu thập tương ứng với thời điểm kết thúc của từng lần lặp thí nghiệm (tổng cộng 7 lần lặp, khác thời điểm). Mặc dù kích thước cá tự nhiên thu được có thể dao động từ 2 - 10 cm, nhưng trong nghiên cứu này, chỉ những cá thể có kích cỡ từ 3,5 - 4,5 cm được lựa chọn để đảm bảo tính tương đồng với cá sản xuất nhân tạo (nghiệm thức ứng dụng và đối chứng) khi so sánh các chỉ tiêu nghiên cứu. Việc thu mẫu cá tự nhiên được thực hiện vào 3 thời điểm trong năm, gồm 3 lần vào mùa xuân, 3 lần vào mùa hè và 1 lần vào mùa thu, tùy thuộc vào sự sẵn có của nguồn cá khai thác. Mẫu cá tự nhiên được thu ngẫu nhiên ngay sau khi khai thác bởi ngư dân và chuyển về các cơ sở thu mua/đầu mối, đảm bảo tính chính xác và tương đồng với thời điểm kết thúc thí nghiệm của các nghiệm thức ứng dụng và đối chứng. Sau khi thu gom, cá được vận chuyển bằng túi nilon bơm oxy về trại để tiến hành xác định các chỉ tiêu nghiên cứu.

Các chỉ tiêu màu sắc được so sánh giữa cả ba nhóm cá ứng dụng, đối chứng và khai thác tự nhiên, trong khi các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn chỉ được so sánh giữa hai nhóm cá ứng dụng và đối chứng nhằm đảm bảo tính tương đồng trong điều kiện nuôi.

## **2.5. Chăm sóc, quản lý, thu thập và đánh giá kết quả thí nghiệm**

### **2.5.1. Chăm sóc, quản lý**

Cá được cho ăn 4 lần/ngày vào các thời điểm 7h30, 10h00, 13h30 và 16h30. Lượng thức ăn cung cấp được điều chỉnh dựa trên quan sát mức độ thỏa mãn của cá, nhằm tối ưu hóa lượng thức ăn sử dụng và giảm thiểu lượng thức ăn dư thừa. Sau 30 phút cho ăn, thức ăn thừa (nếu có) được thu gom bằng phương pháp siphon (sử dụng vợt, ống hút, pipet nhựa, chậu nhựa nền trắng) và bảo quản trong ngăn đông tủ lạnh (-20°C). Các mẫu thức ăn này được sấy khô ở 60°C trong 24 giờ để đạt độ ẩm tương đương với thức ăn ban đầu (khoảng 10%). Lượng thức ăn thực tế cá sử dụng được tính



toán dựa trên lượng thức ăn cho cá ăn và lượng thức ăn còn lại sau mỗi lần cho ăn (bao gồm cả lượng dư đã sấy khô). Dữ liệu này được sử dụng để đánh giá hiệu quả sử dụng thức ăn của cá, như được trình bày trong Mục 2.5.2.2.

Bể nuôi được vệ sinh và loại bỏ chất thải, bao gồm phân và chất rắn, bằng phương pháp siphon với tần suất 2 lần/ngày (6h30 và 17h30). Nước ngọt được bổ sung để bù đắp lượng nước bay hơi và điều chỉnh độ mặn trong khoảng 32 - 34‰ (ngoại trừ Thí nghiệm 2 trong đó độ mặn được kiểm soát theo từng nghiệm thức). Định kỳ hàng tuần, toàn bộ lượng nước trong hệ thống bể nuôi được thay từ 30 – 50%, nhằm cải thiện và duy trì chất lượng nước. Tình trạng bể nuôi, hoạt động của cá và số lượng cá chết được theo dõi và ghi chép hàng ngày để tổng hợp và phân tích vào thời điểm kết thúc thí nghiệm.

Các yếu tố môi trường nước, bao gồm nhiệt độ, độ mặn, pH, hàm lượng oxy hòa tan (DO) và hàm lượng ammonia tổng số (TAN), được xác định định kỳ (2 ngày/lần) hoặc khi cần thiết, và duy trì trong phạm vi thích hợp với cá khoang cổ nemo (ngoại trừ độ mặn trong TN2). Nhiệt độ được đo bằng nhiệt kế thủy ngân (độ chính xác  $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ ). Độ mặn được đo bằng khúc xạ kế (ATAGO, Nhật Bản, với độ chính xác  $\pm 1,0\text{‰}$ ). Oxy hòa tan và pH được đo bằng máy đo cầm tay LAQUA WQ-310 (HORIBA, Nhật Bản), độ chính xác lần lượt là  $\pm 0,1 \text{ mg O}_2/\text{L}$  và  $\pm 0,1$  đơn vị. TAN được xác định bằng bộ test (Sera, Đức), độ chính xác  $\pm 0,1 \text{ mg/L}$ . Các thông số môi trường nước được duy trì ổn định với nhiệt độ từ  $27 - 31^{\circ}\text{C}$ , pH từ 7,8 - 8,2, độ mặn từ 30 - 35‰,  $\text{DO} > 5,0 \text{ mg/L}$  và  $\text{TAN} < 1,0 \text{ mg N/L}$ . Dữ liệu các thông số môi trường của mỗi thí nghiệm được tổng hợp và trình bày trong Phụ lục 3.7.

### **2.5.2. Thu thập và đánh giá kết quả**

#### *Phương pháp thu mẫu cá:*

Vào thời điểm kết thúc thí nghiệm, toàn bộ cá ở các nghiệm thức được bỏ đói trong 24 giờ để đảm bảo ruột cá rỗng, tránh ảnh hưởng đến kết quả đo đạc, và gây mê bằng Ethylene Glycol Monophenyl Ether (Merck KGaA, Darmstadt, Đức) với nồng độ 500 ppm trong thời gian 5 – 10 giây [136]. Cá được thấm khô bằng giấy thấm trước khi tiến hành đo đạc các chỉ tiêu sinh trưởng (chiều dài, khối lượng) và màu sắc. Việc đo đạc được tiến hành với toàn bộ số lượng cá còn lại trong bể tại thời điểm kết thúc thí nghiệm. Chi tiết chỉ tiêu và phương pháp xác định như sau:



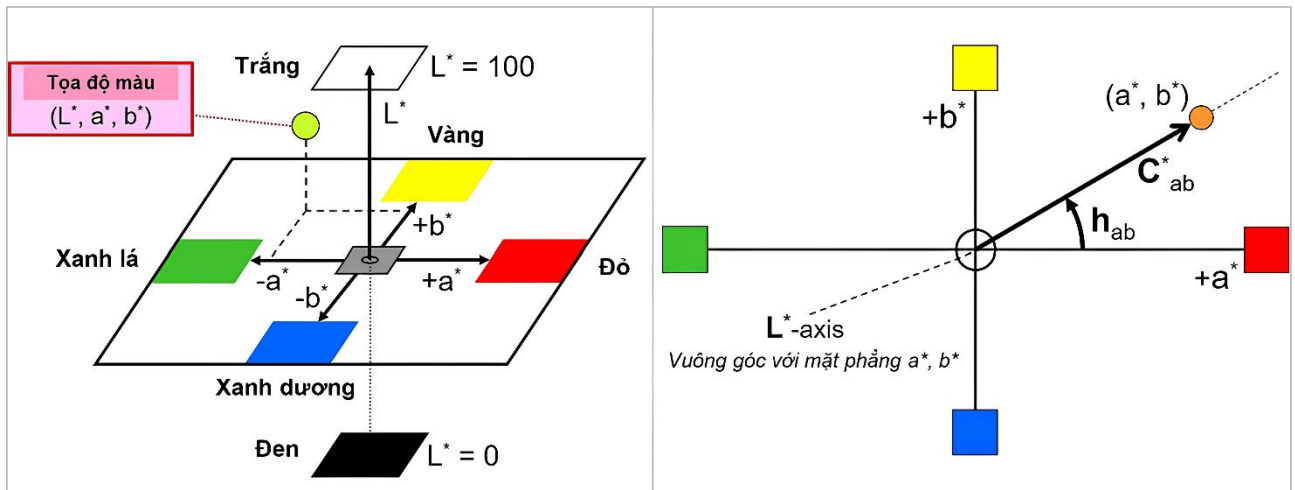
### 2.5.2.1. Màu sắc da cá

Màu sắc da được xác định thông qua đo màu trực tiếp trên da cá bằng máy đo màu kỹ thuật số CR-400 Chroma Meter (KONICA Minolta Sensing, Inc., Osaka, JAPAN). Tất cả các mẫu cá tại thời điểm kết thúc thí nghiệm (ngay sau khi đo chiều dài, khối lượng) được đo màu. Cá được đo màu ở cả hai bên thân, tại vị trí được giới hạn bởi bốn mốc giải phẫu: vây lưng mềm (phía trên), vây hậu môn (phía dưới), sọc trắng thứ hai và sọc trắng thứ ba tính từ đầu cá (lần lượt là mốc giới hạn phía trước và phía sau) (Hình 2.12). Tại mỗi bên thân cá, vị trí đo màu được lặp lại ba lần để tính giá trị trung bình. Máy đo CR-400 Chroma Meter được thiết lập để thực hiện các phép đo màu tuyệt đối ở chế độ đo  $L^*$ ,  $a^*$ , và  $b^*$  (Hệ màu CIE 1976, Hình 2.12) bằng cách sử dụng đèn chiếu sáng D65 gắn với một ống chiếu sáng bằng thủy tinh (CR-A33F) kết nối với máy tính. Phương pháp đo, chế độ cài đặt và điều kiện đo được thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Hệ thống đo màu CR-400 được thiết kế theo tiêu chuẩn của CIE (International Committee on Illumination) sử dụng:

$L^*$  để đo độ sáng - tối, với phạm vi từ tối (0) tới sáng (100),

$a^*$  để đo sắc tố màu xanh lá tới đỏ, với màu xanh lá ( $a^-$ ) tới màu đỏ ( $a^+$ ),

$b^*$  để đo sắc tố màu xanh dương tới vàng, với xanh dương ( $b^-$ ) tới màu vàng ( $b^+$ ).



**Hình 2.12: Biểu diễn hệ tọa độ màu CIE Lab ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) và LCh ( $L^*$ ,  $C^*_{ab}$ ,  $h^*_{ab}$ )**

Nguồn: <https://www.ulprospector.com/knowledge/16423/>

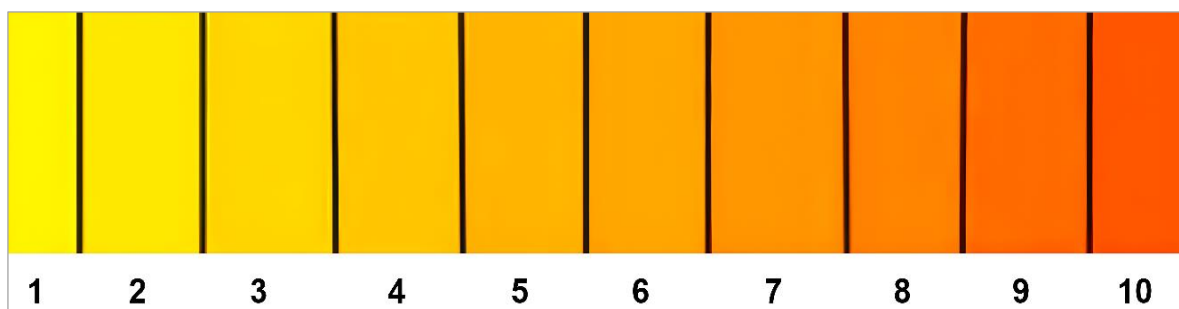
Ngoài ra, các thông số đo lường màu sắc khác, gồm độ bão hòa màu ( $C^*_{ab}$ , độ rực rỡ hay độ tinh khiết của màu sắc), tông màu ( $h^*_{ab}$ , góc màu hay góc sắc độ) cũng như sự khác biệt về màu sắc tổng thể giữa các nhóm xử lý so với đối chứng ( $\Delta E^*_{ab}$ ) cũng được

sử dụng để đánh giá màu sắc da cá giữa các nghiệm thức thí nghiệm (Hình 2.12).

$C^*_{ab}$  là chỉ số đo lường độ bão hòa của một màu sắc, không kể đến độ sáng, với phạm vi từ trung tính/xám (0) tới độ bão hòa tối đa (100). Độ bão hòa cao có nghĩa là màu sắc rực rỡ và sắc nét hơn, trong khi độ bão hòa thấp có nghĩa là màu sắc nhạt và gần với màu xám. Giá trị của  $C^*_{ab}$  được xác định dựa trên giá trị của  $a^*$  và  $b^*$ , theo công thức  $C^*_{ab} = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$  [192].

$h^*_{ab}$  là tham số biểu diễn màu sắc cụ thể của đối tượng dựa trên vị trí trên vòng tròn màu, với phạm vi độ (0/360°), vàng (90°), xanh lá cây (180°), và xanh dương (270°). Góc màu giúp xác định màu sắc cơ bản mà con người cảm nhận được từ đối tượng, ví dụ như màu đỏ, xanh lá cây, xanh dương hay vàng. Giá trị  $h^*_{ab}$  được xác định theo công thức  $h^*_{ab} = \arctan(b^*/a^*)$  [192].

Để đánh giá tác động của yếu tố nghiên cứu (môi trường hay dinh dưỡng) lên màu da của cá khoang cổ nemo, giá trị màu sắc trung bình ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) của cá ở các nhóm xử lý được so sánh với giá trị trung bình của nhóm đối chứng ( $\Delta E^*_{ab}$ ). Sự khác biệt màu sắc tổng thể được xác định bởi Ủy ban Chiếu sáng Quốc tế (CIE 1976) và được áp dụng rộng rãi trong các nghiên cứu liên quan đến đo lường và so sánh màu sắc thực phẩm [192]. Theo đó, giá trị trung bình về sự khác biệt màu sắc ( $\Delta E^*_{ab}$ ) giữa nhóm cá khoang cổ nemo đối chứng ( $L^*_1$ ,  $a^*_1$ ,  $b^*_1$ ) và nhóm cá xử lý ( $L^*_2$ ,  $a^*_2$ ,  $b^*_2$ ) được tính theo công thức  $\Delta E^*_{ab} = [(L^*_1 - L^*_2)^2 + (a^*_1 - a^*_2)^2 + (b^*_1 - b^*_2)^2]^{1/2}$ . Giá trị  $\Delta E^*_{ab}$  càng cao cho thấy sự khác biệt càng rõ rệt giữa nhóm nghiệm thức xử lý và nhóm đối chứng.



**Hình 2.13: Thang đo màu Clownfish Exercise [175]**

Đối với nội dung ứng dụng (TN 8), chất lượng màu sắc của cá cung cấp cho thị trường được đánh giá cảm quan kết hợp với chấm điểm theo thang đo Clownfish Exercise (Hình 2.13). Do đó, nghiên cứu đã huấn luyện 05 học viên để thực hiện việc đánh giá và cho điểm một cách nhất quán. Việc đánh giá được áp dụng với toàn bộ số

mẫu cá (30 con) ngay sau khi đo chiều dài và khối lượng. Thang đo, phương pháp đánh giá theo mô tả trong các công bố trước đây [137, 175]. Điểm số trung bình ở mỗi nghiệm thức hoặc lần lặp (ứng dụng, đối chứng và tự nhiên) được sử dụng để đánh giá kết quả.

#### 2.5.2.2. Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá

Hàm lượng carotenoids tổng số trên da, cơ, toàn thân, và thức ăn (nguyên liệu, trước và sau khi trộn) được xác định bằng máy đo quang phổ UV-Vis (UV-visible spectrophotometer) theo phương pháp mô tả bởi Ramamoorthy và García-Romero cùng một số điều chỉnh nhỏ [73, 162]. Các mẫu thu thập phục vụ phân tích gồm: da (0,25 g/mẫu, được thu thập từ cả hai bên thân cá), cơ (0,25 g/mẫu, phần thịt cá sau khi đã tách da), toàn thân (1 – 2 g/mẫu, nguyên con), và thức ăn (1 g/mẫu). Các mẫu được nghiền trong axeton (20 mL) có chứa 1,5 g natri sunphat khan ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) bằng thiết bị đồng hóa mẫu (Model T10, Ultra-turrax<sup>®</sup>, IKA, Đức). Sau đó, mẫu được lọc bằng giấy lọc, và quá trình này được lặp lại 3 lần cho đến khi dịch lọc trở nên không màu. Các dịch lọc sau đó được ly tâm ở tốc độ 10.000 vòng/phút ở nhiệt độ 4°C trong 15 phút. Độ hấp thụ quang phổ của dịch chiết sau ly tâm được đo bằng máy quang phổ kế (Biochrom Ltd, Cambridge, Anh) ở bước sóng 450 nm và 480 nm, tương ứng với carotenoids tổng số và astaxanthin. Kết quả được biểu thị bằng microgam trên gam ( $\mu\text{g/g}$ ) và được tính bằng công thức sau.

$$\text{Hàm lượng carotenoids tổng số } (\mu\text{g/g}) = A \times V \times D \times 10^4 / (W \times E_{1\text{cm}}^{1\%})$$

Trong đó: A là độ hấp thụ; V là tổng thể tích của dịch chiết (mL); D là tỷ lệ pha loãng; W là khối lượng của mẫu (g); và  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  là hệ số quy đổi, với giá trị 2.100 (dung môi dầu ăn = 2.100, bước sóng hấp thụ 450 nm hoặc 480 nm, tương ứng với carotenoids tổng số hoặc astaxanthin).

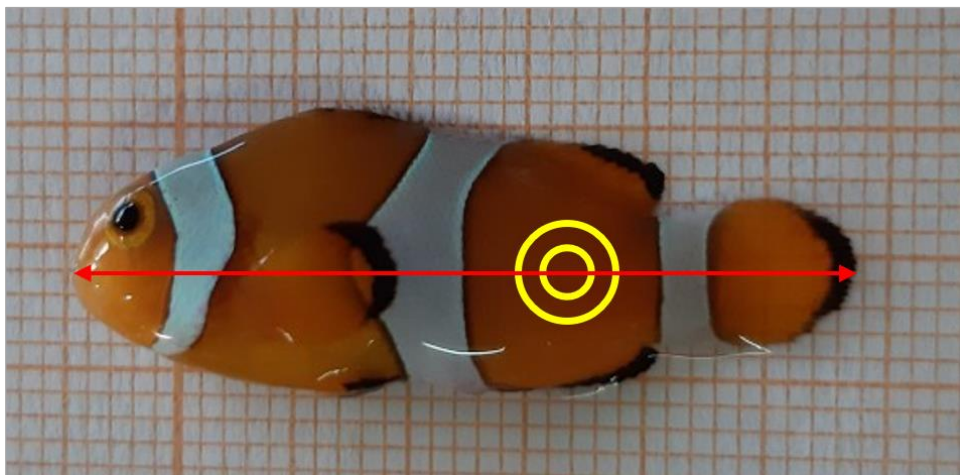
#### 2.5.2.3. Các chỉ tiêu đánh giá tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn

*Các chỉ tiêu đánh giá tốc độ tăng trưởng:*

Chiều dài toàn thân (TL) của cá, khoảng cách từ mút mõm khi cá đóng miệng đến cuối vây đuôi, được đo bằng giấy đo kỹ thuật (200 mm, độ chính xác 1,0 mm) (Hình 2.14). Khối lượng toàn thân (BW) cá được xác định bằng cân điện tử VNS LED-A (Việt Nhật, khả năng cân tối đa 600 g, độ chính xác 0,01 g). Chi tiết thông số và công thức tính toán như sau:

- + Tốc độ tăng trưởng CD đặc trưng:  $SGR_L (\%/ngày) = [(LnL_2 - LnL_1) / t] \times 100$
- + Tốc độ tăng trưởng KL đặc trưng:  $SGR_w (\%/ngày) = [(LnW_2 - LnW_1)/t] \times 100$
- + Hệ số phân đàn chiều dài:  $CV_L (\%) = SD_L / Mean_L \times 100$
- + Hệ số phân đàn khối lượng:  $CV_w (\%) = SD_w / Mean_w \times 100$
- + Hệ số điều kiện:  $CF (g/cm^3) = 100 \times W/L^3$

Trong đó:  $L_1, L_2$  là chiều dài cá tại thời điểm bắt đầu và kết thúc (cm);  $W_1, W_2$  là khối lượng cá tại thời điểm bắt đầu và kết thúc (g);  $t$  là thời gian thí nghiệm (ngày), dao động từ 45 - 75 ngày tùy theo thiết kế của từng thí nghiệm cụ thể;  $SD$  là độ lệch chuẩn.



**Hình 2.14: Phương pháp đo chiều dài (mũi tên) và màu sắc da cá (vòng tròn)**

*Tỷ lệ sống:*

Tỷ lệ sống của cá (SR) được xác định vào thời điểm kết thúc thí nghiệm căn cứ vào số cá thả ban đầu và số cá còn lại vào cuối thí nghiệm, và được tính toán theo công thức:  $SR (\%) = [N_2 / N_1] \times 100$ .

*Hiệu quả sử dụng thức ăn:*

Các chỉ tiêu đánh giá hiệu quả sử dụng thức ăn được xác định căn cứ vào lượng thức ăn cho cá ăn (FF), lượng thức ăn còn lại (FL, đã bao gồm thức ăn dư sấy khô) và khối lượng cá tăng lên, phương pháp tính cụ thể như sau:

- + Lượng thức ăn tiêu thụ:  $FI (g/con) = [FF - FL] / N$
- + Hệ số chuyển hóa thức ăn:  $FCR = FI / [(W_2 + D) - W_1]$
- + Hiệu quả sử dụng protein thức ăn:  $PER = [W_2 - W_1] / (FI \times P)$

Trong đó: FF, FL là lượng thức ăn cho cá ăn, còn lại (g) (đã bao gồm thức ăn dư sấy khô); N<sub>1</sub>, N<sub>2</sub> là số lượng cá ban đầu và kết thúc thí nghiệm, N là tổng số cá thí nghiệm (con); D là khối lượng cá chết (g); P là hàm lượng protein (%) trong thức ăn.

#### 2.5.2.4. Thành phần sinh hóa và hoạt tính enzyme tiêu hóa

##### *Thành phần sinh hóa cơ thể cá:*

Sau khi gây mê, đo chiều dài và khối lượng, nghiên cứu đã thu ngẫu nhiên 4 – 5 con cá từ mỗi bể (hay lần lặp, tương đương 12 – 15 con/nghiệm thức). Mẫu cá được bảo quản trong ngăn đông tủ lạnh trước khi chuyển đến lưu trữ trong tủ đông sâu -80°C cho đến khi phân tích. Để chuẩn bị mẫu phân tích, cá đông lạnh được nghiền thành bột mịn sử dụng máy nghiền mẫu (Model T10, Ultra-turrax®, IKA, Đức). Mẫu bột đồng nhất được chia thành các phần nhỏ để phân tích các chỉ tiêu sinh hóa.

Các chỉ tiêu sinh hóa (protein thô, lipid thô, tro và độ ẩm) của thức ăn và mẫu cá được phân tích theo quy trình của Hiệp hội các nhà hóa phân tích chính thức (AOAC) [20]. Cụ thể:

Hàm lượng protein thô được xác định bằng phương pháp Kjeldahl. Mẫu được phân hủy với axit sunfuric đậm đặc ở nhiệt độ cao, sau đó hàm lượng nitơ được xác định bằng cách chưng cất với NaOH 40% và chuẩn độ với dung dịch H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1N. Hàm lượng protein thô được tính toán bằng cách nhân hàm lượng nitơ với hệ số chuyển đổi 6,25.

Hàm lượng lipid thô được xác định bằng phương pháp chiết Soxhlet. Mẫu được chiết với petroleum ether trong thiết bị chiết Soxhlet trong 6 giờ. Dung môi được thu hồi bằng cách chưng cất và lượng lipid thu được sau khi sấy khô đến khối lượng không đổi.

Hàm lượng tro được xác định bằng phương pháp nung mẫu ở 550°C trong 12 giờ. Sau khi nung, chén nung được làm nguội trong bình hút ẩm và cân để xác định khối lượng tro.

Độ ẩm được xác định bằng cách sấy mẫu ở 105°C đến khối lượng không đổi. Mẫu được cân trước và sau khi sấy để tính toán phần trăm độ ẩm.

Mỗi mẫu được phân tích với ba lần lặp kỹ thuật. Tất cả các kết quả được biểu thị dưới dạng phần trăm khối lượng ướt (% ww). *Chi tiết phương pháp phân tích được trình bày trong Phụ lục 3.5.*

### *Hoạt tính của các enzyme tiêu hóa của cá:*

Sau khi gây mê, đo chiều dài và khối lượng, nghiên cứu đã thu ngẫu nhiên 4 – 6 con cá từ mỗi bể (hay lần lặp, tương đương 12 – 18 con/nghiệm thức) được thu ngẫu nhiên. Tiếp theo, các dụng cụ thu mẫu chuyên dụng được sử dụng để tách, thu toàn bộ cơ quan tiêu hóa của cá, bao gồm dạ dày, ruột, gan và tụy. Do kích thước nhỏ của cá khoang cổ nemo trong giai đoạn thí nghiệm, việc tách riêng từng cơ quan gặp nhiều khó khăn. Vì vậy, toàn bộ các cơ quan tiêu hóa được thu chung và phân tích như một mẫu duy nhất, thay vì phân tích riêng rẽ từng bộ phận. Mẫu sau khi thu được rửa sạch với đệm phosphate lạnh 50 mM (pH 7,4, chứa 0,1% Triton X-100) để loại bỏ chất cặn bã, sau đó ngay lập tức được đông lạnh trong nitơ lỏng và bảo quản ở  $-80^{\circ}\text{C}$  cho đến khi phân tích. Trước khi phân tích, mô đông lạnh được nghiền thành bột mịn bằng cối và chày được làm lạnh trước bằng nitơ lỏng. Mẫu bột được đồng nhất hóa trong đệm phosphate lạnh 50 mM (pH 7,4, chứa 0,1% Triton X-100) với tỷ lệ 1 : 10 (w : v) và ly tâm ở  $15.000 \times g$  trong 30 phút ở  $4^{\circ}\text{C}$ . Dịch nổi chứa protein hòa tan được thu nhận và sử dụng để phân tích hoạt độ enzyme của toàn bộ hệ tiêu hóa.

Hoạt độ enzyme protease được xác định theo phương pháp Anson cải tiến [108, 127], với một số điều chỉnh nhỏ. Nguyên tắc của phương pháp này là cho protease tác dụng với cơ chất casein và xác định hàm lượng tyrosine sinh ra bằng phản ứng màu với thuốc thử Folin-Ciocalteu. Một đơn vị hoạt độ protease được định nghĩa là lượng enzyme cần thiết để giải phóng 1  $\mu\text{g}$  tyrosine từ casein trong 1 phút ở pH 7,5 và nhiệt độ  $37^{\circ}\text{C}$ . Hoạt độ riêng được biểu thị dưới dạng U/mg protein.

Hoạt độ enzyme lipase được xác định bằng phương pháp chuẩn độ liên tục pH-stat, sử dụng nhũ tương dầu olive làm cơ chất [189]. Nguyên tắc của phương pháp này là cho lipase tác dụng với cơ chất dầu olive, giải phóng axit béo tự do, và xác định lượng axit này bằng chuẩn độ với dung dịch NaOH (0,05N). Một đơn vị hoạt độ lipase được định nghĩa là lượng enzyme cần thiết để giải phóng 1  $\mu\text{mol}$  axit béo tự do từ dầu olive trong 1 phút ở pH 8,0 và nhiệt độ  $37^{\circ}\text{C}$ . Hoạt độ riêng được biểu thị dưới dạng U/mg protein.

Hoạt độ enzyme amylase được xác định bằng phương pháp sử dụng thuốc thử DNS (3,5 – dinitrosalicylic acid) [27]. Nguyên tắc của phương pháp này là cho amylase tác dụng với cơ chất tinh bột, giải phóng maltose, và xác định lượng maltose sinh ra bằng phản ứng màu với thuốc thử DNS. Một đơn vị enzyme được định nghĩa là lượng

enzyme cần thiết để giải phóng 1,0 mg maltose từ tinh bột trong 3 phút ở pH 6,9 và nhiệt độ 20°C. Hoạt độ riêng được biểu thị dưới dạng U/mg protein. *Chi tiết phương pháp phân tích được trình bày trong Phụ lục 3.6.*

## **2.6. Phương pháp xử lý số liệu**

Tính chuẩn (normality) và tính đồng nhất phương sai (homogeneity of variances) của dữ liệu được kiểm tra bằng phép kiểm định Shapiro-Wilk và Levene's test [227]. Đối với dữ liệu tỷ lệ sống của cá giống, phép biến đổi arcsin (arcsine transformation) được áp dụng để chuẩn hóa phân phối dữ liệu và ổn định phương sai [210]. Toàn bộ số liệu được phân tích thống kê bằng phần mềm SPSS phiên bản 26.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA). Phân tích phương sai một yếu tố (one-way ANOVA) được sử dụng để so sánh sự khác biệt giữa các nghiệm thức trong thí nghiệm 1 - 7, kết hợp với phép kiểm định phân hạng Duncan để xác định sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các cặp nghiệm thức ( $p < 0,05$ ). Đối với thí nghiệm 8, kiểm định Independent-Samples T-Test được sử dụng để đánh giá sự sai khác của các nghiệm thức so với giá trị trung bình tham chiếu [210].

Tất cả kết quả được trình bày dưới dạng giá trị trung bình  $\pm$  sai số chuẩn. Các giá trị tỷ lệ sống của cá sau khi phân tích thống kê được trình bày ở dạng gốc (%) để thuận tiện cho việc hiểu và diễn giải kết quả [210].

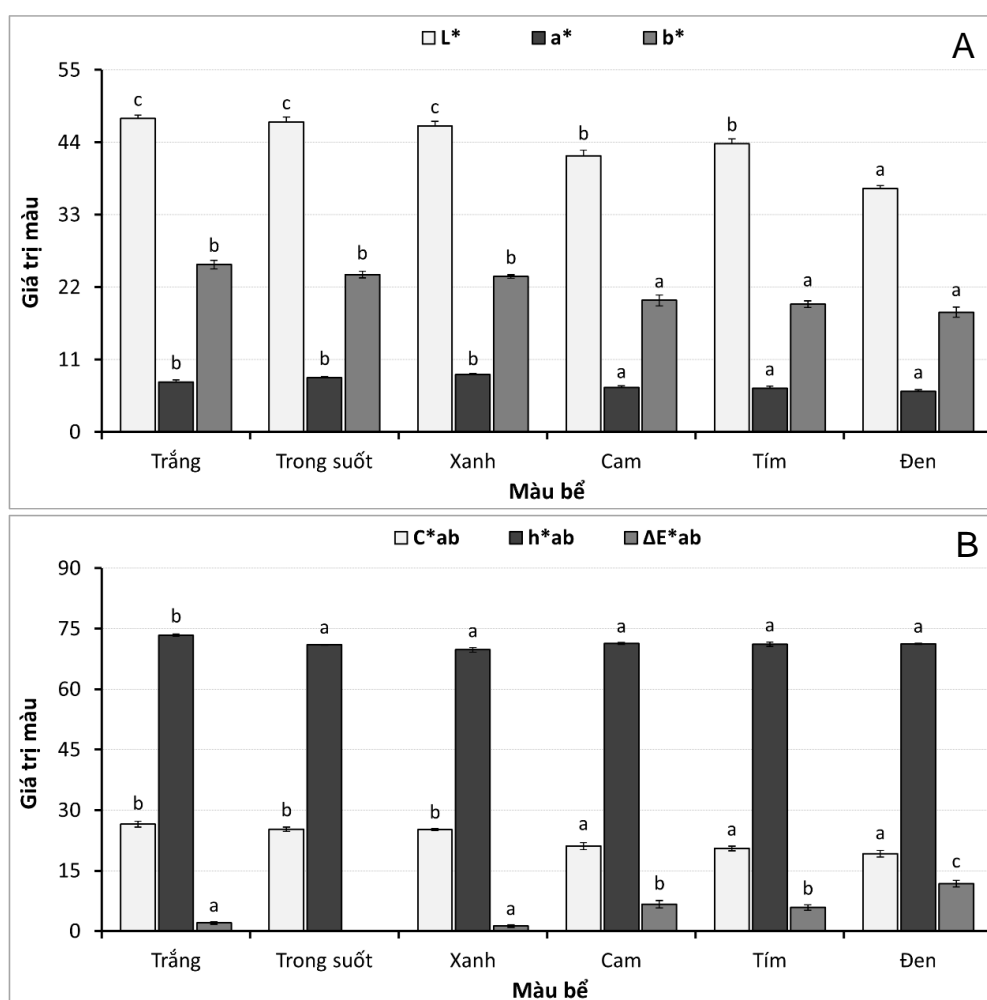
## CHƯƠNG 3 – KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Ảnh hưởng của môi trường nuôi lên cá khoang cổ nemo

#### 3.1.1. Ảnh hưởng của màu sắc bể nuôi

##### 3.1.1.1. Màu sắc da cá

Nghiên cứu đã đánh giá ảnh hưởng của màu sắc bể nuôi lên các chỉ tiêu màu sắc da cá ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*_{ab}$ ,  $h^*_{ab}$  và  $\Delta E^*_{ab}$ ). Kết quả chỉ ra rằng cá được nuôi trong các bể màu trắng, trong suốt và xanh có độ đỏ ( $a^*$ ) và vàng ( $b^*$ ) cao hơn đáng kể so với cá nuôi trong các bể màu cam, tím và đen ( $p < 0,05$ ). Độ sáng màu da ( $L^*$ ) cũng đạt giá trị cao nhất ở cá nuôi trong các bể trắng, trong suốt và xanh, vượt trội hơn 25,6 – 28,7% so với bể màu đen ( $p < 0,05$ ) (Hình 3.1A).

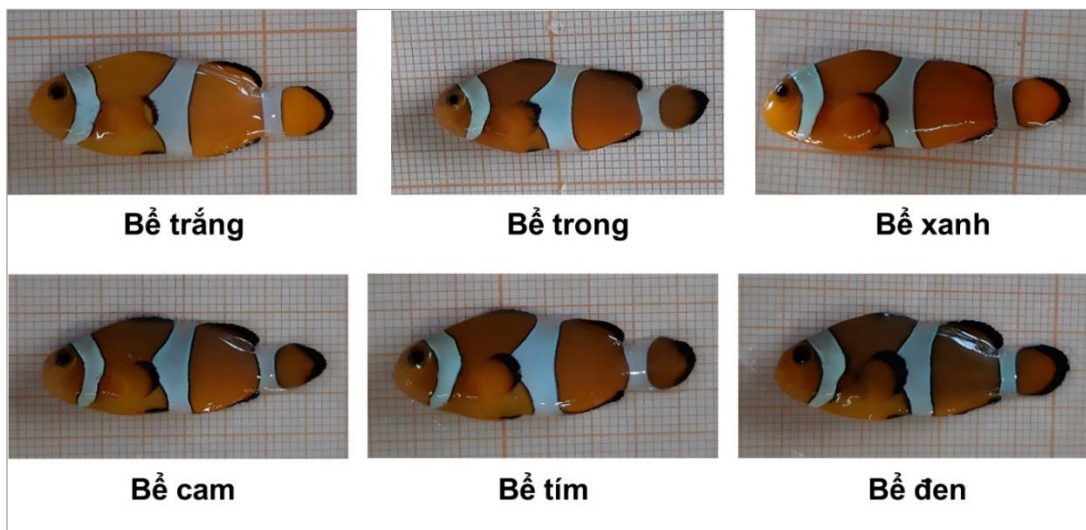


**Hình 3.1: Các chỉ số màu sắc da của cá khoang cổ nemo được nuôi trong các bể có màu sắc khác nhau: (A)  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  và (B)  $C^*_{ab}$ ,  $h^*_{ab}$ ,  $\Delta E^*_{ab}$**

Các giá trị được trình bày dưới dạng Mean  $\pm$  SE ( $n = 3$ ). Các cột với các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).



Màu sắc bể nuôi cũng ảnh hưởng đến độ bão hòa màu sắc ( $C^*_{ab}$ ), tông màu ( $h^*_{ab}$ ) và sự khác biệt màu sắc so với đối chứng ( $\Delta E^*_{ab}$ ) (Hình 3.1B). Cá nuôi trong các bể màu trắng, trong suốt và xanh có độ bão hòa cao hơn, cho thấy màu sắc cam – đỏ sẫm và sặc sỡ hơn so với các bể còn lại ( $p < 0,05$ ). Ngoài ra, cá nuôi trong bể trắng có tông màu thiên về vàng/hồ phách, trong khi các bể khác, đặc biệt là bể xanh và trong suốt, thiên về tông màu đỏ và cam nhiều hơn ( $p < 0,05$ ) (Hình 3.2). Chỉ số  $\Delta E^*_{ab}$  cho thấy nuôi cá trong các bể màu đen, cam và tím dẫn đến sự suy giảm đáng kể về màu sắc so với bể trong suốt ( $p < 0,05$ ).

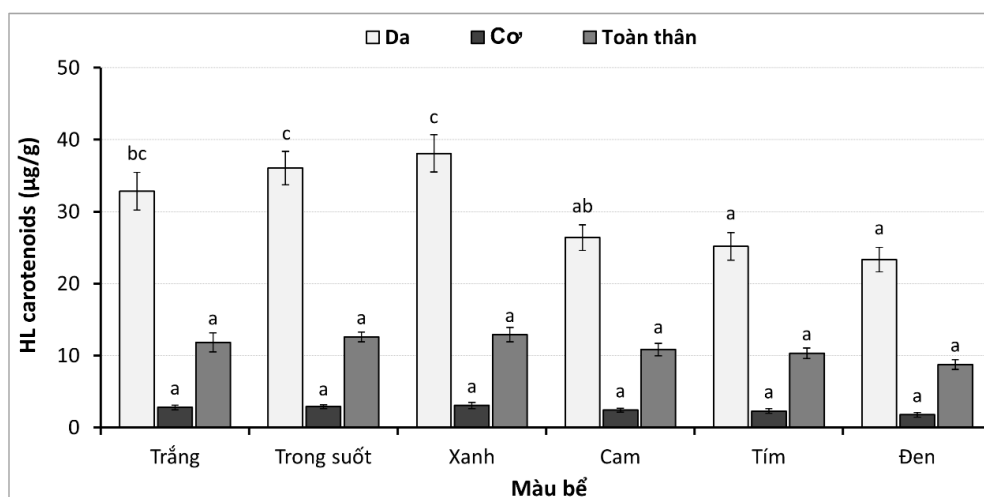


**Hình 3.2: Màu sắc của cá khoang cổ nemo được nuôi trong các bể màu khác nhau**

Tổng hợp các kết quả trên, cá nuôi trong các bể màu xanh, trong suốt và trắng sỡ hữu màu sắc tổng thể đẹp và rực rỡ hơn so với cá nuôi trong bể cam, tím và đen (Hình 3.2). Tuy nhiên, xét tầm quan trọng của màu đỏ - cam trong đánh giá màu sắc cá khoang cổ nemo, các bể màu xanh và trong suốt được đánh giá là phù hợp nhất cho mục tiêu cải thiện và nâng cao màu sắc của loài cá này trong thực tiễn sản xuất.

### 3.1.1.2. Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá

Nghiên cứu cho thấy màu sắc bể nuôi có ảnh hưởng đáng kể đến sự tích lũy carotenoids trên da cá khoang cổ nemo (Hình 3.3). Cá nuôi trong bể màu xanh và trong suốt có hàm lượng carotenoids trên da cao nhất, lần lượt là 38,1 và 36,1  $\mu\text{g/g}$ , vượt trội hơn so với bể màu đen (23,3  $\mu\text{g/g}$ ) ( $p < 0,05$ ). Mức tăng tương ứng lần lượt là 63,4% và 54,6%. Tuy nhiên, sự tích lũy carotenoids trong cơ và toàn thân cá không khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức, dao động lần lượt từ 1,77 – 3,07  $\mu\text{g/g}$  và từ 8,76 – 12,9  $\mu\text{g/g}$  ( $p > 0,05$ ).



**Hình 3.3: Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá khoang cổ nemo (µg/g) được nuôi trong các bể có màu sắc khác nhau**

Các giá trị được trình bày dưới dạng Mean ± SE (n = 3). Các cột với các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,05).

Kết quả trên cho thấy màu sắc bể nuôi là yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến sự tích lũy carotenoids trên da cá khoang cổ nemo. Trong đó, bể màu xanh, trong suốt và trắng đã thể hiện tác động tích cực, mở ra tiềm năng ứng dụng trong sản xuất nhằm cải thiện chất lượng và giá trị thương phẩm của loài cá cảnh này.

### 3.1.1.3. Các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn

Các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống:

Kết quả cho thấy màu sắc bể nuôi ảnh hưởng đáng kể đến tăng trưởng chiều dài của cá khoang cổ nemo (Bảng 3.1).

**Bảng 3.1: Tăng trưởng và tỷ lệ sống của cá khoang cổ nemo được nuôi trong các bể có màu sắc khác nhau**

Chỉ tiêu	Màu bể					
	Trắng	Trong suốt	Xanh	Cam	Tím	Đen
L <sub>1</sub> (cm)	3,30 ± 0,02	3,30 ± 0,02	3,30 ± 0,02	3,30 ± 0,02	3,30 ± 0,02	3,30 ± 0,02
W <sub>1</sub> (g)	0,65 ± 0,02	0,65 ± 0,02	0,65 ± 0,02	0,65 ± 0,02	0,65 ± 0,02	0,65 ± 0,02
L <sub>2</sub> (cm)	3,94 ± 0,02 <sup>b</sup>	3,77 ± 0,02 <sup>a</sup>	3,93 ± 0,02 <sup>b</sup>	3,84 ± 0,04 <sup>a</sup>	3,85 ± 0,03 <sup>a</sup>	3,81 ± 0,03 <sup>a</sup>
W <sub>2</sub> (g)	1,25 ± 0,01 <sup>c</sup>	1,04 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,23 ± 0,02 <sup>c</sup>	1,13 ± 0,04 <sup>b</sup>	1,16 ± 0,01 <sup>b</sup>	1,10 ± 0,03 <sup>ab</sup>
SGR <sub>L</sub> (%/ngày)	0,29 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,22 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,29 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,25 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,25 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,24 ± 0,01 <sup>a</sup>
SGR <sub>w</sub> (%/ngày)	1,09 ± 0,02 <sup>c</sup>	0,79 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,07 ± 0,03 <sup>c</sup>	0,92 ± 0,05 <sup>b</sup>	0,96 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,87 ± 0,04 <sup>ab</sup>
CV <sub>L</sub> (%)	8,11 ± 0,43	7,02 ± 0,19	7,12 ± 0,37	8,67 ± 0,47	8,60 ± 0,51	6,78 ± 0,89
CV <sub>w</sub> (%)	23,3 ± 0,99 <sup>bc</sup>	21,2 ± 0,83 <sup>ab</sup>	19,0 ± 0,79 <sup>a</sup>	25,8 ± 1,94 <sup>c</sup>	25,6 ± 1,64 <sup>c</sup>	20,9 ± 1,12 <sup>ab</sup>
CF (g/cm <sup>3</sup> )	2,05 ± 0,02 <sup>c</sup>	1,96 ± 0,01 <sup>a</sup>	2,03 ± 0,01 <sup>bc</sup>	1,99 ± 0,02 <sup>ab</sup>	2,03 ± 0,03 <sup>bc</sup>	1,99 ± 0,01 <sup>ab</sup>
SR (%)	95,5 ± 2,23	97,8 ± 2,23	95,5 ± 2,23	91,1 ± 2,20	95,5 ± 2,23	95,5 ± 2,23

Số liệu được trình bày dưới dạng Mean ± SE (n = 3). Các giá trị trung bình mang ký tự chữ cái khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,05).

Sau 60 ngày nuôi, cá trong bể trắng và xanh đạt chiều dài ( $L_2$ ) và tốc độ tăng trưởng chiều dài đặc trưng ( $SGR_L$ ) cao hơn so với các màu bể còn lại ( $p < 0,05$ ). Xu hướng tương tự cũng được ghi nhận đối với khối lượng trung bình ( $W_2$ ) và tốc độ tăng trưởng khối lượng đặc trưng ( $SGR_w$ ), với kết quả tốt nhất ở bể trắng và xanh, thấp nhất ở bể trong suốt và đen ( $p < 0,05$ ). Kết quả này cho thấy màu sắc bể nuôi là yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến tăng trưởng của cá khoang cổ nemo, trong đó bể màu trắng và xanh là thích hợp nhất. Mặc dù vậy, màu sắc không ảnh hưởng đáng kể đến tỷ lệ sống của cá, dao động từ 91,1 – 97,8% ( $p > 0,05$ ).

Cá được nuôi trong bể xanh có hệ số phân đàn khối lượng thấp nhất (19,0%), khác biệt đáng kể với bể trắng, cam và tím ( $p < 0,05$ ; Bảng 3.1). Tuy nhiên, hệ số phân đàn chiều dài không bị ảnh hưởng bởi màu sắc bể nuôi ( $p > 0,05$ ). Cá nuôi trong bể trắng đạt hệ số điều kiện cao nhất, khác biệt so với bể trong suốt, cam và đen ( $p < 0,05$ ), nhưng tương đương bể tím và xanh ( $p > 0,05$ ).

#### *Hiệu quả sử dụng thức ăn:*

Kết quả cho thấy sự khác biệt đáng kể về lượng thức ăn tiêu thụ (FI), hệ số chuyển hóa thức ăn (FCR) và hiệu quả sử dụng protein (PER) giữa các nghiệm thức (Bảng 3.2).

**Bảng 3.2: Hiệu quả sử dụng thức ăn của cá khoang cổ nemo được nuôi trong các bể có màu sắc khác nhau**

Chỉ tiêu	Màu bể					
	Trắng	Trong suốt	Xanh	Cam	Tím	Đen
<b>FI</b> (g/con)	0,98 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,79 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,97 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,90 ± 0,05 <sup>ab</sup>	0,95 ± 0,04 <sup>b</sup>	0,89 ± 0,04 <sup>ab</sup>
<b>FCR</b>	1,62 ± 0,02 <sup>a</sup>	2,01 ± 0,02 <sup>c</sup>	1,66 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,89 ± 0,04 <sup>b</sup>	1,88 ± 0,02 <sup>b</sup>	1,99 ± 0,04 <sup>c</sup>
<b>PER</b>	1,12 ± 0,02 <sup>c</sup>	0,91 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,09 ± 0,03 <sup>c</sup>	0,96 ± 0,01 <sup>ab</sup>	0,97 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,92 ± 0,02 <sup>ab</sup>

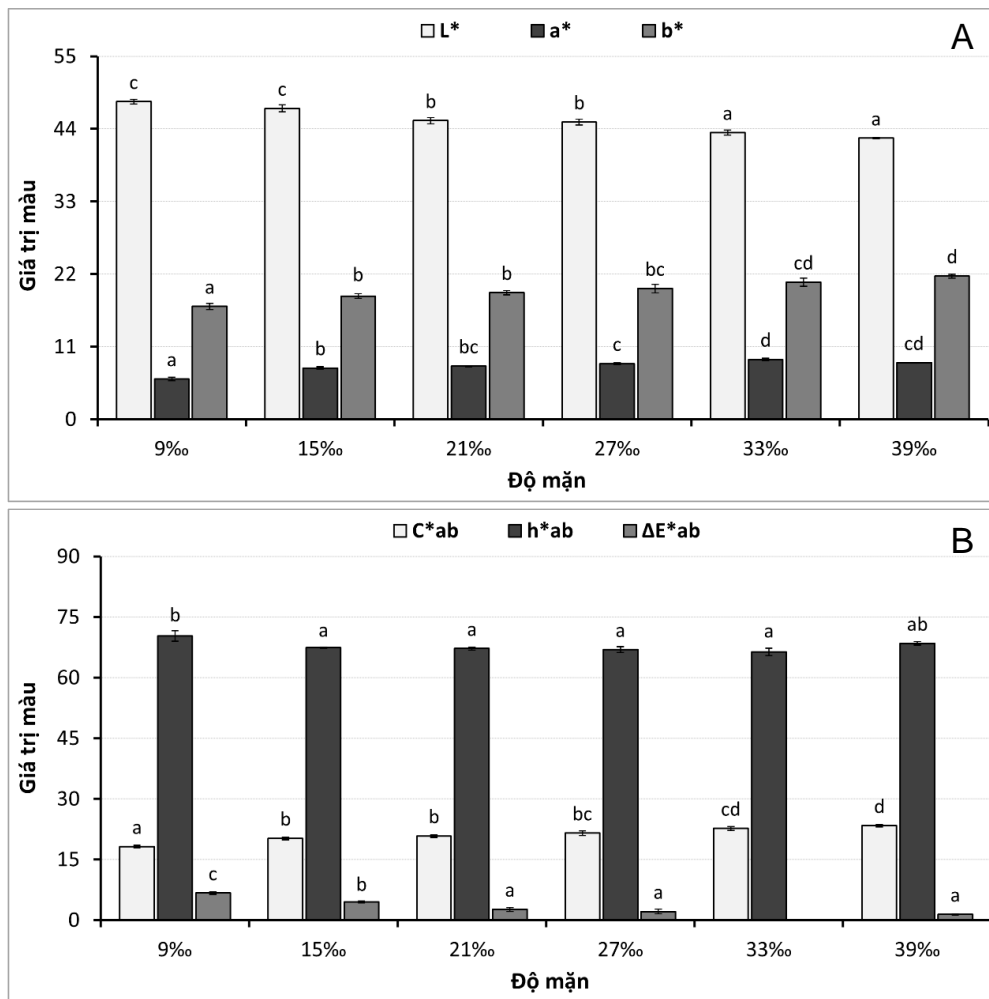
*Số liệu được trình bày dưới dạng Mean ± SE (n = 3). Các giá trị trung bình mang ký tự chữ cái khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,05).*

Cá nuôi trong bể trắng và xanh đạt kết quả tốt nhất, trong khi bể trong suốt cho kết quả kém nhất ( $p < 0,05$ ). So với bể trong suốt, bể trắng và xanh giảm 17,4 – 19,4% hệ số FCR và tăng 19,8 – 23,1% hệ số PER. Kết quả cho thấy màu sắc bể nuôi ảnh hưởng đáng kể đến hiệu quả sử dụng thức ăn của cá khoang cổ nemo, trong đó màu trắng và xanh là màu sắc phù hợp nhất.

### 3.1.2. Ảnh hưởng của độ mặn

#### 3.1.2.1. Màu sắc da cá

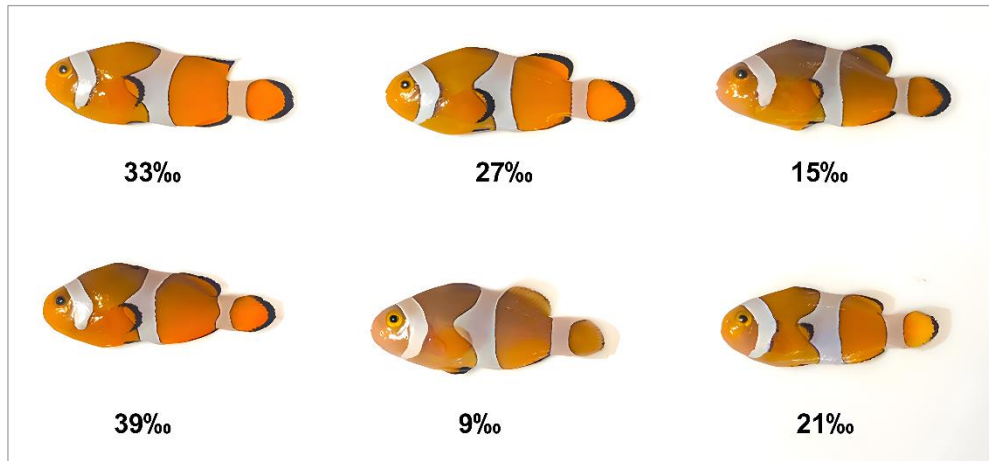
Kết quả cho thấy độ mặn ảnh hưởng đáng kể đến màu sắc da cá khoang cổ nemo (Hình 3.4). Cá nuôi ở độ mặn 33‰ đạt độ đỏ màu da ( $a^*$ ) cao nhất, vượt trội hơn 48,6% so với giá trị thấp nhất ở độ mặn 9‰ ( $p < 0,05$ ). Độ vàng ( $b^*$ ) và độ bão hòa màu sắc da ( $C^*_{ab}$ ) đạt cao nhất ở 39‰, thấp nhất ở 9‰ ( $p < 0,05$ ; Hình 3.4A, 3.4B). Ngược lại, độ sáng ( $L^*$ ) và tông màu da ( $h^*_{ab}$ ) cao nhất ở 9‰, thấp nhất ở 33‰ ( $p < 0,05$ ).



**Hình 3.4: Các chỉ số màu sắc da của cá khoang cổ nemo được nuôi ở các mức độ mặn khác nhau: (A)  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  và (B)  $C^*_{ab}$ ,  $h^*_{ab}$ ,  $\Delta E^*_{ab}$**

Các giá trị được trình bày dưới dạng Mean  $\pm$  SE ( $n = 3$ ). Các cột với các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Sự khác biệt màu sắc tổng thể ( $\Delta E^*_{ab}$ ) so với nhóm đối chứng 33‰ tăng khi độ mặn giảm, với mức cao nhất ở 9‰ và thấp nhất ở 21, 27 và 39‰ ( $p < 0,05$ ) (Hình 3.4B). Tuy nhiên, không có sự khác biệt đáng kể về màu sắc da cá giữa hai nhóm 33‰ và 39‰ ở tất cả các chỉ tiêu ( $p > 0,05$ ).

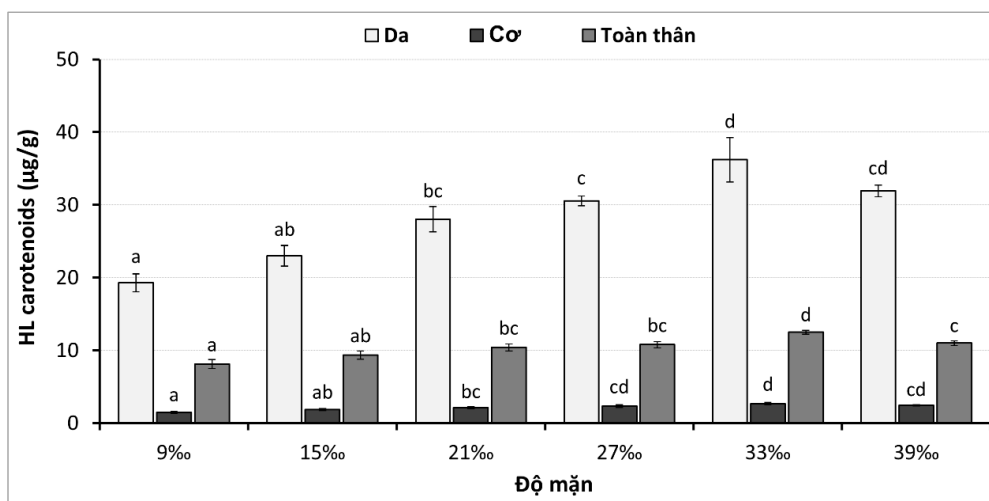


**Hình 3.5: Màu sắc cá khoang cổ nemo được nuôi trong các bể có độ mặn khác nhau**

Tổng hợp kết quả cho thấy độ mặn ảnh hưởng rõ rệt đến màu sắc da cá khoang cổ nemo. Cá nuôi ở độ mặn cao từ 33 - 39‰ thể hiện màu sắc da tốt nhất, với màu cam đậm, rực rỡ và có chiều sâu hơn so với các nhóm độ mặn thấp vốn có màu da sáng hơn nhưng thiên về sắc vàng nhạt (Hình 3.5).

### 3.1.2.2. Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá

Kết quả cho thấy độ mặn ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá khoang cổ nemo (Hình 3.6). Trong khoảng độ mặn 9 - 33‰, hàm lượng carotenoids tích lũy trên da, cơ và toàn thân cá tăng tỷ lệ thuận với độ mặn. Cá nuôi ở 33‰ có hàm lượng carotenoids tích lũy cao nhất, tăng lần lượt 87,6%, 80,5% và 53,6% ở da, cơ và toàn thân so với cá ở 9‰ ( $p < 0,05$ ). Tuy nhiên, không có sự khác biệt đáng kể về hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trên da và cơ giữa cá nuôi ở 33‰ và 39‰ ( $p > 0,05$ ).



**Hình 3.6: Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá khoang cổ nemo (µg/g) được nuôi ở các mức độ mặn khác nhau**

Các giá trị được trình bày dưới dạng Mean ± SE (n = 3). Các cột với các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Kết quả phân tích sắc tố cho thấy độ mặn 33 - 39‰ là phù hợp nhất cho quá trình tích lũy carotenoids ở cá khoang cổ nemo, góp phần cải thiện đáng kể màu sắc thương mại của loài cá cảnh này.

### 3.1.2.3. Các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn

*Các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống:*

Kết quả cho thấy độ mặn ảnh hưởng đáng kể đến tăng trưởng và tỷ lệ sống của cá khoang cổ nemo (Bảng 3.3). Cá nuôi ở 33‰ đạt tốc độ tăng trưởng đặc trưng về chiều dài (SGR<sub>L</sub>) và khối lượng (SGR<sub>w</sub>) cao nhất, vượt trội so với ở 9‰, với mức chênh lệch tương ứng 50,0% và 80,0% ( $p < 0,05$ ). Tuy nhiên, SGR<sub>L</sub> không khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 33‰ và 39‰, cũng như SGR<sub>w</sub> không khác biệt giữa các mức độ mặn 27‰, 33‰ và 39‰ ( $p > 0,05$ ).

Hệ số phân đàn chiều dài (CV<sub>L</sub>) thấp nhất ở 39‰, trong khi cao nhất ở 15 - 33‰ ( $p < 0,05$ ). Tuy nhiên, hệ số phân đàn khối lượng (CV<sub>w</sub>) không khác biệt đáng kể giữa các nghiệm thức. Hệ số điều kiện (CF) và tỷ lệ sống (SR) đạt kết quả cao hơn đáng kể ở 15 - 39‰ so với 9‰ ( $p < 0,05$ ; Bảng 3.3).

**Bảng 3.3: Tăng trưởng và tỷ lệ sống của cá khoang cổ nemo được nuôi ở các mức độ mặn khác nhau**

Chỉ tiêu	Độ mặn					
	9‰	15‰	21‰	27‰	33‰	39‰
L <sub>1</sub> (cm)	3,25 ± 0,08	3,25 ± 0,08	3,25 ± 0,08	3,25 ± 0,08	3,25 ± 0,08	3,25 ± 0,08
W <sub>1</sub> (g)	0,67 ± 0,05	0,67 ± 0,05	0,67 ± 0,05	0,67 ± 0,05	0,67 ± 0,05	0,67 ± 0,05
L <sub>2</sub> (cm)	3,71 ± 0,02 <sup>a</sup>	3,79 ± 0,01 <sup>b</sup>	3,83 ± 0,02 <sup>b</sup>	3,90 ± 0,02 <sup>c</sup>	3,97 ± 0,01 <sup>d</sup>	3,93 ± 0,03 <sup>cd</sup>
W <sub>2</sub> (g)	0,93 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,05 ± 0,02 <sup>b</sup>	1,07 ± 0,03 <sup>b</sup>	1,13 ± 0,02 <sup>bc</sup>	1,22 ± 0,03 <sup>c</sup>	1,16 ± 0,04 <sup>c</sup>
SGR <sub>L</sub> (%/ngày)	0,22 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,26 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,27 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,30 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,33 ± 0,01 <sup>d</sup>	0,32 ± 0,01 <sup>cd</sup>
SGR <sub>w</sub> (%/ngày)	0,55 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,75 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,78 ± 0,04 <sup>b</sup>	0,87 ± 0,02 <sup>bc</sup>	0,99 ± 0,05 <sup>c</sup>	0,92 ± 0,06 <sup>c</sup>
CV <sub>L</sub> (%)	5,19 ± 0,46 <sup>b</sup>	7,31 ± 0,75 <sup>c</sup>	7,21 ± 0,05 <sup>c</sup>	6,84 ± 0,38 <sup>c</sup>	7,49 ± 0,66 <sup>c</sup>	3,67 ± 0,02 <sup>a</sup>
CV <sub>w</sub> (%)	19,1 ± 1,62	25,0 ± 3,00	23,5 ± 1,33	22,5 ± 1,67	24,4 ± 1,75	21,4 ± 1,20
CF (g/cm <sup>3</sup> )	1,83 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,92 ± 0,01 <sup>b</sup>	1,90 ± 0,03 <sup>b</sup>	1,91 ± 0,02 <sup>b</sup>	1,95 ± 0,03 <sup>b</sup>	1,92 ± 0,03 <sup>b</sup>
SR (%)	75,1 ± 6,24 <sup>a</sup>	93,3 ± 3,84 <sup>b</sup>	97,8 ± 2,23 <sup>b</sup>	97,8 ± 2,23 <sup>b</sup>	100 ± 0,00 <sup>b</sup>	97,8 ± 2,23 <sup>b</sup>

Số liệu được trình bày dưới dạng Mean ± SE (n = 3). Các giá trị trung bình mang ký tự chữ cái khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Các kết quả khẳng định vai trò quan trọng của độ mặn đối với tăng trưởng và tỷ lệ sống của cá khoang cổ nemo. Độ mặn 33‰ được xác định là mức tối ưu, tuy nhiên cá có thể thích nghi tốt trong khoảng 27 - 39‰.

### Hiệu quả sử dụng thức ăn:

Độ mặn ảnh hưởng đáng kể đến lượng thức ăn tiêu thụ (FI), với xu hướng ăn nhiều hơn ở độ mặn cao (Bảng 3.4). Tuy nhiên, FI không khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các mức 21 - 39‰ ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 3.4: Hiệu quả sử dụng thức ăn của cá khoang cổ nemo được nuôi ở các mức độ mặn khác nhau**

Chỉ tiêu	Độ mặn					
	9‰	15‰	21‰	27‰	33‰	39‰
FI (g/con)	0,95 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,09 ± 0,02 <sup>b</sup>	1,15 ± 0,03 <sup>bc</sup>	1,17 ± 0,03 <sup>bc</sup>	1,25 ± 0,05 <sup>c</sup>	1,27 ± 0,04 <sup>c</sup>
FCR	2,09 ± 0,08 <sup>d</sup>	2,00 ± 0,02 <sup>cd</sup>	1,97 ± 0,04 <sup>bcd</sup>	1,81 ± 0,02 <sup>ab</sup>	1,75 ± 0,08 <sup>a</sup>	1,87 ± 0,04 <sup>abc</sup>
PER	0,49 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,63 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,64 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,71 ± 0,02 <sup>bc</sup>	0,80 ± 0,05 <sup>c</sup>	0,71 ± 0,04 <sup>bc</sup>

Số liệu được trình bày dưới dạng Mean ± SE ( $n = 3$ ). Các giá trị trung bình mang ký tự chữ cái khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Các chỉ tiêu FCR và PER cho thấy sự khác biệt đáng kể giữa các mức độ mặn. Cá nuôi ở 33‰ thể hiện kết quả tốt nhất, với mức giảm 16,3% FCR và tăng 63,3% PER so với 9‰ ( $p < 0,05$ ). Tuy nhiên, cả hai chỉ tiêu này không khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các mức độ mặn 27 - 39‰ ( $p > 0,05$ ).

Tổng hợp kết quả cho thấy cá khoang cổ nemo sử dụng thức ăn hiệu quả nhất trong khoảng 27 - 39‰, với 33‰ là độ mặn tối ưu cho nuôi thương mại.

### 3.1.3. Thảo luận về ảnh hưởng của môi trường nuôi

#### 3.1.3.1. Ảnh hưởng của màu sắc bể nuôi

##### a. Màu sắc da và hàm lượng carotenoids tích lũy

Với cá cảnh nói chung và cá khoang cổ nemo nói riêng, màu sắc là chỉ tiêu được quan tâm hàng đầu. Kết quả nghiên cứu đã chứng minh rằng màu sắc bể nuôi có ảnh hưởng đáng kể đến màu sắc của cá. Cụ thể, cá được nuôi trong các bể màu xanh và trong suốt có màu đỏ đẹp và rực rỡ hơn (với  $a^*$  cao và  $h^*_{ab}$  thấp) so với các bể màu còn lại. Trong khi đó, cá được nuôi trong bể màu trắng có màu vàng và nhạt hơn ( $b^*$  cao và  $h^*_{ab}$  cao) so với các bể màu khác. Màu bể nuôi cũng làm thay đổi độ sáng màu da cá, với các bể màu trắng, trong và xanh cho màu da sáng hơn ( $L^*$  cao và  $C^*_{ab}$  cao) trong khi bể đen làm da cá trở nên xỉn màu (Hình 3.2). Kết quả này tương đồng với báo cáo trước đây cho rằng cá khoang cổ nemo được nuôi trong các bể màu xanh dương và xanh lá cây có màu

cam đỏ hơn trong khi cá được nuôi trong bể trắng có màu vàng và sáng hơn [221]. Đáng chú ý, mặc dù cá khoang cổ nemo có màu cam – đỏ nhưng việc nuôi chúng trong bể màu cam và đỏ trong nghiên cứu hiện tại và trước đây đều không cho thấy sự cải thiện các tông màu mong muốn này so với các màu bể còn lại, thậm chí độ cam – đỏ trên da cá còn thể hiện xu hướng kém hơn so với các bể xanh và trong suốt (Hình 3.1 và 3.2) [221]. Nghiên cứu hiện tại đã bổ sung thêm màu trong suốt cũng là màu thích hợp cho nuôi cá khoang cổ nemo nếu xét về hiệu quả cải thiện màu sắc trong khi các màu tối, đặc biệt là màu đen, nên hạn chế sử dụng. Tuy nhiên, Díaz-Jiménez và cộng sự báo cáo rằng cá khoang cổ nemo nuôi trong bể đen cho thấy màu da đỏ đậm hơn và viền đen rõ hơn so với bể trắng. Viền đen dày và đậm hơn có thể là nỗ lực trong quá trình thích ứng với màu nền của cá – điều cũng được ghi nhận trong nghiên cứu hiện tại (Hình 3.2). Mặc dù vậy, sự khác biệt về độ đỏ màu da giữa hai nghiên cứu này cần được nghiên cứu sâu hơn. Điều này có thể xuất phát từ sự khác biệt về đèn chiếu/phổ ánh sáng sử dụng trong hai nghiên cứu, với ánh sáng trắng và đỏ được tăng cường trong nghiên cứu trước đây [51].

Tác động của màu bể lên màu sắc cá khoang cổ nemo cũng tương tự như xu hướng chung được ghi nhận ở nhiều loài cá khác (xem Bảng 1.4). Theo đó, màu da của cá được nuôi trong các bể màu trắng, vàng có độ sáng cao hơn trong khi nuôi trong các bể màu đen, nâu, xám có màu tối hơn. Các màu bể còn lại như đỏ, xanh làm tăng các tông màu đỏ, cam, vàng của da cá [128]. Điều này được báo cáo trên nhiều loài cá, như cá tráp đỏ (*Pagrus pagrus*), cá rạch rần (*Trichopodus pectoralis*), cá mú chấm bé (*Plectropomus leopardus*), cá điêu hồng (*Oreochromis mossambicus*) hay cá vàng (*Carassius auratus*) [62, 138, 181, 201, 202]. Việc nuôi các loài cá có màu sắc vàng, cam, đỏ đậm trong các bể màu không phù hợp, ví dụ màu trắng hay đen, khiến da chúng trở nên nhợt nhạt, trắng sáng hay xỉn màu thay vì vàng, cam, đỏ dẫn đến giảm giá trị thương mại và khả năng tiêu thụ [62, 138]. Sự thay đổi màu sắc của cá dưới các điều kiện màu bể khác nhau được cho là có liên quan đến các cơ chế thần kinh và nội tiết [119]. Theo đó, cá sống trong bể màu sáng, hàm lượng ir-MCH tăng cao ức chế hoạt động của  $\alpha$ -MSH trên da làm tăng sắc tố trắng (Leucophores), nhất là ở mặt bụng của cá [18]. Trong khi đó, bể tối màu làm thay đổi sự phân tán của các sắc tố trong tế bào melanophores trong vài giờ đi kèm với sự tăng cao của hàm lượng  $\alpha$ -MSH trong huyết tương gây hiện tượng sạm da, tối màu ở cá [133].



Ảnh hưởng của màu bể nuôi lên sự thay đổi màu sắc của da hay cơ của cá có thể diễn ra một cách tạm thời (sinh lý) hoặc lâu dài (hình thái). Những sự thay đổi về mặt hình thái thường có tính bền vững hơn và gắn liền với giai đoạn phát triển của cá, trong khi các sự thay đổi về mặt sinh lý thường diễn ra trong thời gian ngắn hơn, chủ yếu dưới tác động của môi trường, và có thể phục hồi trở lại màu sắc ban đầu [119, 128, 221]. Cá có thể thích ứng với sự thay đổi của màu sắc môi trường thông qua độ nhạy thị giác nhờ vào các tế bào cảm thụ, sắc tố thị giác và các opsin [41]. Hiện tượng xuất hiện màu tối ở cá trong bể đen và màu sáng ở cá trong bể trắng có thể là do cơ chế ngụy trang của chúng và nỗ lực mô phỏng màu sắc của môi trường, một hiện tượng đã được báo cáo trên một số loài cá, bao gồm cá khoang cỏ nemo [51, 53, 220, 221]. Trong số các màu sắc khác nhau, các dạng của màu xanh dương như phù hợp nhất với cá khoang cỏ nemo, do chúng thường sống trong các hệ sinh thái rạn san hô, nơi màu xanh chiếm ưu thế [221]. Môi trường này, cùng với chế độ ăn cung cấp đầy đủ các nguồn sắc tố tự nhiên, giúp cá khoang cỏ nemo đạt được màu sắc cam - đỏ điển hình của loài [68]. Dựa trên những hiểu biết này, các loại đèn màu xanh cũng được sử dụng phổ biến trong các hệ thống bể nuôi cá cảnh biển [81]. Tuy nhiên, cũng cần lưu ý rằng màu sắc của cá khoang cỏ nemo có thể thay đổi khi chuyển sang các màu bể hay điều kiện ánh sáng khác nhau [220, 221]. Mặc dù vậy, các kết quả thu được trong các nghiên cứu tương tự vẫn sẽ giúp định hướng cho người nuôi, các nhà sản xuất/cung cấp phụ kiện cho hoạt động nuôi cá cảnh biển thiết lập các điều kiện ánh sáng, màu bể tối ưu để cá đạt được màu sắc mong muốn, bên cạnh các điều kiện môi trường và dinh dưỡng khác.

Tương tự như sự biểu hiện về màu da, cá được nuôi trong các bể màu xanh, trong và trắng cũng cho thấy hàm lượng carotenoids tích lũy trong da, cơ và toàn thân cao hơn so với các màu bể còn lại. Kết quả này khác biệt với nghiên cứu trước đây cho rằng màu bể nuôi không ảnh hưởng đến hàm lượng carotenoids (astaxanthin, beta-caroten, canthaxanthin và zeaxanthin) ở loài cá này [221]. Sự khác biệt này có thể là do sự chênh lệch về thời gian giữa hai nghiên cứu, với 28 ngày trong nghiên cứu của Yasir and Qin và 60 ngày trong nghiên cứu hiện tại. Bên cạnh đó, sự khác nhau về loại thức ăn sử dụng và hàm lượng carotenoids trong đó cũng có thể góp phần dẫn đến sự khác biệt này. Với kỹ thuật phân tích biểu hiện gen *scarb1*, một gen quy định khả năng hấp thụ và chuyển hóa carotene ở cá, Song và cộng sự nhận thấy cá mú chấm bé được nuôi trong bể màu đỏ và trắng có mức độ biểu hiện gen cao nhất, tiếp theo là bể xanh và trong suốt, thấp

nhất ở bề đen. Cùng với đó, hàm lượng carotene tích lũy trong cơ thể cá cũng cao hơn ở các bề đỏ và trắng, trong khi lutein và melanin lại chiếm ưu thế trong các bề trong suốt và đen [181]. Màu bề và ánh sáng có thể điều chỉnh màu da cá thông qua hormone neuropeptide và tế bào cảm quang [177]. Theo Song và cộng sự, màu bề ảnh hưởng đến biểu hiện gen *scarb1* thông qua trung tâm thị giác, sau đó ảnh hưởng đến sự hấp thu và vận chuyển carotenoids, cuối cùng ảnh hưởng đến màu da của cá mú chấm bé [181]. Tương tự, những kết quả thu được trong nghiên cứu hiện tại cho thấy bề màu xanh hoặc trong có lợi cho sự tăng cường màu cam – đỏ của cá khoang cỏ nemo hơn so với các bề màu khác. Tuy nhiên, các cơ chế thần kinh, nội tiết và di truyền phân tử điều khiển quá trình này ở cá khoang cỏ nemo cần được nghiên cứu sâu hơn trong tương lai.

#### *b. Các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn*

Kết quả thu được trong nghiên cứu hiện tại cho thấy màu sắc bề có tác động lớn đến kết quả nuôi cá khoang cỏ nemo. Cụ thể, cá được nuôi trong bề màu trắng và xanh cùng đạt các chỉ tiêu tăng trưởng, trạng thái cơ thể và hiệu quả sử dụng thức ăn tốt hơn so với cá được nuôi trong các bề còn lại. Những phát hiện này đã chỉ ra rằng màu trắng và xanh là những màu phù hợp nhất cho việc nuôi cá khoang cỏ nemo. Kết quả này cũng tương tự với nhiều báo cáo trước đây khi tổng hợp về tác động của màu bề đối với kết quả ương, nuôi ở nhiều nhóm cá [128]. Theo đó, các thông số tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá có xu hướng thể hiện sự vượt trội khi chúng được nuôi trong bề màu trắng và xanh so với các màu bề khác [59, 62, 70, 93, 113, 128, 133, 138, 144, 149]. Hiện tượng này có thể được giải thích bởi lợi thế của bề màu trắng và xanh trong việc tạo ra độ tương phản trực quan tốt hơn, giúp cá phân biệt dễ dàng giữa môi trường sống và thức ăn [128]. Điều này thúc đẩy lượng thức ăn cá tiêu thụ và chuyển đổi thành sinh khối cơ thể tốt hơn, nhờ đó, tốc độ tăng trưởng của cá cũng cao hơn. Bên cạnh đó, màu xanh cũng có sự tương đồng cao với môi trường sống tự nhiên của các loài cá rạn san hô, bao gồm cá khoang cỏ nemo, nơi có thành phần loài san hô, hải quỳ đa dạng và nhiều màu sắc, trong đó, màu xanh thường là màu chiếm ưu thế [68, 220]. Môi trường nuôi gần gũi với điều kiện tự nhiên có thể mang lại tác động tích cực lên đời sống của cá, góp phần nâng cao các thông số tăng trưởng và sức khỏe tổng thể [128], (xem Bảng 1.4).

Mặc dù vậy, tác động của màu sắc bề nuôi ở nhiều loài cá cũng có những khác biệt nhất định. Một số nghiên cứu nhận thấy bề màu be (beige) hay màu vàng thúc đẩy

tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn ở cá hồi vân, cá mú chấm đỏ và cá măng biển [26, 174, 199]. Ngược lại với kết quả trong nghiên cứu hiện tại, màu trắng được báo cáo là nguyên nhân làm giảm tốc độ tăng trưởng ở cá chêm và khả năng ăn mồi ở cá mú chấm cam [74, 171]. Trong khi đó, cá chép koi, cá chêm, cá khoang cổ đỏ và cá tra thể hiện tốc độ tăng trưởng nhanh hơn và/hoặc hệ số chuyển đổi thức ăn thấp hơn khi được nuôi trong các bể màu đen [55, 70, 148, 171]. Đáng chú ý, một số loài cá không ghi nhận tác động đáng kể nào của màu bể lên tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn, ví dụ như cá rô phi, cá cam, cá mú chấm cam, cá ngựa, cá hồi Đại Tây Dương và cá chép koi [58, 74, 91, 128, 129, 198] (xem Bảng 1.4).

Một số nghiên cứu sâu hơn chỉ ra rằng sống trong môi trường có màu sắc phù hợp, cá tiêu tốn ít năng lượng hơn cho các phản ứng căng thẳng và dành nguồn lực này cho các hoạt động trao đổi chất, sinh tổng hợp và cuối cùng thúc đẩy tăng trưởng [54, 128, 198]. Những nghiên cứu này còn nhận thấy biểu hiện gen liên quan đến tăng trưởng (trục GH/IGF-1) của cá sống trong màu bể thích hợp được tăng cường rõ rệt, cụ thể với màu đỏ so với các màu trắng, vàng và xanh ở cá oscar (*Astronotus ocellatus*) hay màu trắng so với màu xanh và đen ở cá cam (*Seriola dumerili*). Kết quả này phù hợp với các chỉ tiêu tăng trưởng, chỉ số huyết học và chỉ số căng thẳng tốt hơn ở các bể màu đỏ và trắng so với các màu bể còn lại [54, 198]. Các phân tích kể trên khẳng định thêm rằng tác động của màu sắc bể lên tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá là một quá trình phức tạp, liên quan đến nhiều cơ chế, quá trình sinh lý diễn ra trong cơ thể và kết quả có sự khác biệt theo loài, giai đoạn phát triển, cho thấy việc nghiên cứu xác định màu bể nuôi thích hợp với từng loài, thậm chí là từng giai đoạn cụ thể, đi kèm với các điều kiện nuôi khác là rất cần thiết.

Tỷ lệ sống của cá khoang cổ nemo trong nghiên cứu này không bị tác động đáng kể bởi màu sắc bể nuôi. Kết quả này tương tự với một số báo cáo trước đây trên các loài cá chép koi, cá ngựa hay cá mú chấm cam [58, 74, 91] (xem Bảng 1.4). Điều này cho thấy rằng cá khoang cổ nemo có khả năng thích nghi tốt với các điều kiện màu bể khác nhau, thể hiện ở tỷ lệ sống cao, dao động từ 91,1 - 97,8%. Mặc dù tỷ lệ cắn nhau và hao hụt có xu hướng diễn ra mạnh hơn đối với cá được nuôi trong các bể màu cam nhưng kết quả phân tích thống kê không cho thấy sự khác biệt đáng kể ( $p > 0,05$ ). Những kết quả thu được trong nghiên cứu hiện tại càng khẳng định thêm cho luận điểm rằng cá khoang cổ nemo có khả năng sinh trưởng, phát triển tốt ở nhiều điều kiện nuôi, trong đó

có màu sắc môi trường [40]. Ngoài ra, từ giai đoạn 3,0 cm trở lên, tương ứng với giai đoạn giống lớn, cá thể hiện khả năng thích ứng tốt hơn so với giai đoạn ấu trùng, thông qua tỷ lệ sống cao hơn rõ rệt, trên 95% so với dưới 50% ở giai đoạn ấu trùng [1, 6]. Các báo cáo tổng hợp về vấn đề này trên nhiều loài cá cũng cho thấy rằng tác động của màu bể lên tỷ lệ sống của cá thể hiện rõ rệt và nghiêm trọng hơn ở giai đoạn ấu trùng so với các giai đoạn về sau [128, 129].

Kết quả thu được trong nghiên cứu này đã khẳng định rằng màu sắc bể nuôi là yếu tố quan trọng có ảnh hưởng đến các chỉ tiêu tăng trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn, màu sắc da cũng như hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá khoang cổ nemo. Trong đó, bể nuôi màu xanh đã thể hiện sự vượt trội và được xác định là phù hợp nhất cho nuôi loài cá này, do khả năng tối ưu hóa giữa tăng trưởng và màu sắc của cá. Kết quả này có ý nghĩa quan trọng đối với nghề nuôi cá cảnh biển nói chung và cá khoang cổ nemo nói riêng, bởi việc chọn màu bể thích hợp có thể nâng cao đáng kể hiệu quả và chất lượng nuôi. Điều này không chỉ giúp nâng cao chất lượng con giống sản xuất, đáp ứng nhu cầu thị trường, mà còn góp phần giảm áp lực khai thác lên nguồn lợi cá rạn tự nhiên và bảo vệ hệ sinh thái rạn san hô, nhất là trong bối cảnh ô nhiễm môi trường, biến đổi khí hậu và tranh chấp lãnh hải diễn ra phức tạp như hiện nay.

Bên cạnh việc sử dụng bể màu xanh, kết quả nghiên cứu cũng gợi ý một số ứng dụng linh hoạt trong thực tiễn sản xuất dựa trên lợi thế riêng của từng loại bể. Cụ thể, trong giai đoạn ương giống, có thể tận dụng ưu điểm của bể trắng giúp cá sinh trưởng nhanh, sớm đạt kích cỡ thương phẩm, rút ngắn thời gian nuôi, qua đó nâng cao hiệu quả kinh tế. Trong khi đó, ở giai đoạn nuôi cảnh, yếu tố màu sắc được coi trọng hơn tăng trưởng, do đó bể trong suốt là lựa chọn phù hợp và phổ biến nhằm đáp ứng nhu cầu quan sát, chăm sóc cá, đồng thời giúp cá đạt được màu sắc tối ưu. Ngoài ra, để kết hợp được lợi thế của cả bể trong suốt và bể xanh, các nhà sản xuất/người nuôi có thể dán một hoặc hai mặt bên của bể màu xanh, chừa hai hoặc ba mặt còn lại trong suốt để thuận tiện cho việc ngắm cá và vệ sinh bể. Một giải pháp khác là sử dụng đèn chiếu sáng màu xanh nhằm tạo môi trường ánh sáng tối ưu cho cá lên màu.

Mặc dù vậy, nghiên cứu hiện tại vẫn tồn tại một số hạn chế nhất định. *Thứ nhất*, nghiên cứu chỉ đánh giá tác động của màu bể lên kết quả nuôi cá vào thời điểm kết thúc thí nghiệm (ngày thứ 60) thay vì ở các khoảng thời gian ngắn hơn (2 – 3 tuần/lần). Do

đó, tác động của màu bề lên các chỉ tiêu kể trên theo thời gian vẫn chưa được xác định. Thứ hai, màu sắc bề nuôi có thể tác động đến các quá trình sinh lý, sinh hóa, nội tiết diễn ra trong cơ thể và biểu hiện ra ngoài thông qua các thông số đo lường như thu được trong nghiên cứu hiện tại. Tuy nhiên, cơ chế của những tác động này vẫn chưa được hiểu rõ trong nghiên cứu hiện tại. Cuối cùng, các cơ chế ảnh hưởng của màu bề lên sự biến đổi màu sắc của da cá vẫn chưa được làm rõ và cần được nghiên cứu sâu hơn trong tương lai để có thể đưa ra các khuyến cáo cụ thể và hiệu quả hơn trong thực tiễn sản xuất.

### 3.1.3.2. Ảnh hưởng của độ mặn

#### a. Màu sắc da và hàm lượng carotenoids tích lũy

Mặc dù đã có nhiều nghiên cứu về tác động của độ mặn lên các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá, các thông số đánh giá liên quan đến màu sắc vẫn chưa được quan tâm đúng mức. Nghiên cứu hiện tại đã chỉ ra rằng độ mặn có ảnh hưởng đáng kể đến màu sắc da và hàm lượng carotenoids tích lũy trong cơ thể cá khoang cổ nemo. Về màu da, có thể nhận thấy xu hướng chung là cá sống ở độ mặn thấp hơn (9 - 21‰) có màu sáng và nhạt hơn ( $L^*$  cao hơn) trong khi ở độ mặn cao (33 - 39‰) cá có xu hướng màu cam đậm hơn ( $a^*$  và  $b^*$  cao hơn). Đối với cá khoang cổ nemo và các loài có màu da cam – đỏ khác, chỉ số  $a^*$  là thông số quan trọng nhất trong đánh giá chất lượng màu sắc, và kết quả của chúng tôi cho thấy việc nuôi chúng ở độ mặn cao là cần thiết để duy trì và tăng cường màu sắc tối ưu. Phù hợp với các thông số đo lường màu sắc da, hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá cũng cho thấy các giá trị tốt hơn thể hiện ở các mức độ mặn cao trong khi kém hơn ở các mức độ mặn thấp. Kết quả tương tự cũng đã được báo cáo trước đây trên cá khoang cổ cam, cho thấy cá sống ở độ mặn thấp hơn (< 15‰) có màu sắc tối, nhạt hơn so với các mức độ mặn thông thường, từ 30 - 35‰ [1]. Tuy nhiên, nghiên cứu của chúng tôi là một trong những công trình đầu tiên cung cấp các thông số đo lường màu sắc chi tiết và đánh giá tổng thể tác động của độ mặn lên màu sắc của cá khoang cổ nemo.

Chúng tôi cho rằng tác động của độ mặn lên màu sắc của cá khoang cổ nemo trong nghiên cứu này có thể là do sự thay đổi môi trường sống. Sống trong môi trường bất lợi, với độ mặn quá cao hay quá thấp, các hoạt động sống, trao đổi chất và sinh lý khác của cá bị ảnh hưởng từ đó làm thay đổi màu sắc da cá như là một cơ chế tự vệ phản ứng lại với sự thay đổi của môi trường [119, 180]. Tuy nhiên, các nghiên cứu đề cập đến

cơ chế chi tiết của quá trình này trong nuôi trồng thủy sản vẫn còn rất hạn chế. Ngoài ra, tác động của độ mặn lên màu sắc của đối tượng nuôi vẫn chưa có sự nhất quán và còn phụ thuộc vào mối tương tác phức tạp với các yếu tố khác như nhiệt độ và màu nền. Ví dụ, da cá bống (*Bathygobius soporator*) trở nên nhạt hơn khi nuôi ở độ mặn cao (25,5‰ và 34,0‰) kết hợp với nhiệt độ thấp (18°C) trong khi sẫm màu hơn khi nuôi ở độ mặn thấp (8,5‰ và 17,0‰) kèm theo nhiệt độ cao (28°C) [65]. Độ mặn tăng từ 26 - 38‰ làm màu sắc da cá Nam Cự ( *Notothenia gibberifrons* và *Trematomus newnesi*) chuyển từ nhạt sang tối màu [66]. Ngược lại, một số nghiên cứu cho thấy độ mặn cao hay biến động độ mặn lớn (lên đến 10‰) làm màu cá chột sọc (*Mystus vittatus*) trở nên nhạt, mờ và xỉn hơn so với nhóm đối chứng (0‰) [160]. Vai trò tương đối của nhiệt độ và độ mặn đối với màu sắc của cá cũng khác nhau giữa các loài, chẳng hạn như ở lươn thủy tinh (*Anguilla anguilla*), nhiệt độ cao thúc đẩy quá trình sắc tố hóa mạnh hơn so với tác động ức chế của độ mặn [36]. Trong khi đó, một số nghiên cứu khác lại không ghi nhận được tác động đáng kể của độ mặn lên màu sắc của cá, như trường hợp được báo cáo trên cá rô phi (*O. niloticus*) [13], (xem Bảng 1.4).

Quan hệ giữa độ mặn hay thành phần chất khoáng trong nước với màu sắc cũng được quan tâm trong nghề nuôi tôm. Thiếu hụt hay mất cân bằng khoáng chất gây nên hiện tượng bất thường về sắc tố ở tôm sú (*Penaeus monodon*) với các biểu hiện như vỏ chuyển màu nâu đỏ, tối hoặc nhạt. Bên cạnh đó, hội chứng co rút đuôi, bệnh mềm vỏ và lột xác bất thường cũng được quan sát [197]. Độ mặn và/hoặc nhiệt độ cao làm giảm độ trong suốt cơ thể của tôm cỏ (*Palaemonetes pugio*) do thay đổi áp suất thẩm thấu làm tăng tích lũy dịch giữa các sợi cơ kết hợp với sự thay đổi cấu trúc của protein. Sự kết hợp của hai yếu tố này trong các điều kiện trên dẫn đến tăng độ tán xạ ánh sáng [29]. Ô nhiễm đồng ở mức 1 mg/L được báo cáo là nguyên nhân gây nên màu đỏ bất thường của tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vannamei*) khi luộc so với khi nuôi trong nước sạch. Các ion kim loại trong nước, tùy thuộc vào thành phần và hàm lượng, có thể kết hợp với astaxanthin hay các carotenoids khác tạo nên các phức hợp mới có màu đỏ đậm hơn [124]. Việc pha nước ngọt để giảm độ mặn có thể đã tác động đến thành phần và tỷ lệ các khoáng chất trong nước, từ đó ảnh hưởng gián tiếp đến màu sắc của cá khoang cổ nemo thông qua tác động đến các quá trình trao đổi chất và sinh lý trong nghiên cứu này. Tuy nhiên, cơ chế cụ thể của quá trình này cần thiết phải được làm sáng tỏ trong các nghiên cứu tiếp theo.

### b. Các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn

Dữ liệu thu được trong nghiên cứu này cho thấy rằng độ mặn có ảnh hưởng đáng kể đến kết quả nuôi cá khoang cổ nemo. Xu hướng chung có thể nhận thấy là cá được nuôi ở độ mặn 33‰, tương ứng với độ mặn nước biển, đạt các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn tốt hơn so với các độ mặn còn lại. Điều này có thể là do cá khoang cổ nemo là loài cá rạn san hô thích nghi với môi trường có độ mặn cao và ổn định, từ 33 - 35‰. Ở điều kiện độ mặn cao hơn (39‰) hoặc thấp hơn (9 - 27‰), nhiều quá trình trao đổi chất và hoạt động sống của cá có thể bị ảnh hưởng bất lợi. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng chi phí năng lượng cho quá trình điều hòa áp suất thẩm thấu thấp hơn trong môi trường đẳng trương, nơi chênh lệch áp suất thẩm thấu giữa môi trường trong và ngoài cơ thể là tối thiểu, và phần năng lượng tiết kiệm được có thể góp phần thúc đẩy tăng trưởng của cá. Theo Bushnell và Brill, quá trình điều hòa thẩm thấu có thể tiêu tốn từ 54 - 68% năng lượng trao đổi chất không bơi ở hai loài cá ngừ (*Katsuwonus pelamis* và *Thunnus albacares*) [38]. Ngay cả ở những loài có tốc độ trao đổi chất thấp hơn, quá trình này cũng sử dụng một phần năng lượng đáng kể, nằm trong khoảng từ 20 - 50% tổng năng lượng tùy theo độ mặn môi trường [33]. Sống trong điều kiện độ mặn quá cao hay quá thấp, sự tăng trưởng của cá có thể bị đình trệ bởi sự rối loạn của quá trình điều hòa áp suất thẩm thấu. Ở điều kiện bất lợi này, một số loài cá như cá hồi coho (*Oncorhynchus kisutch*) có thể sống sót nhưng trở nên còi cọc do phải chịu đựng trạng thái mất cân bằng thẩm thấu mãn tính kéo dài [33, 225]. Các phân tích sâu hơn cho thấy hàm lượng hormone tăng trưởng (GH) trong huyết tương của những con cá hồi còi cọc này ở mức rất cao - để điều hòa áp suất thẩm thấu - trong khi nồng độ hormone tuyến giáp rất thấp và quá trình sản xuất yếu tố tăng trưởng giống insulin (IGF-1) bị đình trệ [225]. Chính sự rối loạn điều hòa nội tiết này đã ảnh hưởng tiêu cực đến sự tăng trưởng của cá. Những phát hiện này có thể giúp lý giải cho sự tăng trưởng kém hơn của cá khoang cổ nemo ở các mức độ mặn quá cao hoặc quá thấp so với độ mặn tối ưu (33‰) trong nghiên cứu hiện tại. Tuy nhiên, các cơ chế cụ thể liên quan đến nội tiết, điều hòa thẩm thấu và tăng trưởng của loài cá này vẫn cần được làm rõ trong các nghiên cứu tiếp theo.

Nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng việc nuôi cá ở các độ mặn khác nhau có thể dẫn đến sự khác biệt về cả lượng thức ăn sử dụng và hiệu quả sử dụng thức ăn [33, 151].

Trong nghiên cứu hiện tại, độ mặn ảnh hưởng đến cả lượng thức ăn tiêu thụ (FI) và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá khoang cổ nemo (FCR và PER) với các giá trị tốt hơn thể hiện ở nghiệm thức 33‰ (bao gồm cả 27 – 39‰) so với nhóm độ mặn 9 - 21‰. Sự gia tăng lượng thức ăn tiêu thụ và cải thiện hiệu quả sử dụng thức ăn đã góp phần nâng cao tăng trưởng của cá ở nhóm nghiệm thức 33‰ so với nhóm nghiệm thức 9 - 21‰. Kết quả tương tự cũng được báo cáo trên cá tráp đen (*Acanthopagrus butcheri*) nuôi ở độ mặn 24‰ hay cá tráp đầu vàng (*Sparus auratus*) nuôi ở 28‰ so với các độ mặn thấp hơn 12‰ hay cao hơn 38‰. Ngoài ra, lượng thức ăn tiêu thụ và hiệu quả sử dụng thức ăn không có sự khác biệt trong phạm vi độ mặn thích hợp, tương ứng với 27 – 39‰ trong nghiên cứu hiện tại và 12 - 48‰ trong nghiên cứu trước đây, cho thấy cá có khả năng thích ứng tốt trong phạm vi độ mặn nhất định [104, 151]. Tùy đối tượng nghiên cứu, sự khác biệt về tăng trưởng có thể xuất phát từ sự tối ưu hóa về lượng thức ăn tiêu thụ và/hoặc hiệu quả sử dụng thức ăn [33, 151]. Tuy nhiên, hiện tượng giảm ăn được quan sát thấy ở một số loài cá, bao gồm cá đoi (*Mugil cephalus*), cá hồng Mỹ (*Sciaenops ocellata*) hay cá chêm châu Âu (*Dicentrarchus labrax*) khi chúng được nuôi ở mức độ mặn ngoài phạm vi tối ưu [151]. Kết quả hiện tại và một số nghiên cứu trước đó cho thấy lượng thức ăn tiêu thụ của cá ở nhóm độ mặn cao (39‰ và 38 - 48‰) tương đương với nhóm độ mặn thích hợp nhất (33‰ và 24 - 28‰), tuy nhiên, các chỉ tiêu tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn có xu hướng kém hơn dù không khác biệt thống kê ( $p > 0,05$ ). Nguyên nhân được cho là có liên quan đến sự thay đổi tốc độ luân chuyển thức ăn trong ruột do chúng hấp thụ quá nhiều nước biển trong nỗ lực khắc phục tình trạng mất nước trong môi trường ưu trương. Kết quả phân tích cho thấy độ ẩm cao hơn ở nhóm cá này so với nhóm được nuôi ở phạm vi độ mặn tối ưu đã củng cố thêm cho giả thuyết này [151].

Kết quả tương tự cũng được báo cáo trên một số loài cá khoang cổ trước đây với phạm vi thích ứng khá rộng, từ 15 - 35‰ với cá khoang cổ cam [1], 10 - 40‰ với cá khoang cổ nemo và 15 – 40‰ với cá khoang cổ đỏ [6, 7]. Ở độ mặn thấp, 9 - 10‰, tỷ lệ sống của cá khoang cổ nemo bị giảm đáng kể, dao động từ 51,1 – 75,1% [6], trong khi ở các mức độ mặn cao hơn không ghi nhận sự khác biệt về tỷ lệ sống, điều này đã khẳng định thêm rằng cá khoang cổ nói chung có khả năng thích ứng tốt với độ mặn môi trường nuôi. Mặc dù vậy, hầu hết các nghiên cứu về tác động của độ mặn lên cá khoang cổ đều khuyến cáo nên duy trì độ mặn tương ứng với nước biển tự nhiên nơi cá khoang cổ phân



bổ, từ 30 - 35%, nhằm đạt được kết quả tốt nhất về tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn. Tuy nhiên, khả năng thích ứng với độ mặn của cá khoang cổ có sự khác biệt theo loài, giai đoạn phát triển và các yếu tố môi trường khác. Ví dụ, ở giai đoạn con non, cá khoang cổ đen đuôi vàng (*A. clarkii*) có thể thích ứng tốt hơn ở phạm vi độ mặn trung bình, từ 15 - 25‰ [75]. Hiện tượng chết rải rác xảy ra chủ yếu khi nuôi cá ở độ mặn dưới 6‰ từng được báo cáo trên một số loài cá khoang cổ [6, 7, 42].

Tóm lại, kết quả nghiên cứu đã khẳng định vai trò quan trọng của độ mặn đối với tăng trưởng, tỷ lệ sống, hiệu quả sử dụng thức ăn và màu sắc của cá khoang cổ nemo, và xác định độ mặn 33‰ tương ứng với nước biển tự nhiên là thích hợp nhất cho việc nuôi loài cá này nhằm đạt được các chỉ tiêu đánh giá tốt nhất. Mặc dù nghiên cứu đã xác định được khoảng độ mặn thích hợp cho nuôi loài cá cảnh biển này, vẫn còn một số hạn chế nhất định cần làm rõ liên quan đến (i) cơ chế điều hòa áp suất thẩm thấu của cá trong các điều kiện độ mặn khác nhau; (ii) tác động của độ mặn lên các chỉ tiêu miễn dịch, mức độ căng thẳng, khả năng chống oxy hóa cũng như các chỉ tiêu sức khỏe khác của cá; (iii) cơ chế tác động cụ thể của độ mặn lên sự thay đổi màu sắc của cá và khả năng phục hồi khi nuôi trở lại điều kiện ban đầu; và (iv) mối quan hệ tương tác giữa độ mặn với các yếu tố môi trường khác trong hệ thống nuôi, đặc biệt là nhiệt độ nước cũng cần được xem xét một cách toàn diện hơn. Để có thể giải thích một cách trực tiếp và rõ ràng các kết quả thu được trong nghiên cứu hiện tại, sự hiểu biết sâu sắc về các quá trình kể trên là hết sức cần thiết.

## **3.2. Ảnh hưởng của chế độ bổ sung carotenoids vào thức ăn lên cá khoang cổ nemo**

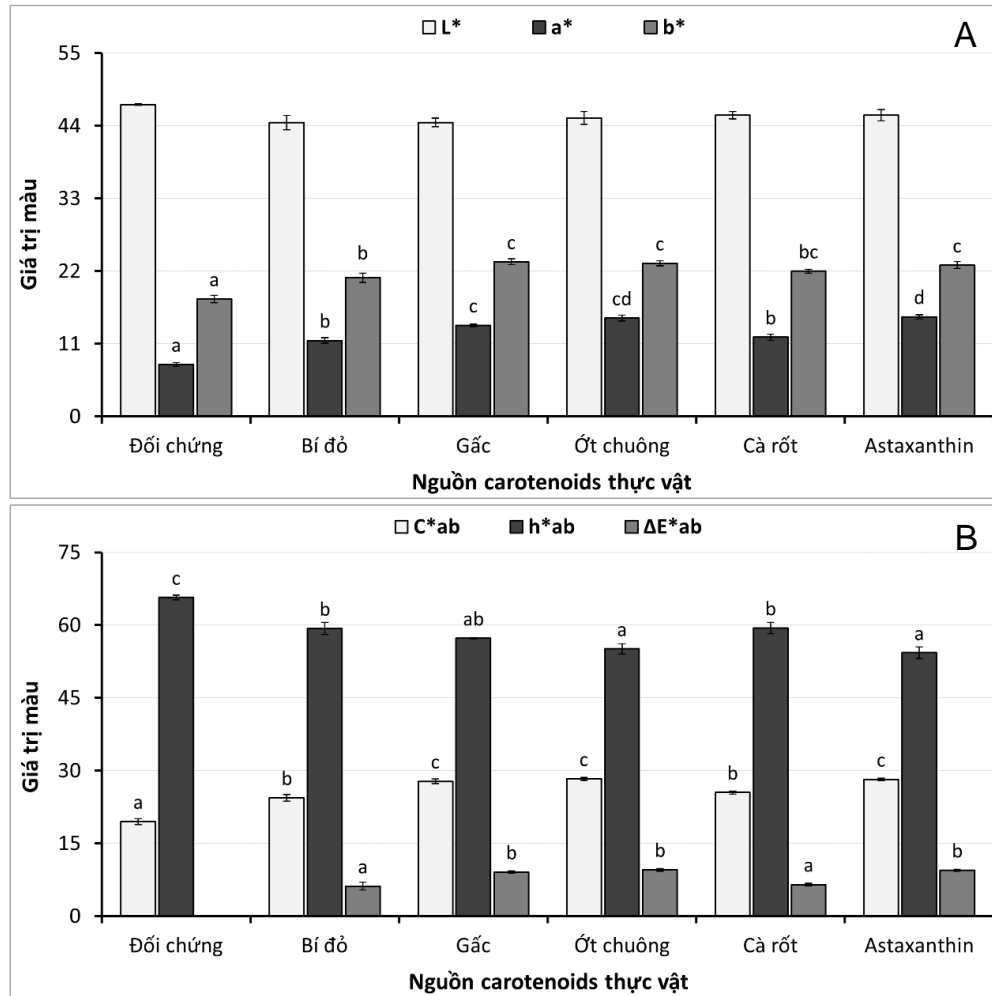
### **3.2.1. Ảnh hưởng của một số nguồn carotenoids thực vật**

#### **3.2.1.1. Màu sắc da cá**

Kết quả nghiên cứu cho thấy việc bổ sung các nguồn carotenoids thực vật vào thức ăn cho cá khoang cổ nemo đã cải thiện đáng kể màu sắc da của chúng so với nhóm đối chứng. Các chỉ số đo lường màu sắc như độ đỏ ( $a^*$ ), độ vàng ( $b^*$ ), độ bão hòa màu ( $C^*_{ab}$ ), tông màu ( $h^*_{ab}$ ) và sự chênh lệch màu tổng thể ( $\Delta E^*_{ab}$ ) đều được cải thiện ở các nhóm cá được bổ sung carotenoids (Hình 3.7).

Trong số các nguồn carotenoids được khảo sát, astaxanthin tổng hợp, ốt chuông và gấc thể hiện hiệu quả vượt trội trong việc tăng cường màu sắc da cá. Cụ thể, chỉ số  $a^*$  tăng 91,9% ở nhóm bổ sung astaxanthin tổng hợp so với đối chứng (15,1 so với 7,78;

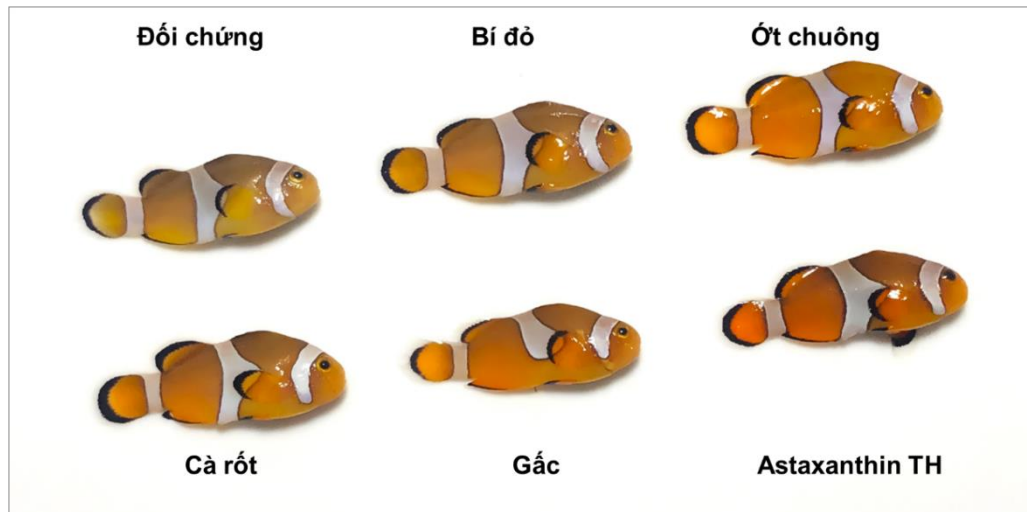
$p < 0,05$ ), trong khi không có sự khác biệt đáng kể giữa astaxanthin tổng hợp và ớt chuông (15,1 so với 14,9;  $p > 0,05$ ). Chỉ số  $b^*$  cũng tăng đáng kể và đạt giá trị cao nhất ở 3 nhóm này, dao động từ 22,9 - 23,4 so với 17,8 ở đối chứng ( $p < 0,05$ ).



**Hình 3.7: Các chỉ số màu sắc da của cá khoang cổ nemo được nuôi với các nguồn carotenoids thực vật bổ sung khác nhau: (A)  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  và (B)  $C^*_{ab}$ ,  $h^*_{ab}$ ,  $\Delta E^*_{ab}$**   
 Các giá trị được trình bày dưới dạng Mean  $\pm$  SE ( $n = 3$ ). Các cột với các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Các chỉ số  $C^*_{ab}$  và  $\Delta E^*_{ab}$  cũng cao hơn hẳn ở các nhóm bổ sung astaxanthin tổng hợp, ớt chuông và gấc so với các nhóm khác và đối chứng ( $p < 0,05$ ). Ngược lại, chỉ số  $h^*_{ab}$  lại thấp hơn ở 3 nhóm này ( $p < 0,05$ ), cho thấy cá có màu cam - đỏ rực rỡ và đậm hơn so với màu nhạt và kém phong phú ở đối chứng (Hình 3.8).

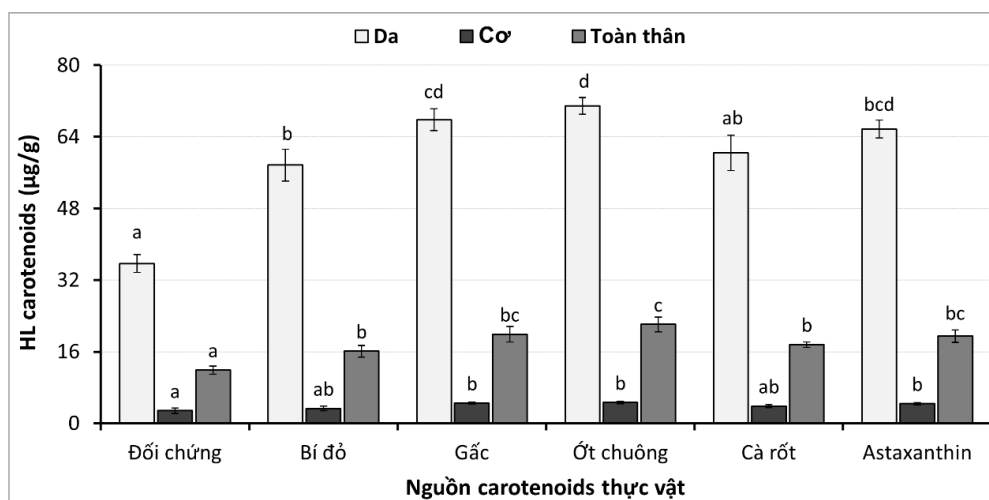
Tóm lại, nghiên cứu đã chỉ ra rằng bổ sung carotenoids, đặc biệt là astaxanthin tổng hợp, ớt chuông và gấc, vào thức ăn giúp cải thiện màu sắc da cá khoang cổ nemo một cách hiệu quả. Kết quả này mở ra tiềm năng ứng dụng các nguồn carotenoids tự nhiên trong nuôi cá cảnh nhằm nâng cao chất lượng và giá trị thương mại.



**Hình 3.8: Màu sắc của cá khoang cổ nemo được nuôi với các nguồn carotenoids thực vật bổ sung khác nhau**

### 3.2.1.2. Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá

Việc bổ sung các nguồn carotenoids khác nhau vào thức ăn đã ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng carotenoids tích lũy trong cơ thể cá khoang cổ nemo (Hình 3.9). Nhìn chung, cá ở các nghiệm thức được bổ sung carotenoids có sự tích lũy cao hơn hẳn so với nhóm đối chứng ở cả ba bộ phận được đo lường gồm da, cơ và toàn thân ( $p < 0,05$ ). Trong đó, ớt chuông cho thấy hiệu quả vượt trội nhất khi giúp cá tích lũy lượng carotenoids cao nhất ở cả ba bộ phận. Cụ thể, hàm lượng carotenoids trong da cá ở nhóm bổ sung ớt chuông đạt  $70,9 \mu\text{g/g}$ , tăng  $98,6\%$  so với đối chứng ( $35,7 \mu\text{g/g}$ ) ( $p < 0,05$ ). Xu hướng tương tự cũng được ghi nhận ở cơ và toàn thân cá.



**Hình 3.9: Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá khoang cổ nemo ( $\mu\text{g/g}$ ) được nuôi trong các bể có màu sắc khác nhau**

Các giá trị được trình bày dưới dạng Mean  $\pm$  SE ( $n = 3$ ). Các cột với các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Kết quả cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về hàm lượng carotenoids tích lũy giữa ba nguồn bổ sung là ớt chuông, gấc và astaxanthin tổng hợp ở cả ba bộ phận đo lường ( $p > 0,05$ ). Kết quả này gợi ý rằng ớt chuông và gấc, với tính khả dụng cao, có thể là những nguồn carotenoids tự nhiên tiềm năng thay thế cho astaxanthin tổng hợp trong việc tăng cường sự tích lũy carotenoids ở cá khoang cổ nemo.

### 3.2.1.3. Các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn

#### Các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống:

Kết quả nghiên cứu cho thấy việc bổ sung các nguồn carotenoids khác nhau vào thức ăn đã có tác động đáng kể đến tăng trưởng của cá khoang cổ nemo (Bảng 3.5). Cá ở các nghiệm thức được bổ sung carotenoids từ gấc và ớt chuông đạt tốc độ tăng trưởng chiều dài (SGRL) và khối lượng đặc trưng (SGR<sub>w</sub>) cao nhất, vượt trội hơn hẳn so với các nghiệm thức còn lại ( $p < 0,05$ ), với mức tăng lần lượt từ 34,5 - 41,4% và 39,0 - 42,7% so với đối chứng.

Bên cạnh đó, bổ sung carotenoids còn giúp cải thiện sự đồng đều về kích cỡ cá, thể hiện qua hệ số phân đàn khối lượng (CV<sub>w</sub>) thấp hơn đáng kể ở nhóm cá được cho ăn gấc và ớt chuông so với các nhóm khác ( $p < 0,05$ ). Tuy nhiên, hệ số phân đàn chiều dài (CV<sub>L</sub>), hệ số điều kiện (CF) và tỷ lệ sống (SR) không bị ảnh hưởng đáng kể bởi các nguồn carotenoids khác nhau ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 3.5: Tăng trưởng và tỷ lệ sống của cá khoang cổ nemo được nuôi với các nguồn carotenoids thực vật bổ sung khác nhau**

Chỉ tiêu	Nguồn carotenoids bổ sung					
	Đối chứng	Bí đỏ	Gấc	Ớt chuông	Cà rốt	Astaxanthin
L <sub>1</sub> (cm)	3,21 ± 0,03	3,21 ± 0,03	3,21 ± 0,03	3,21 ± 0,03	3,21 ± 0,03	3,21 ± 0,03
W <sub>1</sub> (g)	0,61 ± 0,02	0,61 ± 0,02	0,61 ± 0,02	0,61 ± 0,02	0,61 ± 0,02	0,61 ± 0,02
L <sub>2</sub> (cm)	4,00 ± 0,02 <sup>a</sup>	4,17 ± 0,02 <sup>b</sup>	4,35 ± 0,03 <sup>c</sup>	4,30 ± 0,03 <sup>c</sup>	4,20 ± 0,04 <sup>b</sup>	4,12 ± 0,04 <sup>b</sup>
W <sub>2</sub> (g)	1,13 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,31 ± 0,05 <sup>bc</sup>	1,47 ± 0,03 <sup>d</sup>	1,44 ± 0,02 <sup>cd</sup>	1,33 ± 0,05 <sup>bc</sup>	1,27 ± 0,04 <sup>b</sup>
SGRL (%/ngày)	0,29 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,35 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,41 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,39 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,36 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,33 ± 0,01 <sup>b</sup>
SGR <sub>w</sub> (%/ngày)	0,82 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,02 ± 0,05 <sup>bc</sup>	1,17 ± 0,03 <sup>d</sup>	1,14 ± 0,03 <sup>cd</sup>	1,04 ± 0,05 <sup>bc</sup>	0,98 ± 0,04 <sup>b</sup>
CV <sub>L</sub> (%)	12,4 ± 0,54	11,3 ± 0,42	9,91 ± 0,73	10,0 ± 0,76	11,3 ± 0,54	11,5 ± 0,90
CV <sub>w</sub> (%)	40,3 ± 0,63 <sup>b</sup>	34,5 ± 1,44 <sup>ab</sup>	29,0 ± 1,91 <sup>a</sup>	29,2 ± 2,58 <sup>a</sup>	35,4 ± 1,93 <sup>b</sup>	35,2 ± 1,83 <sup>b</sup>
CF (g/cm <sup>3</sup> )	1,76 ± 0,03	1,80 ± 0,04	1,78 ± 0,01	1,81 ± 0,01	1,80 ± 0,01	1,81 ± 0,02
SR (%)	93,3 ± 3,85	95,6 ± 2,22	97,8 ± 2,22	97,8 ± 2,22	95,6 ± 2,22	95,6 ± 2,22

Số liệu được trình bày dưới dạng Mean ± SE (n = 3). Các giá trị trung bình mang ký tự chữ cái khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Những kết quả này đã khẳng định hiệu quả vượt trội của gấc và ớt chuông như những nguồn carotenoids tiềm năng trong cải thiện tăng trưởng và sự đồng đều kích cỡ ở cá khoang cổ nemo.

#### *Hiệu quả sử dụng thức ăn:*

Mặc dù lượng thức ăn ăn vào (FI) không khác biệt đáng kể giữa các nghiệm thức, việc bổ sung carotenoids đã cải thiện rõ rệt hiệu quả sử dụng thức ăn của cá (Bảng 3.6). Cụ thể, hệ số chuyển đổi thức ăn (FCR) ở nghiệm thức bổ sung gấc (1,50) và ớt chuông (1,54) thấp hơn đáng kể so với các nghiệm thức còn lại, nhất là so với đối chứng (2,11) ( $p < 0,05$ ). Xu hướng tương tự được ghi nhận ở chỉ tiêu hiệu quả sử dụng protein thức ăn (PER), với kết quả cao nhất ở nghiệm thức bổ sung gấc (1,22), vượt trội so với đối chứng (0,86) ( $p < 0,05$ ).

**Bảng 3.6: Hiệu quả sử dụng thức ăn của cá khoang cổ nemo được nuôi với các nguồn carotenoids thực vật bổ sung khác nhau**

Chỉ tiêu	Nguồn carotenoids bổ sung					
	Đối chứng	Bí đỏ	Gấc	Ớt chuông	Cà rốt	Astaxanthin
FI (g/con)	1,09 ± 0,07	1,23 ± 0,06	1,29 ± 0,09	1,40 ± 0,05	1,30 ± 0,11	1,22 ± 0,06
FCR	2,11 ± 0,05 <sup>c</sup>	1,78 ± 0,09 <sup>b</sup>	1,50 ± 0,07 <sup>a</sup>	1,70 ± 0,06 <sup>ab</sup>	1,80 ± 0,06 <sup>b</sup>	1,86 ± 0,06 <sup>b</sup>
PER	0,86 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,03 ± 0,05 <sup>b</sup>	1,22 ± 0,06 <sup>c</sup>	1,07 ± 0,04 <sup>b</sup>	1,01 ± 0,04 <sup>b</sup>	0,98 ± 0,03 <sup>ab</sup>

*Số liệu được trình bày dưới dạng Mean ± SE (n = 3). Các giá trị trung bình mang ký tự chữ cái khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).*

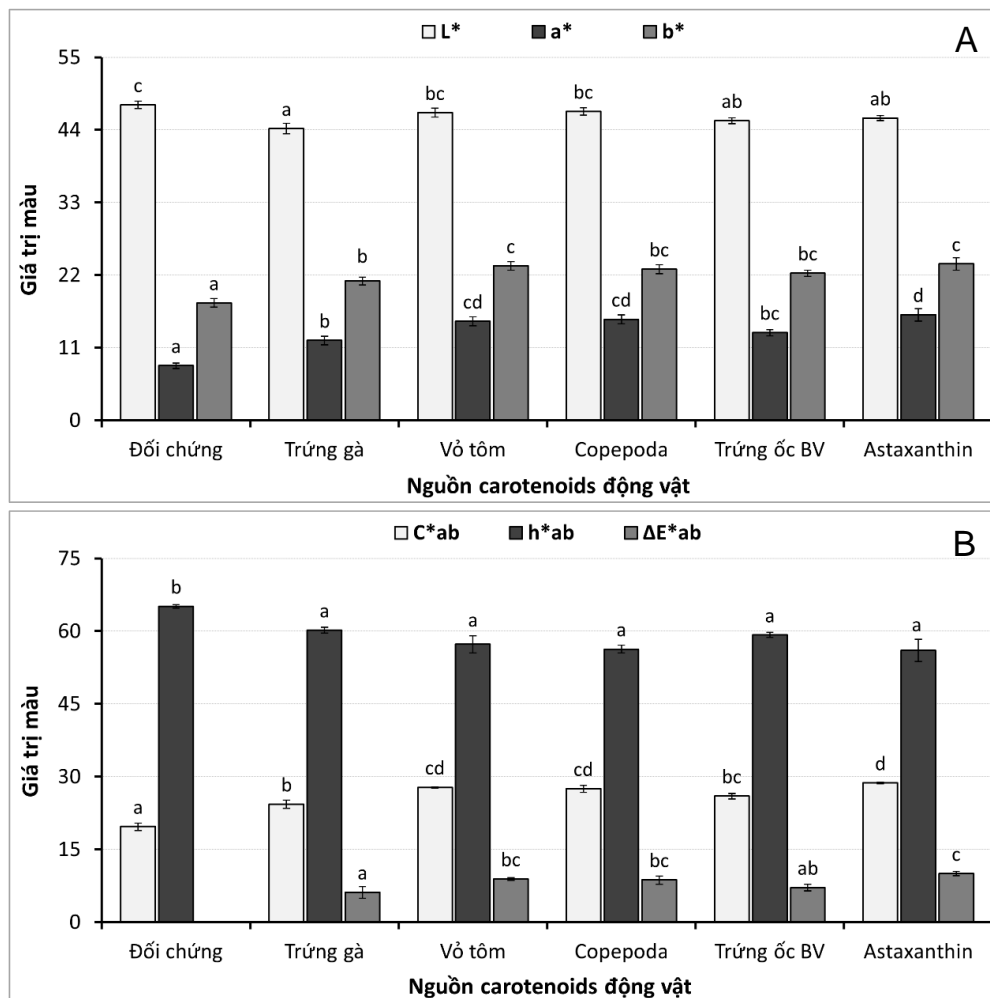
Những phát hiện này đã chỉ ra tính ưu việt của việc bổ sung carotenoids từ gấc và ớt chuông trong cải thiện đáng kể hiệu quả sử dụng thức ăn ở cá khoang cổ nemo.

### **3.2.2. Ảnh hưởng của một số nguồn carotenoids động vật**

#### **3.2.2.1. Màu sắc da cá**

Kết quả nghiên cứu cho thấy việc bổ sung các nguồn carotenoids khác nhau có ảnh hưởng đáng kể đến màu sắc da của cá khoang cổ nemo (Hình 3.10). Cụ thể, độ sáng da ( $L^*$ ) giảm đáng kể ở các nhóm bổ sung carotenoids từ trứng gà, trứng ốc và astaxanthin tổng hợp so với nhóm đối chứng ( $p < 0,05$ ). Ngược lại, độ đỏ màu da ( $a^*$ ) tăng lên rõ rệt ở tất cả các nhóm bổ sung carotenoids, với mức tăng cao nhất đạt được ở các nghiệm thức bổ sung carotenoids từ vỏ tôm, copepoda và astaxanthin tổng hợp, cải thiện từ 80,9 - 93,5% so với đối chứng ( $p < 0,05$ ). Độ vàng màu da ( $b^*$ ) cũng tăng đáng kể khi bổ sung astaxanthin tổng hợp và vỏ tôm so với đối chứng ( $p < 0,05$ ), mặc dù

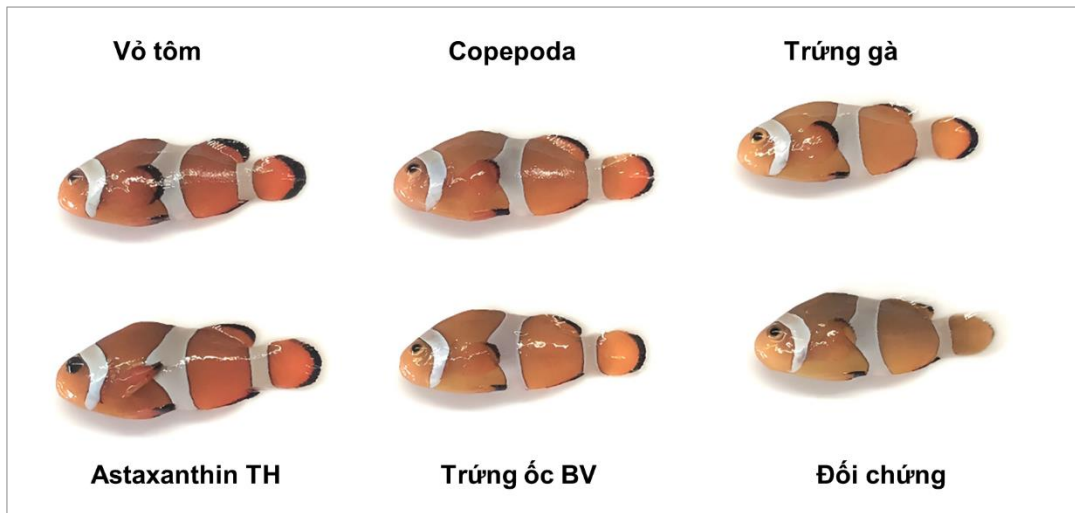
không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với bổ sung carotenoids từ copepoda và trứng ốc vàng ( $p > 0,05$ ; Hình 3.10A).



**Hình 3.10: Các chỉ số màu sắc da của cá khoang cổ nemo được nuôi với các nguồn carotenoids động vật bổ sung khác nhau: (A)  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  và (B)  $C^*_{ab}$ ,  $h^*_{ab}$ ,  $\Delta E^*_{ab}$**

Các giá trị được trình bày dưới dạng Mean  $\pm$  SE ( $n = 3$ ). Các cột với các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Các chỉ tiêu màu sắc khác bao gồm độ bão hòa màu ( $C^*_{ab}$ ), tông màu ( $h^*_{ab}$ ) và sự khác biệt màu sắc tổng thể ( $\Delta E^*_{ab}$ ) cũng thể hiện xu hướng tương tự. Độ bão hòa màu cao nhất ở nhóm bổ sung astaxanthin tổng hợp (28,7) và thấp nhất ở nhóm đối chứng (19,7) ( $p < 0,05$ ). Ngược lại, tông màu cao nhất ở nhóm đối chứng (65,1) và thấp nhất ở nhóm bổ sung astaxanthin tổng hợp (56,0) ( $p < 0,05$ ). Sự khác biệt màu sắc tổng thể ( $\Delta E^*_{ab}$ ) so với đối chứng thể hiện rõ rệt hơn khi bổ sung astaxanthin tổng hợp, vỏ tôm và copepoda so với các nguồn trứng ốc và trứng gà. Mặc dù vậy, không có sự khác biệt đáng kể giữa các nhóm bổ sung astaxanthin tổng hợp, vỏ tôm và copepoda ở cả ba chỉ tiêu này ( $p > 0,05$ ; Hình 3.10B).

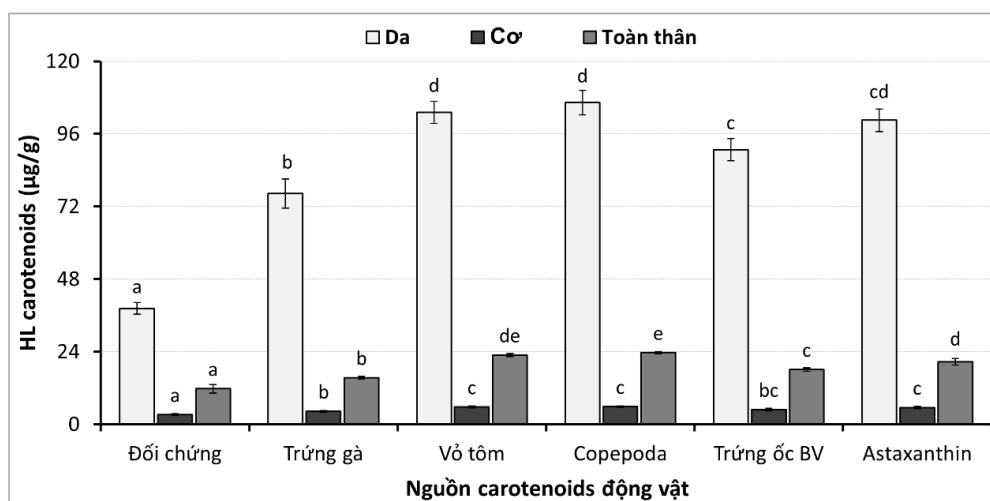


**Hình 3.11: Màu sắc của cá khoang cổ nemo được nuôi với các nguồn carotenoids động vật bổ sung khác nhau**

Nhìn chung, kết quả chứng minh rằng bổ sung carotenoids từ astaxanthin tổng hợp, vỏ tôm và copepoda là hiệu quả nhất trong việc cải thiện màu sắc da ở cá khoang cổ nemo, tạo màu đỏ đậm và rực rỡ hơn so với các nhóm còn lại, đặc biệt là nhóm đối chứng (Hình 3.11).

### 3.2.2.2. Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá

Kết quả nghiên cứu cho thấy việc bổ sung các nguồn carotenoids khác nhau có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong da, cơ và toàn thân cá khoang cổ nemo (Hình 3.12). Cụ thể, hàm lượng carotenoids tích lũy trong da tăng mạnh ở các nhóm bổ sung carotenoids so với nhóm đối chứng, với mức tăng cao nhất từ 162 - 177% ở các nhóm bổ sung copepoda, vỏ tôm và astaxanthin tổng hợp ( $p < 0,05$ ).



**Hình 3.12: Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá khoang cổ nemo (µg/g) được nuôi với các nguồn carotenoids động vật bổ sung khác nhau**  
 Các giá trị được trình bày dưới dạng Mean ± SE (n = 3). Các cột với các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Xu hướng tương tự cũng được quan sát thấy đối với hàm lượng carotenoids trong cơ và toàn thân cá. Các nhóm cá được cho ăn thức ăn bổ sung carotenoids từ copepoda, vỏ tôm và astaxanthin tổng hợp có hàm lượng carotenoids trong cơ cao nhất, dao động từ 5,57 - 5,83  $\mu\text{g/g}$ . Đối với hàm lượng carotenoids toàn thân, các giá trị cao nhất đạt được ở nhóm bổ sung copepoda và vỏ tôm, từ 22,9 - 23,7  $\mu\text{g/g}$ . Ngược lại, nhóm đối chứng không được bổ sung carotenoids có hàm lượng carotenoids tích lũy trong cơ và toàn thân thấp nhất, lần lượt là 3,20 và 11,8  $\mu\text{g/g}$  ( $p < 0,05$ ; Hình 3.12).

Các kết quả phân tích trên chứng minh hiệu quả tích lũy carotenoids mạnh mẽ trong cơ thể cá khi được bổ sung các nguồn carotenoids, đặc biệt là từ copepoda, vỏ tôm và astaxanthin tổng hợp. Điều này hoàn toàn phù hợp với sự cải thiện đáng kể các chỉ tiêu màu sắc trên da cá ở các nhóm tương ứng.

### 3.2.2.3. Các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn

#### *Các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống:*

Kết quả nghiên cứu cho thấy việc bổ sung các nguồn carotenoids vào thức ăn có tác động tích cực đến tăng trưởng của cá khoang cổ nemo (Bảng 3.7). Cá được cho ăn thức ăn bổ sung carotenoids từ vỏ tôm và copepoda có tốc độ tăng trưởng chiều dài và khối lượng đặc trưng ( $\text{SGR}_L$  và  $\text{SGR}_w$ ) cao hơn đáng kể so với nhóm đối chứng, tương ứng tăng 21,2 - 24,2% và 30,4 - 34,8% ( $p < 0,05$ ).

**Bảng 3.7: Tăng trưởng và tỷ lệ sống của cá khoang cổ nemo được nuôi với các nguồn carotenoids động vật bổ sung khác nhau**

Chỉ tiêu	Nguồn carotenoids bổ sung					
	Đối chứng	Trứng gà	Vỏ tôm	Copepoda	Trứng OBV	Astaxanthin
$L_1$ (cm)	$3,14 \pm 0,02$	$3,14 \pm 0,02$	$3,14 \pm 0,02$	$3,14 \pm 0,02$	$3,14 \pm 0,02$	$3,14 \pm 0,02$
$W_1$ (g)	$0,54 \pm 0,02$	$0,54 \pm 0,02$	$0,54 \pm 0,02$	$0,54 \pm 0,02$	$0,54 \pm 0,02$	$0,54 \pm 0,02$
$L_2$ (cm)	$3,92 \pm 0,03^a$	$4,07 \pm 0,02^b$	$4,23 \pm 0,02^{cd}$	$4,27 \pm 0,01^d$	$4,17 \pm 0,03^c$	$4,04 \pm 0,04^b$
$W_2$ (g)	$1,08 \pm 0,02^a$	$1,20 \pm 0,03^{bc}$	$1,33 \pm 0,03^d$	$1,36 \pm 0,01^d$	$1,25 \pm 0,02^c$	$1,17 \pm 0,02^b$
$\text{SGR}_L$ (%/ngày)	$0,30 \pm 0,01^a$	$0,35 \pm 0,01^b$	$0,40 \pm 0,01^{cd}$	$0,41 \pm 0,01^d$	$0,38 \pm 0,01^c$	$0,33 \pm 0,01^b$
$\text{SGR}_w$ (%/ngày)	$0,92 \pm 0,03^a$	$1,06 \pm 0,03^{bc}$	$1,20 \pm 0,03^d$	$1,24 \pm 0,01^d$	$1,12 \pm 0,02^c$	$1,03 \pm 0,02^b$
$\text{CV}_L$ (%)	$12,7 \pm 0,48$	$11,1 \pm 0,59$	$9,46 \pm 1,03$	$9,73 \pm 0,64$	$11,2 \pm 0,55$	$11,4 \pm 1,12$
$\text{CV}_w$ (%)	$39,9 \pm 0,33^b$	$34,4 \pm 1,40^{ab}$	$29,0 \pm 1,94^a$	$29,2 \pm 2,44^a$	$35,3 \pm 1,89^b$	$35,1 \pm 1,75^b$
$\text{CF}$ ( $\text{g/cm}^3$ )	$1,78 \pm 0,01$	$1,78 \pm 0,02$	$1,76 \pm 0,02$	$1,76 \pm 0,01$	$1,73 \pm 0,01$	$1,78 \pm 0,03$
$\text{SR}$ (%)	$95,6 \pm 2,22$	$95,6 \pm 2,22$	$97,8 \pm 2,22$	$97,8 \pm 2,22$	$95,6 \pm 2,22$	$95,6 \pm 2,22$

Số liệu được trình bày dưới dạng Mean  $\pm$  SE ( $n = 3$ ). Các giá trị trung bình mang ký tự chữ cái khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).



Hệ số phân đàn khối lượng ( $CV_w$ ) của cá ở hai nghiệm thức này cũng thấp hơn, thể hiện sự đồng đều về kích cỡ tốt hơn so với đối chứng ( $p < 0,05$ ). Bên cạnh đó, cá ở các nhóm bổ sung carotenoids từ vỏ tôm và copepoda có các chỉ tiêu tăng trưởng và  $CV_w$  tương đương nhau, và vượt trội hơn so với nhóm bổ sung astaxanthin tổng hợp ( $p < 0,05$ ). Tuy nhiên, hệ số phân đàn chiều dài ( $CV_L$ ), hệ số điều kiện (CF) và tỷ lệ sống không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ( $p > 0,05$ ).

#### *Hiệu quả sử dụng thức ăn:*

Các chỉ tiêu đánh giá hiệu quả sử dụng thức ăn cho thấy sự khác biệt đáng kể giữa các nghiệm thức. Cá ở nhóm bổ sung carotenoids từ vỏ tôm có hệ số chuyển đổi thức ăn (FCR) thấp nhất, giảm 22,6% so với đối chứng ( $p < 0,05$ ), và tương đương với nhóm bổ sung copepoda ( $p > 0,05$ ). Hiệu quả sử dụng protein thức ăn (PER) cũng đạt kết quả tốt nhất ở hai nhóm bổ sung carotenoids tự nhiên từ vỏ tôm và copepoda, trong khi nhóm đối chứng và bổ sung astaxanthin tổng hợp có kết quả thấp nhất ( $p < 0,05$ ).

**Bảng 3.8: Hiệu quả sử dụng thức ăn của cá khoang cổ nemo được nuôi với các nguồn carotenoids động vật bổ sung khác nhau**

Chỉ tiêu	Nguồn carotenoids bổ sung					
	Đối chứng	Trứng gà	Vỏ tôm	Copepoda	Trứng OBV	Astaxanthin
<b>FI</b> (g/con)	1,05 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,17 ± 0,05 <sup>ab</sup>	1,20 ± 0,05 <sup>abc</sup>	1,32 ± 0,08 <sup>bc</sup>	1,36 ± 0,03 <sup>c</sup>	1,21 ± 0,03 <sup>abc</sup>
<b>FCR</b>	1,95 ± 0,08 <sup>c</sup>	1,80 ± 0,15 <sup>bc</sup>	1,51 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,60 ± 0,08 <sup>ab</sup>	1,91 ± 0,01 <sup>c</sup>	1,93 ± 0,10 <sup>c</sup>
<b>PER</b>	0,94 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,03 ± 0,09 <sup>ab</sup>	1,20 ± 0,01 <sup>c</sup>	1,14 ± 0,05 <sup>bc</sup>	0,96 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,95 ± 0,05 <sup>a</sup>

Số liệu được trình bày dưới dạng Mean ± SE ( $n = 3$ ). Các giá trị trung bình mang ký tự chữ cái khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

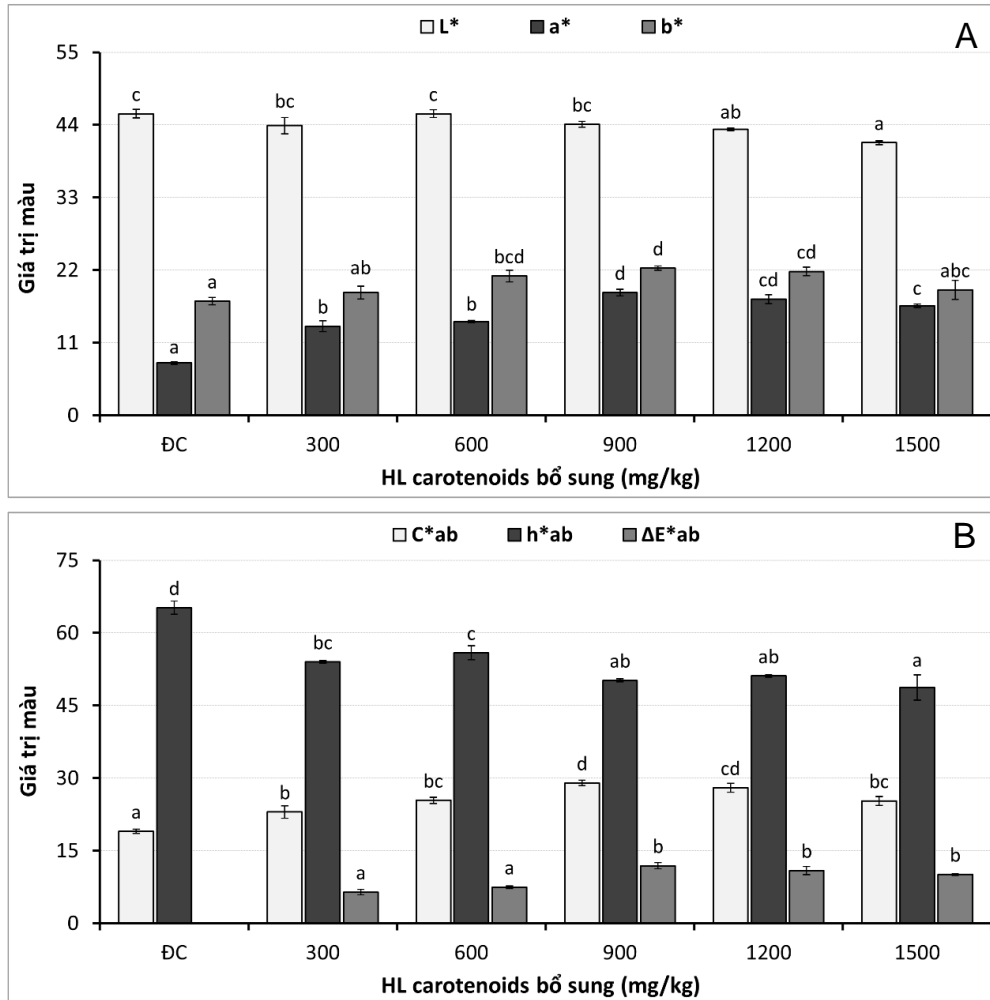
Tóm lại, việc bổ sung các nguồn carotenoids tự nhiên, đặc biệt là từ vỏ tôm và copepoda, là một chiến lược hiệu quả để cải thiện tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá khoang cổ nemo. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy tiềm năng thay thế astaxanthin tổng hợp bằng các nguồn carotenoids tự nhiên nhằm thúc đẩy hiệu suất sản xuất ở loài cá cảnh này.

### **3.2.3. Ảnh hưởng của hàm lượng carotenoids từ ớt chuông**

#### **3.2.3.1. Màu sắc da cá**

Kết quả nghiên cứu cho thấy hàm lượng carotenoids từ ớt chuông bổ sung vào thức ăn có ảnh hưởng đáng kể đến cường độ màu sắc da cá khoang cổ nemo (Hình 3.13). Độ đỏ màu da ( $a^*$ ) tăng mạnh và đạt giá trị cao nhất ở mức bổ sung 900 mg/kg, vượt trội

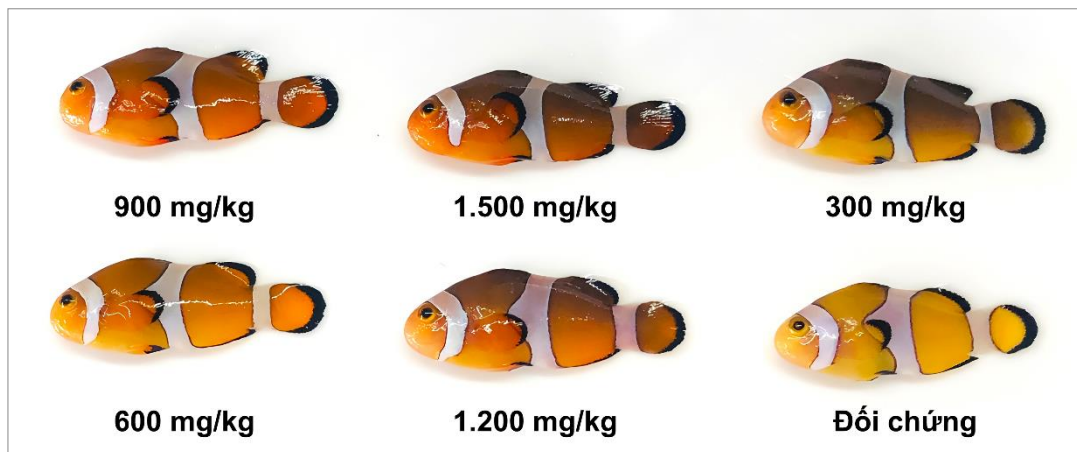
hơn 134% so với đối chứng (18,6 so với 7,85;  $p < 0,05$ ). Xu hướng tương tự cũng được ghi nhận ở độ vàng màu da ( $b^*$ ) và độ bão hòa màu sắc ( $C^*_{ab}$ ), với kết quả tốt nhất ở mức bổ sung 900 mg/kg và kém nhất ở nhóm đối chứng (lần lượt là 22,3 và 29,0 so với 17,3 và 19,0;  $p < 0,05$ ) (Hình 3.13A).



**Hình 3.13: Các chỉ số màu sắc da của cá khoang cổ nemo được nuôi với các hàm lượng khác nhau của carotenoids từ ớt chuông: (A)  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  và (B)  $C^*_{ab}$ ,  $h^*_{ab}$ ,  $\Delta E^*_{ab}$**   
 Các giá trị được trình bày dưới dạng Mean  $\pm$  SE ( $n = 3$ ). Các cột với các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Ngược lại, độ sáng màu da ( $L^*$ ) giảm tương ứng với sự tăng của hàm lượng carotenoids bổ sung, đạt giá trị tối ưu ở nhóm bổ sung  $\leq 900$  mg/kg và thấp nhất ở nhóm 1.500 mg/kg ( $p < 0,05$ ). Chỉ số tông màu ( $h^*_{ab}$ ) cao nhất ở đối chứng (65,2) và thấp nhất ở các mức bổ sung  $\geq 900$  mg/kg, cho thấy màu da cá có xu hướng vàng nhạt ở đối chứng và chuyển sang màu đỏ đậm hơn ở các mức bổ sung cao ( $p < 0,05$ ). Kết hợp với chỉ số  $C^*_{ab}$ , có thể thấy rằng cá ở nhóm bổ sung  $\geq 900$  mg/kg có màu da cam đỏ rực rỡ, sắc nét và sâu đậm hơn so với đối chứng ( $p < 0,05$ ). Sự khác biệt tổng thể về màu sắc da cá so với đối chứng ( $\Delta E^*_{ab}$ ) ở nhóm bổ sung 900 mg/kg cũng vượt trội hơn hẳn so với nhóm bổ sung  $\leq 600$  mg/kg (10,1 - 11,9 so với 6,44 - 7,48;  $p < 0,05$ ) (Hình 3.13B).

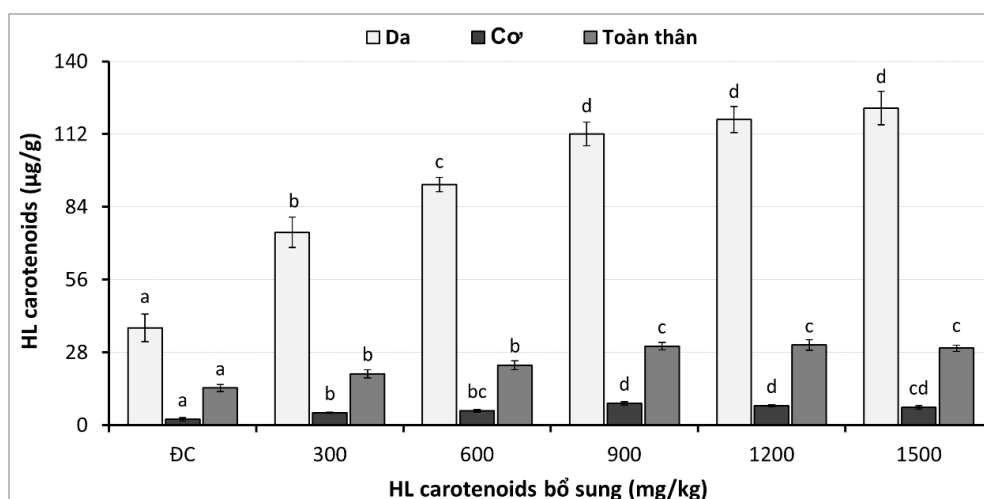
Đáng chú ý, việc tăng hàm lượng bổ sung vượt quá 900 mg/kg không mang lại cải thiện thêm về màu sắc, thậm chí còn có xu hướng suy giảm ở hầu hết các chỉ tiêu quan trọng ( $a^*$ ,  $b^*$ ,  $L^*$ ,  $C^*_{ab}$  và  $\Delta E^*_{ab}$ ). Điều này cho thấy mức bổ sung 900 mg/kg là tối ưu để đáp ứng nhu cầu và mục tiêu tăng cường màu sắc ở cá khoang cổ nemo (Hình 3.14).



**Hình 3.14: Màu sắc của cá khoang cổ nemo được nuôi với các hàm lượng khác nhau của carotenoids bổ sung từ ớt chuông**

### 3.2.3.2. Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá

Hàm lượng carotenoids bổ sung từ ớt chuông vào thức ăn có ảnh hưởng đáng kể đến sự tích lũy carotenoids tổng số trong cơ thể cá khoang cổ nemo (Hình 3.15). Cụ thể, hàm lượng carotenoids tích lũy trên da, trong cơ và toàn thân cá tăng tỷ lệ thuận với mức tăng của hàm lượng carotenoids bổ sung, đặc biệt là trên da. Mức bổ sung 900 - 1.500 mg/kg cho kết quả tích lũy cao nhất, trong khi nghiệm thức đối chứng có sự tích lũy thấp nhất ( $p < 0,05$ ).



**Hình 3.15: Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy ở cá khoang cổ nemo (µg/g) được nuôi với các hàm lượng khác nhau của carotenoids bổ sung từ ớt chuông**

Các giá trị được trình bày dưới dạng Mean  $\pm$  SE ( $n = 3$ ). Các cột với các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

So với đối chứng, mức độ tích lũy carotenoids tổng số tăng mạnh ở các nghiệm thức bổ sung, lần lượt đạt 199,7 - 226,2% trên da, 204,0 - 270,5% trong cơ và 107,0 - 115,4% đối với toàn thân cá ( $p < 0,05$ ). Tuy nhiên, việc tăng hàm lượng carotenoids bổ sung vượt quá 900 mg/kg không mang lại cải thiện thêm về mức độ tích lũy carotenoids tổng số trong cơ thể cá, thậm chí có xu hướng suy giảm nhẹ đối với hàm lượng tích lũy trong cơ và toàn thân (Hình 3.15).

Kết hợp với các kết quả về chỉ số màu sắc da cá (Hình 3.14), có thể khẳng định mức bổ sung 900 mg/kg là tối ưu để đáp ứng nhu cầu tích lũy carotenoids và tăng cường màu sắc ở cá khoang cổ nemo.

### 3.2.3.3. Các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn

*Các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống:*

Hàm lượng carotenoids từ ớt chuông bổ sung vào thức ăn ảnh hưởng đáng kể đến tốc độ tăng trưởng chiều dài và khối lượng đặc trưng (SGR<sub>L</sub> và SGR<sub>w</sub>) của cá khoang cổ nemo (Bảng 3.9).

**Bảng 3.9: Tăng trưởng và tỷ lệ sống của cá khoang cổ nemo được nuôi với các hàm lượng carotenoids bổ sung từ ớt chuông khác nhau**

Chỉ tiêu	Hàm lượng carotenoids bổ sung (mg/kg)					
	Đối chứng	300	600	900	1.200	1.500
L <sub>1</sub> (cm)	3,40 ± 0,04	3,40 ± 0,04	3,40 ± 0,04	3,40 ± 0,04	3,40 ± 0,04	3,40 ± 0,04
W <sub>1</sub> (g)	0,72 ± 0,02	0,72 ± 0,02	0,72 ± 0,02	0,72 ± 0,02	0,72 ± 0,02	0,72 ± 0,02
L <sub>2</sub> (cm)	4,02 ± 0,04 <sup>a</sup>	4,05 ± 0,02 <sup>a</sup>	4,07 ± 0,06 <sup>a</sup>	4,26 ± 0,03 <sup>b</sup>	4,21 ± 0,02 <sup>b</sup>	4,31 ± 0,06 <sup>b</sup>
W <sub>2</sub> (g)	1,22 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,23 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,27 ± 0,03 <sup>a</sup>	1,44 ± 0,03 <sup>b</sup>	1,41 ± 0,05 <sup>b</sup>	1,46 ± 0,06 <sup>b</sup>
SGR <sub>L</sub> (%/ngày)	0,22 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,23 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,24 ± 0,02 <sup>ab</sup>	0,30 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,28 ± 0,01 <sup>bc</sup>	0,31 ± 0,02 <sup>c</sup>
SGR <sub>w</sub> (%/ngày)	0,70 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,72 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,76 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,93 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,89 ± 0,04 <sup>b</sup>	0,94 ± 0,06 <sup>b</sup>
CV <sub>L</sub> (%)	12,2 ± 0,96	8,86 ± 0,87	9,66 ± 0,23	9,53 ± 0,22	9,88 ± 1,14	10,4 ± 0,90
CV <sub>w</sub> (%)	31,7 ± 1,8	25,7 ± 1,75	26,3 ± 1,03	27,3 ± 0,57	30,7 ± 3,16	32,1 ± 1,66
CF (g/cm <sup>3</sup> )	1,88 ± 0,03	1,90 ± 0,01	1,90 ± 0,04	1,88 ± 0,02	1,87 ± 0,03	1,81 ± 0,01
SR (%)	95,3 ± 2,33	95,3 ± 2,33	97,7 ± 2,33	97,7 ± 2,33	95,3 ± 2,33	97,7 ± 2,33

Số liệu được trình bày dưới dạng Mean ± SE (n = 3). Các giá trị trung bình mang ký tự chữ cái khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Cá ở nhóm bổ sung  $\geq 900$  mg/kg thức ăn có SGR<sub>L</sub> và SGR<sub>w</sub> cao hơn so với các mức bổ sung  $\leq 600$  mg/kg, lần lượt từ 0,28 - 0,31%/ngày và 0,89 - 0,94%/ngày so với 0,22 - 0,24%/ngày và 0,70 - 0,76%/ngày ( $p < 0,05$ ). Mức cải thiện về SGR<sub>L</sub> và SGR<sub>w</sub> ở nhóm bổ sung  $\geq 900$  mg/kg cao hơn đối chứng lần lượt 27,3 - 40,9% và 27,1 - 34,3%. Tuy nhiên, không có tác động đáng kể của hàm lượng carotenoids bổ sung đến hệ số phân đàn chiều dài, khối lượng, hệ số điều kiện và tỷ lệ sống, dao động lần lượt từ 8,86 - 12,2%, 25,7 - 31,7%, 1,81 - 1,90 và 95,3 - 97,7% ( $p > 0,05$ ; Bảng 3.9).

Kết quả chứng minh rằng việc bổ sung carotenoids từ ớt chuông vào thức ăn có tác động tích cực đáng kể đến sự tăng trưởng chiều dài và khối lượng của cá khoang cổ nemo, với mức bổ sung từ 900 mg/kg là tối ưu.

#### *Hiệu quả sử dụng thức ăn:*

Hàm lượng carotenoids từ ớt chuông bổ sung vào thức ăn cũng tác động đáng kể đến hiệu quả sử dụng thức ăn của cá khoang cổ nemo (Bảng 3.10). Các mức bổ sung  $\geq 900$  mg/kg thức ăn đã tăng lượng thức ăn ăn vào (FI) của cá so với các nghiệm thức bổ sung  $\leq 600$  mg/kg, lần lượt từ 1,24 - 1,32 g/con so với 0,97 - 1,05 g/con ( $p < 0,05$ ).

Mức bổ sung 900 mg/kg cho kết quả tốt nhất về hệ số chuyển đổi thức ăn (FCR) và hiệu quả sử dụng protein thức ăn (PER), trong khi nghiệm thức đối chứng cho kết quả kém nhất. FCR giảm 14,9% và PER tăng 17,8% so với đối chứng ( $p < 0,05$ ). Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về FCR và PER giữa các mức bổ sung 900 và 1.500 mg/kg hay 600 mg/kg và đối chứng ( $p > 0,05$ ; Bảng 3.10).

**Bảng 3.10: Hiệu quả sử dụng thức ăn của cá khoang cổ nemo được nuôi với các hàm lượng carotenoids bổ sung từ ớt chuông khác nhau**

Chỉ tiêu	Hàm lượng carotenoids bổ sung (mg/kg)					
	Đối chứng	300	600	900	1.200	1.500
<b>FI</b> (g/con)	1,01 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,97 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,07 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,24 ± 0,07 <sup>b</sup>	1,26 ± 0,06 <sup>b</sup>	1,32 ± 0,08 <sup>b</sup>
<b>FCR</b>	2,02 ± 0,03 <sup>d</sup>	1,88 ± 0,03 <sup>bc</sup>	1,96 ± 0,04 <sup>cd</sup>	1,72 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,85 ± 0,05 <sup>bc</sup>	1,79 ± 0,05 <sup>ab</sup>
<b>PER</b>	0,90 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,97 ± 0,02 <sup>bc</sup>	0,93 ± 0,02 <sup>ab</sup>	1,06 ± 0,01 <sup>d</sup>	0,98 ± 0,03 <sup>bc</sup>	1,02 ± 0,03 <sup>cd</sup>

Số liệu được trình bày dưới dạng Mean ± SE (n = 3). Các giá trị trung bình mang ký tự chữ cái khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Như vậy, việc bổ sung carotenoids từ ớt chuông vào thức ăn đã được chứng minh là một chiến lược hiệu quả để cải thiện đáng kể hiệu quả sử dụng thức ăn ở cá khoang cổ nemo, với mức bổ sung 900 mg/kg là tối ưu.

### 3.2.3.4. Thành phần sinh hóa cơ thể và hoạt tính enzyme tiêu hóa của cá

#### Thành phần sinh hóa cơ thể cá:

Hàm lượng carotenoids bổ sung từ ớt chuông có tác động đáng kể đến thành phần protein và lipid cơ thể cá khoang cổ nemo, nhưng không ảnh hưởng đến độ ẩm và hàm lượng tro (Bảng 3.11). Cá được bổ sung carotenoids từ 600 mg/kg thức ăn trở lên có hàm lượng protein cao hơn so với nhóm đối chứng, từ 17,7 - 18,5% so với 16,2% khối lượng ướt ( $p < 0,05$ ). Ngược lại, hàm lượng lipid cơ thể cao hơn ở nhóm đối chứng và bổ sung 300 mg/kg so với nhóm bổ sung 900 và 1.500 mg/kg, lần lượt từ 6,51 - 6,62% so với 5,28 - 5,40% khối lượng ướt ( $p < 0,05$ ).

**Bảng 3.11: Thành phần sinh hóa cơ thể của cá khoang cổ nemo (% khối lượng ướt) được nuôi với các hàm lượng carotenoids bổ sung từ ớt chuông**

Chỉ tiêu	Hàm lượng carotenoids bổ sung (mg/kg)					
	0 (ĐC)	300	600	900	1.200	1.500
Moiture (%)	72,7 ± 0,30	72,3 ± 0,40	71,9 ± 0,20	71,9 ± 0,48	71,8 ± 0,25	71,9 ± 0,44
Protein (%)	16,2 ± 0,64 <sup>a</sup>	16,9 ± 0,33 <sup>ab</sup>	17,7 ± 0,46 <sup>bc</sup>	18,4 ± 0,33 <sup>c</sup>	18,1 ± 0,29 <sup>bc</sup>	18,5 ± 0,29 <sup>c</sup>
Lipid (%)	6,62 ± 0,29 <sup>b</sup>	6,51 ± 0,31 <sup>b</sup>	6,10 ± 0,33 <sup>ab</sup>	5,40 ± 0,33 <sup>a</sup>	5,73 ± 0,23 <sup>ab</sup>	5,28 ± 0,26 <sup>a</sup>
Tro (%)	4,13 ± 0,19	4,14 ± 0,21	4,17 ± 0,18	3,95 ± 0,32	4,11 ± 0,13	4,09 ± 0,20

Số liệu được trình bày dưới dạng Mean ± SE ( $n = 3$ ). Các giá trị trung bình mang ký tự chữ cái khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Điều đặc biệt là, hàm lượng protein và lipid cơ thể cá biến đổi trái ngược nhau tỉ lệ thuận với mức tăng của hàm lượng carotenoids bổ sung. Protein có xu hướng tăng, ngược lại lipid giảm theo mức bổ sung carotenoids tăng dần. Tuy nhiên, việc bổ sung carotenoids không tác động đáng kể đến hàm lượng tro (3,95 - 4,17%) và độ ẩm (71,8 - 72,7%) cơ thể cá ( $p > 0,05$ ) (Bảng 3.11).

#### Hoạt tính của các enzyme tiêu hóa của cá:

Việc bổ sung carotenoids từ ớt chuông vào khẩu phần ăn có tác động tích cực đến hoạt tính của các enzyme tiêu hóa trong cơ thể cá khoang cổ nemo (Bảng 3.12).

**Bảng 3.12: Hoạt tính các enzyme tiêu hóa trong cơ quan tiêu hóa của cá khoang cổ nemo (U/mg) được nuôi với các hàm lượng carotenoids bổ sung từ ớt chuông**

Chỉ tiêu	Hàm lượng carotenoids bổ sung (mg/kg)					
	0 (ĐC)	300	600	900	1.200	1.500
Amylase	9,82 ± 1,73	11,5 ± 1,61	12,0 ± 1,91	13,5 ± 1,74	13,0 ± 1,89	13,6 ± 1,17
Protease	1,57 ± 0,31 <sup>a</sup>	1,82 ± 0,15 <sup>ab</sup>	2,50 ± 0,27 <sup>bc</sup>	2,76 ± 0,22 <sup>c</sup>	2,70 ± 0,26 <sup>c</sup>	2,82 ± 0,25 <sup>c</sup>
Lipase	2,96 ± 0,62 <sup>a</sup>	3,55 ± 0,33 <sup>a</sup>	4,98 ± 0,43 <sup>b</sup>	5,40 ± 0,36 <sup>b</sup>	5,22 ± 0,37 <sup>b</sup>	5,59 ± 0,36 <sup>b</sup>

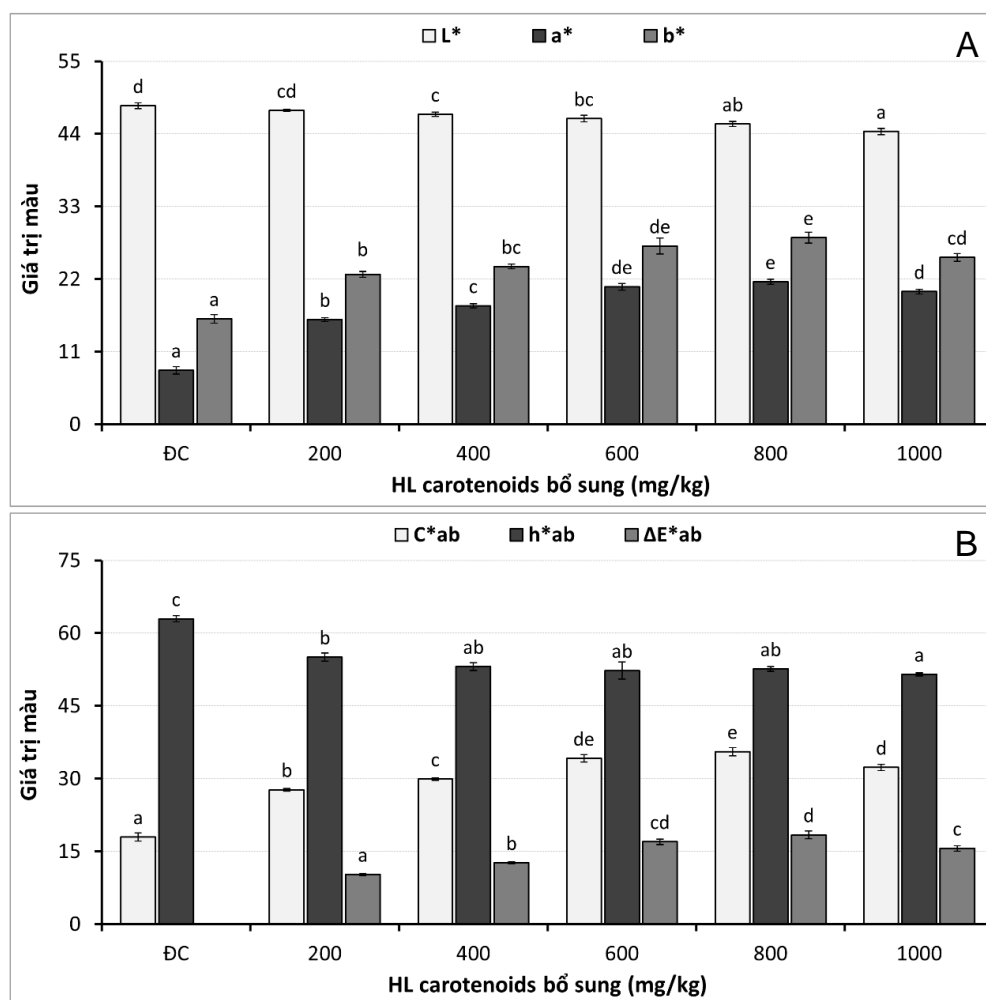
Số liệu được trình bày dưới dạng Mean ± SE ( $n = 3$ ). Các giá trị trung bình mang ký tự chữ cái khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Hoạt tính của các enzyme tiêu hóa tăng tỉ lệ thuận với mức tăng của hàm lượng carotenoids bổ sung. Hoạt tính enzyme protease ở mức bổ sung từ 900 mg/kg trở lên cao hơn đáng kể so với mức 300 mg/kg và đối chứng, từ 2,70 - 2,82 U/mg so với 1,57 - 1,82 U/mg ( $p < 0,05$ ). Tương tự, hoạt tính enzyme lipase ở mức bổ sung từ 600 mg/kg trở lên cũng cao hơn so với mức 0 - 300 mg/kg. Hoạt tính enzyme amylase tăng tỉ lệ thuận với hàm lượng carotenoids bổ sung, tuy nhiên sự khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, dao động từ 9,82 - 13,6 U/mg (Bảng 3.12).

### 3.2.4. Ảnh hưởng của hàm lượng carotenoids từ vỏ tôm

#### 3.2.4.1. Màu sắc da cá

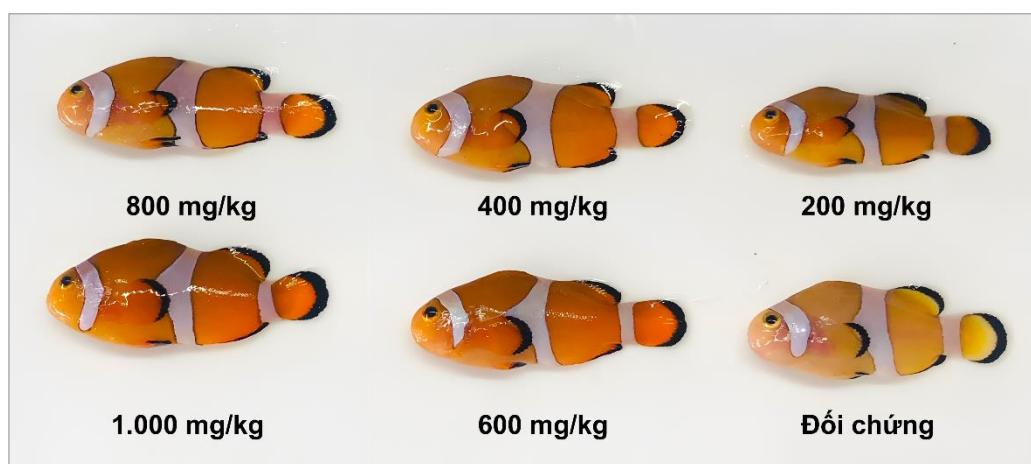
Bổ sung carotenoids vào khẩu phần ăn của cá khoang cổ nemo đã cải thiện đáng kể các chỉ số màu sắc da cá so với đối chứng (Hình 3.16). Độ đỏ màu da cá (chỉ số  $a^*$ ) đạt cao nhất ở mức bổ sung 800 mg/kg thức ăn, tăng 163,4% so với đối chứng ( $p < 0,05$ ). Tuy nhiên, không có sự khác biệt đáng kể về chỉ số  $a^*$  giữa hai mức bổ sung 800 và 600 mg/kg, lần lượt là 21,6 và 20,9 ( $p > 0,05$ ) (Hình 3.16A).



**Hình 3.16: Các chỉ số màu sắc da của cá khoang cổ nemo được nuôi với các hàm lượng carotenoids bổ sung khác nhau: (A)  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  và (B)  $C^*_{ab}$ ,  $h^*_{ab}$ ,  $\Delta E^*_{ab}$**   
 Các giá trị được trình bày dưới dạng Mean  $\pm$  SE ( $n = 3$ ). Các cột với các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Xu hướng tương tự cũng được ghi nhận với độ vàng màu da ( $b^*$ ) và độ bão hòa màu da ( $C^*_{ab}$ ), với kết quả tốt nhất ở mức bổ sung 600 - 800 mg/kg và thấp nhất ở nhóm đối chứng. Điều này cho thấy mức bổ sung 600 - 800 mg/kg giúp cá đạt được màu da đỏ đậm, sắc nét và rực rỡ hơn so với các mức bổ sung khác và đối chứng. Sự khác biệt màu sắc tổng thể của da cá ở nhóm bổ sung so với đối chứng ( $\Delta E^*_{ab}$ ) cũng thể hiện rõ rệt hơn ở mức bổ sung 600 - 800 mg/kg so với 200 - 400 mg/kg ( $p < 0,05$ ; Hình 3.16B).

Ngược lại, chỉ số độ sáng màu da ( $L^*$ ) và tông màu ( $h^*_{ab}$ ) giảm theo mức tăng của hàm lượng carotenoids bổ sung. Giá trị  $L^*$  cao nhất ở đối chứng (48,3) và thấp nhất ở mức bổ sung 1.000 mg/kg (44,4) ( $p < 0,05$ ). Tương tự, giá trị  $h^*_{ab}$  cao nhất ở đối chứng và thấp nhất ở mức bổ sung 1.000 mg/kg, lần lượt là 63,0 và 51,5 ( $p < 0,05$ ). Những kết quả này cho thấy rằng việc tăng quá cao hàm lượng carotenoids bổ sung (800 - 1.000 mg/kg) có thể làm da cá tối màu hơn, trong khi ở đối chứng, màu da cá có xu hướng sáng hơn và thiên về màu vàng nhạt (Hình 3.16).



**Hình 3.17: Màu sắc của cá khoang cổ nemo được nuôi với các hàm lượng carotenoids bổ sung khác nhau**

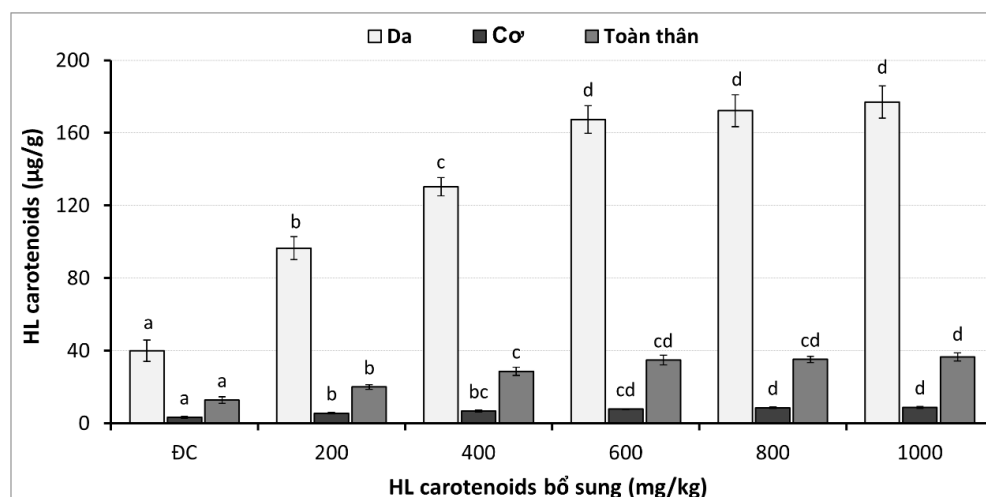
Tuy nhiên, do độ đỏ - cam màu da ( $a^*$ ,  $b^*$ ) là tiêu chí quan trọng nhất trong đánh giá chất lượng màu sắc của cá khoang cổ nemo, các giá trị tích cực ở mức bổ sung 600 - 800 mg/kg củng cố giả thuyết đây là phạm vi phù hợp với nhu cầu của loài cá này, giúp chúng đạt được màu sắc đỏ đậm và rực rỡ nhất (Hình 3.17).

#### 3.2.4.2. Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá

Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá khoang cổ nemo được cho ăn chế độ bổ sung carotenoids khác nhau từ vỏ tôm được trình bày trên Hình 3.18. Kết quả cho thấy hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trên da cá tăng tỷ lệ thuận với hàm lượng carotenoids bổ sung vào thức ăn. Mức bổ sung 600 - 1.000 mg/kg đạt cao nhất, tăng 317,2 - 341,4% so với đối chứng ( $p < 0,05$ ).



Xu hướng tương tự cũng được ghi nhận với hàm lượng carotenoids tích lũy trong cơ và toàn thân cá. Mức cao nhất được quan sát ở mức bổ sung 800 - 1.000 mg/kg trong cơ và 1.000 mg/kg trong thân cá, với mức tăng dao động từ 154,9% - 183,7% so với đối chứng ( $p < 0,05$ ). Đáng chú ý, sự tích lũy carotenoids ở ba mức bổ sung 600 - 1.000 mg/kg không có sự khác biệt đáng kể ở cả da, cơ và toàn thân ( $p > 0,05$ ). Kết quả này cho thấy việc gia tăng hàm lượng carotenoids bổ sung trên 600 mg/kg không cải thiện đáng kể sự tích lũy carotenoids tổng số trong cơ thể cá.



**Hình 3.18: Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá khoang cổ nemo (µg/g) được nuôi với các hàm lượng sắc tố bổ sung khác nhau**

Các giá trị được trình bày dưới dạng Mean ± SE ( $n = 3$ ). Các cột với các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Hơn nữa, sự tích lũy carotenoids từ nguồn vỏ tôm bổ sung chủ yếu diễn ra trên da cá, với lượng lớn nhất (167,3 - 177,0 µg/g), trong khi lượng rất nhỏ tích lũy trong cơ cá (7,86 - 8,85 µg/g) ở ba hàm lượng bổ sung lớn nhất (Hình 3.18). Những phát hiện này khẳng định vai trò của nguồn carotenoids từ vỏ tôm trong việc tăng cường hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá khoang cổ nemo, và mức bổ sung từ 600 mg/kg được xác định là thích hợp cho loài cá này.

#### 3.2.4.3. Các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn

Các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống:

Nhìn chung, bổ sung carotenoids cải thiện đáng kể tăng trưởng so với đối chứng (Bảng 3.13). Cá được cho ăn khẩu phần bổ sung 600 và 800 mg/kg đạt tốc độ tăng trưởng chiều dài đặc trưng (SGRL) lớn nhất (0,40 - 0,41%/ngày), cao hơn 37,9 - 41,4%

so với đối chứng (0,29%/ngày) ( $p < 0,05$ ). Tương tự, tốc độ tăng trưởng khối lượng đặc trưng (SGR<sub>w</sub>) cao nhất ở mức bổ sung 800 mg/kg, tăng 42,7% so với đối chứng ( $p < 0,05$ ). Không có sự khác biệt đáng kể về SGR<sub>L</sub> và SGR<sub>w</sub> giữa các mức bổ sung 600 – 1.000 mg/kg ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 3.13: Tăng trưởng và tỷ lệ sống của cá khoang cổ nemo được nuôi với các hàm lượng carotenoids bổ sung khác nhau**

Chỉ tiêu	Hàm lượng carotenoids bổ sung (mg/kg)					
	Control	200	400	600	800	1.000
L <sub>1</sub> (cm)	3,00 ± 0,05	3,00 ± 0,05	3,00 ± 0,05	3,00 ± 0,05	3,00 ± 0,05	3,00 ± 0,05
W <sub>1</sub> (g)	0,58 ± 0,03	0,58 ± 0,03	0,58 ± 0,03	0,58 ± 0,03	0,58 ± 0,03	0,58 ± 0,03
L <sub>2</sub> (cm)	3,74 ± 0,02 <sup>a</sup>	3,85 ± 0,01 <sup>b</sup>	3,95 ± 0,01 <sup>c</sup>	4,05 ± 0,02 <sup>d</sup>	4,07 ± 0,03 <sup>d</sup>	4,03 ± 0,04 <sup>cd</sup>
W <sub>2</sub> (g)	1,02 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,10 ± 0,01 <sup>b</sup>	1,20 ± 0,02 <sup>c</sup>	1,28 ± 0,02 <sup>d</sup>	1,29 ± 0,02 <sup>d</sup>	1,27 ± 0,04 <sup>cd</sup>
SGR <sub>L</sub> (%/ngày)	0,29 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,33 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,37 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,40 ± 0,01 <sup>d</sup>	0,41 ± 0,01 <sup>d</sup>	0,39 ± 0,02 <sup>cd</sup>
SGR <sub>w</sub> (%/ngày)	0,75 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,85 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,97 ± 0,03 <sup>c</sup>	1,05 ± 0,02 <sup>cd</sup>	1,07 ± 0,02 <sup>d</sup>	1,04 ± 0,04 <sup>cd</sup>
CV <sub>L</sub> (%)	11,3 ± 0,67	10,3 ± 0,33	9,33 ± 0,88	8,33 ± 0,88	9,33 ± 0,88	10,7 ± 0,88
CV <sub>w</sub> (%)	35,3 ± 1,76 <sup>b</sup>	33,0 ± 1,16 <sup>b</sup>	30,3 ± 2,91 <sup>ab</sup>	25,7 ± 0,33 <sup>a</sup>	27,0 ± 0,58 <sup>a</sup>	34,3 ± 2,33 <sup>b</sup>
CF (g/cm <sup>3</sup> )	1,95 ± 0,01	1,91 ± 0,03	1,95 ± 0,02	1,92 ± 0,01	1,92 ± 0,01	1,94 ± 0,01
SR (%)	91,1 ± 2,22	95,6 ± 2,22	95,6 ± 2,22	97,8 ± 2,22	97,8 ± 2,22	95,6 ± 2,22

Số liệu được trình bày dưới dạng Mean ± SE (n = 3). Các giá trị trung bình mang ký tự chữ cái khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Hệ số phân đàn khối lượng (CV<sub>w</sub>) thấp nhất ở mức bổ sung 600 và 800 mg/kg (25,7 - 27,0%), cho thấy cá có kích cỡ đều hơn so với các mức bổ sung khác (33,0 - 35,3%) ( $p < 0,05$ ). Tuy nhiên, bổ sung carotenoids không ảnh hưởng đáng kể đến hệ số phân đàn chiều dài (CV<sub>L</sub>), hệ số điều kiện (CF) và tỷ lệ sống (SR) ( $p > 0,05$ ). Tóm lại, kết quả cho thấy bổ sung carotenoids từ vỏ tôm ở mức 600 - 800 mg/kg là phù hợp để cải thiện tăng trưởng của cá khoang cổ nemo.

#### *Hiệu quả sử dụng thức ăn:*

Mặc dù lượng thức ăn tiêu thụ (FI) tương đương giữa các nghiệm thức, nhưng hệ số FCR và PER khác biệt đáng kể so với đối chứng. Cá được cho ăn với mức bổ sung 600 mg/kg đạt kết quả tốt nhất, với FCR giảm 21,2% và PER tăng 27,2% so với đối chứng ( $p < 0,05$ ). Không có sự khác biệt đáng kể về FCR và PER giữa các mức bổ sung 600 - 1.000 mg/kg ( $p > 0,05$ ; Bảng 3.14).

**Bảng 3.14: Hiệu quả sử dụng thức ăn của cá khoang cổ nemo được nuôi với các hàm lượng carotenoids bổ sung khác nhau**

Chỉ tiêu	Hàm lượng carotenoids bổ sung (mg/kg)					
	Đối chứng	200	400	600	800	1000
FI (g/con)	0,87 ± 0,03	0,97 ± 0,07	1,12 ± 0,09	1,09 ± 0,05	1,17 ± 0,07	1,14 ± 0,08
FCR	1,99 ± 0,08 <sup>c</sup>	1,87 ± 0,09 <sup>c</sup>	1,81 ± 0,08 <sup>bc</sup>	1,55 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,65 ± 0,05 <sup>ab</sup>	1,66 ± 0,03 <sup>ab</sup>
PER	0,92 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,98 ± 0,05 <sup>ab</sup>	1,01 ± 0,05 <sup>abc</sup>	1,17 ± 0,03 <sup>d</sup>	1,10 ± 0,04 <sup>cd</sup>	1,09 ± 0,02 <sup>bcd</sup>

Số liệu được trình bày dưới dạng Mean ± SE (n = 3). Các giá trị trung bình mang ký tự chữ cái khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,05).

Tóm lại, bổ sung carotenoids cải thiện hiệu quả sử dụng thức ăn của cá khoang cổ nemo. Tăng hàm lượng bổ sung trên 600 mg/kg không cải thiện đáng kể hiệu quả sử dụng thức ăn, thậm chí có xu hướng giảm nhẹ. Như vậy, kết quả này khẳng định mức bổ sung 600 mg/kg là phù hợp với nhu cầu của cá khoang cổ nemo.

#### 3.2.4.4. Thành phần sinh hóa cơ thể và hoạt tính enzyme tiêu hóa của cá

##### Thành phần sinh hóa cơ thể cá:

Kết quả nghiên cứu cho thấy việc bổ sung carotenoids từ vỏ tôm vào thức ăn có ảnh hưởng đáng kể đến thành phần protein và lipid trong cơ thể cá khoang cổ nemo (Bảng 3.15). Hàm lượng protein tăng tỷ lệ thuận với mức carotenoids bổ sung, đạt cao nhất ở các nghiệm thức có mức bổ sung ≥ 600 mg/kg thức ăn (19,7 - 19,9% khối lượng ướt), trong khi đó thấp nhất ở nghiệm thức đối chứng (16,4%) (p < 0,05). Ngược lại, hàm lượng lipid giảm dần theo sự gia tăng của carotenoids trong khẩu phần, với giá trị thấp nhất ở mức bổ sung 1.000 mg/kg (5,13%) và cao nhất ở nghiệm thức đối chứng (7,88%). Tuy nhiên, không có sự khác biệt đáng kể về hàm lượng protein và lipid ở các nghiệm thức bổ sung carotenoids trong khoảng 600 - 1.000 mg/kg. Hàm lượng tro và độ ẩm của cơ thể cá không bị ảnh hưởng bởi các mức bổ sung carotenoids khác nhau, dao động tương ứng trong khoảng 5,85 - 6,40% và 68,4 - 69,9%.

**Bảng 3.15: Thành phần sinh hóa cơ thể của cá khoang cổ nemo (% khối lượng ướt) được nuôi với các hàm lượng carotenoids bổ sung khác nhau**

Chỉ tiêu	Hàm lượng carotenoids bổ sung (mg/kg)					
	Đối chứng	200	400	600	800	1000
Moiture (%)	69,9 ± 0,85	69,2 ± 0,42	69,2 ± 0,57	68,4 ± 0,37	68,6 ± 0,67	68,8 ± 0,20
Protein (%)	16,4 ± 0,46 <sup>a</sup>	17,5 ± 0,30 <sup>b</sup>	18,4 ± 0,20 <sup>b</sup>	19,7 ± 0,24 <sup>c</sup>	19,7 ± 0,31 <sup>c</sup>	19,9 ± 0,32 <sup>c</sup>
Lipid (%)	7,88 ± 0,36 <sup>d</sup>	6,70 ± 0,16 <sup>c</sup>	5,86 ± 0,20 <sup>b</sup>	5,45 ± 0,13 <sup>ab</sup>	5,33 ± 0,10 <sup>ab</sup>	5,13 ± 0,12 <sup>a</sup>
Tro (%)	5,84 ± 0,28	6,32 ± 0,34	6,34 ± 0,27	6,40 ± 0,21	6,28 ± 0,20	6,14 ± 0,16

Số liệu được trình bày dưới dạng Mean ± SE (n = 3). Các giá trị trung bình mang ký tự chữ cái khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,05).

### *Hoạt tính của các enzyme tiêu hóa của cá:*

Việc bổ sung carotenoids vào thức ăn đã cải thiện đáng kể hoạt tính của enzyme protease và lipase trong đường tiêu hóa của cá khoang cổ nemo (Bảng 3.16). Xu hướng chung cho thấy hoạt tính của cả hai loại enzyme này tăng theo hàm lượng carotenoids bổ sung. Ở các nghiệm thức có mức bổ sung 600 - 1.000 mg/kg, hoạt tính protease và lipase (lần lượt là 2,31 - 2,43 U/mg và 6,51 - 6,72 U/mg) cao hơn đáng kể so với mức bổ sung 200 mg/kg và đối chứng (lần lượt là 1,31 - 1,79 U/mg và 2,95 - 4,55 U/mg) ( $p < 0,05$ ). Hơn nữa, với các mức bổ sung từ 400 - 1.000 mg/kg, sự khác biệt về hoạt tính của hai enzyme này là không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ), cho thấy mức bổ sung từ 400 mg/kg có thể đã đáp ứng được nhu cầu để tăng cường hoạt động tiêu hóa ở cá khoang cổ nemo. Tuy nhiên, hoạt tính của enzyme amylase không có sự thay đổi đáng kể giữa các nghiệm thức thí nghiệm (10,4 - 13,9 U/mg).

**Bảng 3.16: Hoạt tính các enzyme tiêu hóa trong cơ quan tiêu hóa của cá khoang cổ nemo (U/mg) được nuôi với các hàm lượng carotenoids bổ sung khác nhau**

Chỉ tiêu	Hàm lượng carotenoids bổ sung (mg/kg)					
	Đối chứng	200	400	600	800	1000
<b>Amylase</b>	10,4 ± 1,12	11,4 ± 0,39	12,5 ± 1,00	13,7 ± 0,39	13,9 ± 0,69	12,9 ± 0,89
<b>Protease</b>	1,31 ± 0,16 <sup>a</sup>	1,79 ± 0,12 <sup>b</sup>	2,19 ± 0,09 <sup>bc</sup>	2,43 ± 0,13 <sup>c</sup>	2,51 ± 0,20 <sup>c</sup>	2,31 ± 0,10 <sup>c</sup>
<b>Lipase</b>	2,95 ± 0,27 <sup>a</sup>	4,55 ± 0,58 <sup>b</sup>	5,87 ± 0,41 <sup>c</sup>	6,70 ± 0,24 <sup>c</sup>	6,72 ± 0,27 <sup>c</sup>	6,51 ± 0,54 <sup>c</sup>

Số liệu được trình bày dưới dạng Mean ± SE ( $n = 3$ ). Các giá trị trung bình mang ký tự chữ cái khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

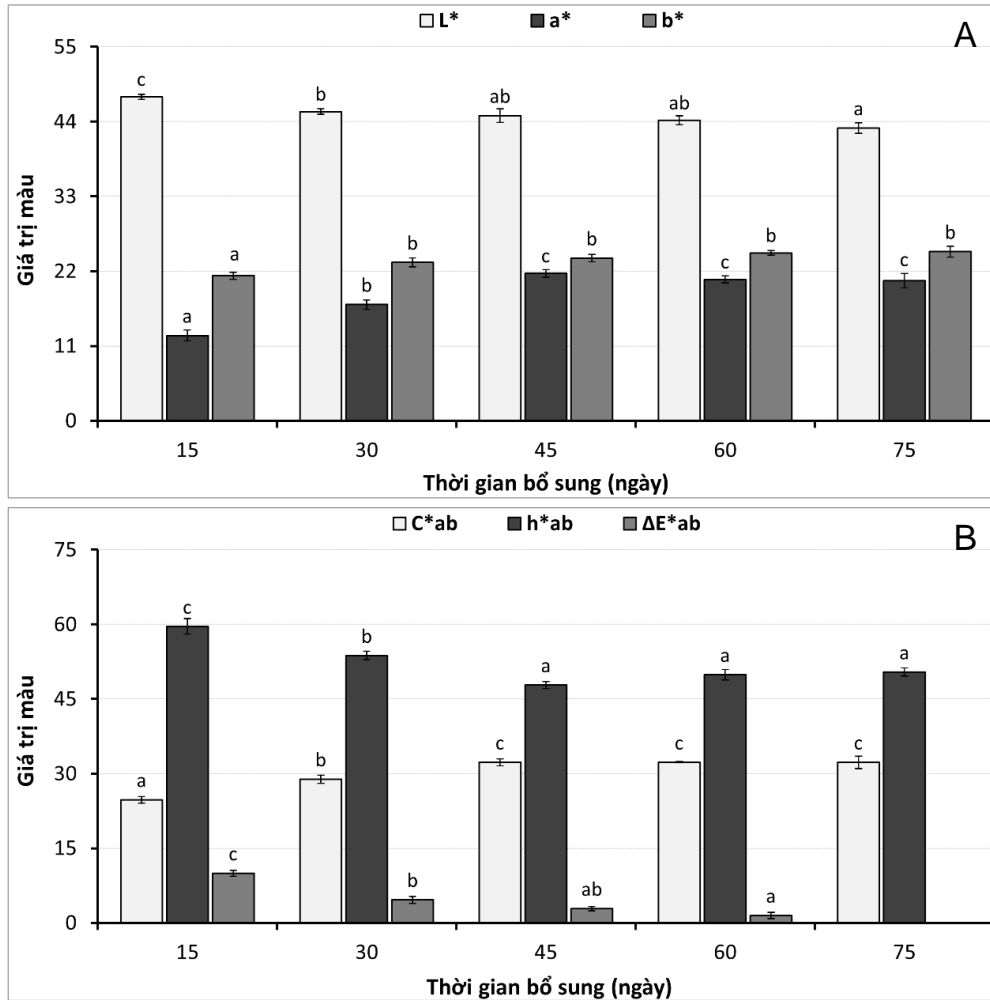
### **3.2.5. Ảnh hưởng của thời gian bổ sung carotenoids từ vỏ tôm**

#### **3.2.5.1. Màu sắc da cá**

Kết quả nghiên cứu cho thấy thời gian bổ sung carotenoids có ảnh hưởng đáng kể đến màu sắc da của cá khoang cổ nemo (Hình 3.19). Nhìn chung, đa số các chỉ tiêu màu sắc quan trọng được cải thiện theo sự tăng lên của thời gian bổ sung. Cụ thể, độ đỏ màu da ( $a^*$ ) đạt cao nhất ở nghiệm thức bổ sung 45 ngày, tăng 72,8% so với nghiệm thức 15 ngày ( $p < 0,05$ ). Độ vàng ( $b^*$ ) và độ bão hòa ( $C^*_{ab}$ ) đạt giá trị lớn nhất ở nhóm bổ sung 75 ngày (24,9 và 32,3), trong khi thấp nhất ở nhóm 15 ngày (21,3 và 24,8) ( $p < 0,05$ ) (Hình 3.19A).

Tuy nhiên, độ sáng màu da ( $L^*$ ) và tông màu ( $h^*_{ab}$ ) thể hiện xu hướng ngược lại. Độ sáng màu da giảm dần theo thời gian bổ sung carotenoids, với giá trị cao nhất ở

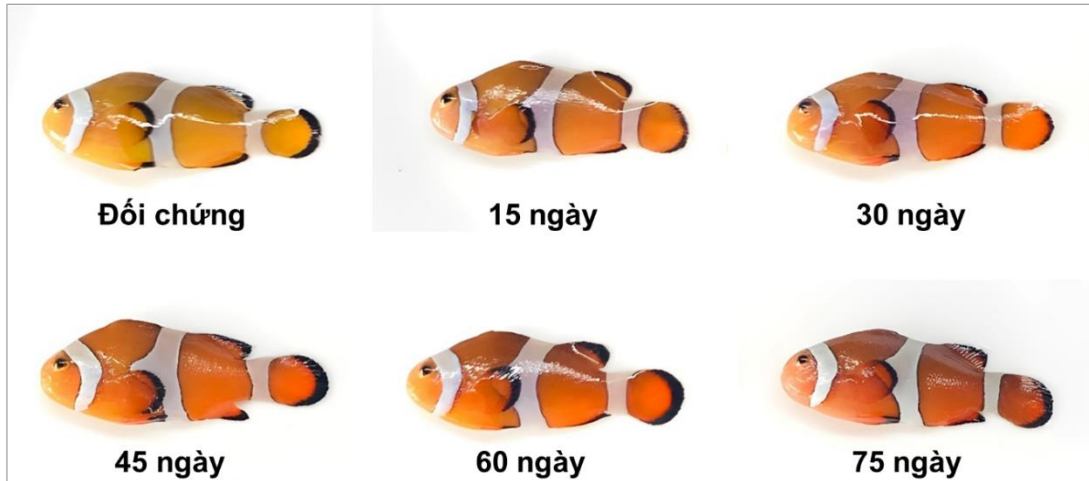
nhóm 15 ngày (47,7) và thấp nhất ở nhóm 75 ngày (43,1) (Hình 3.19B), cho thấy kéo dài thời gian bổ sung có thể khiến da cá trở nên tối màu hơn. Tương tự, tông màu da đạt cao nhất ở nghiệm thức 15 ngày (59,6) và thấp nhất ở nghiệm thức 45 ngày (47,8), tương ứng với sự khác biệt giữa màu vàng nhạt và đỏ đậm (Hình 3.20).



**Hình 3.19: Các chỉ số màu sắc da của cá khoang cổ nemo được nuôi với các khoảng thời gian bổ sung carotenoids khác nhau: (A)  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  và (B)  $C^*_{ab}$ ,  $h^*_{ab}$ ,  $\Delta E^*_{ab}$**

*Các giá trị được trình bày dưới dạng Mean  $\pm$  SE (n = 3). Các cột với các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,05).*

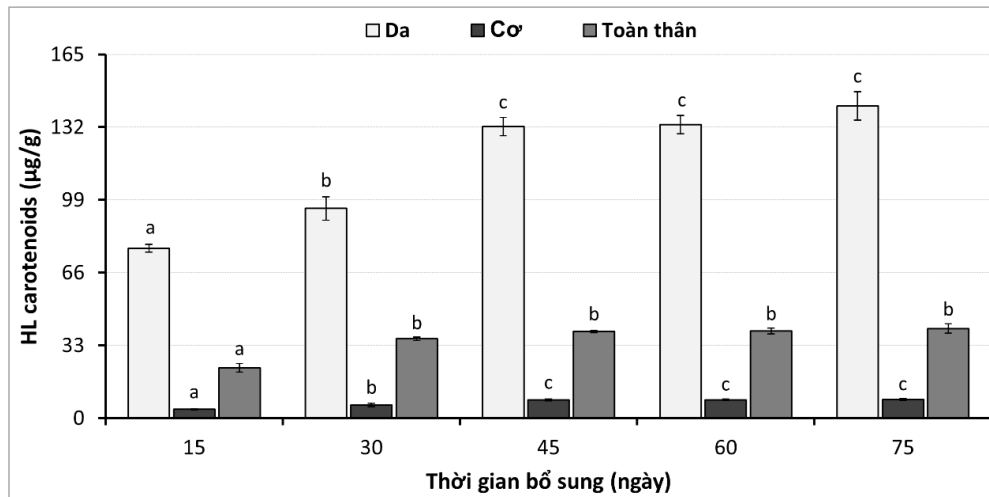
Phân tích thống kê cho thấy không có sự khác biệt đáng kể về khả năng tăng cường màu da cá ở các nghiệm thức bổ sung 45 - 75 ngày, đặc biệt ở các chỉ tiêu quan trọng như  $a^*$  và  $h^*_{ab}$ , liên quan đến màu sắc cam - đỏ mong muốn của cá khoang cổ nemo ( $p > 0,05$ ; Hình 3.19B). Bên cạnh đó, chỉ số khác biệt tổng thể màu sắc da ( $\Delta E^*_{ab}$ ) của các nhóm bổ sung 45 và 60 ngày không khác biệt đáng kể so với nhóm 75 ngày. Kết quả này gợi ý rằng thời gian bổ sung 45 ngày là phù hợp, giúp cá đạt được màu sắc đỏ đậm, rực rỡ, có chiều sâu, đồng thời tối ưu hóa thời gian cho ăn và chi phí sử dụng carotenoids.



**Hình 3.20: Màu sắc của cá khoang cổ nemo được nuôi với các khoảng thời gian bổ sung carotenoids khác nhau**

### 3.2.5.2. Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá

Nghiên cứu đã chỉ ra mối quan hệ tỷ lệ thuận giữa thời gian bổ sung carotenoids và hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá khoang cổ nemo. Hàm lượng carotenoids trên da, trong cơ và toàn thân cá ở nhóm bổ sung 75 ngày đạt cao nhất, với mức tăng tương ứng 83,9%, 109,2% và 78,2% so với nhóm 15 ngày ( $p < 0,05$ ).



**Hình 3.21: Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá khoang cổ nemo (µg/g) được nuôi với các khoảng thời gian bổ sung khác nhau**

*Các giá trị được trình bày dưới dạng Mean ± SE (n = 3). Các cột với các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).*

Tuy nhiên, không có sự khác biệt đáng kể về hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trên da (132,3 – 141,7 µg/g), trong cơ (4,03 – 8,43 µg/g) và toàn thân cá (22,8 – 40,7 µg/g) giữa các nhóm bổ sung 45, 60 và 75 ngày ( $p > 0,05$ ). Kết quả này cho thấy việc kéo dài thời gian bổ sung carotenoids vượt quá 45 ngày không mang lại hiệu quả tích

lũy cao hơn trong cơ thể cá. Do đó, thời gian bổ sung carotenoids trong khoảng 45 ngày được đề xuất là tối ưu cho loài cá khoang cổ nemo.

### 3.2.5.3. Các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn

*Các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống:*

Thời gian bổ sung carotenoids chiết xuất từ vỏ tôm có ảnh hưởng đáng kể đến tăng trưởng của cá khoang cổ nemo. Cá được bổ sung trong 45 - 75 ngày có tốc độ tăng trưởng khối lượng đặc trưng cao hơn 7,0 - 10,0% so với nhóm bổ sung 15 ngày ( $p < 0,05$ ). Hệ số phân đàn chiều dài ( $CV_L$ ) đạt tốt nhất ở nhóm bổ sung 45 ngày, nhưng kém nhất ở nhóm 75 ngày ( $p < 0,05$ ). Các chỉ tiêu đánh giá sinh trưởng ( $L_2$ ,  $W_2$ ,  $SGR_L$ ), trạng thái cơ thể ( $CV_w$ ,  $CF$ ) và tỷ lệ sống không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ( $p > 0,05$ ; Bảng 3.17). Kết quả cho thấy thời gian bổ sung carotenoids ít tác động đến tăng trưởng và tỷ lệ sống của cá khoang cổ nemo so với nguồn và hàm lượng bổ sung. Tuy nhiên, thời gian bổ sung 45 ngày được xác định là thích hợp cho nhu cầu của loài cá này.

**Bảng 3.17: Tăng trưởng và tỷ lệ sống của cá khoang cổ nemo được nuôi với các khoảng thời gian bổ sung carotenoids khác nhau**

Chỉ tiêu	Thời gian bổ sung (ngày)				
	15	30	45	60	75
$L_1$ (cm)	3,20 ± 0,02	3,20 ± 0,02	3,20 ± 0,02	3,20 ± 0,02	3,20 ± 0,02
$W_1$ (g)	0,62 ± 0,04	0,62 ± 0,04	0,62 ± 0,04	0,62 ± 0,04	0,62 ± 0,04
$L_2$ (cm)	4,15 ± 0,03	4,21 ± 0,03	4,22 ± 0,01	4,27 ± 0,03	4,23 ± 0,02
$W_2$ (g)	1,31 ± 0,02	1,37 ± 0,03	1,39 ± 0,01	1,41 ± 0,02	1,38 ± 0,02
$SGR_L$ (%/ngày)	0,35 ± 0,01	0,37 ± 0,01	0,37 ± 0,01	0,38 ± 0,01	0,37 ± 0,01
$SGR_w$ (%/ngày)	1,00 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,06 ± 0,03 <sup>ab</sup>	1,07 ± 0,01 <sup>b</sup>	1,10 ± 0,02 <sup>b</sup>	1,07 ± 0,02 <sup>b</sup>
$CV_L$ (%)	19,5 ± 0,33 <sup>d</sup>	11,9 ± 0,43 <sup>b</sup>	8,93 ± 0,44 <sup>a</sup>	14,3 ± 0,54 <sup>c</sup>	21,7 ± 0,41 <sup>e</sup>
$CV_w$ (%)	35,3 ± 1,55	30,6 ± 0,60	28,2 ± 0,70	31,7 ± 1,27	32,1 ± 2,30
$CF$ (g/cm <sup>3</sup> )	1,84 ± 0,01	1,84 ± 0,03	1,84 ± 0,01	1,82 ± 0,01	1,83 ± 0,01
$SR$ (%)	97,8 ± 2,22	97,8 ± 2,22	95,6 ± 2,22	93,3 ± 3,85	95,6 ± 4,44

Số liệu được trình bày dưới dạng Mean ± SE (n = 3). Các giá trị trung bình mang ký tự chữ cái khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

*Hiệu quả sử dụng thức ăn:*

Thời gian bổ sung carotenoids có ảnh hưởng rõ rệt lên hiệu quả sử dụng thức ăn của cá khoang cổ nemo. Ở các nhóm bổ sung từ 45 ngày trở lên, hệ số chuyển hóa thức

ăn (FCR) giảm 14,4 - 16,4% và hệ số hiệu quả sử dụng protein (PER) tăng 16,2 - 19,4% so với trung bình của nhóm bổ sung ngắn hơn ( $p < 0,05$ ). Lượng thức ăn tiêu thụ tương đương nhau giữa các nghiệm thức.

**Bảng 3.18: Hiệu quả sử dụng thức ăn của cá khoang cổ nemo được nuôi với các khoảng thời gian bổ sung carotenoids khác nhau**

Chỉ tiêu	Thời gian bổ sung (ngày)				
	15	30	45	60	75
FI (g/con)	1,35 ± 0,03	1,41 ± 0,05	1,24 ± 0,06	1,28 ± 0,07	1,25 ± 0,04
FCR	1,95 ± 0,06 <sup>b</sup>	1,88 ± 0,03 <sup>b</sup>	1,62 ± 0,08 <sup>a</sup>	1,60 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,64 ± 0,03 <sup>a</sup>
PER	0,94 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,97 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,13 ± 0,06 <sup>b</sup>	1,14 ± 0,03 <sup>b</sup>	1,11 ± 0,02 <sup>b</sup>

Số liệu được trình bày dưới dạng Mean ± SE ( $n = 3$ ). Các giá trị trung bình mang ký tự chữ cái khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Đáng chú ý, cả FCR và PER đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm bổ sung 45, 60 và 75 ngày ( $p > 0,05$ ). Điều này cho thấy việc kéo dài thời gian bổ sung quá 45 ngày không mang lại cải thiện đáng kể về hiệu quả sử dụng thức ăn, thậm chí có xu hướng giảm ở nhóm 75 ngày. Kết quả này một lần nữa khẳng định chế độ bổ sung 45 ngày là thích hợp nhất với cá khoang cổ nemo.

### 3.2.6. Thảo luận về ảnh hưởng của chế độ bổ sung carotenoids lên cá khoang cổ nemo

#### 3.2.6.1. Màu sắc da và hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá

Màu sắc là một trong những yếu tố quan trọng quyết định giá trị và khả năng tiêu thụ của cá khoang cổ nemo nói riêng và cá cảnh nói chung. Vì vậy, nhiều nỗ lực đã được thực hiện nhằm cải thiện màu sắc của cá trong điều kiện nuôi, với mục tiêu đạt được chất lượng tương đương hoặc vượt trội so với nguồn cá khai thác từ tự nhiên [109]. Cho đến nay, các phương pháp đánh giá hiệu quả tăng cường màu sắc ở cá rất đa dạng, từ đánh giá cảm quan đến các phân tích, đo lường chuyên sâu trong phòng thí nghiệm. Trong số đó, phân tích so màu bằng các thiết bị đo màu chuyên dụng (sử dụng không gian màu Lab\* và LCh<sup>0</sup>) và xác định hàm lượng carotenoids tích lũy trong cơ thể là hai phương pháp được sử dụng rộng rãi nhất và cho kết quả đáng tin cậy [57, 63, 192, 215]. Việc kết hợp cả hai phương pháp trên sẽ cung cấp một bức tranh toàn diện về hiệu quả của việc bổ sung carotenoids đối với màu sắc của cá, từ đặc điểm màu sắc bên ngoài đến hàm lượng sắc tố tích lũy bên trong cơ thể.



Trong nghiên cứu này, các chế độ bổ sung carotenoids, bao gồm nguồn bổ sung (tự nhiên từ ớt chuông, gấc, vỏ tôm hoặc copepoda và tổng hợp từ astaxanthin), hàm lượng bổ sung (từ 900 mg/kg với ớt chuông và từ 600 mg/kg với vỏ tôm) và thời gian bổ sung (từ 45 ngày với vỏ tôm) đã cải thiện đáng kể màu sắc của cá khoang cổ nemo. Kết quả này được thể hiện qua sự gia tăng các chỉ số đo lường màu sắc da ( $a^*$ ,  $b^*$ ,  $h^*_{ab}$ ,  $C^*_{ab}$  và  $\Delta E^*_{ab}$ ) và hàm lượng carotenoids tích lũy trong cơ thể so với nhóm đối chứng.

Hai chỉ tiêu quan trọng nhất là độ đỏ màu da (chỉ số  $a^*$ ) và hàm lượng carotenoids tích lũy trên da đã cho thấy mức độ cải thiện đáng kể. Cụ thể, các nhóm bổ sung sắc tố nêu trên có mức tăng lần lượt từ 75,3 – 163,7% và từ 89,9 – 341,4% so với nhóm đối chứng. Kết quả này đã khẳng định vai trò và hiệu quả của nguồn carotenoids chiết xuất từ ớt chuông/gấc, vỏ tôm/copepoda cũng như astaxanthin tổng hợp trong việc nâng cao chất lượng màu sắc của cá khoang cổ nemo. Tác dụng tích cực của việc bổ sung carotenoids đối với cá khoang cổ nemo đã được báo cáo trong nhiều nghiên cứu trước đây khi sử dụng cả nguồn tự nhiên [57, 137] và tổng hợp [51, 175]. Tuy nhiên, cần lưu ý rằng hiệu quả tăng cường màu sắc có thể thay đổi tùy theo nguồn carotenoids sử dụng, hàm lượng và thời gian bổ sung, kích cỡ cá cũng như các điều kiện chăm sóc và quản lý khác [51, 88, 114, 222]. Do đó, việc lựa chọn chế độ bổ sung carotenoids phù hợp là rất quan trọng để đạt được màu sắc da mong muốn và tối ưu hóa hàm lượng carotenoids tích lũy trong cơ thể cá khoang cổ nemo.

Từ kết quả khảo sát các nguồn carotenoids từ thực vật (TN3) và động vật (TN4) trong việc cải thiện màu sắc của cá khoang cổ nemo, ớt chuông và vỏ tôm đã được lựa chọn cho các nghiên cứu sâu hơn về hàm lượng bổ sung tối ưu. Mặc dù gấc và ớt chuông có hiệu quả tương đương trong cải thiện màu sắc của cá, ớt chuông được ưu tiên do mang lại sự cải thiện màu sắc tự nhiên và hài hòa hơn, phù hợp với thị hiếu của thị trường cá cảnh (Hình 3.7 và 3.8, xem thêm Mục 1.3.1). Bên cạnh đó, ớt chuông là loại rau quả phổ biến toàn cầu, dễ trồng với sản lượng ổn định, tỷ lệ thu hồi cao, đảm bảo nguồn cung cấp nguyên liệu ổn định cho việc sản xuất thức ăn cho cá, trong khi gấc là loại quả mùa vụ, được trồng giới hạn ở một số nước thuộc Đông Nam Á, sản lượng phụ thuộc nhiều vào điều kiện thời tiết và khó kiểm soát chất lượng [21, 153, 172]. Đối với nguồn động vật, vỏ tôm được ưu tiên hơn copepoda mặc dù hiệu quả tăng cường màu sắc giữa chúng không có sự khác biệt đáng kể (Hình 3.10 và 3.11, xem thêm Mục 1.3.1).

Việc tận dụng vỏ tôm, một phụ phẩm của ngành công nghiệp chế biến tôm, mang lại ý nghĩa quan trọng về mặt môi trường, giảm thiểu chất thải và tạo ra giá trị gia tăng cho phụ phẩm này [140]. Hơn nữa, vỏ tôm sẵn có với số lượng lớn và ổn định từ các nhà máy chế biến, đảm bảo nguồn cung cấp chất lượng đồng nhất cho sản xuất thức ăn, trong khi nguồn cung cấp copepoda phụ thuộc nhiều vào điều kiện tự nhiên, sản lượng và chất lượng không ổn định, gây khó khăn cho việc chuẩn hóa qui trình sản xuất thức ăn quy mô công nghiệp [44].

Một phát hiện trong nghiên cứu này là hiệu quả cải thiện màu sắc của nguồn carotenoids từ động vật (vỏ tôm và copepoda) có xu hướng vượt trội hơn so với nguồn carotenoids từ thực vật (ớt chuông và gấc). Cụ thể, mức tăng chỉ số  $a^*$  và hàm lượng carotenoids tích lũy trên da của hai nhóm bổ sung carotenoids từ động vật so với nhóm đối chứng lần lượt là 81,2 – 84,8% và 169,2 – 177,5%, trong khi đó, các giá trị tương ứng ở hai nhóm bổ sung carotenoids từ thực vật chỉ là 75,4 – 89,3% và 89,9 – 98,6% (Hình 3.7, 3.9 và Hình 3.10, 3.12). Kết quả này gợi ý rằng nguồn carotenoids từ động vật có thể được cá khoang cổ nemo hấp thu và chuyển hóa tốt hơn so với nguồn carotenoids từ thực vật, từ đó dẫn đến hiệu quả cải thiện màu sắc cao hơn. Điều này có thể do cấu trúc phân tử của carotenoids từ động vật tương đồng hơn với các dạng carotenoids tự nhiên trong cơ thể cá, giúp quá trình hấp thu và chuyển hóa diễn ra thuận lợi hơn [60, 115]. Ngoài ra, vỏ tôm và copepoda còn chứa nhiều acid béo không bão hòa và phospholipid, là những chất đóng vai trò quan trọng trong việc vận chuyển và lưu trữ carotenoids trong cơ thể [84, 140].

Đáng chú ý, việc tăng hàm lượng carotenoids bổ sung (từ 900 lên 1.500 mg/kg với ớt chuông và 600 lên 1.000 mg/kg với vỏ tôm) và thời gian bổ sung (từ 45 lên 75 ngày) không cải thiện thêm đáng kể cường độ màu sắc da và hàm lượng carotenoids tích lũy trong cơ thể cá. Cụ thể, khi tăng hàm lượng sắc tố bổ sung từ 900 – 1.500 mg/kg với ớt chuông và 600 – 1.000 mg/kg với vỏ tôm, chỉ số độ đỏ màu da cá ( $a^*$ ) có xu hướng giảm nhẹ lần lượt là 10,8% và 3,55%, trong khi hàm lượng carotenoids tích lũy trên da cá cũng tăng lên không đáng kể, lần lượt là 8,83% và 5,82% ( $p > 0,05$ ). Tương tự, khi tăng thời gian bổ sung từ 45 – 75 ngày, chỉ số độ đỏ màu da giảm 4,98% trong khi hàm lượng carotenoids tích lũy trên da cũng tăng không đáng kể, lên 7,10% ( $p > 0,05$ ). Những kết quả này cho thấy rằng hàm lượng carotenoids bổ sung 900 mg/kg thức ăn với ớt

chuông và 600 mg/kg thức ăn trong thời gian 45 ngày với vỏ tôm có thể là liều lượng và thời gian bổ sung thích hợp cho mục tiêu tăng cường màu sắc ở cá khoang cổ nemo, giúp tối ưu hóa chi phí mà vẫn đảm bảo hiệu quả cải thiện màu sắc. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trước đó trên nhiều loài cá, tôm cho thấy khả năng hấp thu và tích lũy carotenoids trong cơ thể cá chỉ diễn ra đến một ngưỡng nhất định, khi vượt quá ngưỡng này, lượng carotenoids dư thừa sẽ bị đào thải ra ngoài và không đem lại lợi ích gì thêm cho việc cải thiện màu sắc [97, 172].

Các nghiên cứu trước đây cũng báo cáo tác động tích cực của việc bổ sung astaxanthin/carotenoids, cả tự nhiên và nhân tạo, đối với màu sắc của cá khoang cổ nemo. Chỉ số  $a^*$  trong nghiên cứu này đạt từ 20,9 – 21,6, cao hơn so với kết quả từ một số báo cáo trước, như  $11,5 \pm 0,73$  khi bổ sung nhựa dầu ớt (paprika oleoresins) ở mức 20 g/kg thức ăn [57], hay  $16,2 \pm 0,59$  khi được bổ sung bột khoai lang nghệ 250 g/kg thức ăn [137]. Bằng cách bổ sung astaxanthin tổng hợp, Díaz-Jiménez và cộng sự cũng thu được giá trị  $a^*$  cao, dao động từ 34 – 41 [51]. Những kết quả này cho thấy hiệu quả cải thiện màu cam - đỏ trên da cá khoang cổ nemo không chỉ phụ thuộc vào nguồn carotenoids sử dụng, hàm lượng và thời gian bổ sung, mà còn có thể chịu tác động bởi một số yếu tố khác như cỡ cá thí nghiệm, loại thức ăn sử dụng, các thông số môi trường cũng như điều kiện chăm sóc và quản lý khác [51, 88, 222]. Đồng thời, khả năng cải thiện màu sắc ở loài cá này cũng đạt được tốt hơn khi sử dụng nguồn carotenoids từ vỏ tôm hoặc động vật phù du (với thành phần chủ yếu là astaxanthin) so với các nguồn carotenoids khác (với thành phần chủ yếu là  $\beta$ -carotene). Sự vượt trội của astaxanthin so với các loại carotenoids khác trong việc cải thiện màu sắc ở cá cảnh đã được chứng minh qua một số nghiên cứu trước đây khi so sánh hiệu quả của sắc tố này với  $\beta$ -caroten và canthaxanthin [222], hay astaxanthin với lutein [51] và astaxanthin với zeaxanthin [190].

Trên một số loài cá khác, astaxanthin cũng được chứng minh là có khả năng chuyển hóa và tích lũy hiệu quả hơn so với các carotenoids khác, từ đó giúp tăng cường màu sắc cũng như hàm lượng carotenoids tích lũy trong các mô như da, cơ, trứng và toàn thân [60, 196]. Với tiềm năng tận dụng phụ phẩm từ ngành công nghiệp chế biến tôm trên thế giới và Việt Nam, lần lượt ước tính khoảng 16,86 và 1,02 triệu tấn năm 2022, trong đó 50 – 60% trở thành phụ phẩm chế biến giàu astaxanthin [67, 140, 204], nghiên cứu hiện tại đã lựa chọn nguồn carotenoids từ vỏ tôm để bổ sung vào thức ăn

nhằm nâng cao hiệu quả nuôi cá khoang cổ nemo. Việc tận dụng nguồn phụ phẩm này không chỉ có ý nghĩa với nghề nuôi cá cảnh mà còn góp phần nâng cao hiệu quả kinh tế của ngành tôm và giảm thiểu ô nhiễm môi trường gây ra bởi chính hoạt động của ngành công nghiệp này.

Astaxanthin nói riêng và carotenoids nói chung là những thành phần dinh dưỡng có giá trị cao trong thức ăn cho động vật thủy sản. Tuy nhiên, do chi phí của chúng tương đối đắt đỏ, việc xác định hàm lượng bổ sung tối ưu trong khẩu phần ăn của cá là rất quan trọng nhằm đảm bảo hiệu quả về mặt kinh tế, kỹ thuật và môi trường [17]. Các nghiên cứu trước đây cho thấy hàm lượng carotenoids bổ sung vào thức ăn cho cá khoang cổ nemo dao động trong một khoảng rộng, từ 20 đến 20.000 mg/kg thức ăn [51, 57, 60, 182]. Tuy nhiên, kết quả từ nghiên cứu hiện tại chỉ ra rằng việc tăng hàm lượng carotenoids từ 900 lên 1.500 mg/kg khi sử dụng ớt chuông, hoặc từ 600 lên 1.000 mg/kg khi sử dụng vỏ tôm, không mang lại sự cải thiện đáng kể về màu sắc da và hàm lượng carotenoids tích lũy ở cá khoang cổ nemo. Đáng chú ý, các chỉ số màu sắc quan trọng như  $a^*$ ,  $b^*$ , và  $h^*_{ab}$  có xu hướng giảm nhẹ, trong khi hàm lượng carotenoids tích lũy chỉ tăng lên không đáng kể. Kết quả tương tự cũng đã được báo cáo trong nghiên cứu của Díaz-Jiménez và cộng sự, trong đó giá trị của chỉ số  $a^*$  và hàm lượng carotenoids tích lũy giảm dần khi tăng mức bổ sung astaxanthin từ 5 lên 15 g/kg thức ăn. Cụ thể, chỉ số  $a^*$  giảm từ 41 xuống 34, và hàm lượng carotenoids tích lũy giảm từ 15 xuống 9  $\mu\text{g/g}$  mô [51]. Hiện tượng này có thể được giải thích bởi sự dư thừa astaxanthin trong khẩu phần ăn gây ra những tác động tiêu cực đến quá trình trao đổi chất, dẫn đến giảm hàm lượng sắc tố tích lũy trên da và kích thích sự đào thải lượng astaxanthin không được hấp thụ ra môi trường [51, 146, 228].

Mối quan hệ giữa chế độ bổ sung carotenoids (hàm lượng và thời gian) với hiệu quả tăng cường màu sắc da/cơ và sự tích lũy carotenoids cũng đã được ghi nhận ở một số loài cá. Trên cá đĩa, bổ sung astaxanthin ở mức 200 mg/kg thức ăn cải thiện đáng kể độ đỏ và hàm lượng astaxanthin tích lũy trên da cá. Tuy nhiên, mức bổ sung 300 – 400 mg/kg không cải thiện thêm màu sắc và sự tích lũy astaxanthin trong cơ thể cá. Khi tăng từ 50 – 400 mg/kg thức ăn, tỷ lệ tích lũy astaxanthin giảm từ 42,5% xuống 24,8%, cho thấy mức bổ sung cao hơn không mang lại hiệu quả tích cực. Sự giảm tỷ lệ tích lũy astaxanthin khi tăng hàm lượng bổ sung vào chế độ ăn cũng được báo cáo trên cá hồi vân

[228] và cá hồi Đại Tây Dương [193]. Hàm lượng astaxanthin cao hơn trong chế độ ăn (78 so với 39 mg/kg thức ăn) cũng làm giảm khả năng lưu giữ sắc tố này trong cơ thịt cá tráp đầu vàng do chúng đã đạt đến mức bão hòa [52]. Sự giảm tỷ lệ giữ lại astaxanthin có thể được giải thích bởi sự suy giảm khả năng hấp thu astaxanthin trong trường hợp chế độ ăn dư thừa sắc tố này. Hệ số tiêu hóa biểu kiến (ADC) của astaxanthin trong cá hồi vân giảm từ 79,1 - 61,1% khi tăng lượng bổ sung astaxanthin từ 12,5 - 200 mg/kg thức ăn [46]. Ở cá đĩa, Song và cộng sự nhận thấy phân của cá có màu đỏ trong suốt thời gian nghiên cứu ở chế độ bổ sung 300 - 400 mg/kg thức ăn, điều này cho thấy khả năng hấp thu astaxanthin có giới hạn ở loài cá này [183]. Ngoài ra, hấp thụ quá nhiều astaxanthin có thể kích thích quá trình chuyển hóa dẫn đến thoái biến [146]. Thông thường, sự tích lũy astaxanthin/carotenoids ở cá có sự khác nhau theo các mô. Cụ thể, ở cá hồi vân, thứ tự tích lũy theo các cơ quan là cơ, lá lách, thận và gan [146], trong khi ở cá đĩa là da, cơ và gan [183]. Ở cá khoang cổ nemo, trong nghiên cứu này, sự tích lũy carotenoids trên da cá cao vượt trội so với cơ và toàn thân, cho thấy đây là bộ phận có sự tích lũy carotenoids lớn nhất ở loài cá này. Tuy nhiên, các cơ chế chi tiết về tiêu hóa, hấp thu và tích lũy carotenoids ở các cơ quan khác nhau ở cá khoang cổ nemo vẫn cần được làm sáng tỏ trong các nghiên cứu tiếp theo.

Quan hệ giữa thời gian và hàm lượng astaxanthin/carotenoids bổ sung vào thức ăn cho cá cũng là một chỉ tiêu được quan tâm vì nó liên quan đến hiệu quả kinh tế, kỹ thuật và môi trường. Cho đến nay, các nghiên cứu về vấn đề này trên cá, tóm đều khá hạn chế. Các nghiên cứu thường đánh giá tác động riêng rẽ của hàm lượng bổ sung sắc tố với khoảng thời gian cố định, từ vài tuần đến cả chu kỳ nuôi, phổ biến nhất từ 8 - 12 tuần (xem Bảng 1.3). Trong nghiên cứu hiện tại, với hàm lượng astaxanthin từ vỏ tôm cố định 600 mg/kg thức ăn, thời gian bổ sung 45 - 75 ngày không ghi nhận sự khác biệt đáng kể về hiệu quả tăng cường màu sắc da và hàm lượng carotenoids tích lũy trong cơ thể cá khoang cổ nemo, cho thấy thời gian bổ sung 45 ngày là đủ cho mục tiêu nâng cao màu sắc ở loài cá này. Kết quả này phù hợp với một số nghiên cứu trước đây. Trên cá đĩa, Song và cộng sự nhận thấy mục tiêu tăng cường màu sắc ở loài cá này có thể đạt được ở chế độ bổ sung astaxanthin 200 mg/kg thức ăn trong 28 ngày hoặc 50 - 100 mg/kg trong 56 ngày [183]. Tuy nhiên, việc bổ sung ở hàm lượng cao và thời gian dài (300 - 400 mg/kg và 56 ngày) có thể gây tác động tiêu cực đến hiệu quả lên màu và sự tích lũy sắc tố ở cá. Ở mức bổ sung này, đầu và cơ cá đĩa bị nhiễm sắc tố nghiêm trọng,

khiến chúng có màu quá đậm và được liệt vào nhóm cá kém chất lượng trên thị trường cá cảnh ở Trung Quốc [117]. Tương tự, ở cá tráp đầu vàng, việc tăng hàm lượng astaxanthin bổ sung từ 36 - 39 mg/kg lên 60 – 78 mg/kg trong 42 – 63 ngày không giúp cải thiện hơn nữa màu da và hàm lượng sắc tố tích lũy trong cơ thể cá, điều này được cho là có liên quan đến sự giới hạn trong khả năng tích lũy và sử dụng astaxanthin ở loài cá này [34, 52].

Tuy nhiên, không phải tất cả các nghiên cứu đều cho kết quả nhất quán. Ví dụ, Yasir and Qin không tìm thấy sự khác biệt về màu sắc ở cá khoang cổ nemo khi so sánh các mức bổ sung astaxanthin từ 20 - 100 mg/kg thức ăn. Điều này có thể là do phạm vi thử nghiệm trong nghiên cứu của họ chưa đủ rộng để tạo ra sự khác biệt đáng kể [222]. Mặc dù nghiên cứu hiện tại đã xác định được rằng bổ sung 600 mg carotenoids từ vỏ tôm/kg thức ăn trong 45 ngày là phù hợp cho mục tiêu tăng cường màu sắc của cá khoang cổ nemo, nhưng vẫn cần có thêm các nghiên cứu để làm sáng tỏ vấn đề này. Cụ thể, các nghiên cứu tiếp theo nên tập trung vào việc xác định hệ số tiêu hóa biểu kiến của carotenoids từ vỏ tôm ở các mức bổ sung cao hơn, từ 800 – 1.000 mg/kg thức ăn, nhằm hiểu rõ hơn về khả năng tiêu hóa, hấp thu và tích lũy carotenoids ở loài cá này. Bên cạnh đó, các yếu tố khác như giai đoạn phát triển, điều kiện nuôi, và tương tác với các thành phần dinh dưỡng khác (vitamin hay lipid) cũng cần được xem xét để có cái nhìn toàn diện hơn về vai trò của carotenoids trong dinh dưỡng và sự hình thành sắc tố của cá khoang cổ nemo.

Sự tác động của carotenoids bổ sung lên các chỉ số màu  $b^*$ ,  $C^*_{ab}$  và  $h^*_{ab}$  của da cá khoang cổ nemo cho thấy xu hướng tương đồng với chỉ số  $a^*$ . Ở các nghiệm thức bổ sung carotenoids ở mức phù hợp (xét về nguồn, hàm lượng và thời gian bổ sung), da cá thể hiện màu vàng đậm hơn (giá trị  $b^*$ : 22,3 – 28,3), các sắc đỏ - cam rực rỡ và có chiều sâu hơn (giá trị  $C^*_{ab}$ : 27,5 – 35,6), đồng thời màu sắc tổng thể thiên về đỏ - cam nhiều hơn (giá trị  $h^*_{ab}$ : 47,8 – 57,3). Ngược lại, ở nghiệm thức đối chứng và các nghiệm thức bổ sung carotenoids ở mức thấp hơn khuyến nghị, da cá có xu hướng nhạt và thiếu sắc nét, với tông màu chủ đạo là vàng/hồ phách (giá trị  $b^*$ ,  $C^*_{ab}$  và  $h^*_{ab}$  tương ứng: 16,0 – 21,3, 18,0 – 24,8, 59,6 – 65,7). Sự khác biệt màu sắc giữa các nghiệm thức được cung cấp chế độ bổ sung carotenoids ở mức thích hợp ( $\Delta E^*_{ab} = 8,70 - 18,4$ ) vượt trội hơn hẳn so với các nghiệm thức có chế độ bổ sung ở mức thấp hơn khuyến nghị ( $\Delta E^*_{ab} = 6,16 - 12,7$ ), là minh chứng rõ ràng cho hiệu quả tích cực của việc bổ sung carotenoids vào khẩu phần

ăn ở mức phù hợp trong việc cải thiện toàn diện màu sắc của cá khoang cổ nemo.

Xu hướng trái ngược được ghi nhận đối với chỉ số độ sáng màu da của cá ( $L^*$ ), khi giá trị của chỉ số này giảm tương ứng với sự gia tăng mức bổ sung carotenoids, bao gồm cả nguồn, hàm lượng và thời gian bổ sung. Cụ thể, mức suy giảm chỉ số  $L^*$  ở các nghiệm thức bổ sung carotenoids ở mức phù hợp so với đối chứng dao động từ 3,63 – 8,82%, và ở các nghiệm thức bổ sung ở mức cao nhất (1.500 mg/kg với ớt chuông, 1.000 mg/kg với vỏ tôm, và trong 75 ngày) so với đối chứng là 5,54 – 15,03%. Kết quả này gợi ý rằng quá trình lắng đọng astaxanthin/carotenoids, bên cạnh việc gia tăng cường độ sắc đỏ - cam và vàng, lại có tác dụng phụ làm giảm độ sáng của da cá. Nhận định này được củng cố bởi các nghiên cứu trước đây trên cá vẹt đỏ (*Vieja melanurus* ♀ × *Amphilophus citrinellus* ♂), cá đĩa (*Symphysodon* spp.), cá tráp đỏ và cá hồi vân [97, 98, 132, 181, 230].

Mặc dù đã có nhiều nghiên cứu về ứng dụng các nguồn carotenoids để nâng cao chất lượng màu sắc của cá, hiểu biết về cơ chế chuyển hóa, hấp thu và tích lũy loại sắc tố này ở cá vẫn còn hạn chế [123]. Đáng chú ý, không có con đường chung cho quá trình chuyển hóa và hấp thu carotenoids trong tất cả các mô của cá [17, 43]. Astaxanthin chủ yếu được tích lũy ở cả cá biển và cá nước ngọt, trong khi tunaxanthin được chuyển hóa từ astaxanthin thông qua zeaxanthin ở các loài cá thuộc bộ cá vược và tạo ra màu vàng sáng [153]. Cá chép và cá vàng thuộc họ Cyprinidae có thể hấp thu zeaxanthin (màu vàng) từ thức ăn, tích lũy và chuyển hóa thành astaxanthin (màu đỏ) thông qua các chất trung gian như adonixanthin và idoxanthin. Trong khi đó, cá hồi lại chuyển đổi astaxanthin thành zeaxanthin [123]. Về khả năng hấp thụ, cá hồi Đại Tây Dương có thể hấp thụ canthaxanthin và astaxanthin hiệu quả hơn tới 20 lần so với lutein và zeaxanthin, trong khi cá da trơn hấp thụ lutein và zeaxanthin hiệu quả hơn astaxanthin [172]. Một số loài cá biển (cá tráp biển đỏ, cá tuyết, cá ngừ, cá đuôi vàng, cá hồi Đại Tây Dương, cá hồi vân) không có khả năng hoặc rất hạn chế trong việc chuyển hóa các nguồn carotenoids, như  $\beta$ -caroten và zeaxanthin, thành astaxanthin [123]. Để khắc phục vấn đề trên, astaxanthin được bổ sung từ nguồn tự nhiên (các loài giáp xác) hoặc tổng hợp để tăng cường màu sắc ở nhóm cá này.

Mặc dù có nhiều nghiên cứu về bổ sung carotenoids vào thức ăn cho cá khoang cổ nói chung và khoang cổ nemo nói riêng [109], vẫn tồn tại nhiều vấn đề cần làm rõ liên quan đến cơ chế tác động của carotenoids bổ sung lên loài cá này. Cụ thể, cần hiểu

rõ hơn về quá trình chuyển hóa, hấp thu và con đường chuyển hóa từ astaxanthin bổ sung thành các hợp chất trung gian như zeaxanthin và canthaxanthin tích lũy trong cơ thể cá khoang cổ nemo. Bên cạnh đó, màu sắc biểu hiện (vàng cam – đỏ cam) và hàm lượng tổng carotenoids tích lũy trong da cá cũng được cho là chịu ảnh hưởng bởi nguồn gốc của cá (tự nhiên hay nhân tạo/sản xuất), chế độ bổ sung carotenoids vào khẩu phần ăn (nguồn, hàm lượng, thời gian bổ sung) và một số yếu tố khác [109, 190, 222]. Mặc dù kết quả nghiên cứu của chúng tôi đóng góp vào hiểu biết về các nguồn carotenoids bổ sung ở cá khoang cổ nemo, một hạn chế đáng lưu ý là nghiên cứu hiện tại cũng chỉ tập trung vào phân tích hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá (trên da, cơ và thân cá), tương tự như các nghiên cứu trước đây. Do đó, chúng tôi chưa thể làm sáng tỏ sự chuyển hóa, hấp thu và tích lũy của từng thành phần carotenoids riêng lẻ trong cơ thể cá, cũng như chưa xác định được thành phần nào đóng vai trò quan trọng hơn đối với cá khoang cổ nemo. Điều này nhấn mạnh sự cần thiết của những nghiên cứu sâu hơn trong tương lai để giải quyết những vấn đề còn tồn tại. Các nghiên cứu tiếp theo nên tập trung vào việc xác định sự tích lũy của từng thành phần carotenoids riêng lẻ trong cơ thể cá bằng các phương pháp phân tích tiên tiến, chẳng hạn như sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) hoặc sắc ký khí ghép nối khối phổ (GC-MS) [123]. Bên cạnh đó, các cơ chế chuyển hóa và hấp thu cần được làm sáng tỏ, đặc biệt là thông qua ứng dụng các thành tựu về sinh học phân tử [109]. Việc hiểu rõ hơn về cơ chế chuyển hóa và hấp thu carotenoids không chỉ mang lại ý nghĩa quan trọng trong tối ưu hóa hiệu quả sử dụng carotenoids trong sản xuất cá khoang cổ, mà còn mở ra tiềm năng ứng dụng đa dạng và hiệu quả cao của các nhóm sắc tố tự nhiên này trong lĩnh vực nuôi trồng thủy sản. Kết quả từ những nghiên cứu như vậy sẽ góp phần hoàn thiện hơn nữa kiến thức về cơ chế tác động của carotenoids, từ đó nâng cao chất lượng và giá trị của cá khoang cổ nemo nói riêng và các loài cá cảnh nói chung.

### 3.2.6.2. Các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn

Cá khoang cổ (*Amphiprion* spp.) thuộc nhóm có kích thước nhỏ và sinh trưởng chậm [14]. Để đạt được kích cỡ thương mại (4,0 – 6,0 cm), chúng cần 5 – 6 tháng tùy điều kiện nuôi, trong khi đó, thời gian này đối với các loài cá biển nuôi làm thực phẩm chỉ từ 1 – 2 tháng [40, 121]. Do đó, việc tối ưu hóa các yếu tố ảnh hưởng đến tăng trưởng sẽ góp phần rút ngắn thời gian nuôi và nâng cao hiệu quả kinh tế của quá trình sản xuất



nhóm cá này. Kết quả nghiên cứu cho thấy chế độ bổ sung carotenoids vào khẩu phần ăn của cá khoang cổ nemo, bao gồm nguồn, hàm lượng và thời gian, đều có tác động tích cực đến các chỉ tiêu tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của loài cá này. Cụ thể, các nguồn carotenoids từ thực vật (ớt chuông, gấc) và động vật (vỏ tôm, copepoda), với hàm lượng bổ sung (từ 900 mg/kg với ớt chuông và từ 600 mg/kg với vỏ tôm), cũng như thời gian bổ sung thích hợp (từ 45 ngày) đã thúc đẩy đáng kể các thông số tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá khoang cổ nemo, với mức tăng lần lượt dao động từ 15,2 - 42,7% và 11,8 - 28,9% so với đối chứng. Kết quả này cho thấy tính ưu việt của các nguồn carotenoids tự nhiên, đặc biệt là từ gấc, ớt chuông, vỏ tôm và copepoda, trong việc cải thiện tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá khoang cổ nemo khi được bổ sung với hàm lượng và thời gian phù hợp.

Phát hiện này cũng phù hợp với nhiều công trình trước đây, trong đó carotenoids nói chung, đặc biệt là astaxanthin, được xem là những chất có hoạt tính sinh học cao, tác động tích cực đến nhiều quá trình sinh lý và sinh hóa quan trọng ở động vật thủy sinh [60, 114, 172]. Các quá trình này bao gồm việc tăng cường miễn dịch, cải thiện khả năng sinh sản, và tăng cường khả năng chống oxy hóa của cơ thể động vật [114, 115]. Do đó, việc sử dụng các chất này, không chỉ nhằm mục đích cải thiện màu sắc, mà còn góp phần nâng cao chất lượng tổng thể của cá, từ đó ngày càng thu hút được sự quan tâm của các nhà khoa học và người nuôi trồng thủy sản [60, 109, 114, 115, 172].

Vai trò thúc đẩy tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của carotenoids bổ sung ở cá nói chung và cá khoang cổ nemo nói riêng có thể được giải thích bởi tác động tổng hợp của nhiều yếu tố. *Thứ nhất*, carotenoids đã được chứng minh là giúp tăng cường hiệu quả sử dụng chất dinh dưỡng thông qua việc điều hòa quá trình trao đổi chất trung gian bằng cách kiểm soát hoạt động của các enzyme tiêu hóa, từ đó dẫn đến việc cải thiện tốc độ tăng trưởng của cá [16, 85, 130, 231]. *Thứ hai*, các tác dụng gián tiếp của carotenoids khi được bổ sung vào chế độ cho ăn như hoạt động chống oxy hóa, giảm căng thẳng, điều hòa biểu hiện gen của các quá trình sinh lý (chuyển hóa dinh dưỡng, điều hòa tăng trưởng, miễn dịch), và điều hòa nội tiết (hormone tăng trưởng, IGFs) đã góp phần quan trọng giúp tối ưu hóa việc sử dụng năng lượng cho tăng trưởng cũng như duy trì sức khỏe tổng thể của cá [47, 64, 114, 115, 168]. *Thứ ba*, carotenoids được cho là có tác dụng thúc đẩy hoạt động của hệ vi sinh vật đường ruột, đặc biệt là các nhóm vi

khuẩn có lợi, hỗ trợ quá trình phá vỡ các thành phần dinh dưỡng khó tiêu như chất béo, từ đó giúp chiết xuất được nhiều chất dinh dưỡng hơn và tận dụng hiệu quả nguồn năng lượng này cho quá trình tăng trưởng của cá [95]. *Cuối cùng*, việc bổ sung các nguồn sắc tố này vào khẩu phần ăn cũng đã tác động tích cực đến chiều dài, độ dày của nhung mao ruột và độ dày của thành ruột – những yếu tố quan trọng góp phần nâng cao khả năng hấp thụ và sử dụng các chất dinh dưỡng từ thức ăn của cá [11, 64, 130, 230].

Tác động tích cực của việc bổ sung carotenoids vào thức ăn đối với cá khoang cổ nemo trong nghiên cứu hiện tại cũng tương tự với kết quả của nhiều nghiên cứu trước đây trên các loài cá biển khác. Cụ thể, sự cải thiện tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn đã được báo cáo ở cá lù đù vàng lớn (*Pseudosciaena crocea*) [112], cá chim vây ngắn (*Trachinotus ovatus*) [64, 216], cá tráp đỏ (*Pagrus pagrus*) [97, 98], cá chêm châu Âu (*Dicentrarchus labrax*) [77, 168], cá vược miệng rộng (*Micropterus salmoides*) [217], cá hồi vân (*Oncorhynchus mykiss*) [230], cá đĩa (*Symphysodon aequifasciatus*) [84], và cá mú chấm đỏ (*Epinephelus akaara*) [182]. Tuy nhiên, không phải tất cả các nghiên cứu đều cho thấy sự cải thiện về tăng trưởng khi bổ sung carotenoids. Một số nghiên cứu không ghi nhận được sự khác biệt rõ rệt giữa nhóm bổ sung và nhóm đối chứng, như đã được báo cáo trên cá bơn vôi (*Paralichthys olivaceus*) [154], cá tráp đỏ (*Pagrus pagrus*) [191], cá tráp đầu vàng (*Sparus aurata*) [211], cá mú chấm bé (*Plectropomus leopardus*) [231] hay cá khoang cổ cam (*Amphiprion percula*) [195]. Sự khác biệt trong kết quả của các nghiên cứu này có thể là do sự khác nhau về nhiều yếu tố như đối tượng nuôi, giai đoạn phát triển, loại thức ăn sử dụng, nguồn carotenoids, hàm lượng và thời gian bổ sung cũng như các điều kiện ương nuôi khác [60, 97, 98, 109, 115]. Những yếu tố này có thể ảnh hưởng đến khả năng tiêu hóa, hấp thụ và tích lũy carotenoids cũng như sự thể hiện vai trò của sắc tố này đối với quá trình tăng trưởng và sức khỏe của cá nói chung.

Đáng chú ý, ngay cả trên cùng đối tượng cá khoang cổ nemo, hiệu quả của việc bổ sung carotenoids vào thức ăn đối với tăng trưởng của cá cũng có những khác biệt nhất định. Trong khi nghiên cứu hiện tại và nghiên cứu của Ebeneezar và cộng sự cho thấy các tác động tích cực đối với tăng trưởng của cá [57], nghiên cứu của Díaz-Jiménez và cộng sự lại không ghi nhận được tác động đáng kể nào với hai nguồn carotenoids sử dụng (astaxanthin hay lutein, 5.000 – 15.000 mg/kg thức ăn) [51]. Xu hướng tương tự cũng được báo cáo trên loài cá này khi sử dụng astaxanthin tổng hợp (Carophyll Pink, 90 - 270

mg/kg) hay các nguồn carotenoids bổ sung khác nhau [137, 162, 175]. Sự không thống nhất trong các kết quả nghiên cứu này bổ sung thêm cho luận điểm rằng tác dụng của nguồn carotenoids bổ sung lên các chỉ tiêu tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá vẫn còn nhiều mâu thuẫn và chưa có sự nhất quán [60, 195]. Điều này không chỉ cho thấy vẫn còn một số yếu tố chưa được làm sáng tỏ có thể ảnh hưởng đến tác động của carotenoids, mà còn làm nổi bật nhu cầu thực hiện những nghiên cứu sâu hơn về chủ đề này trong tương lai.

Một phát hiện trong nghiên cứu này là việc tăng hàm lượng carotenoids (từ 900 lên 1.500 mg/kg thức ăn với ốt chuông hay từ 600 lên 1.000 mg/kg thức ăn với vỏ tôm) hay tăng thời gian bổ sung (từ 45 lên 75 ngày với nguồn carotenoids từ vỏ tôm) không mang lại sự cải thiện đáng kể về tốc độ tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá khoang cổ nemo. Đáng lưu ý hơn, ở một số trường hợp, việc tăng hàm lượng hay thời gian bổ sung carotenoids còn làm giảm giá trị của các chỉ số này, với mức giảm dao động từ 0,96 – 7,14% đối với tốc độ tăng trưởng và 1,22 – 7,34% đối với hiệu quả sử dụng thức ăn, khi so sánh giữa các mức bổ sung thích hợp với các mức bổ sung cao nhất. Các kết quả tương tự cũng được báo cáo trong một số nghiên cứu trước đây trên cá lù đù vàng lớn (*Pseudosciaena crocea*) [112], cá đĩa (*Symphysodon* spp.) [183], cá chim vây vàng (*Trachinotus ovatus*) [216] và cá vược đốm (*Lateolabrax maculatus*) [226]. Theo Song và Yu, chế độ cho ăn dư thừa astaxanthin/carotenoids (mức 300 – 400 so với 50 – 200 mg/kg thức ăn) có thể tác động tiêu cực đến chức năng tiêu hóa của ruột, từ đó làm giảm khả năng hấp thụ chất dinh dưỡng và cuối cùng dẫn đến sự suy giảm tốc độ tăng trưởng ở cá [183, 226]. Tuy nhiên, cần tiến hành thêm các nghiên cứu để làm rõ cơ chế chi tiết của quá trình này. Bên cạnh đó, việc xác định hệ số tiêu hóa biểu kiến (ADC, Apparent Digestibility Coefficients) của carotenoids ở cá khoang cổ nemo cũng có thể cung cấp thông tin hữu ích để hiểu rõ hơn về vấn đề này.

Trái ngược với các chỉ tiêu tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn, tỷ lệ sống của cá khoang cổ nemo không bị ảnh hưởng bởi chế độ bổ sung carotenoids vào khẩu phần ăn mặc dù có xu hướng cao hơn ở nhóm bổ sung thích hợp so với đối chứng, tương ứng từ 93,3 – 97,8% so với từ 91,1 – 95,6%, như đã được quan sát thấy ( $p > 0,05$ ). Trong suốt quá trình nghiên cứu, chúng tôi nhận thấy một số cá thể chết là do bị đồng loại tấn công, dẫn đến tổn thương ở đầu, vây, đuôi, đồng thời bụng không chứa thức ăn. Nguyên

nhân có thể là do từ cỡ 3,5 cm, cá khoang cổ nemo bắt đầu có sự chuyển đổi giới tính, thành thực lần đầu và sự cạnh tranh giữa các cá thể để xác định cặp cá thống trị quần đàn diễn ra gay gắt [39, 75, 214]. Kết quả tương tự cũng đã được báo cáo trong các nghiên cứu trước đây trên loài cá này [51, 57, 137, 175]. Tỷ lệ sống của cá trong các nghiên cứu này đều dao động từ 90 – 100%, cho thấy cá khoang cổ nemo là loài có khả năng thích nghi cao với điều kiện nuôi. Bên cạnh đó, tỷ lệ sống và hệ số điều kiện không có sự khác biệt đáng kể giữa các nghiệm thức (dao động từ 1,73 – 1,95) trong nghiên cứu hiện tại cũng như các nghiên cứu đã được đề cập ở trên, cho thấy việc bổ sung carotenoids vào khẩu phần ăn không phải là yếu tố quyết định đối với sự sống sót của loài cá này. Một số nghiên cứu cũng chỉ ra rằng việc bổ sung với hàm lượng cao astaxanthin/carotenoids [51] chưa ghi nhận tác động tiêu cực nào đối với cá khoang cổ nemo nói riêng và một số loài cá khác [109]. Tuy nhiên, các nghiên cứu sâu hơn, bao gồm các xét nghiệm độc tính tế bào và đánh giá mô bệnh học, là cần thiết để đánh giá toàn diện tính an toàn và lợi ích của việc bổ sung carotenoids ở cá khoang cổ nemo.

Tóm lại, kết quả nghiên cứu đã chỉ ra rằng carotenoids tự nhiên từ các nguồn thực vật và động vật đều có tác động tích cực đến hiệu suất tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn ở cá khoang cổ nemo, với hiệu quả vượt trội so với đối chứng không bổ sung và astaxanthin tổng hợp. Nghiên cứu cũng xác định được một số chỉ tiêu thích hợp bao gồm nguồn carotenoids (ớt chuông/gấc hoặc vỏ tôm/copepoda), hàm lượng bổ sung (900 mg/kg với ớt chuông, 600 mg/kg với vỏ tôm) và thời gian bổ sung (45 ngày với vỏ tôm). Những phát hiện này không chỉ đóng góp vào sự hiểu biết về vai trò của carotenoids tự nhiên trong dinh dưỡng của cá khoang cổ nemo, đặc biệt là vai trò thúc đẩy tăng trưởng và cải thiện hiệu quả sử dụng thức ăn ở cá, mà còn cung cấp những thông tin quan trọng có giá trị ứng dụng cao, hứa hẹn nâng cao đáng kể hiệu quả ương nuôi loài cá cảnh biển được ưa chuộng này trong thực tiễn sản xuất, đặc biệt khi so sánh với việc sử dụng astaxanthin tổng hợp hay chế độ ăn thiếu sắc tố như phổ biến hiện nay.

### *3.2.6.3. Thành phần sinh hóa cơ thể và hoạt tính enzyme tiêu hóa của cá*

#### *Thành phần sinh hóa cơ thể cá:*

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đánh giá ảnh hưởng của việc bổ sung carotenoids từ hai nguồn là ớt chuông và vỏ tôm ở các mức khác nhau lên thành phần

sinh hóa của cá khoang cổ nemo. Carotenoids bao gồm nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học cao, đóng vai trò quan trọng trong nuôi trồng thủy sản. Bổ sung các chất này vào thức ăn không chỉ cải thiện màu sắc, tăng cường sức khỏe và khả năng chống chịu với điều kiện bất lợi ở động vật thủy sản [60, 114] mà còn có thể ảnh hưởng đến thành phần dinh dưỡng trong cơ thể chúng.

Kết quả cho thấy hàm lượng carotenoids bổ sung (từ ớt chuông và vỏ tôm) vào thức ăn đã ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng protein và lipid thô, nhưng không tác động lên độ ẩm và hàm lượng tro của cơ thể cá. Cụ thể, hàm lượng protein tăng lên, trong khi lipid giảm xuống khi tăng mức carotenoids bổ sung. Kết quả này tương đồng với các nghiên cứu trước đây về ảnh hưởng của astaxanthin trên cá hồi vân khi sử dụng nanoliposome-coated astaxanthin và các nguồn astaxanthin khác nhau [28, 230], cũng như trên cá tráp đỏ [98]. Tương tự, việc bổ sung beta-carotene cũng đã được chứng minh là có ảnh hưởng tích cực đến thành phần sinh hóa của một số loài cá [168, 226].

Với vai trò là những chất chống oxy hóa mạnh, cả beta-carotene trong ớt chuông và astaxanthin trong vỏ tôm đều có khả năng bảo vệ lipid khỏi quá trình oxy hóa và tham gia điều hòa quá trình chuyển hóa lipid, bao gồm  $\beta$ -oxy hóa axit béo, khử và kéo dài mạch cacbon [25, 98]. Các carotenoids này có thể ức chế sản xuất acetyl CoA ở gan, một chất trung gian quan trọng trong tổng hợp lipid và ATP [167], đồng thời kích thích sử dụng axit béo để tạo năng lượng, duy trì cân bằng nội môi, dẫn đến giảm tích lũy lipid ở cá [99]. Việc tăng cường sử dụng lipid làm cơ chất năng lượng góp phần tiết kiệm và tích lũy protein, từ đó giải thích cho sự tăng trưởng tốt hơn của cá ở các nghiệm thức bổ sung carotenoids so với đối chứng, từ cả hai nguồn ớt chuông và vỏ tôm.

Tuy nhiên, xu hướng tác động của carotenoids lên thành phần sinh hóa của cá không phải lúc nào cũng nhất quán giữa các nghiên cứu. Một số công bố ghi nhận xu hướng tăng hàm lượng lipid [47, 112, 118, 141] và giảm protein [141], trong khi những nghiên cứu khác lại không thấy ảnh hưởng đáng kể [122, 154, 159, 191, 216, 218]. Đối với cá khoang cổ nemo, nghiên cứu của Ebenezar và cộng sự không ghi nhận bất kỳ tác động nào của carotenoids đối với thành phần sinh hóa cơ thể cá [57], trái ngược với kết quả tích cực thu được trong nghiên cứu này khi sử dụng carotenoids từ cả vỏ tôm và ớt chuông. Sự không thống nhất trên có thể là do ảnh hưởng của nhiều yếu tố như loài (trong nhiều nghiên cứu), giai đoạn phát triển (với các nghiên cứu ở cá khoang cổ nemo),

nguồn và liều lượng carotenoids, thời gian bổ sung, điều kiện môi trường và kỹ thuật nuôi khác [60, 115].

Mặc dù nghiên cứu này đã chỉ ra những tác động tích cực của việc bổ sung carotenoids từ ớt chuông và vỏ tôm lên thành phần protein và lipid của cá khoang cổ nemo, cần có thêm những nghiên cứu sâu hơn để làm sáng tỏ cơ chế phân tử chi phối quá trình chuyển hóa dưới tác động của astaxanthin, beta-carotene và các carotenoids khác. Việc ứng dụng các công cụ phân tích tiên tiến như RNA-seq hay proteomics hứa hẹn sẽ cung cấp cái nhìn toàn diện hơn về cơ chế tác động của các carotenoids này, góp phần xây dựng nền tảng khoa học vững chắc cho ứng dụng chúng trong nuôi trồng thủy sản nói chung và cá cảnh nói riêng. Bên cạnh đó, nghiên cứu thêm về ảnh hưởng của các yếu tố như loài, giai đoạn phát triển, nguồn và hàm lượng carotenoids, thời gian cho ăn, điều kiện môi trường và kỹ thuật nuôi lên tác động của carotenoids đối với thành phần sinh hóa của cá cũng đóng vai trò thiết yếu trong việc làm sáng tỏ và tối ưu hóa hiệu quả sử dụng các hợp chất quý giá này.

#### *Hoạt tính của các enzyme tiêu hóa của cá:*

Hoạt tính của enzyme tiêu hóa ở cá phản ánh khả năng sử dụng các chất dinh dưỡng từ thức ăn và có sự khác biệt theo loài, giai đoạn phát triển, tập tính dinh dưỡng, đặc điểm của nguồn thức ăn, môi trường và điều kiện ương nuôi [70, 92]. Phân tích thành phần và hoạt tính của các enzyme tiêu hóa cung cấp căn cứ quan trọng để đánh giá khả năng tiêu hóa, hấp thu dinh dưỡng, đặc biệt là các chất bổ sung trong khẩu phần ăn của cá [92, 111]. Trong nghiên cứu này, việc bổ sung carotenoids từ ớt chuông và vỏ tôm vào khẩu phần ăn đã cải thiện đáng kể hoạt tính enzyme tiêu hóa của cá khoang cổ nemo. Hoạt tính của cả amylase, protease và lipase đều tăng lên rõ rệt ở các nghiệm thức bổ sung với hàm lượng carotenoids phù hợp nhất, với mức tăng từ 32 - 127% so với đối chứng. Sự gia tăng hoạt tính enzyme tiêu hóa này giúp thúc đẩy hiệu quả tiêu hóa, hấp thu dinh dưỡng, qua đó có thể đóng góp vào sự tăng trưởng vượt trội của cá ở các nghiệm thức bổ sung carotenoids so với đối chứng.

Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Fen và cộng sự trên cá khoang cổ đỏ (*Amphiprion frenatus*), trong đó việc bổ sung 4 - 8% astaxanthin làm tăng hoạt tính của các enzyme tiêu hóa protease, lipase và amylase so với bổ sung 1% và đối chứng [69].

Nhiều nghiên cứu khác cũng ghi nhận xu hướng tác động tích cực của việc bổ sung astaxanthin hay carotenoids từ nguồn tự nhiên và tổng hợp lên hoạt tính của các enzyme tiêu hóa chính như protease (bao gồm trypsin và chymotrypsin), lipase và amylase. Các nghiên cứu này được báo cáo trên nhiều loài cá như cá đù vàng lớn (*Larimichthys crocea*) [218], cá koi (*Cyprinus carpio*) [19], cá mú chấm bé [231], cá rô phi (*Oreochromis niloticus*) [85], cá dĩa (*Symphysodon aequifasciatus*) [84] và cá hồi vân [130]. Carotenoids được cho là hoạt động như chất trung gian trong trao đổi chất, thúc đẩy quá trình tiêu hóa và tăng trưởng của cá [16, 60]. Astaxanthin còn được cho rằng có khả năng thúc đẩy sự phát triển đường ruột ở cá hồi vân khi bổ sung ở hàm lượng 25 – 50 mg/kg thức ăn bằng cách tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình tiêu hóa và hấp thu chất dinh dưỡng, từ đó góp phần nâng cao hiệu suất tăng trưởng [130]. Tuy nhiên, một số nghiên cứu không ghi nhận sự cải thiện đáng kể hoạt tính enzyme tiêu hóa khi bổ sung carotenoids cho cá chim vây vàng (*Trachinotus ovatus*) [230] hay cá khoang cổ nemo [57]. Sự khác biệt này có thể do các yếu tố như đối tượng nuôi, loại thức ăn, loại carotenoids bổ sung, hàm lượng và thời gian cho ăn, cho thấy sự cần thiết của việc tiếp tục nghiên cứu để làm rõ cơ chế tác động của carotenoids lên hoạt tính enzyme tiêu hóa ở các loài cá khác nhau.

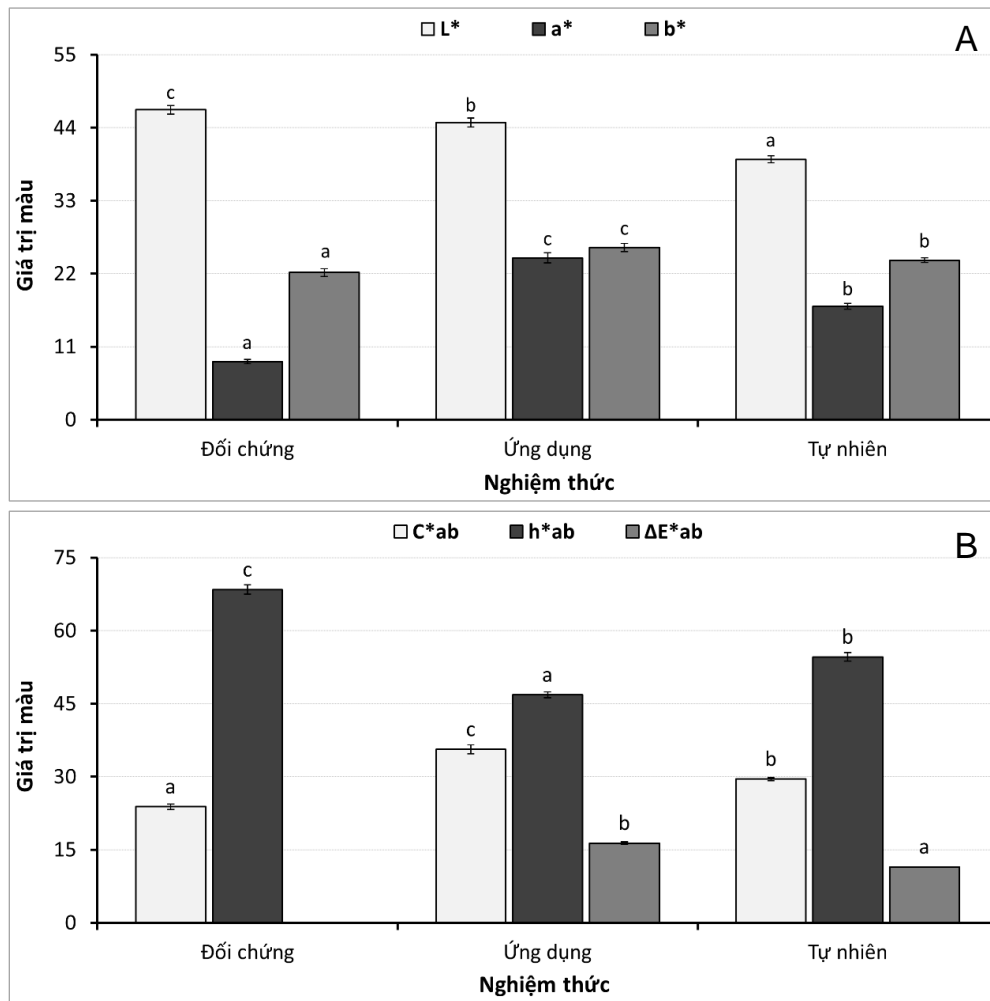
Bên cạnh tác dụng tăng cường tiêu hóa, carotenoids bổ sung từ ớt chuông và vỏ tôm còn được biết đến như các chất chống oxy hóa mạnh [60]. Do đó, các nghiên cứu tiếp theo nên tập trung đánh giá ảnh hưởng của việc bổ sung những nguồn carotenoids này lên các enzyme chuyển hóa, enzyme chống oxy hóa cũng như các enzyme liên quan đến phản ứng miễn dịch và chống stress ở cá khoang cổ nemo. Điều này sẽ giúp làm sáng tỏ cơ chế tác động của carotenoids lên trao đổi chất và biểu hiện ra bên ngoài của cá qua các chỉ tiêu như tăng trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn, thành phần sinh hóa và hoạt tính enzyme tiêu hóa đã được ghi nhận trong nghiên cứu này.

### **3.3. Đánh giá hiệu quả kết hợp môi trường và bổ sung carotenoids cải thiện màu sắc cá khoang cổ nemo**

#### **3.3.1. Màu sắc da cá**

Kết quả đánh giá các chỉ tiêu màu sắc da cá ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*_{ab}$ ,  $h^*_{ab}$ ,  $\Delta E^*_{ab}$ ) cho thấy sự khác biệt đáng kể giữa nhóm đối chứng, nhóm ứng dụng và nhóm tự nhiên (Hình

3.22). Cụ thể, độ đỏ ( $a^*$ ) và độ bão hòa ( $C^*_{ab}$ ) màu da của nhóm ứng dụng đạt cao nhất ( $24,4 \pm 0,78$  và  $31,6 \pm 0,91$ ), khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm tự nhiên ( $17,1 \pm 0,52$  và  $23,9 \pm 0,43$ ) và nhóm đối chứng ( $8,74 \pm 0,32$  và  $15,0 \pm 0,48$ ) ( $p < 0,05$ ). Ngược lại, tông màu ( $h^*_{ab}$ ) của nhóm ứng dụng thấp nhất ( $46,8 \pm 0,59$ ), chứng tỏ màu sắc da cá thiên về sắc đỏ đậm, trong khi nhóm tự nhiên ( $54,6 \pm 0,90$ ) có xu hướng vàng cam và nhóm đối chứng ( $68,4 \pm 0,96$ ) có màu vàng nhạt (Hình 3.24).

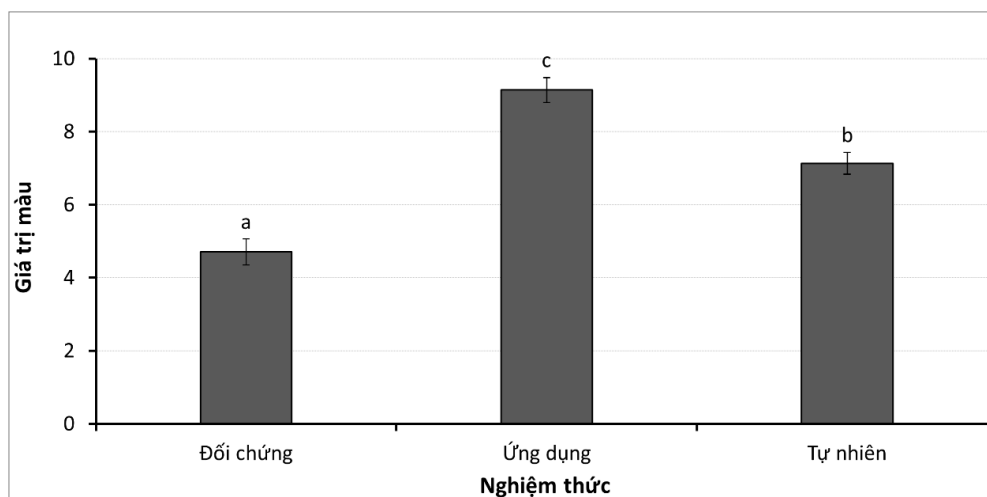


**Hình 3.22: Các chỉ số màu sắc da của cá khoang cổ nemo ở các nhóm đối chứng, ứng dụng và tự nhiên: (A)  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  và (B)  $C^*_{ab}$ ,  $h^*_{ab}$ ,  $\Delta E^*_{ab}$**

*Các giá trị được trình bày dưới dạng Mean  $\pm$  SE ( $n = 3$ ). Các cột với các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).*

Độ sáng ( $L^*$ ) của da cá ở nhóm đối chứng cao nhất ( $46,7 \pm 0,64$ ), tiếp theo là nhóm ứng dụng ( $44,8 \pm 0,66$ ) và thấp nhất ở nhóm tự nhiên ( $39,2 \pm 0,52$ ) ( $p < 0,05$ ). Sự khác biệt tổng thể màu sắc ( $\Delta E^*_{ab}$ ) của nhóm ứng dụng ( $16,4 \pm 0,79$ ) vượt trội so với nhóm tự nhiên ( $11,5 \pm 0,31$ ) ( $p < 0,05$ ), cho thấy màu sắc da cá nhóm ứng dụng khác biệt rõ rệt và ấn tượng hơn.





**Hình 3.23: Màu sắc da theo thang đo màu Clownfish Exercise của cá khoang cổ nemo ở các nhóm đối chứng, ứng dụng và tự nhiên**

*Các giá trị được trình bày dưới dạng Mean ± SE (n = 3). Các cột với các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,05).*

Đánh giá màu sắc da bằng thang điểm Clownfish Exercise cũng cho kết quả tương đồng. Nhóm ứng dụng đạt điểm số cao nhất ( $9,14 \pm 0,34$ ), vượt trội so với nhóm tự nhiên ( $7,13 \pm 0,30$ ) và nhóm đối chứng ( $4,71 \pm 0,36$ ), với mức cải thiện lần lượt là 28,2% và 94,1% ( $p < 0,05$ ) (Hình 3.23).



**Hình 3.24: Hình thái cá khoang cổ nemo ở các nhóm đối chứng (giữa), ứng dụng (trái) và tự nhiên (phải)**

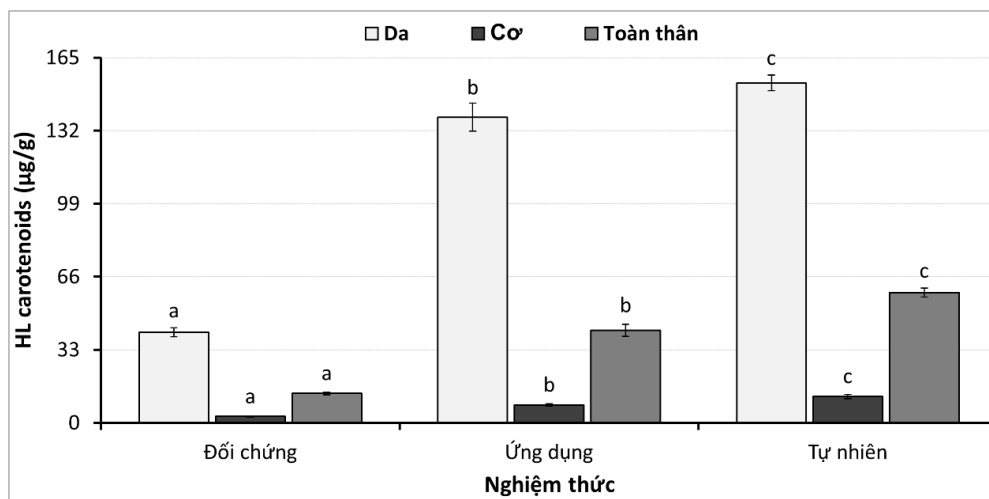
Những kết quả trên cho thấy việc ứng dụng các thông số tối ưu vào quy trình sản xuất đã cải thiện đáng kể màu sắc da cá khoang cổ nemo. Màu sắc da rực rỡ của cá khoang cổ nemo nuôi theo quy trình cải tiến có ý nghĩa quan trọng trong việc nâng cao

chất lượng và giá trị thương phẩm, đáp ứng nhu cầu ngày càng cao của thị trường cá cảnh. Cụ thể, da cá ở nhóm ứng dụng có màu đỏ đậm, sắc nét và rục rờ hơn hẳn so với màu vàng nhạt nhạt ở nhóm đối chứng và vàng cam ở nhóm tự nhiên (Hình 3.24). Kết quả này là tiền đề quan trọng để ứng dụng quy trình sản xuất hiệu quả này vào thực tiễn nuôi cá cảnh biển, đặc biệt là cá khoang cổ nemo, nhằm nâng cao chất lượng và giá trị thương phẩm của sản phẩm.

### 3.3.2. Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá

Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong da, cơ và toàn thân cá khoang cổ nemo khác biệt đáng kể giữa các nhóm đối chứng, ứng dụng và tự nhiên (Hình 3.25). Nhóm cá tự nhiên đạt hàm lượng carotenoids cao nhất ở cả ba chỉ tiêu, tiếp theo là nhóm ứng dụng và thấp nhất là nhóm đối chứng ( $p < 0,05$ ). Cụ thể, hàm lượng carotenoids trong da cá ở nhóm tự nhiên ( $153,6 \pm 3,84 \mu\text{g/g}$ ) cao hơn đáng kể so với nhóm ứng dụng ( $138,1 \pm 6,34 \mu\text{g/g}$ ) và nhóm đối chứng ( $40,9 \pm 2,06 \mu\text{g/g}$ ). Mức chênh lệch giữa nhóm tự nhiên và nhóm ứng dụng, đối chứng lần lượt là 11,2% và 275,7%.

Xu hướng tương tự cũng được quan sát thấy ở hàm lượng carotenoids trong cơ và toàn thân cá. Nhóm tự nhiên dẫn đầu, kế đến là nhóm ứng dụng và cuối cùng là nhóm đối chứng, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) (Hình 3.25).



**Hình 3.25: Hàm lượng carotenoids tổng số tích lũy trong cơ thể cá khoang cổ nemo (µg/g) ở nhóm đối chứng, ứng dụng và tự nhiên**

*Các giá trị được trình bày dưới dạng Mean ± SE (n = 3). Các cột với các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,05).*

Kết quả này cho thấy môi trường sống tự nhiên cung cấp nguồn thức ăn giàu carotenoids hơn so với điều kiện nuôi nhân tạo, dẫn đến hàm lượng carotenoids tích lũy

trong cơ thể cá tự nhiên cao hơn. Tuy nhiên, việc ứng dụng quy trình sản xuất tối ưu đã cải thiện đáng kể hàm lượng carotenoids trong cơ thể cá so với nhóm đối chứng, thể hiện qua mức tăng 237,7% ở da, 185,5% ở cơ và 213,3% ở toàn thân cá. Điều này cho thấy tiềm năng ứng dụng trong thực tiễn sản xuất nhằm nâng cao chất lượng của cá khoang cổ nemo, đáp ứng nhu cầu ngày càng cao của thị trường.

### 3.3.3. Các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn

*Các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống:*

Kết quả cho thấy cá được nuôi ở nghiệm thức ứng dụng đạt tốc độ tăng trưởng đặc trưng về chiều dài và khối lượng cao hơn đáng kể so với đối chứng, với mức tăng tương ứng là 22,9% và 25,7% ( $p < 0,05$ ). Kết quả này chứng minh tính hiệu quả, khả năng ứng dụng cao và tính khả thi của các thông số thích hợp đã được xác định trong nghiên cứu, tạo tiền đề vững chắc cho việc ứng dụng rộng rãi các kết quả nghiên cứu trong thực tiễn sản xuất.

**Bảng 3.19: Tăng trưởng và tỷ lệ sống của cá khoang cổ nemo ở nhóm ứng dụng và đối chứng**

Chỉ tiêu	Đối chứng	Ứng dụng	F; Sig.	Mức tăng (%)
L <sub>1</sub> (cm)	3,17 ± 0,12	3,17 ± 0,12	-	
W <sub>1</sub> (g)	0,59 ± 0,07	0,59 ± 0,07	-	
L <sub>2</sub> (cm)	3,71 ± 0,01 <sup>a</sup>	3,85 ± 0,02 <sup>b</sup>	3,37; 0,00	3,77
W <sub>2</sub> (g)	0,95 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,07 ± 0,01 <sup>b</sup>	4,41; 0,00	12,6
SGR <sub>L</sub> (%/ngày)	0,35 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,43 ± 0,01 <sup>b</sup>	2,75; 0,00	22,9
SGR <sub>w</sub> (%/ngày)	1,05 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,32 ± 0,02 <sup>b</sup>	6,03; 0,00	25,7
CV <sub>L</sub> (%)	11,5 ± 0,41	10,4 ± 1,04	0,16; 0,79	-
CV <sub>w</sub> (%)	28,8 ± 1,19	26,4 ± 1,64	1,36; 0,27	-
CF (g/cm <sup>3</sup> )	1,85 ± 0,03	1,88 ± 0,01	9,64; 0,22	-
SR (%)	97,1 ± 1,35	99,0 ± 0,96	5,33; 0,27	-

*Các số liệu mang chữ cái khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự khác biệt thống kê,  $p < 0,05$ .*

Tuy nhiên, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai nhóm thí nghiệm về hệ số phân đàn chiều dài (10,4 - 11,5%), hệ số phân đàn khối lượng (26,4 - 28,8%), hệ số điều kiện (1,88 - 1,85 g/cm<sup>3</sup>) và tỷ lệ sống (99,0 - 97,1%) ( $p > 0,05$ ). Kết quả này cho thấy việc ứng dụng các thông số tối ưu không ảnh hưởng tiêu cực đến sự đồng đều về kích thước, hình thái và khả năng sống sót của cá, đồng thời khẳng định tính an toàn, bền vững và tính ứng dụng cao của các giải pháp đã được nghiên cứu và đề xuất.

### *Hiệu quả sử dụng thức ăn:*

Cá được nuôi ở điều kiện tối ưu có lượng thức ăn sử dụng hàng ngày ( $0,79 \pm 0,02$  g/con) cao hơn đáng kể so với nhóm đối chứng ( $0,68 \pm 0,03$  g/con) ( $p < 0,05$ ), với mức tăng 16,2% (Bảng 3.20). Kết quả này chứng minh điều kiện nuôi tối ưu kích thích cá ăn nhiều hơn, từ đó đáp ứng tốt hơn nhu cầu dinh dưỡng cho sinh trưởng và phát triển.

Bên cạnh đó, hệ số chuyển hóa thức ăn (FCR) và hiệu quả sử dụng protein thức ăn (PER) cũng được cải thiện đáng kể ở nhóm ứng dụng. Giá trị FCR và PER ở nhóm ứng dụng lần lượt là  $1,64 \pm 0,01$  và  $1,11 \pm 0,01$ , thấp hơn so với nhóm đối chứng ( $1,92 \pm 0,03$  và  $0,95 \pm 0,02$ ) ( $p < 0,05$ ), với mức cải thiện tương ứng là 14,6% và 16,8% (Bảng 3.20). Kết quả này cho thấy việc ứng dụng các thông số tối ưu giúp cá tận dụng thức ăn hiệu quả hơn, nâng cao hiệu suất chuyển hóa thành năng lượng và các chất dinh dưỡng cần thiết cho tăng trưởng.

**Bảng 3.20: Hiệu quả sử dụng thức ăn của cá khoang cổ nemo ở nhóm ứng dụng và đối chứng**

Chỉ tiêu	Đối chứng	Ứng dụng	F; Sig.	Mức tăng (%)
FI (g/con)	$0,68 \pm 0,03^a$	$0,79 \pm 0,02^b$	0,98; 0,00	16,2
FCR	$1,92 \pm 0,03^b$	$1,64 \pm 0,01^a$	5,78; 0,00	-14,6 <sup>#</sup>
PER	$0,95 \pm 0,02^a$	$1,11 \pm 0,01^b$	2,84; 0,00	16,8

*Các số liệu mang chữ cái khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự khác biệt thống kê,  $p < 0,05$ . # Giá trị thấp hơn là tốt hơn.*

Tóm lại, nghiên cứu đã chỉ ra rằng việc ứng dụng các thông số tối ưu (bao gồm màu bê, độ mặn và chế độ bổ sung carotenoids vào thức ăn với nguồn vỏ tôm, hàm lượng 600 mg/kg trong 45 ngày) vào thực tiễn sản xuất đã cải thiện đáng kể tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá khoang cổ nemo so với kỹ thuật nuôi hiện nay. Những kết quả khoa học này là cơ sở quan trọng và có giá trị ứng dụng cao, mở ra triển vọng ứng dụng rộng rãi, hiệu quả và bền vững trong sản xuất và nuôi loài cá cảnh có giá trị này.

#### **3.3.4. Thảo luận về kết quả ứng dụng**

Kết quả thu được chỉ ra rằng việc ứng dụng các thông số thích hợp nhất, bao gồm màu bê (xanh), độ mặn (33%), bổ sung carotenoids từ vỏ tôm (600 mg/kg thức ăn) trong thời gian 45 ngày, đã cải thiện đáng kể các chỉ tiêu tăng trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn, màu sắc da và hàm lượng carotenoids tích lũy trên da cá khoang cổ nemo so với đối

chúng. Tùy theo từng thông số, mức độ cải thiện dao động từ 3,77 – 254,3%, cho thấy tính hiệu quả của việc ứng dụng kết quả nghiên cứu vào thực tiễn sản xuất giống cá khoang cổ nemo. Ngoài cải thiện tăng trưởng, giảm chi phí thức ăn, việc cải thiện màu sắc của da cá còn giúp đáp ứng được yêu cầu thị trường và góp phần giảm áp lực khai thác lên nguồn lợi cá rạn tự nhiên. Đây là đóng góp quan trọng của nghiên cứu trong bối cảnh ngành công nghiệp cá cảnh đang phát triển mạnh mẽ và nhu cầu thị trường ngày càng cao và khắt khe như hiện nay, đặc biệt với các thị trường xuất khẩu lớn như Mỹ, châu Âu và Nhật Bản.

Nhiều nghiên cứu trước đây đã nhấn mạnh vai trò của các thông số màu sắc hệ thống nuôi, chế độ bổ sung carotenoids (nguồn, hàm lượng, thời gian bổ sung) lên các đối tượng nuôi thủy sản [57, 88, 97, 109, 139, 175, 222, 231]. Tuy nhiên, nghiên cứu này là một trong số ít các nghiên cứu tích hợp và ứng dụng nhiều thông số nhằm cải thiện đáng kể các chỉ số tăng trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn và màu sắc của đối tượng nuôi một cách đồng thời. Thông qua các chỉ số thu được, mục tiêu cải thiện tăng trưởng và màu sắc của cá khoang cổ nemo đã đạt được. Kết quả này cung cấp thêm bằng chứng khoa học ủng hộ quan điểm tích hợp các yếu tố môi trường và dinh dưỡng một cách tối ưu nhằm nâng cao hiệu quả nuôi trồng thủy sản nói chung và nuôi cá cảnh biển nói riêng [109].

Các kết quả nghiên cứu đã khẳng định tầm quan trọng của việc điều chỉnh điều kiện nuôi phù hợp đối với việc duy trì và tăng cường màu sắc của cá khoang cổ nemo nói riêng và cá cảnh biển nói chung. Carotenoids là nhóm chất có hoạt tính sinh học cao, tác động tích cực lên các quá trình sinh lý, sinh hóa, trao đổi chất trong cơ thể cá, từ đó hỗ trợ tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn như đã được chứng minh trong nhiều nghiên cứu [115, 172]. Những phát hiện này góp phần làm sáng tỏ cơ chế sinh học đằng sau sự cải thiện tăng trưởng và màu sắc ở cá khi được bổ sung carotenoids với liều lượng và thời gian thích hợp.

Bên cạnh đó, với vai trò là một trong những nhóm sắc tố đa dạng nhất trong tự nhiên, hiện diện ở nhiều loài động vật thủy sinh trong đó có cá, việc bổ sung carotenoids với hàm lượng và thời gian phù hợp, đã tăng cường sự tiêu hóa, hấp thu và tích lũy carotenoids trong cơ thể chúng [60]. Chính sự tích lũy này giúp nâng cao màu sắc da và hàm lượng carotenoids tích lũy trong cơ thể cá ở nhóm ứng dụng một cách vượt trội so với nhóm đối chứng [109, 123]. Những kết quả này một lần nữa nhấn mạnh tính phù

hợp của việc sử dụng nguồn carotenoids tự nhiên có nguồn gốc từ phụ phẩm thủy sản như vỏ tôm trong nuôi trồng thủy sản, thay thế cho các sắc tố tổng hợp trong khi vẫn đảm bảo hiệu quả sinh học và an toàn cho đối tượng nuôi.

Tóm lại, nghiên cứu đã chứng minh tính hiệu quả và khả thi của việc ứng dụng tổng hợp các thông số môi trường và dinh dưỡng phù hợp trong nuôi cá khoang cổ nemo. Kết quả đạt được không chỉ góp phần cải thiện năng suất, chất lượng sản phẩm mà còn mang lại hiệu quả kinh tế, giảm chi phí sản xuất và tăng sức cạnh tranh cho ngành công nghiệp cá cảnh. Những phát hiện này là nền tảng khoa học quan trọng để đề xuất áp dụng quy trình sản xuất tối ưu, hiệu quả vào thực tiễn, hướng tới sự phát triển bền vững của nghề nuôi cá khoang cổ nemo nói riêng và cá cảnh biển nói chung trong tương lai.

Dựa trên những phân tích và thảo luận ở trên, nghiên cứu kết luận rằng việc bổ sung các nguồn carotenoids vào thức ăn, đặc biệt là vỏ tôm và ớt chuông, với hàm lượng tương ứng là 600 mg/kg và 900 mg/kg thức ăn trong 45 ngày, đã cải thiện đáng kể các chỉ tiêu tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá khoang cổ nemo. Đáng chú ý, khi xét về hiệu quả tăng cường màu sắc (bao gồm màu sắc da và hàm lượng carotenoids tích lũy), kết quả thu được từ việc bổ sung vỏ tôm, ớt chuông và astaxanthin tổng hợp là tương đương nhau. Phát hiện này cho thấy tiềm năng và tính hiệu quả của việc sử dụng nguồn carotenoids tự nhiên từ thực vật và động vật như một giải pháp thay thế cho astaxanthin tổng hợp. Mặc dù astaxanthin tổng hợp vẫn là một giải pháp hiệu quả để tăng cường màu sắc cá cảnh nhờ sự sẵn có và tiện lợi trong quá trình sử dụng, nhưng carotenoids tự nhiên được xem là giải pháp bền vững hơn cho nuôi trồng thủy sản lâu dài, đặc biệt khi xem xét các vấn đề liên quan đến tính an toàn, tác dụng đa chiều đối với sức khỏe của đối tượng nuôi và sự thân thiện với môi trường [60, 196]. Nghiên cứu này ủng hộ việc sử dụng carotenoids tự nhiên nhằm cải thiện chất lượng và giá trị của nguồn cá cảnh sản xuất nhân tạo, đồng thời góp phần giảm áp lực khai thác lên nguồn lợi cá rạn tự nhiên và bảo vệ hệ sinh thái rạn san hô.

Mặc dù nghiên cứu này đã đạt được các kết quả đáng khích lệ, vẫn còn một số hạn chế cần được xem xét. Để hoàn thiện và phát triển hơn nữa, các nghiên cứu trong tương lai cần tập trung giải quyết một số vấn đề thiết yếu sau đây. *Thứ nhất*, cần làm rõ cơ chế chuyển hóa và hấp thu nguồn carotenoids từ thức ăn, đặc biệt là từ vỏ tôm và ớt chuông, vào trong cơ thể cá khoang cổ nemo. Hiểu rõ quá trình này sẽ giúp tối ưu hóa

hiệu quả sử dụng và đảm bảo an toàn sinh học của nguồn carotenoids bổ sung. *Thứ hai*, với vai trò là các hợp chất có hoạt tính sinh học cao, carotenoids được biết đến với tác động tích cực lên nhiều hoạt động sinh lý, sinh hóa trong cơ thể cá. Do đó, việc đánh giá toàn diện ảnh hưởng của bổ sung carotenoids lên các chỉ tiêu quan trọng như khả năng chống oxy hóa, sức đề kháng, khả năng miễn dịch và chống chịu với các tác động bất lợi của môi trường là rất cần thiết. *Thứ ba*, màu sắc, một trong những yếu tố quyết định giá trị thẩm mỹ và thương mại của cá cảnh, không chỉ chịu sự chi phối của yếu tố dinh dưỡng mà còn phụ thuộc vào nhiều yếu tố khác như di truyền và môi trường nuôi. Chính vì vậy, việc nghiên cứu sâu hơn về mối tương tác phức tạp giữa các yếu tố di truyền, dinh dưỡng và môi trường nuôi sẽ cung cấp cái nhìn tổng thể và toàn diện hơn, giúp định hướng chiến lược cải thiện màu sắc cho cá khoang cổ nói riêng và cá cảnh nói chung. *Cuối cùng*, mặc dù việc kết hợp các thông số tối ưu vào thực tiễn sản xuất đã cải thiện hiệu quả tăng trưởng và màu sắc của cá khoang cổ nemo so với đối chứng và nguồn cá khai thác tự nhiên, nhưng do những hạn chế về thời gian và kinh phí nghiên cứu, tác động đồng thời của môi trường và dinh dưỡng vẫn chưa được xem xét và đánh giá trong nghiên cứu này. Trong sinh học nói chung, chỉ tiêu tối ưu ở thí nghiệm này, trong nhiều trường hợp, không phải là yếu tố tốt nhất khi xem xét trong mối quan hệ tổng thể hay tương tác với các yếu tố khác. Điều này càng thể hiện rõ nét hơn trong hệ thống nuôi trồng thủy sản khi mà các yếu tố vô sinh, hữu sinh và kỹ thuật nuôi có mối quan hệ chặt chẽ với nhau và đều tác động lên các hoạt động sống của cá [194]. Chính vì vậy, nghiên cứu tương tác đồng thời của các yếu tố môi trường và dinh dưỡng trong cùng một hệ thống nuôi nhằm tối ưu hóa chất lượng cá khoang cổ nemo là một hướng nghiên cứu quan trọng và cần thiết trong tương lai. Với những định hướng nghiên cứu đầy thách thức nhưng tiềm năng và ý nghĩa này, ngành công nghiệp sản xuất giống và nuôi cá cảnh biển có thể hướng tới sự phát triển hiệu quả và bền vững hơn, tạo ra các sản phẩm chất lượng cao, thẩm mỹ đẹp, an toàn và thân thiện với môi trường, từ đó chiếm ưu thế trên thị trường, đáp ứng nhu cầu ngày càng cao của người tiêu dùng và đóng góp tích cực vào sự phát triển bền vững của hệ sinh thái biển.

## CHƯƠNG 4 - KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

### 4.1. Kết luận

Môi trường nuôi (màu bể và độ mặn) có ảnh hưởng đáng kể đến màu sắc và tăng trưởng của cá khoang cổ nemo. Màu sắc đạt được tốt nhất khi cá được nuôi trong bể xanh và trong suốt với độ mặn 33‰. Ngược lại, bể màu đen và độ mặn thấp (9‰) làm giảm chất lượng màu sắc của cá, với các biểu hiện da tối sạm và nhợt nhạt.

Bổ sung carotenoids từ nguồn thực vật (gấc, ớt chuông) và động vật (vỏ tôm, copepoda) cải thiện đáng kể màu sắc, tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá khoang cổ nemo. Ớt chuông và vỏ tôm được xác định là nguồn bổ sung tốt nhất, với mức bổ sung khuyến nghị lần lượt là 900 mg/kg thức ăn và 600 mg/kg thức ăn. Thời gian bổ sung carotenoids từ vỏ tôm trong 45 thay vì 75 ngày được xác định là đủ hiệu quả trong việc tăng cường màu sắc của cá khoang cổ nemo.

Khi ứng dụng kết hợp các thông số môi trường (bể màu xanh, độ mặn 33‰) và chế độ bổ sung carotenoids vào thức ăn (từ vỏ tôm, hàm lượng 600 mg/kg thức ăn, trong 45 ngày) vào thực tiễn sản xuất, cá cho thấy kết quả vượt trội về các chỉ tiêu màu sắc da, hàm lượng sắc tố tích lũy, các chỉ tiêu tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn so với nhóm đối chứng. Khi so sánh với nguồn cá khai thác từ tự nhiên, mặc dù hàm lượng carotenoids tích lũy thấp hơn đáng kể nhưng các chỉ tiêu đánh giá màu sắc da thể hiện sự vượt trội, cá thể hiện màu da đỏ đậm, sâu và sắc nét hơn. Điều này đã cho thấy tính hiệu quả của việc áp dụng giải pháp kết hợp vào thực tiễn sản xuất nhằm nâng cao chất lượng màu sắc của nguồn cá khoang cổ nemo sản xuất nhân tạo.

Các kết quả thu được trong nghiên cứu này đóng vai trò to lớn và ý nghĩa quan trọng đối với nghề nuôi cá cảnh nói chung và cá khoang cổ nemo nói riêng, hỗ trợ cải thiện năng suất, chất lượng và giá trị thương mại của sản phẩm, đồng thời, đóng góp vào việc giảm áp lực khai thác lên nguồn lợi cá rạn tự nhiên.

### 4.2. Kiến nghị

Các nghiên cứu tiếp theo nên tập trung làm rõ vai trò và cơ chế hoạt động của carotenoids, đặc biệt là các thành phần cụ thể, trong cơ thể cá khoang cổ nemo bao gồm: khả năng tiếp cận sinh học, sinh khả dụng, hấp thu, chuyển hóa và tích lũy sinh học. Điều này sẽ giúp giải thích các kết quả thu được trong nghiên cứu hiện tại, đồng thời, tối ưu hóa hiệu quả bổ sung của nguồn sắc tố này vào thức ăn cho cá khoang cổ nemo.



Bên cạnh đó, các nghiên cứu sâu hơn về mối tương tác phức tạp giữa các yếu tố môi trường và dinh dưỡng bổ sung, thay vì đơn yếu tố như trong nghiên cứu hiện tại, cũng cần được thực hiện nhằm cung cấp cái nhìn tổng thể và toàn diện hơn, qua đó giúp xây dựng chiến lược hiệu quả, bền vững trong cải thiện màu sắc của cá khoang cổ nemo.

## DANH MỤC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ CỦA TÁC GIẢ

1. **Trần Văn Dũng**, Nguyễn Hữu Khang, Trần Thị Lê Trang, Hứa Thái Nhân, Phạm Quốc Hùng, 2023. Ảnh hưởng của màu sắc bể nuôi lên tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá khoang cô nemo (*Amphiprion ocellaris* Cuvier, 1830). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ, Trường Đại học Thái Nguyên*, số 228(13): 95-103.
2. **Trần Văn Dũng**, Nguyễn Hữu Khang, Lương Thị Hậu, Hứa Thái Nhân, Phạm Quốc Hùng, 2023. Ảnh hưởng của màu bể nuôi lên màu sắc da và hàm lượng carotenoid tích lũy ở cá khoang cô nemo (*Amphiprion ocellaris* Cuvier, 1830). *Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy sản, Trường Đại học Nha Trang*, số 3/2023, trang 101-112.
3. **Dung Van Tran**, Hau Thi Luong, Khanh Thi Pham, Thanh Trung Dang, Nhan Thai Hua, Hung Quoc Pham, 2024. Plant-based carotenoid supplementation: Growth, feed utilization efficiency, and coloration in false clownfish (*Amphiprion ocellaris*). *Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh*, 76(1): 1 - 12.
4. **Dung V. Tran**, Thanh T. Dang, Hau T. Luong, Nhan. T. Hua, Hung Q. Pham, 2024. Natural carotenoids extracted from red bell pepper for enhancement of growth and coloration of false clownfish, *Amphiprion ocellaris*. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation - International Journal of the Bioflux Society* 17(2): 542-554.
5. **Dung Van Tran**, Trang Le Thi Tran, Nam Xuan Doan, Thanh Trung Dang, Nhan Thai Hua, Hung Quoc Pham, 2025. Comparative impact of synthetic and natural animal-derived carotenoids on growth, feed utilization, and pigment enhancement in *Amphiprion ocellaris*. *Fisheries and Aquatic Sciences*, 28(1): 10 – 20.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

### **Tài liệu tiếng Việt:**

1. 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 (B2014-TSN-05), Trường Đại học Nha Trang, 115 trang.
2. Trần Văn Dũng (2023), *Nghiên cứu nâng cao sinh trưởng, tỷ lệ sống và màu sắc của 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 (B2021-TSN-03), Trường Đại học Nha Trang, 144 trang.
3. Nguyễn Công Khẩn, Hà Thị Anh Đào (2007), *Bảng thành phần thực phẩm Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học.
4. Hồ Sơn Lâm và Nguyễn Thị Nguyệt Huệ (2021), “Tổng quan một số bệnh thường gặp trên cá khoang cổ”, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ biển*, 21(4A), trang 129-143.
5. Hà Lê Thị Lộc (2005), *Nghiên cứu cơ sở sinh thái, sinh học phục vụ cho sinh sản nhân tạo cá Khoang Cổ (*Amphiprion* sp) vùng biển Khánh Hòa*, Luận án tiến sĩ, Viện Hải dương học Nha Trang, Khánh Hòa.
6. Hà Lê Thị Lộc (2011), *Nghiên cứu công nghệ sản xuất giống và nuôi thương phẩm một số loài cá cảnh có giá trị xuất khẩu*, Đề tài Nghiên cứu khoa học công nghệ cấp Nhà nước KC 06.05/06-10, Viện Hải Dương học Nha Trang.
7. Trần Văn Phước, Nguyễn Đình Trung, Hà Lê Thị Lộc, và Võ Thành Đạt (2010), “Ảnh hưởng của thức ăn và độ mặn đến sinh trưởng và tỷ lệ sống cá khoang cổ đỏ (*Amphiprion frenatus* Brevoort, 1856) (dưới 60 ngày tuổi)”, *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, 1, trang 87 – 91.
8. Nguyễn Thị Hải Thanh (2021), *Nghiên cứu đặc điểm sinh học sinh sản và thử nghiệm sản xuất giống nhân tạo cá khoang cổ yên ngựa *Amphiprion polymnus* (Linnaeus, 1758)*, Luận án tiến sĩ, Trường Đại học Nha Trang.
9. Võ Sĩ Tuấn, Bùi Hồng Long, Nguyễn Thị Thanh Thủy (2013), “Một số thành tựu và định hướng nghiên cứu khoa học của viện hải dương học”, Kỷ yếu Hội nghị Quốc tế "Biển Đông 2012", Nha Trang, Nhà xuất bản Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, trang 1-8.
10. Lương Thị Tường Vi (2015), *Phân loại một số loài cá khoang cổ và hải quỳ tại Khánh Hòa dựa trên đặc điểm hình thái và di truyền*, Trường Đại học Nha Trang, 75 trang.

### **Tài liệu tiếng Anh:**

11. Abdel-Tawwab, M., Shukry, M., Farrag, F. A., El-Shafai, N. M., Dawood, M. A., và Abdel-Latif, H. M. (2021), “Dietary sodium butyrate nanoparticles enhanced growth, digestive enzyme activities, intestinal histomorphometry, and transcription of growth-related genes in Nile tilapia juveniles”, *Aquaculture*, 536, p. 736467.
12. Ako, H., Tamaru, C. S., Asano, L., Yuen, B., và Yamamoto, M. (2000), “Achieving natural coloration in fish under culture, spawning and maturation of aquatic species”, United States-Japan cooperative program in natural resources technical report, (28).

13. Alkhamis, Y. A., Mondal, B., Mathew, R. T., Nagarajan, G., Rahman, S. M., Rahman, M. M., Alhajji, A., và Rahman, M. M. (2022), “Periodic Effects of Salinity on Compensatory Expression of Phenotypic Traits in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*)”, *E Zoological Society of Pakistan*, pp. 1-9.
14. Allen, G. (1972), *The anemonefishes: their classification and biology*. TFH Publ. Inc., Neptune City, NK.
15. Alonso, F., Cánepa, M., Moreira, R. G., và Pandolfi, M. (2011), “Social and reproductive physiology and behavior of the Neotropical cichlid fish *Cichlasoma dimerus* under laboratory conditions”, *Neotropical Ichthyology*, 9, pp. 559-570.
16. Amar, E., Kiron, V., Satoh, S., và Watanabe, T. (2001), “Influence of various dietary synthetic carotenoids on bio-defence mechanisms in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)”, *Aquaculture research*, 32, pp. 162-173.
17. Amaya, E. và Nickell, D. (2015), “Using feed to enhance the color quality of fish and crustaceans”, *Feed and feeding practices in aquaculture*, pp. 269-298.
18. Amiya, K., và Inoue, A. (2008), “Fe-(Cr, Mo)-(C, B)-Tm bulk metallic glasses with high strength and high glass-forming ability”, *Reviews on Advanced Materials Science*, 18, pp. 27-29.
19. Ansarifard, F., Rajabi Islami, H., Shamsaie Mehrjan, M., & Soltani, M. (2018), “Effects of *Arthrospira platensis* on growth, skin color and digestive enzymes of Koi, *Cyprinus carpio*”, *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 17(2), pp. 381-393.
20. AOAC, *Official Methods of Analysis, 18th ed. Association of Official Analytical Chemists*. 2006, Arlington, VA, USA.
21. Arimboor, R., Natarajan, R. B., Menon, K. R., Chandrasekhar, L. P., và Moorkoth, V. (2015), “Red pepper (*Capsicum annuum*) carotenoids as a source of natural food colors: analysis and stability - a review”, *Journal of Food Science and Technology*, 52(3), pp. 1258-1271.
22. Aspengren, S., Sköld, H. và Wallin, M. (2009), “Different strategies for color change”, *Cellular and Molecular Life Sciences*, 66, pp. 187-191.
23. Bagnara, J.T., Fernandez, P.J., và Fujii, R. (2007), “On the blue coloration of vertebrates”, *Pigment Cell Research*, 20(1), pp. 14-26.
24. Beaumont, A., Boudry, P., và Hoare, K. (2010), *Biotechnology and genetics in fisheries and aquaculture*, John Wiley & Sons.
25. Bell, J.G., McEvoy, J., Tocher, D.R., và Sargent, J.R. (2000), “Depletion of  $\alpha$ -tocopherol and astaxanthin in Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects autoxidative defense and fatty acid metabolism”, *The Journal of nutrition*, 130(7), pp. 1800-1808.
26. Bera, A., Kailasam, M., Mandal, B., Sukumaran, K., Makesh, M., Hussain, T., Sivaramakrishnan, T., Rubburaj, R., Thiagarajan, G., & Vijayan, K. K. (2019), “Effect of tank colour on foraging capacity, growth and survival of milkfish (*Chanos chanos*) larvae”, *Aquaculture*, 512, p. 734347.
27. Bernfeld, P. (1955), [17] *Amylases,  $\alpha$  and  $\beta$* , pp. 149-158.

28. Besharat, M., Rajabi Islami, H., Soltani, M., và Abdolmajid Mousavi, S. (2021), “Effect of different levels of nanoliposome-coated astaxanthin on growth performance, body proximate composition, liver enzyme activity and pigmentation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)”, *Aquaculture Research*, 52(10), pp. 5069-5077.
29. Bhandiwad, A., và Johnsen, S. (2011), “The effects of salinity and temperature on the transparency of the grass shrimp *Palaemonetes pugio*”, *Journal of Experimental Biology*, 214(5), pp. 709-716.
30. Biondo, M.V., và Burki, R.P. (2020), “A systematic review of the ornamental fish trade with emphasis on coral reef fishes—an impossible task”, *Animals*, 10(11), 2014p.
31. Biondo, M. V., Burki, R. P., Aguayo, F., & Calado, R. (2024), “An updated review of the marine ornamental fish trade in the European Union”, *Animals*, 14(12), 1761.
32. Boeuf, G., và Le Bail, P.-Y. (1999), “Does light have an influence on fish growth?”, *Aquaculture*, 177(1-4), pp. 129-152.
33. Bœuf, G., và Payan, P. (2001), “How should salinity influence fish growth?”, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 130(4), pp. 411-423.
34. Booth, M.A., Warner-Smith, R.J., Allan, G.L., và Glencross, B.D. (2004), “Effects of dietary astaxanthin source and light manipulation on the skin colour of Australian snapper *Pagrus auratus* (Bloch & Schneider, 1801)”, *Aquaculture Research*, 35(5), pp. 458-464.
35. Braasch, I., Brunet, F., Volff, J.-N., và Schartl, M. (2009), “Pigmentation pathway evolution after whole-genome duplication in fish”, *Genome biology and evolution*, 1, pp. 479-493.
36. Briand, C., Fatin, D., Ciccotti, E., và Lambert, P. (2005), “A stage-structured model to predict the effect of temperature and salinity on glass eel *Anguilla anguilla* pigmentation development”, *Journal of Fish Biology*, 67(4), pp. 993-1009.
37. Brunner, B. (2012), *The ocean at home: an illustrated history of the aquarium*, Reaktion Books.
38. Bushnell, P.G., và Brill, R.W. (1992), “Oxygen transport and cardiovascular responses in skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) and yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) exposed to acute hypoxia”, *Journal of Comparative Physiology B*, 162, pp. 131-143.
39. Buston, P. (2003), “Mortality is associated with social rank in the clown anemonefish (*Amphiprion percula*)”, *Marine Biology*, 143, pp. 811-815.
40. Calado, R., Olivotto, I., Oliver, M.P., và Holt, G.J. (2017), *Marine ornamental species aquaculture*, Vol. 712, Wiley Online Library.
41. Carleton, K. L., Escobar-Camacho, D., Stieb, S. M., Cortesi, F., & Marshall, N.J. (2020), “Seeing the rainbow: mechanisms underlying spectral sensitivity in teleost fishes”, *Journal of Experimental Biology*, 223(8), jeb193334.
42. Carneiro, M.D.D., Medeiros, R.S.D., Monserrat, J.M., Rodrigues, R.V., & Sampaio, L.A. (2024), “Growth and Oxidative Stress of Clownfish *Amphiprion ocellaris* Reared at Different Salinities”, *Fishes*, 9(1), 30p.

43. Chatzifotis, S., Pavlidis, M., Jimeno, C. D., Vardanis, G., Sterioti, A., & Divanach, P. (2005), "The effect of different carotenoid sources on skin coloration of cultured red porgy (*Pagrus pagrus*)", *Aquaculture Research*, 36(15), pp. 1517-1525.
44. Chen, J. Y., Zeng, C., Jerry, D. R., & 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), pp. 1518-1541.
45. Chen, S. C., Robertson, R. M., & Hawryshyn, C. W. (2013), "Possible involvement of cone opsins in distinct photoresponses of intrinsically photosensitive dermal chromatophores in tilapia *Oreochromis niloticus*", *PLoS One*, 8(8), e70342.
46. Choubert, G., Milicua, J. C. G., Gomez, R., Sancé, S., Petit, H., Nègre-Sadargues, G., Caslito, R., & Trilles, J. P. (1995), "Utilization of carotenoids from various sources by rainbow trout: muscle colour, carotenoid digestibility and retention", *Aquaculture International*, 3, pp. 205-216.
47. Christiansen, R., & Torrissen, O. J. (1996), "Growth and survival of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. fed different dietary levels of astaxanthin", *Juveniles, Aquaculture Nutrition*, 2(1), pp. 55-62.
48. Cirino, P., Brunet, C., Ciaravolo, M., Galasso, C., Musco, L., Vega Fernández, T., Sansone, C., & Toscano, A. (2017), "The sea urchin *Arbacia lixula*: A novel natural source of astaxanthin", *Marine drugs*, 15(6), p. 187.
49. Dhaneesh, K. V., Ajith Kumar, T. T., & Shunmugaraj, T. (2009), "Embryonic development of percula clownfish, *Amphiprion percula* (Lacepede, 1802)", *Middle-East Journal of Scientific Research*, 4(2), pp. 84-89.
50. Díaz-Jiménez, L., Hernández-Vergara, M. P., & Pérez-Rostro, C. I. (2020), "Protein/lipid ratio for the growth of juvenile clownfish, *Amphiprion ocellaris*", *Journal of the World Aquaculture Society*, 51(3), pp. 666-678.
51. Díaz-Jiménez, L., Hernández-Vergara, M. P., Pérez-Rostro, C. I., & Olvera-Novoa, M. Á. (2021), "The effect of two carotenoid sources, background colour and light spectrum on the body pigmentation of the clownfish *Amphiprion ocellaris*", *Aquaculture Research*, 52(7), pp. 3052-3061.
52. Doolan, B. J., Booth, M. A., Allan, G. L., & Jones, P. L. (2008), "Effects of dietary astaxanthin concentration and feeding period on the skin pigmentation of Australian snapper *Pagrus auratus* (Bloch & Schneider, 1801)", *Aquaculture research*, 40(1), pp. 60-68.
53. Doolan, B. J., Booth, M. A., Jones, P. L., & Allan, G. L. (2007), "Effect of cage colour and light environment on the skin colour of Australian snapper *Pagrus auratus* (Bloch & Schneider, 1801)", *Aquaculture research*, 38(13), pp. 1395-1403.
54. Dopeikar, H., Khoshkholgh, M., Ghasemi, S. A., & Morshedi, V. (2024), "Effects of Background Color on Growth, Stress, Biochemical, Hematological, and Immunological Responses, and Expression of Growth-Related Genes in Oscar Fish (*Astronotus ocellatus*)", *Aquaculture Research*, 2024(1), p. 6957201.

55. dos Santos, T. M. L., Sousa, E. M. D. O., Tsuzuki, M. Y., Barcellos, L. J. G., & Nuñez, A. P. D. O. (2023), “Tank color influence on the Tomato Clownfish *Amphiprion frenatus* metamorphosis”, *North American Journal of Aquaculture*, 85(4), pp. 407-414.
56. Duan, X., Xie, C., Hill, D. R., Barrow, C. J., Dunshea, F. R., Martin, G. J., & Suleria, H. A. (2024), “Bioaccessibility, bioavailability and bioactivities of carotenoids in microalgae: A review”, *Food Reviews International*, 40(1), pp. 230-259.
57. Ebeneezar, S., Prabu, D. L., Chandrasekar, S., Tejpal, C. S., Madhu, K., Sayooj, P., & Vijayagopal, P. (2020), “Evaluation of dietary oleoresins on the enhancement of skin coloration and growth in the marine ornamental clown fish, *Amphiprion ocellaris* (Cuvier, 1830)”, *Aquaculture*, 529, p. 735728.
58. Ebrahimi, G. (2011), “Effects of rearing tank background color on growth performance in juvenile common carp, *Cyprinus carpio L.*”, *Agricultural Journal*, 6(5), pp. 213-217.
59. El-Sayed, A. F. M., & El-Ghobashy, A. E. (2011), “Effects of tank colour and feed colour on growth and feed utilization of thinlip mullet (*Liza ramada*) larvae”, *Aquaculture Research*, 42(8), pp. 1163-1169.
60. Elbahnaswy, S., & Elshopakey, G. E. (2023), “Recent progress in practical applications of a potential carotenoid astaxanthin in aquaculture industry: A review”, *Fish Physiology and Biochemistry*, pp. 1-30.
61. Endler, J.A. (1978), A predator’s view of animal color patterns in Evolutionary Biology, In: Hecht, MK, Steere, WC & Wallace, B. (Ed. 338), 11, pp. 319–364.
62. Eslamloo, K., Akhavan, S. R., Eslamifar, A., & Henry, M. A. (2015), “Effects of background colour on growth performance, skin pigmentation, physiological condition and innate immune responses of goldfish, *Carassius auratus*”, *Aquaculture Research*, 46(1), pp. 202-215.
63. Fairchild, M.D. (2013), *Color appearance models*, John Wiley & Sons.
64. Fang, H., Xie, J., Zhao, W., Liu, Z., Liu, Y., Tian, L., & Niu, J. (2021), “Study supplementation of astaxanthin in high-fat diet on growth performance, antioxidant ability, anti-inflammation, non-specific immunity and intestinal structure of juvenile *Trachinotus ovatus*”, *Aquaculture Nutrition*, 27(6), pp. 2575-2586.
65. Fanta, E. (1997), “Behaviour and orcadian rhythm of the fish *Bathygobius soporator* Valenciennes (Gobiidae) under the influence of environmental salinity and temperature”, *Revista Brasileira de Zoologia*, 14, pp. 221-244.
66. Fanta, E., Luvizotto, M. F., & Meyer, A. A. (1995), “Gill structure of the Antarctic fishes *Notothenia* (Gobionotothen) *gibberifrons* and *Trematomus newnesi*, Nototheniidae stressed by salinity changes and some behavioral consequences”, *Antarctic Record*, 39(1), pp. 25-39.
67. FAO, *The state of world fisheries and aquaculture 2022. Towards blue transformation*. 2022, Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome, Italy.
68. Fautin, D. G., & Allen, G. R. (1997), *Anemone fishes and their host sea anemones: a guide for aquarists and divers*, Western Australian Museum.

69. Fen, Z., Wang, Z. H., Qi, Z. L., & Du, H., (2017), “Astaxanthin on the influence of digestive enzyme activity of *Amphiprion frenatus*”, *Journal of Fisheries Research*, 39(3), p. 188.
70. Ferosekhan, S., Sahoo, S.K., Radhakrishnan, K., Velmurugan, P., Shamna, N., Giri, S.S., & Pillai, B.R. (2020), “Influence of rearing tank colour on Asian catfish, magur (*Clarias magur*) and pangas (*Pangasius pangasius*) larval growth and survival”, *Aquaculture*, 521, p. 735080.
71. Fioravanti, M.L., & Florio, D. (2017), “Common diseases in marine ornamental fishes”, *Marine ornamental species aquaculture*, pp. 347-380.
72. Fujii, R.Y.O.Z.O. (2000), “The regulation of motile activity in fish chromatophores”, *Pigment Cell Research*, 13(5), pp. 300-319.
73. García-Romero, J., Ginés, R., Izquierdo, M. S., Haroun, R., Badilla, R., & Robaina, L. (2014), “Effect of dietary substitution of fish meal for marine crab and echinoderm meals on growth performance, ammonia excretion, skin colour, and flesh quality and oxidation of red porgy (*Pagrus pagrus*)”, *Aquaculture*, 422, pp. 239-248.
74. Ghavidel, S., Kochanian, P., và Salati, A.P. (2020), “The effects of the tank colour on growth performance and physiological responses in fingerling grouper, *Epinephelus coioides*”, *Aquaculture Research*, 51(1), pp. 276-281.
75. Ghosh, S., Kumar, T. T., & Balasubramanian, T. (2012), “Determining the level of parental care relating fanning behavior of five species of clownfishes in captivity”, *NISCAIR-CSIR*, 41(5), pp. 430-441.
76. Ginés, R., Afonso, J. M., Argüello, A., Zamorano, M. J., & López, J. L. (2004), “The effects of long-day photoperiod on growth, body composition and skin colour in immature gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.)”, *Aquaculture Research*, 35(13), pp. 1207-1212.
77. Goda, A.A., Sallam, A. E., & Srour, T. M. (2018), “Evaluation of natural and synthetic carotenoid supplementation on growth, survival, total carotenoid content, fatty acids profile and stress resistance of european seabass, *Dicentrarchus labrax*, fry”, *Aquaculture Studies*, 18(1), pp. 27-39.
78. Gonzalez, R. J. (2012), “The physiology of hyper-salinity tolerance in teleost fish: a review”, *Journal of Comparative Physiology B*, 182, pp. 321-329.
79. Gordon, A. K. (1999), *The effect of diet and age-at-weaning on growth and survival of clownfish Amphiprion percula (Pisces: Pomacentridae)*, Doctoral dissertation, Rhodes University, South Africa.
80. Gouveia, L., & Rema, P. (2005), “Effect of microalgal biomass concentration and temperature on ornamental goldfish (*Carassius auratus*) skin pigmentation”, *Aquaculture nutrition*, 11(1), pp. 19-23.
81. Gronquist, D., & Berges, J.A. (2013), “Effects of aquarium-related stressors on the zebrafish: a comparison of behavioral, physiological, and biochemical indicators”, *Journal of aquatic animal health*, 25(1), pp. 53-65.
82. Gupta, S. K., Jha, A. K., Pal, A. K., & Venkateshwarlu, G. (2007), “Use of natural carotenoids for pigmentation in fishes”, *CSIR*, 6(1), pp. 46-49.



83. Güroy, D., Karadal, O., Mantoğlu, S., Kuşku, H., & Güroy, B. (2022), “Color intensity and growth performance of common clownfish (*Amphiprion ocellaris*) enhanced by dietary Spirulina (*Arthrospira platensis*)”, *Aquaculture International*, 30(4), pp. 1855-1868.
84. Haque, R., Sawant, P. B., Sardar, P., Xavier, K. M., Varghese, T., Chadha, N. K., Pattanaik, S. S., Jana, P., & Naik, V. A. (2021), “Synergistic utilization of shrimp shell waste-derived natural astaxanthin with its commercial variant boosts physio metabolic responses and enhances colouration in discus (*Symphysodon aequifasciatus*)”, *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 15, p. 100405.
85. Hassaan, M. S., Mohammady, E. Y., Soaudy, M. R., Sabae, S. A., Mahmoud, A. M., & El-Haroun, E. R. (2021), “Comparative study on the effect of dietary  $\beta$ -carotene and phycocyanin extracted from Spirulina platensis on immune-oxidative stress biomarkers, genes expression and intestinal enzymes, serum biochemical in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*”, *Fish & Shellfish Immunology*, 108, pp. 63-72.
86. Hekimoglu, M. A., Firat, K., Saka, S., Süzer, C., Kop, A., & Durmaz, Y. (2017), “Effect of supplemented algal carotenoid diets on skin color of tomato clownfish, *Amphiprion frenatus*”, *Pakistan Journal of Zoology*, 49(2), 6p.
87. Henning, F., Jones, J. C., Franchini, P., & Meyer, A. (2013), “Transcriptomics of morphological color change in polychromatic *Midas cichlids*”, *Bmc Genomics*, 14, pp. 1-14.
88. Ho, A. L., O’Shea, S. K., & Pomeroy, H. F. (2013), “Dietary esterified astaxanthin effects on color, carotenoid concentrations, and compositions of clown anemonefish, *Amphiprion ocellaris*, skin”, *Aquaculture International*, 21, pp. 361-374.
89. Hoff, F. H. (1996), *Conditioning, spawning and rearing of fish with emphasis on marine clownfish*, Aquaculture Consultants, Inc., Dade City, Florida, USA.
90. Höglund, E., Balm, P. H., & Winberg, S. (2002), “Behavioural and neuroendocrine effects of environmental background colour and social interaction in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*)”, *Journal of Experimental Biology*, 205(16), pp. 2535-2543.
91. Hora, M. D. S. C. D., Joyeux, J. C., Guabiroba, H. C., & Tsuzuki, M. Y. (2017), “Effect of photoperiod and tank colour on growth and survival of pelagic-phase seahorse *Hippocampus reidi*”, *Aquaculture research*, 48(8), pp. 4300-4307.
92. Hoseinifar, S. H., Dadar, M., & Ringø, E. (2017), “Modulation of nutrient digestibility and digestive enzyme activities in aquatic animals: the functional feed additives scenario”, *Aquaculture Research*, 48(8), pp. 3987-4000.
93. Hur, J. W. (2022), “Stress response of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* and Japanese croaker, *Nibea japonica* on changes of water temperature”, *Fisheries and Aquatic Sciences*, 25(8), pp. 441-449.
94. Itoh, K., Washio, Y., Fujinami, Y., Shimizu, D., Uji, S., Yokoi, H., & Suzuki, T. (2012), “Continuous illumination through larval development suppresses dopamine synthesis in the suprachiasmatic nucleus, causing activation of  $\alpha$ -MSH synthesis in the pituitary and abnormal metamorphic skin pigmentation in flounder”, *General and Comparative Endocrinology*, 176(2), pp. 215-221.

95. James, R., Sampath, K., Thangarathinam, R., & Vasudevan, I. (2006), "Effect of dietary spirulina level on growth, fertility, coloration and leucocyte count in red swordtail, *Xiphophorus helleri*", *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 58(2), pp. 97-104.
96. Jiang, J., Nuez-Ortin, W., Angell, A., Zeng, C., de Nys, R., & Vucko, M. J. (2019), "Enhancing the colouration of the marine ornamental fish *Pseudochromis fridmani* using natural and synthetic sources of astaxanthin", *Algal research*, 42, p. 101596.
97. Kalinowski, C. T., Izquierdo, M. S., Schuchardt, D., & Robaina, L. E. (2007), "Dietary supplementation time with shrimp shell meal on red porgy (*Pagrus pagrus*) skin colour and carotenoid concentration", *Aquaculture*, 272(1-4), pp. 451-457.
98. Kalinowski, C. T., Robaina, L. E., & Izquierdo, M. S. (2011), "Effect of dietary astaxanthin on the growth performance, lipid composition and post-mortem skin colouration of red porgy *Pagrus pagrus*", *Aquaculture International*, 19(5), pp. 811-823.
99. Kalinowski, C. T., Betancor, M. B., Torrecillas, S., Sprague, M., Larroquet, L., Véron, V., Panserat, S., Izquierdo, M. S., Kaushik, S. J., & Fontagné-Dicharry, S. (2023), "More than an antioxidant: role of dietary astaxanthin on lipid and glucose metabolism in the liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)", *Antioxidants*, 12(1), p. 136.
100. Kasai, A., & Oshima, N. (2006), "Light-sensitive motile iridophores and visual pigments in the neon tetra, *Paracheirodon innesi*", *Zoological science*, 23(9), pp. 815-819.
101. Kelsh, R. N. (2004), "Genetics and evolution of pigment patterns in fish", *Pigment Cell Research*, 17(4), pp. 326-336.
102. Keskin, M., Setlek, P., & Demir, S. (2017), "Use of color measurement systems in food science and agriculture. In *International advanced researches & engineering congress*, pp. 16-18.
103. Khoo, G., Lim, T. M., Chan, W. K., & Phang, V. P. (1999), "Linkage analysis and mapping of three sex-linked color pattern genes in the guppy, *Poecilia reticulata*", *Zoological Science*, 16(6), pp. 893-903.
104. Klaoudatos, S. D., & Conides, A. J. (1996), "Growth, food conversion, maintenance and long-term survival of gilthead sea bream, *Sparus auratus* L. juveniles after abrupt transfer to low salinity", *Aquaculture Research*, 27(10), pp. 765-774.
105. Kodric-Brown, A. (1998), "Sexual dichromatism and temporary color changes in the reproduction of fishes", *American Zoologist*, 38(1), pp. 70-81.
106. Kottler, V. A., & Schartl, M. (2018), "The colorful sex chromosomes of teleost fish", *Genes*, 9(5), p. 233.
107. Kumar, P. A., & Marian, M. P. (2006), "Studies on carotenoid in *Artemia parthenogenitica*", *Romanian Biotechnological Letters*, 11(3), p. 2733.
108. Kunitz, M. (1947), "Crystalline soybean trypsin inhibitor: II. General properties", *The Journal of general physiology*, 30(4), pp. 291-310.
109. Lau, C. C., Mohd Nor, S. A., Tan, M. P., Yeong, Y. S., Wong, L. L., Van de Peer, Y., Sorgeloos, P., & Danish-Daniel, M. (2023), "Pigmentation enhancement techniques during ornamental fish production", *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 33(4), pp. 1027-1048.

110. Laudet, V., & Ravasi, T. (Eds.). (2022), *Evolution, development and ecology of anemonefishes: model organisms for marine science*, CRC Press.
111. Lemieux, H., Blier, P., & Dutil, J. D. (1999), “Do digestive enzymes set a physiological limit on growth rate and food conversion efficiency in the Atlantic cod (*Gadus morhua*)?”, *Fish Physiology and Biochemistry*, 20, pp. 293-303.
112. Li, M., Wu, W., Zhou, P., Xie, F., Zhou, Q., & Mai, K. (2014), “Comparison effect of dietary astaxanthin and Haematococcus pluvialis on growth performance, antioxidant status and immune response of large yellow croaker *Pseudosciaena crocea*”, *Aquaculture*, 434, pp. 227-232.
113. Li, X., Chi, L., Tian, H., Meng, L., Zheng, J., Gao, X., & Liu, Y. (2016), “Colour preferences of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*)”, *Physiology & Behavior*, 156, pp. 64-70.
114. Lim, K. C., Yusoff, F. M., Karim, M., & Natrah, F. M. (2023), “Carotenoids modulate stress tolerance and immune responses in aquatic animals”, *Reviews in Aquaculture*, 15(2), pp. 872-894.
115. Lim, K. C., Yusoff, F. M., Shariff, M., & Kamarudin, M. S. (2018), “Astaxanthin as feed supplement in aquatic animals”, *Reviews in aquaculture*, 10(3), pp. 738-773.
116. Liu, X., Mai, K., Liufu, Z., & Ai, Q. (2014), “Effects of dietary protein and lipid levels on growth, nutrient utilization, and the whole-body composition of turbot, *Scophthalmus maximus*, Linnaeus 1758, at different growth stages”, *Journal of the World Aquaculture Society*, 45(4), pp. 355-366.
117. Liu, X., Wang, H., & Chen, Z. (2016), “Effect of carotenoids on body colour of discus fish (*Symphysodon aequifasciatus axelrodi* Schultz, 1960)”, *Aquaculture Research*, 47(4), pp. 1309-1314.
118. Long, X., Wang, L., Li, Y., Sun, W., & Wu, X. (2023), “Effects of long-term Haematococcus pluvialis astaxanthin feeding on the growth, coloration, and antioxidant capacity of commercial-sized *Oncorhynchus mykiss*”, *Aquaculture Reports*, 30, p. 101603.
119. Luo, M., Lu, G., Yin, H., Wang, L., Atuganile, M., & Dong, Z. (2021), “Fish pigmentation and coloration: Molecular mechanisms and aquaculture perspectives”, *Reviews in Aquaculture*, 13(4), pp. 2395-2412.
120. Madhu, K., & Madhu, R. (2007), “Influence of lunar rhythm on spawning of clown anemone fish *Amphiprion percula* under captive condition in Andaman and Nicobar islands”, *Journal of the Marine Biological Association of India*, 49(1), pp. 58-64.
121. 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 the Marine Biological Association of India*, 54(1), pp. 77-90.
122. Mansour, A. T., Alsaqufi, A. S., Alkhamis, Y. A., Al-Gazar, F. F., Zaki, M. A., Nour, A. A. M., & Ramadan, K. M. (2021), “The evaluation of *Arthrospira platensis* bioactivity and their dietary supplementation to Nile tilapia vegetarian diet on growth performance, feed utilization, body composition and hemato-biochemical parameters”, *Ann. Anim. Sci*, 21(3), pp. 1061-1080.

123. Maoka, T. (2020), “Carotenoids as natural functional pigments”, *Journal of natural medicines*, 74(1), pp. 1-16.
124. Martínez, A., Romero, Y., Castillo, T., Mascaro, M., Lopez-Rull, I., Simoes, N., Arcega-Cabrera, F., Gaxiola, G., & Barbosa, A. (2014), “The effect of copper on the color of shrimps: redder is not always healthier”, *PloS one*, 9(9), e107673.
125. Marudhupandi, T., Kumar, T. T. A., Prakash, S., Balamurugan, J., & Dhayanithi, N. B. (2017), “*Vibrio parahaemolyticus* a causative bacterium for tail rot disease in ornamental fish, *Amphiprion sebae*”, *Aquaculture Reports*, 8, pp. 39-44.
126. Mathger, L. M., Land, M. F., Siebeck, U. E., & Marshall, N. J. (2003), “Rapid colour changes in multilayer reflecting stripes in the paradise whiptail, *Pentapodus paradiseus*”, *Journal of Experimental Biology*, 206(20), pp. 3607-3613.
127. McDonald, C. E., & Chen, L. L. (1965), “The Lowry modification of the Folin reagent for determination of proteinase activity”, *Analytical biochemistry*, 10(1), pp. 175-177.
128. McLean, E. (2021), “Fish tank color: An overview”, *Aquaculture*, 530, p. 735750.
129. McLean, E., Cotter, P., Thain, C., & King, N. (2008), “Tank color impacts performance of cultured fish”, *Croatian Journal of Fisheries: Ribarstvo*, 66(2), pp. 43-54.
130. Meng, X., Yang, F., Zhu, L., Zhan, L., Numasawa, T., & Deng, J. (2024)”, Effects of dietary astaxanthin supplementation on growth performance, antioxidant status, immune response, and intestinal health of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)”, *Animal Nutrition*, 17, pp. 387-396.
131. Merighe, G. K. F., Pereira-da-Silva, E. M., Negrão, J. A., & Ribeiro, S. (2004), “Effect of background color on the social stress of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)”, *Revista Brasileira de Zootecnia*, 33, pp. 828-837.
132. Micah, A. D., Wen, B., Wang, Q., Zhang, Y., Yusuf, A., Thierry, N. N. B., Tokpanou, O. S., Onimisi, M. M., Adeyemi, S. O., Gao, J. Z., & Chen, Z. Z. (2022), “Effect of dietary astaxanthin on growth, body color, biochemical parameters and transcriptome profiling of juvenile blood parrotfish (*Vieja melanurus*♀× *Amphilophus citrinellus*♂)”, *Aquaculture Reports*, 24, p. 101142.
133. Mizusawa, K., Yamamura, Y., Kasagi, S., Cerdá-Reverter, J. M., & Takahashi, A. (2018), “Expression of genes for melanotropic peptides and their receptors for morphological color change in goldfish *Carassius auratus*”, *General and Comparative Endocrinology*, 264, pp. 138-150.
134. Moorhead, J. A., & Zeng, C. (2010), “Development of captive breeding techniques for marine ornamental fish: a review”, *Reviews in Fisheries Science*, 18(4), pp. 315-343.
135. Nankervis, L., Cobcroft, J. M., Nguyen, N. V., & Rimmer, M. A. (2022), “Advances in practical feed formulation and adoption for hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*♀× *E. lanceolatus*♂) aquaculture”, *Reviews in Aquaculture*, 14(1), pp. 288-307.
136. Neiffer, D. L., & Stamper, M. A. (2009), “Fish sedation, anesthesia, analgesia, and euthanasia: considerations, methods, and types of drugs”, *ILAR journal*, 50(4), pp. 343-360.

137. Nhan, H. T., Minh, T. X., Liew, H. J., Hien, T. T. T., & Jha, R. (2019), "Effects of natural dietary carotenoids on skin coloration of false Clownfish (*Amphiprion ocellaris* Cuvier, 1830)", *Aquaculture Nutrition*, 25(3), pp. 662-668.
138. Ninwichian, P., Phuwan, N., Jakpim, K., & Sae-Lim, P. (2018), "Effects of tank color on the growth, stress responses, and skin color of snakeskin gourami (*Trichogaster pectoralis*)", *Aquaculture International*, 26, pp. 659-672.
139. Ninwichian, P., Phuwan, N., & Limlek, P. (2022), "Effects of tank color on the growth, survival rate, stress response, and skin color of juvenile hybrid catfish (*Clarias macrocephalus* × *Clarias gariepinus*)", *Aquaculture*, 554, p. 738129.
140. Nirmal, N. P., Santivarangkna, C., Rajput, M. S., & Benjakul, S. (2020), "Trends in shrimp processing waste utilization: An industrial prospective", *Trends in Food Science & Technology*, 103, pp. 20-35.
141. Nogueira, N., Canada, P., Caboz, J., Andrade, C., & Cordeiro, N. (2021), "Effect of different levels of synthetic astaxanthin on growth, skin color and lipid metabolism of commercial sized red porgy (*Pagrus pagrus*)", *Animal Feed Science and Technology*, 276, p. 114916.
142. Novita, R. D., Nirmala, K., Supriyono, E., & Ardi, I. (2019), "The effectiveness of LED light spectrum exposure on growth and color performance of orange clownfish, *Amphiprion percula* (Lacépède, 1802) juvenile", *Jurnal Iktiologi Indonesia*, 19(1), pp. 127-141.
143. Nurhayati, T., Hidayat, T., & Ameliawati, M. A. (2019), "Profile of macro-micro mineral and carotenoids in *Pomacea canaliculata*", *Current Research in Nutrition & Food Science*, 7(1), pp. 287-294.
144. Opiyo, M. A., Ngugi, C. C., & Rasowo, J. (2014), "Combined effects of stocking density and background colour on growth performance and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, L.) fry reared in aquaria", *Journal of Fisheries Sciences. com*, 8(3), p. 228.
145. Osanjo, G. O., Muthike, E. W., Tsuma, L., Okoth, M. W., Bulimo, W. D., Lünsdorf, H., Abraham, W. R., Dion, M., Timmis, K. N., & Mulaa, F. J. (2009), "A salt lake extremophile, *Paracoccus bogoriensis* sp. nov., efficiently produces xanthophyll carotenoids", *African Journal of Microbiology Research*, 3(8), pp. 426-433.
146. Page, G. I., & Davies, S. J. (2006), "Tissue astaxanthin and canthaxanthin distribution in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*)", *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 143(1), pp. 125-132.
147. Pan, C. H., & Chien, Y. H. (2009), "Effects of dietary supplementation of alga *Haematococcus pluvialis* (Flotow), synthetic astaxanthin and  $\beta$ -carotene on survival, growth, and pigment distribution of red devil, *Cichlasoma citrinellum* (Günther)", *Aquaculture Research*, 40(8), pp. 871-879.
148. Papoutsoglou, S. E., Mylonakis, G., Miliou, H., Karakatsouli, N. P., & Chadio, S. J. A. E. (2000), "Effects of background color on growth performances and physiological responses of scaled carp (*Cyprinus carpio* L.) reared in a closed circulated system", *Aquacultural Engineering*, 22(4), pp. 309-318.

149. Papoutsoglou, S. E., Karakatsouli, N., & Chiras, G. (2005), “Dietary L-tryptophan and tank colour effects on growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles reared in a recirculating water system”, *Aquacultural engineering*, 32(2), pp. 277-284.
150. Parichy, D. M. (2003), “Pigment patterns: fish in stripes and spots”, *Current Biology*, 13(24), R947-R950.
151. Partridge, G. J., & Jenkins, G. I. (2002), “The effect of salinity on growth and survival of juvenile black bream (*Acanthopagrus butcheri*)”, *Aquaculture*, 210(1-4), pp. 219-230.
152. Pastana, M. N. L., Dagosta, F. C. P., & Esguícero, A. L. H. (2017), “A new sexually dichromatic miniature Hyphessobrycon (Teleostei: Characiformes: Characidae) from the Rio Formiga, upper Rio Juruena basin, Mato Grosso, Brazil, with a review of sexual dichromatism in Characiformes”, *Journal of Fish Biology*, 91(5), pp. 1301-1318.
153. Pereira da Costa, D., & Campos Miranda-Filho, K. (2020), “The use of carotenoid pigments as food additives for aquatic organisms and their functional roles”, *Reviews in Aquaculture*, 12(3), pp. 1567-1578.
154. Pham, M. A., Byun, H. G., Kim, K. D., & Lee, S. M. (2014), “Effects of dietary carotenoid source and level on growth, skin pigmentation, antioxidant activity and chemical composition of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*”, *Aquaculture*, 431, pp. 65-72.
155. Pinto, K. S., Pires, T. H., Stefanelli-Silva, G., Barros, B. S., Borghezán, E. A., & Zuanon, J. (2020), “Does soil color affect fish evolution? Differences in color change rate between lineages of the sailfin tetra”, *Neotropical Ichthyology*, 18, e190093.
156. Pouil, S., Tlustý, M. F., Rhyne, A. L., & Metian, M. (2020), “Aquaculture of marine ornamental fish: overview of the production trends and the role of academia in research progress”, *Reviews in Aquaculture*, 12(2), pp. 1217-1230.
157. Prabhath, G. P. W. A., Shukla, S. P., Srivastava, P. P., Sawant, P. B., Chouksey, M. K., & Nuwansi, K. K. T. (2019), “Effects of dietary supplemented *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* extracted pigments on the colouration of ornamental fish koi carp (*Cyprinus carpio* var. koi)”, *Journal of Experimental Zoology - India*, 2019. 22(2), pp. 1287-129.
158. Raheem, P. K., Krishna, R., Surya, S., Gomathi, P., Ambarish, G. P., Santhosh, B., Raju, B., & Anil, M. K. (2021), “Breeding, larval rearing and growth of black *Amphiprion ocellaris* (Cuvier, 1830) under captivity”, *Indian Journal of Fisheries*, 68(2), pp. 60-69.
159. Rahman, M. M., Khosravi, S., Chang, K. H., & Lee, S. M. (2016), “Effects of dietary inclusion of astaxanthin on growth, muscle pigmentation and antioxidant capacity of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)”, *Preventive nutrition and food science*, 21(3), p. 281.
160. Rahman, S. M., Mathew, R. T., Alkhamis, Y. A., Alsaqufi, A. S., Golder, J., Noor, I., & Rahman, M. M. (2022), “Effects of periodic salinity variation on the expression of some phenotypic traits in striped dwarf catfish (*Mystus vittatus*)”, *JAPS: Journal of Animal & Plant Sciences*, 32(1), p. 280.

161. Rajeswari, M. V., Rajasree, S. R. R., & Balasubramanian, T. (2017), "Effect of light levels on growth, survival and skin colour enhancement of marine angelfish, *Apolectichthys xanthurus* (Bennett, 1833)", *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 17(6), pp. 1083-1087.
162. Ramamoorthy, K., Bhuvanewari, S., Sankar, G., & Sakkaravarthi, K. (2010), "Proximate composition and carotenoid content of natural carotenoid sources and its colour enhancement on marine ornamental fish *Amphiprion ocellaris* (Cuvier, 1880)", *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 2(6), pp. 545-550.
163. Randall, J.E. (2005), "A review of mimicry in marine fishes", *Zoological Studies - Taipei*, 44(3), p. 299.
164. Rhyne, A. L., Tlusty, M. F., Szczebak, J. T., & Holmberg, R. J. (2017), "Expanding our understanding of the trade in marine aquarium animals", *PeerJ*, 5, e2949.
165. Roberts, H.E. (2011), *Fundamentals of ornamental fish health*, John Wiley & Sons.
166. Roux, N., Salis, P., Lee, S. H., Besseau, L., & Laudet, V. (2020), "Anemonefish, a model for eco-evo-devo", *EvoDevo*, 11(1), p. 20.
167. Rui, L. (2014), "Energy metabolism in the liver", *Comprehensive physiology*, 4(1), p. 177-179.
168. Saleh, N., A Wassef, E., & M Shalaby, S. (2018), "The role of dietary astaxanthin in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) growth, immunity, antioxidant competence and stress tolerance", *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 22(5), pp. 189-200.
169. Sales, J., & Janssens, G. P. (2003), "Nutrient requirements of ornamental fish", *Aquatic Living Resources*, 16(6), pp. 533-540.
170. Salis, P., Roux, N., Soulat, O., Lecchini, D., Laudet, V., & Frédérick, B. (2018), "Ontogenetic and phylogenetic simplification during white stripe evolution in clownfishes", *BMC biology*, 16, pp. 1-13.
171. Santisathitkul, N., Thongprajukaew, K., Saekhow, S., Sandos, P., Buntomnimit, S., & Kanghae, H. (2020), "Optimal background colour for rearing Asian seabass (*Lates calcarifer*)", *Aquaculture research*, 51(4), pp. 1743-1752.
172. Sathyaruban, S., Uluwaduge, D. I., Yohi, S., & Kuganathan, S. (2021), "Potential natural carotenoid sources for the colouration of ornamental fish: a review", *Aquaculture International*, 29(4), pp. 1507-1528.
173. Schreck, C. B., & Tort, L. (2016), "The concept of stress in fish. In Fish physiolog", *Academic Press*, 35, pp. 1-34.
174. Setiadi, E. (2016), "Feeding incidence, growth and survival rate in the early stage of the red-spotted grouper, *Epinephelus akaara*, in relation to tank color", *Indonesian Aquaculture Journal*, 1(2), pp. 121-128.
175. Seyedi, S. M., Sharifpour, I., Ramin, M., & Jamili, S. (2013), "Effect of dietary astaxanthin on survival, growth, pigmentation clownfish, *Amphiprion ocellaris*, Cuvier", *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences*, 3(3), pp. 391-395.

176. Sharaf, H. E., Assem, S. S., Ismail, R. F., Zeitoun, A. A., & Srour, T. (2024), "Effect of prolonged photoperiod on growth, gonadal development, sex ratio, and skin coloration of red tilapia (*O. mossambicus* × *O. urolepis hornorum*)", *Aquaculture International*, pp. 1-16.
177. Shin, H. S., & Choi, C. Y. (2014), "The stimulatory effect of LED light spectra on genes related to photoreceptors and skin pigmentation in goldfish (*Carassius auratus*)", *Fish physiology and biochemistry*, 40, pp. 1229-1238.
178. Shin, H. S., Lee, J., & Choi, C. Y. (2012), "Effects of LED light spectra on the growth of the yellowtail clownfish *Amphiprion clarkii*", *Fisheries science*, 78, pp. 549-556.
179. Siva, M. U., & Haq, M. A. B. (2017), "Embryonic development of anemone fishes in captivity", *Journal of Oceanography and Marine Science*, 8(1), pp. 1-13.
180. Sköld, H. N., Aspengren, S., Cheney, K. L., & Wallin, M. (2016), "Fish chromatophores—from molecular motors to animal behavior", *International review of cell and molecular biology*, 321, pp. 171-219.
181. Song, F., Shi, L., Yao, F., Gu, Y., Zheng, D., Zhang, W., Liang, Y., Zhang, K., Yang, M., Wang, L., Sun, J., & Luo, J. (2022), "The effect of background color on skin color variation of juvenile *Plectropomus leopardus*", *Animals*, 12(23), p. 3349.
182. Song, J. H., Cho, Y. S., Park, J. Y., Kim, G. D., & Lim, H. K. (2021), "Effects of astaxanthin produced by *Paracoccus haeundaensis* on growth and body color in *Epinephelus akaara*", *The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh*, p. 12.
183. Song, X., Wang, L., Li, X., Chen, Z., Liang, G., & Leng, X. (2017), "Dietary astaxanthin improved the body pigmentation and antioxidant function, but not the growth of discus fish (*Symphysodon spp.*)", *Aquaculture Research*, 48(4), pp. 1359-1367.
184. Southey, B. R., Rodriguez-Zas, S. L., Rhodes, J. S., & Sweedler, J. V. (2020), "Characterization of the prohormone complement in *Amphiprion* and related fish species integrating genome and transcriptome assemblies", *PLoS one*, 15(3), e0228562.
185. Sreeraj, G. (2002), *Studies on the reproductive biology, breeding and larval rearing of selected marine-ornamental fishes belonging to the family Pomacentridae*, Doctoral dissertation, PGPM, Central Marine Fisheries Research Institute.
186. Subashchandraboss, M., Ravaneswaran, K., Aanand, S., Anand, C., & Sampathkumar, J. S. (2021), "Efficiency of fresh fish and clam meat as a maturation diet in Sebae clownfish, *Amphiprion sebae* (Bleeker 1853)", *NISCAIR-CSIR, India*, 50(2), pp. 107-114.
187. Sugimoto, M. (2002), "Morphological color changes in fish: regulation of pigment cell density and morphology", *Microscopy research and technique*, 58(6), pp. 496-503.
188. Szisch, V., Van der Salm, A. L., Wendelaar Bonga, S. E., & Pavlidis, M. (2002), "Physiological colour changes in the red porgy, *Pagrus pagrus*, following adaptation to blue lighting spectrum", *Fish Physiology and Biochemistry*, 27, pp. 1-8.
189. Tambekar, D. H., Mundekar, S. P., & Bombode, V. B. (2013), "Partial characterization and optimization of lipase production from *Bacillus cereus* isolated from haloalkaliphilic lonar lake", *International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research*, 2(3), pp. 249-256.
190. Tanaka, Y., Yamamoto, A., Kamata, T., & Simpson, K. L. (1992), "Biochemical study on the carotenoids in the anemonefish, *Amphiprion spp.*", *Memoirs of Faculty of Fisheries Kagoshima University*, 41, pp. 1-8.



191. Tejera, N., Cejas, J. R., Rodríguez, C., Bjerkgeng, B., Jerez, S., Bolaños, A., & Lorenzo, A. (2007), "Pigmentation, carotenoids, lipid peroxides and lipid composition of skin of red porgy (*Pagrus pagrus*) fed diets supplemented with different astaxanthin sources", *Aquaculture*, 270(1-4), pp. 218-230.
192. Tomasevic, I., Tomovic, V., Milovanovic, B., Lorenzo, J., Đorđević, V., Karabasil, N., & Djekic, I. (2019), "Comparison of a computer vision system vs. traditional colorimeter for color evaluation of meat products with various physical properties", *Meat science*, 148, pp. 5-12.
193. Torrissen, O. J., Christiansen, R., Struksnæs, G., & Estermann, R. (1995), "Astaxanthin deposition in the flesh of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in relation to dietary astaxanthin concentration and feeding period", *Aquaculture Nutrition*, 1(2), pp. 77-84.
194. Trabelsi, A., Gardeur, J. N., Teletchea, F., & Fontaine, P. (2011), "Effects of 12 factors on burbot *Lota lota* (L., 1758) weaning performances using fractional factorial design experiment", *Aquaculture*, 316(1-4), pp. 104-110.
195. Tran, D. V., Dang, T. T., Cao, T. T., Hua, N. T., & Pham, H. Q. (2022), "Natural astaxanthin extracted from shrimp waste for pigment improvement in the Orange clownfish, *Amphiprion percula*", *Aquaculture Research*, 53(11), pp. 4190-4198.
196. Trichet, V. V., & Amaya, E. (2022), "Astaxanthin use as carotenoid source and its benefits in feeds", *Feed and feeding practices in aquaculture*, pp. 309-335.
197. Truong, H. H., Hines, B. M., Emerenciano, M. G., Blyth, D., Berry, S., Noble, T. H., Bourne, N. A., Wade, N., Rombenso, A. N., & Simon, C. J. (2023), "Mineral nutrition in penaeid shrimp", *Reviews in Aquaculture*, 15(4), pp. 1355-1373.
198. Tsalafouta, A., Pavlidis, M., Mitrizakis, N., & Papandroulakis, N. (2016), Effect of background color and expression of genes related to the GH/IGF axis at early development of greater amberjack (*Seriola dumerili*), In *Aquaculture Europe, Edinburgh, Scotland, Sept. 21-23rd*.
199. Üstündağ, M., & Rad, F. (2015), "Effect of different tank colors on growth performance of rainbow trout juvenile (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792)", *Tarim Bilimleri Dergisi*, 21(1), pp. 144-151.
200. Uthayasiva, M., Haq, M. B., & Kumar, T. A. (2014), "Significance of light intensity to enhance the colour of marine ornamental fish *Amphiprion clarkii* (Bennett, 1830) in captivity", *International Journal of Fauna and Biological Studies*, 1(4), pp. 14-18.
201. Van der Salm, A. L., Martinez, M., Flik, G., & Bonga, S. W. (2004), "Effects of husbandry conditions on the skin colour and stress response of red porgy, *Pagrus pagrus*", *Aquaculture*, 241(1-4), pp. 371-386.
202. Van der Salm, A. L., Spanings, F. A. T., Gresnigt, R., Bonga, S. W., & Flik, G. (2005), "Background adaptation and water acidification affect pigmentation and stress physiology of tilapia, *Oreochromis mossambicus*", *General and comparative endocrinology*, 144(1), pp. 51-59.
203. Varghese, B., Paulraj, R., Gopakumar, G., & Chakraborty, K. (2009), "Dietary influence on the egg production and larval viability in true Sebae clownfish *Amphiprion sebae* Bleeker 1853", *Asian Fisheries Science*, 22(1), pp. 7-20.
204. VASEP (2023), *Report on Vietnam seafood exports in 2022*, Hanoi, p. 102.

205. Vissio, P. G., Darias, M. J., Di Yorio, M. P., Sirkin, D. I. P., & Delgadin, T. H. (2021), "Fish skin pigmentation in aquaculture: The influence of rearing conditions and its neuroendocrine regulation", *General and Comparative Endocrinology*, 301, 113662.
206. Wabnitz, C. (2003), *From ocean to aquarium: the global trade in marine ornamental species*, UNEP/Earthprint.
207. Wagde, M. S., Sharma, S. K., & Sharma, B. K. (2018), "Effect of natural  $\beta$ -carotene sources-Carrot (*Daucus carota*) and Spinach (*Spinacia oleracea*) on the growth of an ornamental fish-sword tail (*Xiphophorus hellerii*)", *J. Entomol. Zool. Stud.*, 6(5), pp. 2112-2115.
208. Wang, Y., Hamid, N., Jia, P. P., & Pei, D. S. (2021), "A comprehensive review on genetically modified fish: key techniques, applications and future prospects", *Reviews in Aquaculture*, 13(3), pp. 1635-1660.
209. Wang, Y., & He, L. (2016), "Retrospect and prospect of transgenic fish breeding in China", *Sheng wu Gong Cheng xue bao= Chinese Journal of Biotechnology*, 32(7), pp. 851-860.
210. Warton, D. I., & Hui, F. K. (2011), "The arcsine is asinine: the analysis of proportions in ecology", *Ecology*, 92(1), pp. 3-10.
211. Wassef, E. A., Chatzifotis, S., Sakr, E. M., & Saleh, N. E. (2010), "Effect of two natural carotenoid sources in diets for gilthead seabream, *Sparus aurata*, on growth and skin coloration", *Journal of Applied Aquaculture*, 22(3), pp. 216-229.
212. Westley, P. A., Stanley, R., & Fleming, I. A. (2013), "Experimental tests for heritable morphological color plasticity in non-native brown trout (*Salmo trutta*) populations", *PLoS One*, 8(11), e80401.
213. Wilkerson, J. D. (1998), *Clownfishes: a guide to their captive care, breeding & natural History*, Microcosm, p. 240.
214. Wong, M. Y., Uppaluri, C., Medina, A., Seymour, J., & Buston, P. M. (2016), "The four elements of within-group conflict in animal societies: an experimental test using the clown anemonefish, *Amphiprion percula*", *Behavioral ecology and sociobiology*, 70, pp. 1467-1475.
215. Wu, D., & Sun, D. W. (2013), "Colour measurements by computer vision for food quality control—A review", *Trends in food science & technology*, 29(1), pp. 5-20.
216. Xie, J. J., Chen, X., Niu, J., Wang, J., Wang, Y., & Liu, Q. Q. (2017), "Effects of astaxanthin on antioxidant capacity of golden pompano (*Trachinotus ovatus*) in vivo and in vitro", *Fisheries and aquatic sciences*, 20, pp. 1-8.
217. Xie, S., Yin, P., Tian, L., Liu, Y., & Niu, J. (2020), "Lipid metabolism and plasma metabolomics of juvenile largemouth bass *Micropterus salmoides* were affected by dietary oxidized fish oil", *Aquaculture*, 522, p. 735158.
218. Xu, W., Liu, Y., Huang, W., Yao, C., Yin, Z., Mai, K., & Ai, Q. (2022), "Effects of dietary supplementation of astaxanthin (Ast) on growth performance, activities of digestive enzymes, antioxidant capacity and lipid metabolism of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) larvae", *Aquaculture Research*, 53(13), pp. 4605-4615.
219. Yamanome, T., Mizusawa, K., Hasegawa, E. I., & Takahashi, A. (2009), "Green light stimulates somatic growth in the barfin flounder *Verasper moseri*", *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, 311(2), pp. 73-79.

220. Yasir, I., & Qin, J. G. (2009), “Effect of light intensity on color performance of false clownfish, *Amphiprion ocellaris* Cuvier”, *Journal of the World Aquaculture Society*, 40(3), pp. 337-350.
221. Yasir, I., & Qin, J. G. (2009), “Impact of background on color performance of false clownfish, *Amphiprion ocellaris*, Cuvier”, *Journal of the World Aquaculture Society*, 40(6), pp. 724-734.
222. Yasir, I., & Qin, J. G. (2010), “Effect of dietary carotenoids on skin color and pigments of false clownfish, *Amphiprion ocellaris*, Cuvier”, *Journal of the world aquaculture society*, 41(3), pp. 308-318.
223. Yi, X., Xu, W., Zhou, H., Zhang, Y., Luo, Y., Zhang, W., & Mai, K. (2014), “Effects of dietary astaxanthin and xanthophylls on the growth and skin pigmentation of large yellow croaker *Larimichthys croceus*”, *Aquaculture*, 433, pp. 377-383.
224. Yilmaz, S., Ergün, S., & Soytas, N. (2013), “Enhancement of growth performance and pigmentation in red *Oreochromis mossambicus* associated with dietary intake of astaxanthin, paprika, or capsicum”, *Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh*, 65.
225. Young, G., Prunet, P., Ogasawara, T., Hirano, T., & Bern, H. A. (1989), “Growth retardation (stunting) in coho salmon: plasma hormone levels in stunts in seawater and after transfer to fresh water”, *Aquaculture*, 82(1-4), pp. 269-278.
226. Yu, W., Lin, H., Yang, Y., Zhou, Q., Chen, H., Huang, X., Zhou, C., Huang, Z., & Li, T. (2021), “Effects of supplemental dietary *Haematococcus pluvialis* on growth performance, antioxidant capacity, immune responses and resistance to *Vibrio harveyi* challenge of spotted sea bass *Lateolabrax maculatus*”, *Aquaculture Nutrition*, 27(2), pp. 355-365.
227. Zar, J. H. (1999), *Biostatistical analysis*, Pearson Education India.
228. Zhang, J., Tian, C., Zhu, K., Liu, Y., Zhao, C., Jiang, M., Zhu, C., & Li, G. (2023), “Effects of natural and synthetic astaxanthin on growth, body color, and transcriptome and metabolome profiles in the leopard coral grouper (*Plectropomus leopardus*)”, *Animals*, 13(7), p. 1252
229. Zhang JuanJuan, Z. J., Li XiaoQin, L. X., Leng XiangJun, L. X., Han ZhiYing, H. Z., Zhang FeiGe, Z. F., & Wu ShiLin, W. S. (2012), “The study of deposition and degradation of astaxanthin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)”, *Journal of Fisheries of China*, 2012, 36(12), pp. 1872-1879.
230. Zhao, W., Guo, Y. C., Huai, M. Y., Li, L., Man, C., Pelletier, W., Wei, H. L., Yao, R., & Niu, J. (2022), “Comparison of the retention rates of synthetic and natural astaxanthin in feeds and their effects on pigmentation, growth, and health in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)”, *Antioxidants*, 11(12), p. 2473.
231. Zhu, X., Hao, R., Zhang, J., Tian, C., Hong, Y., Zhu, C., & Li, G. (2022), “Dietary astaxanthin improves the antioxidant capacity, immunity and disease resistance of coral trout (*Plectropomus leopardus*)”, *Fish & Shellfish Immunology*, 122, pp. 38-47.
232. Zutshi, B., & Singh, A. (2021), “Artificial photoperiod influence on survivability, pigmentation and hematological parameters in live-bearer ornamental fish, *Poecilia sphenops*”, *Indian Journal of Ecology*, 48(2), pp. 508-512.

# PHỤ LỤC

## 1. Phụ lục số liệu

### 1.1. Thí nghiệm 1 - Màu bề

#### ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Lsao	Between Groups	245.818	5	49.164	35.597	<.001
	Within Groups	16.573	12	1.381		
	Total	262.391	17			
Asao	Between Groups	14.742	5	2.948	13.666	<.001
	Within Groups	2.589	12	.216		
	Total	17.331	17			
Bsao	Between Groups	128.713	5	25.743	22.332	<.001
	Within Groups	13.833	12	1.153		
	Total	142.545	17			
Chroma	Between Groups	139.769	5	27.954	21.456	<.001
	Within Groups	15.634	12	1.303		
	Total	155.403	17			
Hue	Between Groups	20.633	5	4.127	10.440	<.001
	Within Groups	4.743	12	.395		
	Total	25.376	17			
DeltaE	Between Groups	212.466	4	53.116	39.668	<.001
	Within Groups	13.390	10	1.339		
	Total	225.856	14			
Skin	Between Groups	571.801	5	114.360	7.944	.002
	Within Groups	172.749	12	14.396		
	Total	744.550	17			
Muscle	Between Groups	3.499	5	.700	2.198	.122
	Within Groups	3.820	12	.318		
	Total	7.320	17			
Whole	Between Groups	36.251	5	7.250	2.906	.060
	Within Groups	29.939	12	2.495		
	Total	66.190	17			
L2	Between Groups	.070	5	.014	6.609	.004
	Within Groups	.025	12	.002		
	Total	.095	17			
W2	Between Groups	.096	5	.019	12.045	<.001
	Within Groups	.019	12	.002		
	Total	.115	17			

SGRL	Between Groups	.013	5	.003	6.937	.003
	Within Groups	.004	12	.000		
	Total	.017	17			
SGRW	Between Groups	.193	5	.039	11.243	<.001
	Within Groups	.041	12	.003		
	Total	.235	17			
CVL	Between Groups	10.635	5	2.127	2.618	.080
	Within Groups	9.748	12	.812		
	Total	20.383	17			
CWW	Between Groups	111.317	5	22.263	4.450	.016
	Within Groups	60.031	12	5.003		
	Total	171.349	17			
CF	Between Groups	.016	5	.003	3.925	.024
	Within Groups	.010	12	.001		
	Total	.026	17			
SR	Between Groups	.007	5	.001	.961	.479
	Within Groups	.018	12	.001		
	Total	.025	17			
FI	Between Groups	.072	5	.014	3.528	.034
	Within Groups	.049	12	.004		
	Total	.120	17			
FCR	Between Groups	.400	5	.080	23.974	<.001
	Within Groups	.040	12	.003		
	Total	.440	17			
PER	Between Groups	.123	5	.025	25.657	<.001
	Within Groups	.011	12	.001		
	Total	.134	17			

***Post Hoc Tests – Homogeneous Subsets – Duncan***

**Lsao**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
black	3	37.0033		
orange	3		41.9500	
violet	3		43.7733	
blue	3			46.4833
clear	3			47.0800
white	3			47.6167
Sig.		1.000	.082	.283

**Asao**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
black	3	6.1733		
violet	3	6.6433		
orange	3	6.7633		
white	3		7.5933	
clear	3		8.2367	8.2367
blue	3			8.7067
Sig.		.164	.116	.239

**Chroma**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
black	3	19.2133	
violet	3	20.5433	
orange	3	21.1067	
blue	3		25.1667
clear	3		25.3100
white	3		26.5500
Sig.		.076	.183

**L2**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
clear	3	3.7667	
black	3	3.8067	
orange	3	3.8433	
violet	3	3.8467	
blue	3		3.9300
white	3		3.9400
Sig.		.071	.794

**Hue**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
blue	3	69.7533		
clear	3		71.0167	
violet	3		71.1467	
black	3		71.2733	
orange	3		71.3000	
white	3			73.3933
Sig.		1.000	.618	1.000

**W2**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
clear	3	1.0433		
black	3	1.1000	1.1000	
orange	3		1.1300	
violet	3		1.1567	
blue	3			1.2333
white	3			1.2533
Sig.		.107	.123	.550

**Muscle**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
black	3	1.7667	
violet	3	2.3000	2.3000
orange	3	2.4200	2.4200
white	3	2.8100	2.8100
clear	3		2.9133
blue	3		3.0733
Sig.		.057	.151

**SGRL**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
clear	3	.2200	
black	3	.2400	
orange	3	.2533	
violet	3	.2533	
white	3		.2933
blue	3		.2933
Sig.		.073	1.000

**Whole**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
black	3	8.7633	
violet	3	10.3467	10.3467
orange	3	10.8467	10.8467
white	3		11.8533
clear	3		12.6067
blue	3		12.9000
Sig.		.150	.096

**SGRW**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
clear	3	.7933		
black	3	.8733	.8733	
orange	3		.9233	
violet	3		.9600	
blue	3			1.0667
white	3			1.0900
Sig.		.121	.110	.635

**CVL**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
black	3	6.7800	
clear	3	7.0233	7.0233
blue	3	7.1233	7.1233
white	3	8.1067	8.1067
violet	3		8.6000
orange	3		8.6667
Sig.		.120	.064

**FI**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
clear	3	.7933	
black	3	.8900	.8900
orange	3	.9000	.9000
violet	3		.9467
blue	3		.9733
white	3		.9767
Sig.		.074	.154

**CVW**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
blue	3	18.9767		
black	3	20.8967	20.8967	
clear	3	21.2167	21.2167	
white	3		23.3200	23.3200
violet	3			25.5500
orange	3			25.7533
Sig.		.266	.231	.229

**FCR**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
white	3	1.6200		
blue	3	1.6633		
violet	3		1.8767	
orange	3		1.8867	
black	3			1.9900
clear	3			2.0067
Sig.		.376	.836	.730

**CF**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
clear	3	1.9633		
orange	3	1.9867	1.9867	
black	3	1.9933	1.9933	
violet	3		2.0267	2.0267
blue	3		2.0333	2.0333
white	3			2.0500
Sig.		.248	.090	.363

**PER**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
clear	3	.9067		
black	3	.9167	.9167	
orange	3	.9633	.9633	
violet	3		.9700	
blue	3			1.0933
white	3			1.1200
Sig.		.053	.067	.312

**SR**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05
		1
orange	3	.9110
white	3	.9553
blue	3	.9553
violet	3	.9553
black	3	.9553
clear	3	.9777
Sig.		.080

## 1.2. Thí nghiệm 2 – Độ mịn

### ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Lsao	Between Groups	66.195	5	13.239	26.888	<.001
	Within Groups	5.909	12	.492		
	Total	72.103	17			
Asao	Between Groups	15.885	5	3.177	36.548	<.001
	Within Groups	1.043	12	.087		
	Total	16.928	17			
Bsao	Between Groups	39.265	5	7.853	11.995	<.001
	Within Groups	7.856	12	.655		
	Total	47.121	17			
Chroma	Between Groups	51.226	5	10.245	18.954	<.001
	Within Groups	6.486	12	.541		
	Total	57.713	17			
Hue	Between Groups	30.375	5	6.075	3.824	.026
	Within Groups	19.064	12	1.589		
	Total	49.439	17			
DeltaE	Between Groups	54.563	4	13.641	29.001	<.001
	Within Groups	4.704	10	.470		
	Total	59.267	14			
Skin	Between Groups	568.311	5	113.662	13.518	<.001
	Within Groups	100.897	12	8.408		
	Total	669.208	17			
Muscle	Between Groups	2.825	5	.565	8.621	.001
	Within Groups	.787	12	.066		
	Total	3.612	17			
Whole	Between Groups	33.396	5	6.679	10.613	<.001
	Within Groups	7.552	12	.629		
	Total	40.948	17			
L2	Between Groups	.137	5	.027	26.062	<.001
	Within Groups	.013	12	.001		
	Total	.149	17			
W2	Between Groups	.151	5	.030	13.442	<.001
	Within Groups	.027	12	.002		
	Total	.178	17			
SGRL	Between Groups	.025	5	.005	25.028	<.001
	Within Groups	.002	12	.000		
	Total	.027	17			
SGRW	Between Groups	.370	5	.074	13.996	<.001
	Within Groups	.063	12	.005		
	Total	.434	17			



CVL	Between Groups	35.079	5	7.016	9.872	<.001
	Within Groups	8.528	12	.711		
	Total	43.607	17			
CWW	Between Groups	69.624	5	13.925	1.347	.310
	Within Groups	124.072	12	10.339		
	Total	193.696	17			
CF	Between Groups	.026	5	.005	3.181	.047
	Within Groups	.020	12	.002		
	Total	.046	17			
SR	Between Groups	.131	5	.026	7.607	.002
	Within Groups	.041	12	.003		
	Total	.172	17			
FI	Between Groups	.202	5	.040	9.501	<.001
	Within Groups	.051	12	.004		
	Total	.254	17			
FCR	Between Groups	.246	5	.049	5.949	.005
	Within Groups	.099	12	.008		
	Total	.345	17			
PER	Between Groups	.158	5	.032	9.159	<.001
	Within Groups	.041	12	.003		
	Total	.199	17			

### *Post Hoc Tests – Homogeneous Subsets – Duncan*

**Lsao**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
39 ppt	3	42.5967		
33 ppt	3	43.4433		
27 ppt	3		45.0367	
21 ppt	3		45.2433	
15 ppt	3			47.1100
9 ppt	3			48.1233
Sig.		.165	.725	.102

**Bsao**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
9 ppt	3	17.1133			
15 ppt	3		18.6767		
21 ppt	3		19.1900		
27 ppt	3		19.8067	19.8067	
33 ppt	3			20.7800	20.7800
39 ppt	3				21.7133
Sig.		1.000	.129	.166	.183

**Asao**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
9 ppt	3	6.1133			
15 ppt	3		7.7767		
21 ppt	3		8.0733	8.0733	
27 ppt	3			8.4267	
39 ppt	3			8.5700	8.5700
33 ppt	3				9.0833
Sig.		1.000	.241	.072	.054

**Chroma**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
9 ppt	3	18.1833			
15 ppt	3		20.2300		
21 ppt	3		20.8200		
27 ppt	3		21.5300	21.5300	
33 ppt	3			22.6833	22.6833
39 ppt	3				23.3467
Sig.		1.000	.061	.079	.291

**Hue**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
33 ppt	3	66.3500	
27 ppt	3	66.9200	
21 ppt	3	67.1767	
15 ppt	3	67.4000	
39 ppt	3	68.4500	68.4500
9 ppt	3		70.3067
Sig.		.087	.096

**L2**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
9 ppt	3	3.7067			
15 ppt	3		3.7933		
21 ppt	3		3.8333		
27 ppt	3			3.8967	
39 ppt	3			3.9267	3.9267
33 ppt	3				3.9667
Sig.		1.000	.156	.279	.156

**Skin**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
9 ppt	3	19.3033			
15 ppt	3	23.0233	23.0233		
21 ppt	3		28.0600	28.0600	
27 ppt	3			30.5733	
39 ppt	3			31.9200	31.9200
33 ppt	3				36.2000
Sig.		.142	.055	.146	.096

**W2**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
9 ppt	3	.9300		
15 ppt	3		1.0500	
21 ppt	3		1.0733	
27 ppt	3		1.1300	1.1300
39 ppt	3			1.1633
33 ppt	3			1.2167
Sig.		1.000	.072	.054

**Muscle**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
9 ppt	3	1.4900			
15 ppt	3	1.8500	1.8500		
21 ppt	3		2.1600	2.1600	
27 ppt	3			2.3533	2.3533
39 ppt	3			2.4467	2.4467
33 ppt	3				2.6867
Sig.		.111	.164	.216	.155

**SGRL**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
9 ppt	3	.2200			
15 ppt	3		.2600		
21 ppt	3		.2733		
27 ppt	3			.3033	
39 ppt	3			.3167	.3167
33 ppt	3				.3300
Sig.		1.000	.271	.271	.271

**Whole**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
9 ppt	3	8.1267			
15 ppt	3	9.3600	9.3600		
21 ppt	3		10.4133	10.4133	
27 ppt	3		10.7800	10.7800	
39 ppt	3			11.0033	
33 ppt	3				12.4933
Sig.		.081	.058	.403	1.000

**SGRW**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
9 ppt	3	.5467		
15 ppt	3		.7500	
21 ppt	3		.7833	
27 ppt	3		.8733	.8733
39 ppt	3			.9200
33 ppt	3			.9933
Sig.		1.000	.071	.078

**CVL**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
39 ppt	3	3.6700		
9 ppt	3		5.1900	
27 ppt	3			6.8367
21 ppt	3			7.2100
15 ppt	3			7.3067
33 ppt	3			7.4900
Sig.		1.000	1.000	.396

**FI**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
9 ppt	3	.9533		
15 ppt	3		1.0867	
21 ppt	3		1.1500	1.1500
27 ppt	3		1.1733	1.1733
33 ppt	3			1.2533
39 ppt	3			1.2667
Sig.		1.000	.147	.065

**CVW**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05
		1
9 ppt	3	19.0767
39 ppt	3	21.4300
27 ppt	3	22.4500
21 ppt	3	23.4733
33 ppt	3	24.3667
15 ppt	3	24.9500
Sig.		.066

**FCR**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
33 ppt	3	1.7467			
27 ppt	3	1.8133	1.8133		
39 ppt	3	1.8733	1.8733	1.8733	
21 ppt	3		1.9700	1.9700	1.9700
15 ppt	3			2.0033	2.0033
9 ppt	3				2.0900
Sig.		.130	.067	.121	.149

**CF**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
9 ppt	3	1.8267	
21 ppt	3		1.9033
27 ppt	3		1.9100
39 ppt	3		1.9200
15 ppt	3		1.9233
33 ppt	3		1.9500
Sig.		1.000	.223

**PER**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
9 ppt	3	.4933		
15 ppt	3		.6333	
21 ppt	3		.6367	
39 ppt	3		.7067	.7067
27 ppt	3		.7133	.7133
33 ppt	3			.7967
Sig.		1.000	.148	.099

**SR**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
9 ppt	3	.7510	
15 ppt	3		.9333
21 ppt	3		.9777
27 ppt	3		.9777
39 ppt	3		.9777
33 ppt	3		1.0000
Sig.		1.000	.227

### 1.3. Thí nghiệm 3 – Nguồn carotenoids thực vật

#### ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Lsao	Between Groups	14.411	5	2.882	1.622	.228
	Within Groups	21.317	12	1.776		
	Total	35.728	17			
Asao	Between Groups	111.462	5	22.292	53.824	<.001
	Within Groups	4.970	12	.414		
	Total	116.432	17			
Bsao	Between Groups	67.373	5	13.475	17.930	<.001
	Within Groups	9.018	12	.751		
	Total	76.391	17			
Chroma	Between Groups	171.889	5	34.378	52.891	<.001
	Within Groups	7.800	12	.650		
	Total	179.689	17			
Hue	Between Groups	251.869	5	50.374	18.129	<.001
	Within Groups	33.344	12	2.779		
	Total	285.213	17			
DeltaE	Between Groups	33.337	4	8.334	15.745	<.001
	Within Groups	5.293	10	.529		
	Total	38.630	14			
Skin	Between Groups	2414.605	5	482.921	21.108	<.001
	Within Groups	274.547	12	22.879		
	Total	2689.153	17			
Muscle	Between Groups	8.016	5	1.603	3.442	.037
	Within Groups	5.589	12	.466		
	Total	13.606	17			
Whole	Between Groups	189.457	5	37.891	7.214	.002
	Within Groups	63.031	12	5.253		
	Total	252.488	17			
L2	Between Groups	.237	5	.047	16.122	<.001
	Within Groups	.035	12	.003		
	Total	.272	17			
W2	Between Groups	.228	5	.046	9.866	<.001
	Within Groups	.056	12	.005		
	Total	.284	17			
SGRL	Between Groups	.024	5	.005	20.995	<.001
	Within Groups	.003	12	.000		
	Total	.027	17			
SGRW	Between Groups	.239	5	.048	9.680	<.001
	Within Groups	.059	12	.005		
	Total	.299	17			

CVL	Between Groups	13.609	5	2.722	2.049	.143
	Within Groups	15.938	12	1.328		
	Total	29.547	17			
CVW	Between Groups	272.856	5	54.571	5.502	.007
	Within Groups	119.026	12	9.919		
	Total	391.882	17			
CF	Between Groups	.006	5	.001	.806	.567
	Within Groups	.019	12	.002		
	Total	.026	17			
SR	Between Groups	41.965	5	8.393	.425	.823
	Within Groups	237.141	12	19.762		
	Total	279.106	17			
FI	Between Groups	.163	5	.033	1.983	.154
	Within Groups	.197	12	.016		
	Total	.360	17			
FCR	Between Groups	.587	5	.117	8.225	.001
	Within Groups	.171	12	.014		
	Total	.758	17			
PER	Between Groups	.201	5	.040	7.751	.002
	Within Groups	.062	12	.005		
	Total	.264	17			

### Post Hoc Tests – Homogeneous Subsets – Duncan

#### Lsao

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Gác	3	44.4533	
Lang	3	44.4867	
Ót	3	45.2467	45.2467
Rót	3	45.5500	45.5500
Astax	3	45.6167	45.6167
ĐC	3		47.1267
Sig.		.347	.135

#### Bsao

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ĐC	3	17.8100		
Lang	3		20.9800	
Rót	3		21.9800	21.9800
Astax	3			22.9067
Ót	3			23.2333
Gác	3			23.4100
Sig.		1.000	.183	.085

#### Asao

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
ĐC	3	7.8667			
Lang	3		11.4500		
Rót	3		11.9500		
Gác	3			13.8267	
Ót	3			14.8933	14.8933
Astax	3				15.1067
Sig.		1.000	.360	.065	.692

#### Chroma

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ĐC	3	19.5367		
Lang	3		24.4033	
Rót	3		25.5433	
Gác	3			27.8200
Astax	3			28.1967
Ót	3			28.3267
Sig.		1.000	.109	.478

**Hue**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Astax	3	54.3433		
Ốt	3	55.1333		
Gác	3	57.3033	57.3033	
Lang	3		59.3000	
Rốt	3		59.4300	
ĐC	3			65.7400
Sig.		.060	.162	1.000

**L2**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ĐC	3	4.0000		
Astax	3		4.1233	
Lang	3		4.1733	
Rốt	3		4.2000	
Ốt	3			4.2967
Gác	3			4.3533
Sig.		1.000	.125	.225

**Skin**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
ĐC	3	35.7433			
Lang	3		57.7233		
Rốt	3		60.4300	60.4300	
Astax	3		65.6667	65.6667	65.6667
Gác	3			67.7633	67.7633
Ốt	3				70.9200
Sig.		1.000	.076	.099	.225

**W2**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
ĐC	3	1.1267			
Astax	3		1.2700		
Lang	3		1.3100	1.3100	
Rốt	3		1.3300	1.3300	
Ốt	3			1.4367	1.4367
Gác	3				1.4700
Sig.		1.000	.324	.050	.560

**Muscle**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
ĐC	3	2.8167	
Lang	3	3.3233	3.3233
Rốt	3	3.8500	3.8500
Astax	3		4.3833
Gác	3		4.5167
Ốt	3		4.6433
Sig.		.102	.051

**SGRL**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ĐC	3	.2933		
Astax	3		.3333	
Lang	3		.3500	
Rốt	3		.3567	
Ốt	3			.3867
Gác	3			.4067
Sig.		1.000	.096	.131

**Whole**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ĐC	3	11.9300		
Lang	3		16.0667	
Rốt	3		17.6267	
Astax	3		19.4633	19.4633
Gác	3		19.8600	19.8600
Ốt	3			22.1200
Sig.		1.000	.084	.201

**SGRW**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
ĐC	3	.8200			
Astax	3		.9767		
Lang	3		1.0200	1.0200	
Rốt	3		1.0400	1.0400	
Ốt	3			1.1400	1.1400
Gác	3				1.1733
Sig.		1.000	.315	.069	.572

**CVL**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Gác	3	9.9100	
Ốt	3	10.0133	
Lang	3	11.2633	11.2633
Rốt	3	11.2667	11.2667
Astax	3	11.4567	11.4567
ĐC	3		12.4300
Sig.		.159	.273

**FI**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
ĐC	3	1.0900	
Astax	3	1.2233	1.2233
Lang	3	1.2367	1.2367
Gác	3	1.2933	1.2933
Rốt	3	1.3033	1.3033
Ốt	3		1.4033
Sig.		.087	.142

**CVW**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Gác	3	28.9533	
Ốt	3	29.2433	
Lang	3	34.4867	34.4867
Astax	3		35.2133
Rốt	3		35.3533
ĐC	3		40.2733
Sig.		.062	.058

**FCR**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Gác	3	1.5033		
Ốt	3	1.7000	1.7000	
Lang	3		1.7833	
Rốt	3		1.8000	
Astax	3		1.8600	
ĐC	3			2.1067
Sig.		.067	.154	1.000

**CF**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05
		1
ĐC	3	1.7567
Gác	3	1.7833
Lang	3	1.7967
Rốt	3	1.7967
Ốt	3	1.8100
Astax	3	1.8133
Sig.		.142

**PER**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ĐC	3	.8633		
Astax	3	.9800	.9800	
Rốt	3		1.0100	
Lang	3		1.0300	
Ốt	3		1.0700	
Gác	3			1.2167
Sig.		.071	.181	1.000

**SR**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05
		1
ĐC	3	93.3333
Astax	3	95.5533
Lang	3	95.5533
Rốt	3	95.5533
Gác	3	97.7767
Ốt	3	97.7767
Sig.		.288

#### 1.4. Thí nghiệm 4 – Nguồn carotenoids động vật

##### ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Lsao	Between Groups	22.713	5	4.543	4.301	.018
	Within Groups	12.673	12	1.056		
	Total	35.386	17			
Asao	Between Groups	121.955	5	24.391	18.942	<.001
	Within Groups	15.452	12	1.288		
	Total	137.408	17			
Bsao	Between Groups	71.214	5	14.243	14.591	<.001
	Within Groups	11.713	12	.976		
	Total	82.927	17			
Chroma	Between Groups	164.260	5	32.852	29.579	<.001
	Within Groups	13.328	12	1.111		
	Total	177.587	17			
Hue	Between Groups	174.074	5	34.815	7.225	.002
	Within Groups	57.827	12	4.819		
	Total	231.901	17			
DeltaE	Between Groups	28.107	4	7.027	4.028	.034
	Within Groups	17.446	10	1.745		
	Total	45.552	14			
Skin	Between Groups	9919.134	5	1983.827	47.252	<.001
	Within Groups	503.808	12	41.984		
	Total	10422.942	17			
Muscle	Between Groups	15.779	5	3.156	9.116	<.001
	Within Groups	4.154	12	.346		
	Total	19.934	17			
Whole	Between Groups	317.711	5	63.542	30.013	<.001
	Within Groups	25.406	12	2.117		
	Total	343.117	17			
L2	Between Groups	.251	5	.050	21.650	<.001
	Within Groups	.028	12	.002		
	Total	.279	17			
W2	Between Groups	.172	5	.034	22.962	<.001
	Within Groups	.018	12	.001		
	Total	.190	17			
SGRL	Between Groups	.027	5	.005	23.766	<.001
	Within Groups	.003	12	.000		
	Total	.030	17			
SGRW	Between Groups	.201	5	.040	21.629	<.001
	Within Groups	.022	12	.002		
	Total	.224	17			



CVL	Between Groups	20.665	5	4.133	2.284	.112
	Within Groups	21.713	12	1.809		
	Total	42.378	17			
CVW	Between Groups	260.568	5	52.114	5.656	.007
	Within Groups	110.567	12	9.214		
	Total	371.135	17			
CF	Between Groups	.007	5	.001	1.733	.202
	Within Groups	.009	12	.001		
	Total	.016	17			
SR	Between Groups	19.773	5	3.955	.267	.923
	Within Groups	177.956	12	14.830		
	Total	197.728	17			
FI	Between Groups	.181	5	.036	4.582	.014
	Within Groups	.095	12	.008		
	Total	.276	17			
FCR	Between Groups	.521	5	.104	4.535	.015
	Within Groups	.276	12	.023		
	Total	.797	17			
PER	Between Groups	.191	5	.038	5.010	.010
	Within Groups	.092	12	.008		
	Total	.283	17			

### *Post Hoc Tests – Homogeneous Subsets – Duncan*

**Lsao**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Ch-Egg	3	44.2200		
Sn-Egg	3	45.4400	45.4400	
Astax	3	45.7900	45.7900	
Sh-Shell	3		46.5667	46.5667
Cope	3		46.8367	46.8367
ĐC	3			47.7567
Sig.		.100	.148	.202

**Bsao**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ĐC	3	17.8367		
Ch-Egg	3		21.0967	
Sn-Egg	3		22.3300	22.3300
Cope	3		22.8933	22.8933
Sh-Shell	3			23.3667
Astax	3			23.7067
Sig.		1.000	.055	.139

**Asao**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
ĐC	3	8.2833			
Ch-Egg	3		12.1267		
Sn-Egg	3		13.3300	13.3300	
Sh-Shell	3			14.9800	14.9800
Cope	3			15.2733	15.2733
Astax	3				16.0200
Sig.		1.000	.218	.068	.307

**Chroma**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
ĐC	3	19.6700			
Ch-Egg	3		24.3333		
Sn-Egg	3		26.0067	26.0067	
Cope	3			27.5267	27.5267
Sh-Shell	3			27.7833	27.7833
Astax	3				28.6600
Sig.		1.000	.076	.072	.234

**Hue**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Astax	3	55.9500	
Cope	3	56.3200	
Sh-Shell	3	57.3233	
Sn-Egg	3	59.1833	
Ch-Egg	3	60.1500	
ĐC	3		65.1133
Sig.		.053	1.000

**L2**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
ĐC	3	3.9233			
Astax	3		4.0367		
Ch-Egg	3		4.0700		
Sn-Egg	3			4.1667	
Sh-Shell	3			4.2300	4.2300
Cope	3				4.2667
Sig.		1.000	.413	.133	.370

**Skin**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
ĐC	3	38.2900			
Ch-Egg	3		76.3100		
Sn-Egg	3			90.7733	
Astax	3			100.4733	100.4733
Sh-Shell	3				103.1033
Cope	3				106.2867
Sig.		1.000	1.000	.092	.316

**W2**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
ĐC	3	1.0767			
Astax	3		1.1700		
Ch-Egg	3		1.1967	1.1967	
Sn-Egg	3			1.2533	
Sh-Shell	3				1.3333
Cope	3				1.3633
Sig.		1.000	.415	.098	.361

**Muscle**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ĐC	3	3.1967		
Ch-Egg	3		4.3033	
Sn-Egg	3		4.8500	4.8500
Astax	3			5.5733
Sh-Shell	3			5.7300
Cope	3			5.8267
Sig.		1.000	.277	.083

**SGRL**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
ĐC	3	.2967			
Astax	3		.3333		
Ch-Egg	3		.3467		
Sn-Egg	3			.3767	
Sh-Shell	3			.3967	.3967
Cope	3				.4100
Sig.		1.000	.301	.131	.301

**Whole**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
ĐC	3	11.8267				
Ch-Egg	3		15.3700			
Sn-Egg	3			18.0967		
Astax	3				20.7167	
Sh-Shell	3				22.9400	22.9400
Cope	3					23.7200
Sig.		1.000	1.000	1.000	.086	.524

**SGRW**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
ĐC	3	.9233			
Astax	3		1.0333		
Ch-Egg	3		1.0600	1.0600	
Sn-Egg	3			1.1233	
Sh-Shell	3				1.2033
Cope	3				1.2367
Sig.		1.000	.464	.097	.363

**CVL**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Sh-Shell	3	9.4567	
Cope	3	9.7267	
Ch-Egg	3	11.0633	11.0633
Sn-Egg	3	11.2367	11.2367
Astax	3	11.3900	11.3900
ĐC	3		12.6467
Sig.		.134	.206

**FI**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ĐC	3	1.0500		
Ch-Egg	3	1.1733	1.1733	
Sh-Shell	3	1.2000	1.2000	1.2000
Astax	3	1.2133	1.2133	1.2133
Cope	3		1.3167	1.3167
Sn-Egg	3			1.3600
Sig.		.059	.092	.063

**CVW**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Sh-Shell	3	28.9700	
Cope	3	29.1467	
Ch-Egg	3	34.3900	34.3900
Astax	3		35.1000
Sn-Egg	3		35.3300
ĐC	3		39.9233
Sig.		.059	.060

**FCR**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Sh-Shell	3	1.5133		
Cope	3	1.5967	1.5967	
Ch-Egg	3		1.8000	1.8000
Sn-Egg	3			1.9067
Astax	3			1.9300
ĐC	3			1.9533
Sig.		.513	.126	.273

**CF**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05
		1
Sn-Egg	3	1.7300
Cope	3	1.7567
Sh-Shell	3	1.7600
Ch-Egg	3	1.7800
ĐC	3	1.7833
Astax	3	1.7833
Sig.		.054

**PER**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ĐC	3	.9367		
Astax	3	.9467		
Sn-Egg	3	.9567		
Ch-Egg	3	1.0300	1.0300	
Cope	3		1.1433	1.1433
Sh-Shell	3			1.2033
Sig.		.248	.138	.417

**SR**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05
		1
ĐC	3	95.5533
Ch-Egg	3	95.5533
Sn-Egg	3	95.5533
Astax	3	95.5533
Sh-Shell	3	97.7767
Cope	3	97.7767
Sig.		.532

### 1.5. Thí nghiệm 5 – Hàm lượng carotenoids từ ớt chuông

#### ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Lsao	Between Groups	40.614	5	8.123	6.233	.005
	Within Groups	15.639	12	1.303		
	Total	56.253	17			
Asao	Between Groups	223.190	5	44.638	58.351	<.001
	Within Groups	9.180	12	.765		
	Total	232.370	17			
Bsao	Between Groups	60.341	5	12.068	5.184	.009
	Within Groups	27.934	12	2.328		
	Total	88.275	17			
Chroma	Between Groups	196.797	5	39.359	18.585	<.001
	Within Groups	25.413	12	2.118		
	Total	222.210	17			
Hue	Between Groups	540.760	5	108.152	19.945	<.001
	Within Groups	65.072	12	5.423		
	Total	605.832	17			
DeltaE	Between Groups	64.392	4	16.098	17.147	<.001
	Within Groups	9.388	10	.939		
	Total	73.781	14			
Skin	Between Groups	15741.079	5	3148.216	39.951	<.001
	Within Groups	945.616	12	78.801		
	Total	16686.695	17			
Muscle	Between Groups	73.168	5	14.634	16.461	<.001
	Within Groups	10.668	12	.889		
	Total	83.835	17			
Whole	Between Groups	680.650	5	136.130	18.199	<.001
	Within Groups	89.761	12	7.480		
	Total	770.412	17			
L2	Between Groups	.233	5	.047	8.430	.001
	Within Groups	.066	12	.006		
	Total	.300	17			
W2	Between Groups	.184	5	.037	8.238	.001
	Within Groups	.054	12	.004		
	Total	.238	17			
SGRL	Between Groups	.024	5	.005	7.800	.002
	Within Groups	.007	12	.001		
	Total	.031	17			
SGRW	Between Groups	.183	5	.037	9.280	<.001
	Within Groups	.047	12	.004		
	Total	.230	17			

CVL	Between Groups	19.946	5	3.989	1.995	.152
	Within Groups	23.992	12	1.999		
	Total	43.938	17			
CVW	Between Groups	123.062	5	24.612	2.410	.098
	Within Groups	122.543	12	10.212		
	Total	245.604	17			
CF	Between Groups	.016	5	.003	1.557	.245
	Within Groups	.025	12	.002		
	Total	.041	17			
SR	Between Groups	.002	5	.000	.300	.904
	Within Groups	.020	12	.002		
	Total	.022	17			
FI	Between Groups	.331	5	.066	7.923	.002
	Within Groups	.100	12	.008		
	Total	.432	17			
FCR	Between Groups	.183	5	.037	8.658	.001
	Within Groups	.051	12	.004		
	Total	.234	17			
PER	Between Groups	.048	5	.010	8.546	.001
	Within Groups	.014	12	.001		
	Total	.062	17			
Moiture	Between Groups	1.871	5	.374	.960	.479
	Within Groups	4.678	12	.390		
	Total	6.548	17			
Protein	Between Groups	11.750	5	2.350	4.690	.013
	Within Groups	6.013	12	.501		
	Total	17.763	17			
Lipid	Between Groups	4.764	5	.953	3.682	.030
	Within Groups	3.105	12	.259		
	Total	7.870	17			
Ash	Between Groups	.085	5	.017	.126	.984
	Within Groups	1.621	12	.135		
	Total	1.705	17			
Amylase	Between Groups	31.145	5	6.229	.723	.619
	Within Groups	103.375	12	8.615		
	Total	134.519	17			
Protease	Between Groups	4.238	5	.848	4.638	.014
	Within Groups	2.193	12	.183		
	Total	6.431	17			
Lipase	Between Groups	17.804	5	3.561	6.633	.004
	Within Groups	6.442	12	.537		
	Total	24.246	17			

***Post Hoc Tests – Homogeneous Subsets – Duncan***

**Lsao**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1500	3	41.3200		
1200	3	43.2800	43.2800	
300	3		43.8733	43.8733
900	3		44.0733	44.0733
600	3			45.6733
0	3			45.7367
Sig.		.057	.434	.088

**Hue**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
1500	3	48.6567			
900	3	50.1633	50.1633		
1200	3	51.1167	51.1167		
300	3		54.0100	54.0100	
600	3			55.8633	
0	3				65.1967
Sig.		.242	.077	.349	1.000

**Asao**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	7.9533			
300	3		13.4967		
600	3		14.2400		
1500	3			16.6267	
1200	3			17.5967	17.5967
900	3				18.5900
Sig.		1.000	.318	.199	.189

**Skin**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	37.4333			
300	3		74.1533		
600	3			92.5467	
900	3				112.0533
1200	3				117.5667
1500	3				121.9533
Sig.		1.000	1.000	1.000	.218

**Bsao**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	17.2567			
300	3	18.5633	18.5633		
1500	3	19.0233	19.0233	19.0233	
600	3		21.0667	21.0667	21.0667
1200	3			21.8067	21.8067
900	3				22.2733
Sig.		.202	.079	.054	.375

**Muscle**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	2.2733			
300	3		4.7467		
600	3		5.5533	5.5533	
1500	3			6.9033	6.9033
1200	3				7.4800
900	3				8.4067
Sig.		1.000	.315	.105	.087

**Chroma**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	19.0100			
300	3		22.9500		
1500	3		25.3200	25.3200	
600	3		25.4433	25.4433	
1200	3			28.0200	28.0200
900	3				29.0133
Sig.		1.000	.068	.051	.419

**Whole**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	3	14.3433		
300	3		19.7733	
600	3		23.1000	
1500	3			29.6233
900	3			30.3533
1200	3			30.7500
Sig.		1.000	.162	.640

**L2**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
0	3	4.0167	
300	3	4.0467	
600	3	4.0733	
1200	3		4.2067
900	3		4.2667
1500	3		4.3133
Sig.		.392	.120

**W2**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
0	3	1.2200	
300	3	1.2333	
600	3	1.2667	
1200	3		1.4067
900	3		1.4433
1500	3		1.4633
Sig.		.433	.343

**SGRL**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	3	.2200		
300	3	.2300		
600	3	.2400	.2400	
1200	3		.2833	.2833
900	3			.3033
1500	3			.3133
Sig.		.367	.054	.184

**CF**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
1500	3	1.8100	
1200	3	1.8733	1.8733
900	3	1.8767	1.8767
0	3	1.8833	1.8833
300	3	1.8967	1.8967
600	3		1.9000
Sig.		.054	.523

**SGRW**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
0	3	.7000	
300	3	.7167	
600	3	.7567	
1200	3		.8933
900	3		.9267
1500	3		.9433
Sig.		.314	.372

**SR**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05
		1
0	3	.9533
300	3	.9533
1200	3	.9533
600	3	.9767
900	3	.9767
1500	3	.9767
Sig.		.532

**CVL**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
300	3	8.8600	
900	3	9.5300	9.5300
600	3	9.6633	9.6633
1200	3	9.8833	9.8833
1500	3	10.3633	10.3633
0	3		12.2167
Sig.		.257	.055

**FI**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
300	3	.9667	
0	3	1.0100	
600	3	1.0700	
900	3		1.2400
1200	3		1.2633
1500	3		1.3233
Sig.		.212	.309

**CVW**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
300	3	25.6567	
600	3	26.3200	26.3200
900	3	27.3133	27.3133
1200	3	30.6600	30.6600
0	3	31.7233	31.7233
1500	3		32.1067
Sig.		.055	.065

**FCR**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
900	3	1.7167			
1500	3	1.7867	1.7867		
1200	3		1.8467	1.8467	
300	3		1.8767	1.8767	
600	3			1.9567	1.9567
0	3				2.0200
Sig.		.212	.132	.071	.256

**PER**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	.9000			
600	3	.9300	.9300		
300	3		.9700	.9700	
1200	3		.9833	.9833	
1500	3			1.0167	1.0167
900	3				1.0567
Sig.		.297	.089	.132	.171

**Lipid**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
1500	3	5.2833	
900	3	5.4000	
1200	3	5.7300	5.7300
600	3	6.1000	6.1000
300	3		6.5133
0	3		6.6233
Sig.		.093	.069

**Protein**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	3	16.2333		
300	3	16.8767	16.8767	
600	3		17.6567	17.6567
1200	3		18.0667	18.0667
900	3			18.3633
1500	3			18.4500
Sig.		.287	.073	.227

**Amylase**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05
		1
0	3	9.8200
300	3	11.4900
600	3	12.0000
1200	3	12.9733
900	3	13.4500
1500	3	13.6200
Sig.		.177

**Moiture**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05
		1
1200	3	71.7767
1500	3	71.8800
600	3	71.8933
900	3	71.9033
300	3	72.2733
0	3	72.7033
Sig.		.126

**Protease**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	3	1.5733		
300	3	1.8233	1.8233	
600	3		2.4967	2.4967
1200	3			2.7000
900	3			2.7600
1500	3			2.8200
Sig.		.488	.078	.407

**Ash**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05
		1
900	3	3.9533
1500	3	4.0900
1200	3	4.1133
0	3	4.1267
300	3	4.1367
600	3	4.1667
Sig.		.529

**Lipase**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
0	3	2.9600	
300	3	3.5533	
600	3		4.9833
1200	3		5.2200
900	3		5.4000
1500	3		5.5900
Sig.		.341	.366



### 1.6. Thí nghiệm 6 – Hàm lượng carotenoids từ vỏ tôm

#### ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Lsao	Between Groups	29.982	5	5.996	12.575	<.001
	Within Groups	5.722	12	.477		
	Total	35.704	17			
Asao	Between Groups	373.237	5	74.647	150.512	<.001
	Within Groups	5.951	12	.496		
	Total	379.189	17			
Bsao	Between Groups	284.009	5	56.802	35.499	<.001
	Within Groups	19.201	12	1.600		
	Total	303.210	17			
Chroma	Between Groups	608.516	5	121.703	95.327	<.001
	Within Groups	15.320	12	1.277		
	Total	623.837	17			
Hue	Between Groups	273.355	5	54.671	20.613	<.001
	Within Groups	31.828	12	2.652		
	Total	305.183	17			
DeltaE	Between Groups	131.616	4	32.904	37.449	<.001
	Within Groups	8.786	10	.879		
	Total	140.402	14			
Skin	Between Groups	43730.191	5	8746.038	57.338	<.001
	Within Groups	1830.420	12	152.535		
	Total	45560.611	17			
Muscle	Between Groups	65.067	5	13.013	20.674	<.001
	Within Groups	7.553	12	.629		
	Total	72.620	17			
Whole	Between Groups	1387.100	5	277.420	22.374	<.001
	Within Groups	148.793	12	12.399		
	Total	1535.892	17			
L2	Between Groups	.255	5	.051	24.674	<.001
	Within Groups	.025	12	.002		
	Total	.280	17			
W2	Between Groups	.183	5	.037	20.261	<.001
	Within Groups	.022	12	.002		
	Total	.205	17			
SGRL	Between Groups	.030	5	.006	26.088	<.001
	Within Groups	.003	12	.000		
	Total	.032	17			
SGRW	Between Groups	.248	5	.050	22.177	<.001
	Within Groups	.027	12	.002		
	Total	.274	17			

CVL	Between Groups	.002	5	.000	1.939	.161
	Within Groups	.002	12	.000		
	Total	.004	17			
CWW	Between Groups	.024	5	.005	5.033	.010
	Within Groups	.011	12	.001		
	Total	.035	17			
CF	Between Groups	.004	5	.001	1.107	.406
	Within Groups	.009	12	.001		
	Total	.013	17			
SR	Between Groups	88.889	5	17.778	1.199	.366
	Within Groups	177.867	12	14.822		
	Total	266.756	17			
FI	Between Groups	.206	5	.041	2.926	.059
	Within Groups	.169	12	.014		
	Total	.376	17			
FCR	Between Groups	.393	5	.079	6.240	.004
	Within Groups	.151	12	.013		
	Total	.545	17			
PER	Between Groups	.131	5	.026	6.364	.004
	Within Groups	.049	12	.004		
	Total	.181	17			
Protein	Between Groups	30.827	5	6.165	20.725	<.001
	Within Groups	3.570	12	.297		
	Total	34.397	17			
Lipid	Between Groups	16.567	5	3.313	28.555	<.001
	Within Groups	1.392	12	.116		
	Total	17.959	17			
Tro	Between Groups	.634	5	.127	.682	.646
	Within Groups	2.233	12	.186		
	Total	2.867	17			
Moiture	Between Groups	4.098	5	.820	.882	.522
	Within Groups	11.155	12	.930		
	Total	15.253	17			
Amylase	Between Groups	27.748	5	5.550	2.905	.060
	Within Groups	22.922	12	1.910		
	Total	50.670	17			
Protease	Between Groups	3.176	5	.635	11.385	<.001
	Within Groups	.670	12	.056		
	Total	3.846	17			
Lipase	Between Groups	34.482	5	6.896	13.725	<.001
	Within Groups	6.029	12	.502		
	Total	40.511	17			

***Post Hoc Tests – Homogeneous Subsets – Duncan***

**Lsao**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
1000	3	44.3700			
800	3	45.4900	45.4900		
600	3		46.3100	46.3100	
400	3			46.9567	
200	3			47.5467	47.5467
0	3				48.2600
Sig.		.070	.171	.058	.230

**Skin**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	40.1167			
200	3		96.5967		
400	3			130.4067	
600	3				167.2767
800	3				172.2433
1000	3				177.0100
Sig.		1.000	1.000	1.000	.377

**Asao**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
0	3	8.1900				
200	3		15.8633			
400	3			17.9467		
1000	3				20.1133	
600	3				20.8500	20.8500
800	3					21.6033
Sig.		1.000	1.000	1.000	.224	.215

**Muscle**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	3.3900			
200	3		5.6367		
400	3		6.8033	6.8033	
600	3			7.8633	7.8633
800	3				8.6400
1000	3				8.8533
Sig.		1.000	.097	.128	.171

**Bsao**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
0	3	15.9967				
200	3		22.7167			
400	3		23.9133	23.9133		
1000	3			25.2867	25.2867	
600	3				27.0200	27.0200
800	3					28.2767
Sig.		1.000	.269	.208	.119	.247

**Whole**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	12.9200			
200	3		20.0333		
400	3			28.7333	
600	3			34.7600	34.7600
800	3			35.1867	35.1867
1000	3				36.5800
Sig.		1.000	1.000	.053	.559

**Chroma**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
0	3	17.9733				
200	3		27.7133			
400	3			29.9033		
1000	3				32.3100	
600	3				34.1633	34.1633
800	3					35.5867
Sig.		1.000	1.000	1.000	.068	.149

**L2**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	3.7367			
200	3		3.8533		
400	3			3.9467	
1000	3			4.0267	4.0267
600	3				4.0533
800	3				4.0667
Sig.		1.000	1.000	.052	.326

**Hue**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1000	3	51.4967		
600	3	52.2767	52.2767	
800	3	52.6067	52.6067	
400	3	53.1033	53.1033	
200	3		55.0600	
0	3			62.9467
Sig.		.284	.076	1.000

**W2**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	1.0200			
200	3		1.0967		
400	3			1.1967	
1000	3			1.2667	1.2667
600	3				1.2800
800	3				1.2867
Sig.		1.000	1.000	.067	.594

**SGRL**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	.2933			
200	3		.3333		
400	3			.3667	
1000	3			.3933	.3933
600	3				.4000
800	3				.4067
Sig.		1.000	1.000	.051	.324

**CF**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05
		1
200	3	1.9133
800	3	1.9167
600	3	1.9200
1000	3	1.9433
400	3	1.9467
0	3	1.9500
Sig.		.165

**SGRW**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	.7500			
200	3		.8500		
400	3			.9667	
1000	3			1.0400	1.0400
600	3			1.0533	1.0533
800	3				1.0667
Sig.		1.000	1.000	.053	.524

**SR**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05
		1
0	3	91.1100
200	3	95.5533
400	3	95.5533
1000	3	95.5533
600	3	97.7767
800	3	97.7767
Sig.		.079

**CVL**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
600	3	.0833	
800	3	.0933	.0933
400	3	.0933	.0933
200	3	.1033	.1033
1000	3	.1067	.1067
0	3		.1133
Sig.		.078	.124

**FI**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
0	3	.8667	
200	3	.9700	.9700
600	3	1.0867	1.0867
400	3		1.1200
1000	3		1.1433
800	3		1.1700
Sig.		.051	.084

**CVW**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
600	3	.2567	
800	3	.2700	
400	3	.3033	.3033
200	3		.3300
1000	3		.3433
0	3		.3533
Sig.		.101	.088

**FCR**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
600	3	1.5533		
800	3	1.6500	1.6500	
1000	3	1.6633	1.6633	
400	3		1.8133	1.8133
200	3			1.8733
0	3			1.9867
Sig.		.276	.115	.097

**PER**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	.9200			
200	3	.9767	.9767		
400	3	1.0100	1.0100	1.0100	
1000	3		1.0933	1.0933	1.0933
800	3			1.1033	1.1033
600	3				1.1733
Sig.		.128	.055	.115	.172

**Moiture**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05
		1
600	3	68.4267
800	3	68.5633
1000	3	68.8133
200	3	69.1600
400	3	69.2167
0	3	69.8600
Sig.		.126

**Protein**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	3	16.3667		
200	3		17.5033	
400	3		18.3767	
600	3			19.6900
800	3			19.7000
1000	3			19.8800
Sig.		1.000	.073	.692

**Amylase**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
0	3	10.3767	
200	3	11.4100	11.4100
400	3	12.4733	12.4733
1000	3	12.8867	12.8867
600	3		13.6533
800	3		13.9433
Sig.		.061	.063

**Lipid**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
1000	3	5.1300			
800	3	5.3300	5.3300		
600	3	5.4533	5.4533		
400	3		5.8633		
200	3			6.6967	
0	3				7.8800
Sig.		.290	.092	1.000	1.000

**Protease**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	3	1.3067		
200	3		1.7867	
400	3		2.1900	2.1900
1000	3			2.3100
600	3			2.4300
800	3			2.5133
Sig.		1.000	.058	.146

**Tro**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05
		1
0	3	5.8400
1000	3	6.1400
800	3	6.2767
200	3	6.3233
400	3	6.3400
600	3	6.4000
Sig.		.176

**Lipase**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	3	2.9467		
200	3		4.5467	
400	3			5.8733
1000	3			6.5100
600	3			6.6967
800	3			6.7200
Sig.		1.000	1.000	.200

### 1.7. Thí nghiệm 7 – Thời gian bổ sung carotenoids từ vỏ tôm

#### ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Lsao	Between Groups	35.130	4	8.783	6.358	.008
	Within Groups	13.814	10	1.381		
	Total	48.944	14			
Asao	Between Groups	171.516	4	42.879	25.710	<.001
	Within Groups	16.678	10	1.668		
	Total	188.193	14			
Bsao	Between Groups	24.482	4	6.121	5.861	.011
	Within Groups	10.443	10	1.044		
	Total	34.925	14			
Chroma	Between Groups	133.036	4	33.259	17.586	<.001
	Within Groups	18.912	10	1.891		
	Total	151.948	14			
Hue	Between Groups	252.874	4	63.218	19.256	<.001
	Within Groups	32.831	10	3.283		
	Total	285.705	14			
DeltaE	Between Groups	125.031	3	41.677	39.031	<.001
	Within Groups	8.542	8	1.068		
	Total	133.574	11			
Skin	Between Groups	9520.190	4	2380.047	37.009	<.001
	Within Groups	643.104	10	64.310		
	Total	10163.294	14			
Muscle	Between Groups	45.781	4	11.445	14.684	<.001
	Within Groups	7.794	10	.779		
	Total	53.575	14			
Whole	Between Groups	653.962	4	163.491	24.648	<.001
	Within Groups	66.331	10	6.633		
	Total	720.294	14			
L2	Between Groups	.024	4	.006	2.816	.084
	Within Groups	.021	10	.002		
	Total	.045	14			
W2	Between Groups	.016	4	.004	3.093	.067
	Within Groups	.013	10	.001		
	Total	.028	14			
SGRL	Between Groups	.002	4	.001	2.379	.121
	Within Groups	.002	10	.000		
	Total	.004	14			
SGRW	Between Groups	.017	4	.004	3.654	.044
	Within Groups	.012	10	.001		
	Total	.029	14			

CVL	Between Groups	336.871	4	84.218	148.410	<.001
	Within Groups	5.675	10	.567		
	Total	342.546	14			
CVW	Between Groups	79.304	4	19.826	3.263	.059
	Within Groups	60.769	10	6.077		
	Total	140.073	14			
CF	Between Groups	.001	4	.000	.408	.799
	Within Groups	.008	10	.001		
	Total	.009	14			
SR	Between Groups	41.461	4	10.365	.350	.838
	Within Groups	296.282	10	29.628		
	Total	337.742	14			
FI	Between Groups	.063	4	.016	2.027	.166
	Within Groups	.078	10	.008		
	Total	.141	14			
FCR	Between Groups	.314	4	.078	9.229	.002
	Within Groups	.085	10	.008		
	Total	.399	14			
PER	Between Groups	.107	4	.027	7.224	.005
	Within Groups	.037	10	.004		
	Total	.144	14			

### Lsao

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
75	3	43.0567		
60	3	44.1800	44.1800	
45	3	44.8800	44.8800	
30	3		45.4667	
15	3			47.6533
Sig.		.099	.229	1.000

### Bsao

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
15	3	21.3233	
30	3		23.2833
45	3		23.9167
60	3		24.6833
75	3		24.8667
Sig.		1.000	.107

### Asao

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
15	3	12.5367		
30	3		17.0933	
75	3			20.5867
60	3			20.7833
45	3			21.6733
Sig.		1.000	1.000	.348

### Chroma

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
15	3	24.7533		
30	3		28.8867	
60	3			32.2767
45	3			32.2800
75	3			32.2900
Sig.		1.000	1.000	.991

**Hue**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
45	3	47.8233		
60	3	49.9033		
75	3	50.4233		
30	3		53.7267	
15	3			59.5767
Sig.		.124	1.000	1.000

**L2**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
15	3	4.1467	
30	3	4.2100	4.2100
45	3	4.2233	4.2233
75	3	4.2300	4.2300
60	3		4.2700
Sig.		.066	.169

**Skin**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
15	3	77.0200		
30	3		95.1567	
45	3			132.2767
60	3			133.1967
75	3			141.6700
Sig.		1.000	1.000	.201

**W2**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
15	3	1.3133	
30	3	1.3700	1.3700
75	3	1.3800	1.3800
45	3		1.3867
60	3		1.4100
Sig.		.052	.226

**Muscle**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
15	3	4.0267		
30	3		6.0500	
45	3			8.3067
60	3			8.3300
75	3			8.4300
Sig.		1.000	1.000	.874

**SGRL**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
15	3	.3467	
30	3	.3667	.3667
45	3	.3700	.3700
75	3	.3700	.3700
60	3		.3833
Sig.		.103	.228

**Whole**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
15	3	22.8233	
30	3		36.0933
45	3		39.3167
60	3		39.4700
75	3		40.6733
Sig.		1.000	.070

**SGRW**Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
15	3	.9967	
30	3	1.0567	1.0567
45	3		1.0700
75	3		1.0700
60	3		1.1000
Sig.		.059	.182



**CVL**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
45	3	8.9267				
30	3		11.8667			
60	3			14.2567		
15	3				19.4633	
75	3					21.7400
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

**FI**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05
		1
45	3	1.2433
75	3	1.2500
60	3	1.2767
15	3	1.3467
30	3	1.4133
Sig.		.056

**CVW**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
45	3	28.1933	
30	3	30.5800	30.5800
60	3	31.7300	31.7300
75	3	32.1067	32.1067
15	3		35.2767
Sig.		.100	.054

**FCR**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
60	3	1.6033	
45	3	1.6233	
75	3	1.6400	
30	3		1.8800
15	3		1.9467
Sig.		.652	.397

**CF**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05
		1
60	3	1.8167
75	3	1.8267
30	3	1.8367
45	3	1.8400
15	3	1.8400
Sig.		.361

**PER**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
15	3	.9367	
30	3	.9700	
75	3		1.1067
45	3		1.1267
60	3		1.1367
Sig.		.518	.577

**SR**

Duncan<sup>a</sup>

nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05
		1
60	3	93.3333
45	3	95.5533
75	3	95.5567
15	3	97.7767
30	3	97.7767
Sig.		.377

## 1.8. Thí nghiệm 8 – Đánh giá hiệu quả kết hợp môi trường và bổ sung carotenoids

		Independent Samples Test								
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means					95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
L2	Equal variances assumed	3.365	.091	-7.797	12	.000	-.13429	.01722	-.17181	-.09676
	Equal variances not assumed			-7.797	8.567	.000	-.13429	.01722	-.17355	-.09502
W2	Equal variances assumed	4.412	.057	-6.429	12	.000	-.12571	.01955	-.16832	-.08311
	Equal variances not assumed			-6.429	9.090	.000	-.12571	.01955	-.16988	-.08155
SGRL	Equal variances assumed	2.749	.123	-7.842	12	.000	-.08000	.01020	-.10223	-.05777
	Equal variances not assumed			-7.842	8.864	.000	-.08000	.01020	-.10313	-.05687
SGRW	Equal variances assumed	6.031	.030	-6.178	12	.000	-.27714	.04486	-.37488	-.17941
	Equal variances not assumed			-6.178	8.282	.000	-.27714	.04486	-.37998	-.17431
CVL	Equal variances assumed	.016	.901	1.919	12	.079	1.08571	.56587	-.14720	2.31863
	Equal variances not assumed			1.919	11.984	.079	1.08571	.56587	-.14738	2.31881
CWW	Equal variances assumed	1.355	.267	1.158	12	.270	2.34143	2.02245	-2.06510	6.74796
	Equal variances not assumed			1.158	10.949	.272	2.34143	2.02245	-2.11246	6.79532
CF	Equal variances assumed	9.641	.009	-1.310	12	.215	-.03429	.02617	-.09131	.02274
	Equal variances not assumed			-1.310	6.973	.232	-.03429	.02617	-.09622	.02765
SR	Equal variances assumed	5.333	.040	-1.155	12	.271	-1.91429	1.65782	-5.52637	1.69779
	Equal variances not assumed			-1.155	10.800	.273	-1.91429	1.65782	-5.57138	1.74281
FI	Equal variances assumed	.976	.343	-3.570	12	.004	-.11000	.03082	-.17714	-.04286
	Equal variances not assumed			-3.570	10.684	.005	-.11000	.03082	-.17807	-.04193
FCR	Equal variances assumed	5.784	.033	8.676	12	.000	.27714	.03194	.20754	.34674
	Equal variances not assumed			8.676	7.519	.000	.27714	.03194	.20265	.35163
PER	Equal variances assumed	2.843	.118	-9.399	12	.000	-.16000	.01702	-.19709	-.12291
	Equal variances not assumed			-9.399	9.145	.000	-.16000	.01702	-.19842	-.12158

### ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Lsao	Between Groups	228.118	2	114.059	42.803	.000
	Within Groups	50.630	19	2.665		
	Total	278.747	21			
Asao	Between Groups	859.058	2	429.529	203.607	.000
	Within Groups	40.082	19	2.110		
	Total	899.140	21			
Bsao	Between Groups	49.860	2	24.930	13.116	.000
	Within Groups	36.114	19	1.901		
	Total	85.975	21			
Chroma	Between Groups	486.050	2	243.025	89.480	.000
	Within Groups	51.603	19	2.716		
	Total	537.654	21			
Hue	Between Groups	1680.783	2	840.391	162.058	.000
	Within Groups	98.529	19	5.186		
	Total	1779.312	21			
DeltaE	Between Groups	88.478	1	88.478	36.265	.000
	Within Groups	31.717	13	2.440		
	Total	120.195	14			
CLEx	Between Groups	68.839	2	34.420	43.136	.000
	Within Groups	15.161	19	.798		
	Total	84.000	21			
Skin	Between Groups	53968.804	2	26984.402	201.470	.000
	Within Groups	2544.814	19	133.938		
	Total	56513.618	21			
Muscle	Between Groups	310.788	2	155.394	46.436	.000
	Within Groups	63.582	19	3.346		
	Total	374.370	21			
Whole	Between Groups	7820.880	2	3910.440	138.979	.000
	Within Groups	534.603	19	28.137		
	Total	8355.483	21			

### *Post Hoc Tests – Homogeneous Subsets – Duncan*

Lsao					Asao				
Duncan <sup>a,b</sup>					Duncan <sup>a,b</sup>				
Nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05			Nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3			1	2	3
Tự nhiên	8	39.2319			ĐC	7	8.7386		
Ứng dụng	7		44.7929		Tự nhiên	8		17.0825	
ĐC	7			46.6857	Ứng dụng	7			24.3929
Sig.		1.000	1.000	1.000	Sig.		1.000	1.000	1.000

**Bsao**

Duncan<sup>a,b</sup>

Nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ĐC	7	22.1714		
Tự nhiên	8		24.0388	
Ứng dụng	7			25.9457
Sig.		1.000	1.000	1.000

**Skin**

Duncan<sup>a,b</sup>

Nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ĐC	7	40.8800		
Ứng dụng	7		138.0457	
Tự nhiên	8			153.5738
Sig.		1.000	1.000	1.000

**Chroma**

Duncan<sup>a,b</sup>

Nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ĐC	7	23.8429		
Tự nhiên	8		29.5150	
Ứng dụng	7			35.6243
Sig.		1.000	1.000	1.000

**Muscle**

Duncan<sup>a,b</sup>

Nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ĐC	7	2.8314		
Ứng dụng	7		8.0771	
Tự nhiên	8			11.9450
Sig.		1.000	1.000	1.000

**Hue**

Duncan<sup>a,b</sup>

Nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Ứng dụng	7	46.8043		
Tự nhiên	8		54.6088	
ĐC	7			68.4171
Sig.		1.000	1.000	1.000

**Whole**

Duncan<sup>a,b</sup>

Nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ĐC	7	13.3471		
Ứng dụng	7		41.8257	
Tự nhiên	8			58.8700
Sig.		1.000	1.000	1.000

**CLEx**

Duncan<sup>a,b</sup>

Nghthuc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ĐC	7	4.7143		
Tự nhiên	8		7.1250	
Ứng dụng	7			9.1429
Sig.		1.000	1.000	1.000

## 2. Phụ lục hình ảnh

### *Nguồn carotenoids thực vật:*



**Bí đỏ**



**Gấc**



**Ớt chuông**



**Cà rốt**

### *Nguồn carotenoids động vật:*



**Trứng gà**



**Vỏ tôm**

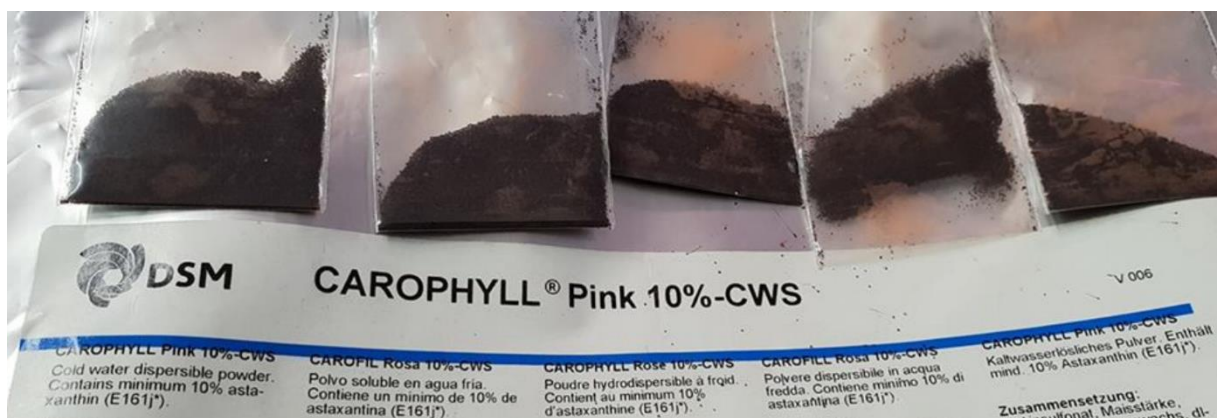


**Copepoda**



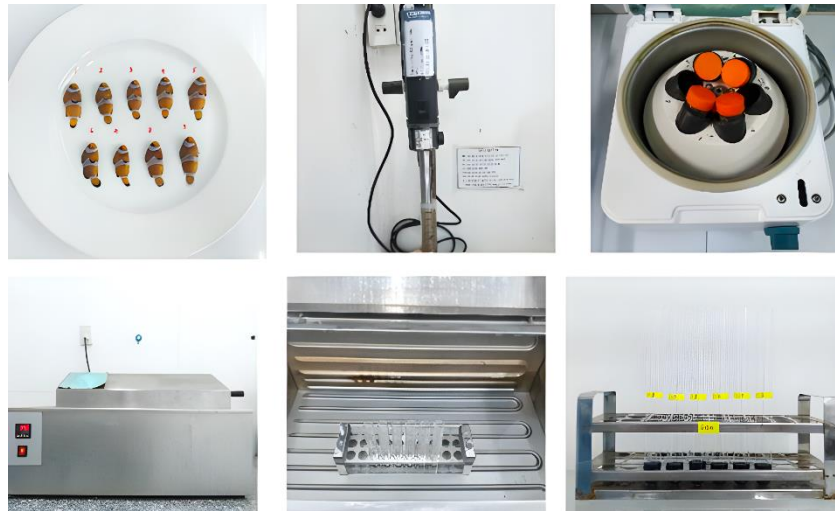
**Trứng ốc BV**

### *Astaxanthin tổng hợp:*





**Phân tích độ ẩm**



**Phân tích hàm lượng protein**



**Phân tích hàm lượng lipid**

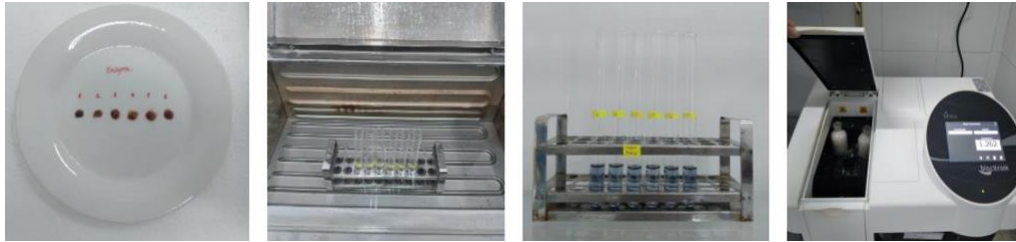


**Phân tích hàm lượng tro**

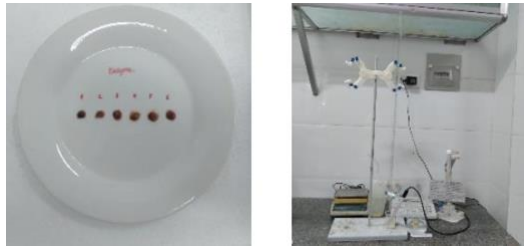




**Xác định hoạt tính enzyme amylase**



**Xác định hoạt tính enzyme protease**



**Xác định hoạt tính enzyme lipase**

### 3. Phụ lục phân tích

#### 3.1. Chuẩn bị nguồn cá và quy trình sản xuất giống cá khoang cổ nemo

Cá khoang cổ nemo giống được sản xuất tại Trại sản xuất giống cá cảnh biển Vĩnh Hòa. Quy trình sản xuất giống được áp dụng dựa trên Quy trình sản xuất giống cá khoang cổ cam (*Amphiprion percula* Lacepède, 1802) – một đối tượng có sự tương đồng rất cao với cá khoang cổ nemo (*Amphiprion ocellaris*) [1]. Ngoài ra, quy trình sản xuất cũng được tối ưu hóa dựa trên kết quả của Đề tài "Nghiên cứu nâng cao sinh trưởng, tỷ lệ sống và màu sắc của cá khoang cổ cam (*Amphiprion percula* Lacepède, 1802)" [2] và kinh nghiệm sản xuất thực tiễn nhiều năm của chính tác giả.

Cá khoang cổ nemo bố mẹ (5 – 10 cm) được nuôi vỗ trong hệ thống bể kính 65 lít, lọc sinh học tuần hoàn. Thức ăn cho cá bố mẹ được chế biến từ các nguyên liệu tươi sống như tôm, mực, hàu, cá thu, bổ sung thêm tảo khô, vitamin và khoáng tổng hợp để đảm bảo dinh dưỡng cho quá trình sinh sản. Trứng được đẻ, thụ tinh và ấp bởi cá bố mẹ trong 7 – 9 ngày tùy theo nhiệt độ nước. Phôi sắp nở với mỏng mắt có ánh bạc đặc trưng xuất hiện, được chuyển vào bể nở (50 – 70 lít, sục khí nhẹ) vào buổi tối (17h00 – 18h00) và ấu trùng mới nở được thu vào sáng hôm sau (6h00 – 7h00).

Ấu trùng được ương với mật độ 1 – 3 con/L trong các bể kính có thể tích từ 50 – 100 lít. Chế độ cho ăn trong giai đoạn ương ấu trùng được tóm tắt như sau:

Luân trùng làm giàu (DHA Protein Selco 150 ppm), 10 – 20 con/mL, được cung cấp trong vòng 12 giờ sau khi ấu trùng nở và kéo dài trong 5 ngày.

Artemia làm giàu (DHA Protein Selco 150 ppm), 2 – 3 con/mL, được cho ăn từ ngày thứ 3 cho đến ngày thứ 30.

Thức ăn công nghiệp NRD (INVE, Thái Lan), với cỡ hạt từ 200 – 800  $\mu\text{m}$ , được tập cho cá ăn từ ngày thứ 28 cho đến khi đạt kích cỡ thí nghiệm (3,0 – 3,5 cm).

Tần suất cho ăn thức ăn sống (luân trùng và Artemia) là 3 – 4 lần/ngày, trong khi thức ăn công nghiệp được cho ăn 6 lần/ngày.

Nhằm ổn định môi trường ương và duy trì nguồn dinh dưỡng, tảo tươi *Nannochloropsis oculata* được bổ sung vào bể ương 2 lần/ngày (8h00 và 14h00) với mật độ khoảng 50.000 tế bào/mL trong suốt thời gian sử dụng luân trùng và Artemia.

Các yếu tố môi trường nước như nhiệt độ, pH, oxy hoà tan, hàm lượng ammonia tổng số (TAN) được kiểm tra thường xuyên và duy trì trong phạm vi thích hợp: nhiệt độ 28 - 30°C, độ mặn 30 - 35‰, pH 7,8 - 8,2, oxy hòa tan > 5 mg/L, TAN < 0,5 mg N/L. Việc quản lý chất lượng nước trong quá trình ương được thực hiện bằng cách siphon và thay nước 30 – 50%, 2 lần/ngày vào lúc 6h30 và 16h30.

Sau 2,5 – 3 tháng, cá đạt đến cỡ 3,0 - 3,5 cm chiều dài toàn thân (TL) và 0,5 – 0,9 g/con khối lượng toàn thân (BW), đáp ứng yêu cầu kích cỡ để bố trí vào các thí nghiệm nghiên cứu



của luận án. Cá đưa vào thí nghiệm được lựa chọn dựa trên các tiêu chí: khỏe mạnh, không có biểu hiện bệnh, vận động linh hoạt, màu sắc tự nhiên và kích cỡ đồng đều. Đặc biệt, cá được lựa chọn phải đảm bảo sự đồng nhất về màu sắc theo đánh giá cảm quan. Trước khi tiến hành thí nghiệm, cá được thuần hóa trong khoảng thời gian từ 1 - 2 tuần nhằm đảm bảo khả năng thích nghi với điều kiện nuôi và hệ thống thí nghiệm.

### 3.2. Quy trình chiết xuất carotenoids từ nguyên liệu

Các nguồn nguyên liệu thô, bao gồm bí ngô (*Cucurbita moschata*), ớt chuông (*Capsicum annuum*), cà rốt (*Daucus carota*), gấc (*Momordica cochinchinensis*), trứng gà (*Gallus gallus localus*), vỏ tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vannamei*), copepoda (*Pseudodiaptomus annandalei*) và trứng ốc bươu vàng (*Pomacea canaliculata*), được thu thập từ các địa điểm khác nhau trên địa bàn tỉnh Khánh Hòa. Sau khi thu thập, nguyên liệu được chuyển về Phòng thí nghiệm Công nghệ Chế biến Thực phẩm, Trường Đại học Nha Trang để chiết xuất carotenoids. Trong quá trình chiết xuất, dầu đậu nành (Công ty TNHH CALOFIC) được sử dụng làm dung môi để chiết xuất gấc, trong khi đó, còn 96% được sử dụng cho các nguyên liệu còn lại.

Quy trình chiết xuất carotenoids được thực hiện dựa trên phương pháp được mô tả bởi Tran và cộng sự (2022), với một số điều chỉnh nhỏ. Theo đó, 100 g mỗi loại nguyên liệu đã qua xử lý ban đầu (làm sạch, loại bỏ vỏ và hạt đối với thực vật; luộc chín và tách lấy lòng đỏ đối với trứng gà và trứng ốc bươu vàng) được trộn với dung môi tương ứng theo tỷ lệ dung môi : nguyên liệu là 3,5 : 1,0 (v : w), tương đương 350 mL dung môi cho 100 g nguyên liệu.

Để đảm bảo sự đồng nhất của hỗn hợp, máy xay Philips HR2118 (600W, Indonesia) được sử dụng để xay hỗn hợp. Sau đó, hỗn hợp được chuyển vào cốc thủy tinh 500 mL và đậy kín bằng màng bọc thực phẩm nhằm hạn chế sự bay hơi của dung môi. Quá trình chiết xuất có sự hỗ trợ của vi sóng được tiến hành trong lò vi sóng Sharp (900W, Nhật Bản) với tổng thời gian 180 giây, xen kẽ các khoảng nghỉ 30 giây để làm mát mẫu. Sau chiết xuất, hỗn hợp được lọc qua vải để tách dịch chiết ra khỏi phần bã. Để thu hồi tối đa carotenoids, phần bã này được tái xử lý thêm hai lần nữa, tổng cộng ba chu kỳ chiết xuất được thực hiện. Dịch chiết từ ba lần được gộp lại và hàm lượng carotenoids tổng số được xác định bằng phương pháp đo quang phổ UV-Vis (Biochrom Ltd, Cambridge, UK).

Hàm lượng carotenoids tổng số tính theo  $\mu\text{g/g}$  nguyên liệu tươi của các nguồn nguyên liệu được xác định như sau: bí ngô 71,7  $\mu\text{g/g}$ , ớt chuông 102,6  $\mu\text{g/g}$ , cà rốt 88,4  $\mu\text{g/g}$ , gấc 463,0  $\mu\text{g/g}$ , lòng đỏ trứng gà 23,7  $\mu\text{g/g}$ , vỏ tôm 52,6  $\mu\text{g/g}$ , copepoda 113,3  $\mu\text{g/g}$  và trứng ốc bươu vàng 81,4  $\mu\text{g/g}$ . Bên cạnh đó, để so sánh hiệu quả của các nhóm sắc tố tự nhiên và tổng hợp, astaxanthin tổng hợp (Carophyll Pink CWS, DSM Nutritional Products Ltd., Thụy Sĩ) với hàm lượng 10% cũng được sử dụng làm nguồn bổ sung. Tất cả các nguồn carotenoids này được đưa vào khẩu phần ăn thử nghiệm cho cá khoang cổ nemo tương ứng với từng nội dung/nghiệm thức thí nghiệm.

### **3.3. Chuẩn bị thức ăn thí nghiệm và bổ sung carotenoids**

#### **3.3.1. Sản xuất thức ăn**

Thức ăn nền (basal diet) được xây dựng dựa trên nhu cầu dinh dưỡng cho ương cá biển, với hàm lượng protein và lipid thô lần lượt là 55% và 12% (Bảng 2.1) [116, 135]. Quy trình sản xuất thức ăn tuân thủ theo phương pháp được mô tả bởi Tran và cộng sự với một số điều chỉnh nhỏ [195]. Tất cả các nguyên liệu thô (trừ carotenoids và vitamin tổng hợp) được cân chính xác theo công thức, nghiền mịn và trộn đều bằng máy trộn thương mại (Lifeng B20, Guangdong, China) trong 15 - 20 phút. Hỗn hợp nguyên liệu sau đó được hấp ở nhiệt độ 90 - 95°C trong 20 phút để làm chín và diệt khuẩn. Hỗn hợp đã hấp được đùn ép qua khuôn có đường kính 3,0 mm (S150, Binh Quan T&M Co., Ltd.) để tạo dạng viên. Viên thức ăn được sấy khô trong lò sấy không khí nóng ở nhiệt độ 60°C trong khoảng 8 giờ hoặc cho đến khi đạt độ ẩm khoảng 10%.

Sau khi làm nguội, thức ăn được nghiền và sàng qua rây có kích thước mắt 0,8 - 1,0 mm để thu được viên có kích cỡ phù hợp với miệng cá. Tiếp theo, dung dịch carotenoids (đã được chiết xuất và pha loãng trong dầu thực vật với nồng độ 4,1 - 7,4% tùy theo nguyên liệu; Bảng 1 - 5) cùng hỗn hợp vitamin tổng hợp được nhỏ đều lên bề mặt viên thức ăn theo từng nghiệm thức.

#### **3.3.2. Hàm lượng carotenoids bổ sung**

Trong các thí nghiệm, hàm lượng carotenoids bổ sung được điều chỉnh tùy theo mục tiêu nghiên cứu. Cụ thể:

Trong Thí nghiệm 3 và 4 (Nội dung 2), hàm lượng carotenoids bổ sung của tất cả các nguyên liệu là 250 mg/kg thức ăn (Bảng 1 và Bảng 2).

Trong Thí nghiệm 5 và 6 (Nội dung 3), nhằm xác định hàm lượng tối ưu của carotenoids từ nguồn nguyên liệu được chọn (dựa trên kết quả của Thí nghiệm 3 và 4), các mức bổ sung carotenoids lần lượt là 300, 600, 900, 1.200, 1.500 mg/kg thức ăn cho nguồn thực vật và 200, 400, 600, 800, 1.000 mg/kg thức ăn cho nguồn động vật (Bảng 3 và Bảng 4).

Các nghiệm thức đối chứng trong tất cả các thí nghiệm không được bổ sung carotenoids (0 mg/kg thức ăn). Thay vào đó, lượng dầu tương đương được bổ sung để đảm bảo sự cân bằng dinh dưỡng giữa các nghiệm thức.

#### **3.3.3. Phương pháp bổ sung carotenoids vào thức ăn thí nghiệm**

Để bổ sung carotenoids vào thức ăn, dung dịch carotenoids được chiết xuất từ các nguyên liệu thực vật và động vật (Bảng 1 - 5) và bảo quản trong dầu đậu nành với hàm lượng dao động từ 4,1 - 7,4%, tùy thuộc vào từng loại nguyên liệu. Khối lượng dung dịch carotenoids sử dụng cho mỗi công thức dao động từ 3,11 - 20,60 g, tương ứng với hàm lượng carotenoids cần bổ sung (Bảng 1 - 5). Trong quá trình chế biến thức ăn, 30 g dầu đậu nành được tách riêng ra khỏi tổng lượng dầu trong công thức (55,7 g, bao gồm 30 g dầu đậu nành và 25,7 g dầu cá) để sử dụng cho việc bổ sung carotenoids. Sau khi xác định chính xác khối lượng dung dịch carotenoids cần bổ sung cho từng nghiệm thức, một lượng dầu đậu nành bổ sung sẽ được thêm

vào sao cho tổng khối lượng dầu đậu nành sử dụng đạt đúng 30 g, bằng với lượng dầu đậu nành có trong công thức thức ăn. Ví dụ, đối với nghiệm thức có hàm lượng carotenoids thấp, lượng dung dịch carotenoids sử dụng là 3,11 g (cho công thức chứa 250 mg carotenoids/kg thức ăn, Bảng 1), lượng dầu đậu nành bổ sung sẽ là 26,89 g (30,00 - 3,11 = 26,89 g). Tỷ lệ giữa các loại dầu (dầu cá và dầu đậu nành) trong công thức đã được tính toán và cân đối để đảm bảo hàm lượng lipid tổng số trong thức ăn thành phẩm không vượt quá 12%, phù hợp với nhu cầu dinh dưỡng của cá khoang cổ nemo [50, 125].

**Bảng 1: Thông tin bổ sung nguồn carotenoids thực vật vào thức ăn**

Nguồn carotenoids	HL bổ sung (mg/kg)	HL carotenoids trong dầu (%)	Lượng dầu chứa carotenoids (g)	Lượng dầu bổ sung (g)
Bí đỏ	250	5,4	4,26	25,74
Ớt chuông	250	6,7	3,43	26,57
Cà rốt	250	6,1	3,77	26,23
Gấc	250	7,4	3,11	26,89
Astaxanthin*	250	10,0	2,50	30,00
Đối chứng	0	0	0	30,00

\* Astaxanthin thương mại, dạng bột, chứa 10% tinh chất astaxanthin. Sau khi cân, được hòa trong 30 g dầu và trộn đều vào thức ăn.

**Bảng 2: Thông tin bổ sung nguồn carotenoids động vật vào thức ăn**

Nguồn carotenoids	HL bổ sung (mg/kg)	HL carotenoids trong dầu (%)	Lượng dầu chứa carotenoids (g)	Lượng dầu bổ sung (g)
Trứng gà	250	4,1	5,61	24,39
Vỏ tôm	250	5,3	4,34	25,66
Copepoda	250	6,3	3,65	26,35
Trứng ốc	250	5,8	3,97	26,03
Astaxanthin*	250	10,0	2,50	30,00
Đối chứng	0	0	0	30,00

\* Astaxanthin thương mại, dạng bột, chứa 10% tinh chất astaxanthin. Sau khi cân, được hòa trong 30 g dầu và trộn đều vào thức ăn.

**Bảng 3: Thông tin bổ sung nguồn carotenoids từ ớt chuông vào thức ăn**

Nguồn carotenoids	HL bổ sung (mg/kg)	HL carotenoids trong dầu (%)	Lượng dầu chứa carotenoids (g)	Lượng dầu bổ sung (g)
Ớt chuông	300	6,7	4,12	25,88
Ớt chuông	600	6,7	8,24	21,76
Ớt chuông	900	6,7	12,36	17,64
Ớt chuông	1200	6,7	16,48	13,52
Ớt chuông	1500	6,7	20,60	9,40
Đối chứng	0	0	0	30,00

**Bảng 4: Thông tin bổ sung nguồn carotenoids từ vỏ tôm vào thức ăn**

<b>Nguồn carotenoids</b>	<b>HL bổ sung (mg/kg)</b>	<b>HL carotenoids trong dầu (%)</b>	<b>Lượng dầu chứa carotenoids (g)</b>	<b>Lượng dầu bổ sung (g)</b>
Vỏ tôm	200	5,3	3,47	26,53
Vỏ tôm	400	5,3	6,94	23,06
Vỏ tôm	600	5,3	10,41	19,59
Vỏ tôm	800	5,3	13,88	16,12
Vỏ tôm	1.000	5,3	17,35	12,65
Đối chứng	0	0	0	30,00

**Bảng 5: Thông tin bổ sung nguồn carotenoids từ vỏ tôm vào thức ăn**

<b>Nguồn carotenoids</b>	<b>HL bổ sung (mg/kg)</b>	<b>HL carotenoids trong dầu (%)</b>	<b>Lượng dầu chứa carotenoids (g)</b>	<b>Lượng dầu bổ sung (g)</b>
Vỏ tôm	600	5,3	10,41	19,59

Sau khi bổ sung carotenoids và vitamin tổng hợp, thức ăn được trộn đều trong 10 – 15 phút theo phương pháp trộn thủ công hai bước. Cụ thể, ở bước đầu, toàn bộ lượng dầu được nhỏ từ từ bằng xilanh/pipet vào khoảng 10 – 20% tổng lượng thức ăn, đồng thời đảo trộn kỹ bằng tay kết hợp dùng thìa/đũa inox trong ít nhất 3 – 5 phút, giúp dầu phân bố đều trên bề mặt thức ăn. Sau đó, hỗn hợp này được phối trộn vào phần thức ăn còn lại (80 – 90%, chia thành từng phần nhỏ nếu cần) trong một tô/chậu inox, tiếp tục đảo trộn liên tục trong ít nhất 5 – 10 phút, đảm bảo sự đồng nhất.

Thức ăn sau khi trộn được sấy khô ở nhiệt độ thấp (60°C, 8 giờ) đến khi đạt độ ẩm xấp xỉ 10%. Mẫu thức ăn sau sản xuất được phân tích thành phần sinh hóa (bao gồm protein thô, lipid thô, tro và độ ẩm) và hàm lượng carotenoids tổng số theo phương pháp chuẩn của Hiệp hội các Nhà phân tích Hóa học Chính thức [20] và Ramamoorthy và García-Romero [73, 162].

Cuối cùng, thức ăn được chia vào các túi zip nhỏ tương ứng với khẩu phần ăn mỗi ngày của cá, loại bỏ không khí, bọc kín bằng giấy bạc hoặc túi đen để tránh ánh sáng và bảo quản ở nhiệt độ  $\leq 4^{\circ}\text{C}$  cho đến khi sử dụng.

### **3.4. Phương pháp pha độ mặn thí nghiệm**

1. Chuẩn bị nước biển tự nhiên có độ mặn 33‰, đã qua xử lý.
2. Chuẩn bị nước ngọt, là nước máy đã qua xử lý bằng cách sục khí mạnh và tiếp xúc với ánh nắng mặt trời trong 24 giờ để loại bỏ chlorine dư.
3. Pha loãng nước biển 33‰ với nước máy đã qua xử lý theo tỷ lệ thể tích thích hợp để tạo các mức độ mặn thấp hơn. Tỷ lệ pha trộn được tính toán dựa trên công thức sau:

$$\text{Tỷ lệ pha trộn} = (S_{\text{biển}} - S_{\text{muốn}}) / S_{\text{muốn}}$$

Trong đó:  $S_{\text{biển}}$ : Độ mặn của nước biển ban đầu (33‰);  $S_{\text{muốn}}$ : Độ mặn mong muốn. Áp dụng các thông số độ mặn mong muốn theo các nghiệm thức thí nghiệm vào công thức trên để tính toán tỷ lệ pha nước biển và nước ngọt như sau:

Độ mặn 9‰: Tỷ lệ pha nước biển và nước ngọt là  $(33 - 9) / 9 = 2,67$  (v : v).

Độ mặn 15‰: Tỷ lệ pha nước biển và nước ngọt là  $(33 - 15) / 15 = 1,20$  (v : v).

Độ mặn 21‰: Tỷ lệ pha nước biển và nước ngọt là  $(33 - 21) / 21 = 0,57$  (v : v).

Độ mặn 27‰: Tỷ lệ pha nước biển và nước ngọt là  $(33 - 27) / 27 = 0,22$  (v : v).

Để tạo mức độ mặn cao nhất (39‰), bổ sung muối hạt vào nước biển 33‰ với tỷ lệ 6,0 g/L. Hòa tan hoàn toàn muối hạt bằng phương pháp sục khí và khuấy trộn.

Kiểm tra độ mặn của nước biển ở các nghiệm thức bằng khúc xạ kế (ATAGO, Nhật Bản) và điều chỉnh tương ứng với từng mức độ mặn thí nghiệm.

Để nước ổn định trong 24 giờ với sục khí nhẹ và lưu trữ trong các bể có thể tích từ 1 - 2 m<sup>3</sup> để sử dụng cho các nghiệm thức thí nghiệm.

### **3.5. Phân tích thành phần sinh hóa thức ăn, cơ thể cá**

#### **3.5.1. Xác định hàm lượng protein**

Phương pháp Kjeldahl là một phương pháp phổ biến để xác định hàm lượng protein trong thực phẩm và các mẫu sinh học khác. Phương pháp này dựa trên nguyên tắc phân hủy protein thành amino axit bằng axit sunfuric đậm đặc ở nhiệt độ cao, sau đó xác định lượng nitơ sinh ra và quy đổi thành hàm lượng protein.

Vô cơ hỗn hợp gồm 0,3 g mẫu, 2 g chất xúc tác ( $K_2SO_4/CuSO_4$ ), 10 mL  $H_2SO_4$  đậm đặc trong 6 giờ đến khi thu được hỗn hợp trong suốt hoặc có màu xanh nhạt của  $CuSO_4$  khi để nguội. Sau đó, cho mẫu vô cơ chưng cất đậm bằng dụng cụ chuyên dụng, thêm NaOH 40% vào đến khi dung dịch có màu đen. Chuẩn bị cốc hứng  $NH_3$  gồm 25 mL axit Boric 3% và 3 giọt metyl đỏ. Đặt cốc hứng ngập trong đầu ống sinh hàn và bắt đầu quá trình chưng cất, kiểm tra đầu ống sinh hàn bằng giấy quỳ tím đến khi giấy quỳ không đổi màu thì kết thúc quá trình chưng cất. Chuẩn độ bằng dung dịch  $H_2SO_4$  0,1N.

Chi tiết phương pháp trong TCVN 3705:1990 về Thủy sản và sản phẩm thủy sản - Phương pháp xác định hàm lượng nitơ tổng số và protein thô.

#### **3.5.2. Xác định hàm lượng lipid**

Xác định hàm lượng lipid bằng phương pháp Soxhlet. Phương pháp này dựa trên nguyên tắc chiết rút chất béo bằng dung môi hữu cơ và cân khối lượng chất béo thu được sau khi loại dung môi.

Hỗn hợp gồm 5 – 10 g mẫu được nghiền với khoảng 20 – 30 g natri sunfat khan ( $Na_2SO_4$ )

đến khi trở thành bột khô, sau đó gói kín đầu lại và đặt gói mẫu vào bình chiết của máy rồi nối với bình cầu ở dưới. Cho ete vào bình chiết sao cho vừa ngập ống gói mẫu. Để ngấm mẫu trong dung môi khoảng 3 - 4 giờ hoặc ngấm qua đêm. Sau thời gian ngấm mẫu, nâng ống sinh hàn lên, cho thêm ete vào bình chiết vừa đủ để chảy xuống hình cầu, chờ cho ete chảy xuống hết, cho tiếp ete vào đến khoảng 1/2 chiều cao ống xiphông. Lắp ống sinh hàn vào và cho nước lạnh chảy qua. Chung cất trên bếp cách thủy chừng 10 - 12 giờ. Chú ý điều chỉnh bếp cách thủy sao cho ete tuần hoàn từ bình chiết xuống bình cầu và ngược lại khoảng 6 - 7 lần một giờ, tránh đun ở nhiệt độ quá cao (trên 60°C) làm hao hụt dung môi.

Sau thời gian chung cất, chờ cho dung môi chảy hết xuống bình cầu thì ngừng đun, để cho máy nguội bớt tháo ống - sinh hàn ra, lấy gói mẫu ra khỏi bình chiết. Lắp lại ống sinh hàn vào và chung cất tiếp cho dung môi ngưng hết lên bình chiết của máy cất. Ngừng đun lấy bình cầu ra, cho vào tủ sấy và sấy ở nhiệt độ 50-60°C trong 30-40 phút. Dem ra để nguội trong bình hút ẩm 30 phút và cân. Lại sấy tiếp 15 phút nữa, để nguội và cân như trên. Sấy và cân lặp lại cho đến khi khối lượng giữa hai lần cân liên tiếp chênh lệch nhau không quá 0,001g.

Chi tiết phương pháp trong TCVN 3703:2009 về Thủy sản và sản phẩm thủy sản - Xác định hàm lượng chất béo.

### **3.5.3. Xác định độ ẩm**

Phương pháp này dựa trên nguyên tắc sấy mẫu ở nhiệt độ cao để loại bỏ nước và tính khối lượng nước mất đi.

Cân mẫu khoảng 2-10 g đặt vào đĩa sấy đã sấy khô và biết khối lượng. Đặt đĩa chứa mẫu vào tủ sấy đã được làm nóng trước ở nhiệt độ thích hợp (thường là 105°C). Sấy mẫu trong khoảng 2-6 giờ (hoặc qua đêm) cho đến khi đạt khối lượng không đổi.

### **3.5.4. Xác định hàm lượng tro**

Phương pháp xác định hàm lượng tro tổng số trong thực phẩm bằng cách nung mẫu ở nhiệt độ cao để phân hủy hoàn toàn các chất hữu cơ và xác định khối lượng chất vô cơ còn lại.

Cân mẫu khoảng 2-10g, cho vào chén nung đã biết trước khối lượng. Mẫu thử được đốt từ từ trên bếp điện có lót lưới amiăng cho đến khi cháy hoàn toàn thành than đen (khi đốt không được để mẫu thử cháy thành ngọn lửa). Cho chén chứa mẫu thử vào lò nung, nâng nhiệt độ từ từ đến khoảng từ 500 °C đến 550°C và giữ ở nhiệt độ đó trong khoảng 6-7h đến khi mẫu thử thành tro trắng.

Chi tiết phương pháp trong TCVN 5105:2009 về Thủy sản và sản phẩm thủy sản - Xác định hàm lượng tro.

## **3.6. Phân tích hoạt tính enzyme tiêu hóa của cá**

### **3.6.1. Xác định hoạt độ enzyme protease theo phương pháp Anson cải tiến**

Hoạt độ enzyme protease được xác định theo phương pháp Anson cải tiến (Kunitz, 1947;

McDonald và Chen, 1965), với một số điều chỉnh nhỏ. Nguyên tắc của phương pháp này là cho protease tác dụng với cơ chất casein, sản phẩm tạo thành là các peptit ngắn và axit amin, trong đó tyrosine chiếm đa số. Hàm lượng tyrosine được xác định bằng phản ứng màu với thuốc thử Folin-Ciocalteu và đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 660 nm.

Hỗn hợp phản ứng bao gồm 5 mL dung dịch casein 0,65% (w/v) trong đệm phosphate 50 mM (pH 7,6) ủ ở 37°C trong 5 phút và 1,0 mL dịch chiết enzyme thô. Sau khi ủ ở 35,5°C (37°C) trong 10 phút, phản ứng được kết thúc bằng việc thêm vào 1 mL dung dịch axit trichloroacetic (TCA) 5% (w/v). Hỗn hợp được ly tâm ở 10.000 vòng trong 10 phút và 2 mL dịch nổi được trộn đều với 5,0 mL dung dịch Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0,5 M và 1,0 mL thuốc thử Folin-Ciocalteu (pha loãng 1 : 4 với nước cất). Sau 30 phút ủ ở nhiệt độ phòng, độ hấp thụ quang của hỗn hợp được đo ở bước sóng 660 nm. Hàm lượng tyrosine được xác định dựa trên đường chuẩn được xây dựng từ dung dịch chuẩn L-tyrosine.

Mẫu đối chứng được chuẩn bị tương tự, nhưng dung dịch TCA được thêm vào trước khi bổ sung dịch chiết enzyme. Một đơn vị hoạt độ protease (U) được định nghĩa là lượng enzyme cần thiết để giải phóng 1 µmol tyrosine trong 1 phút ở điều kiện thí nghiệm. Hoạt độ riêng được biểu thị dưới dạng U/mg protein.

### ***3.6.2. Xác định hoạt độ enzyme lipase bằng phương pháp chuẩn độ liên tục pH-stat***

Hoạt độ enzyme lipase được xác định bằng phương pháp chuẩn độ liên tục pH-stat [189]. Nguyên tắc của phương pháp này là cho lipase tác dụng với cơ chất dầu olive, giải phóng axit béo tự do, và xác định lượng axit này bằng chuẩn độ với dung dịch NaOH (0,05 N).

Cơ chất là nhũ tương dầu olive (20%) trong 2% gum arabic được chỉnh đến pH = 9. Hỗn hợp phản ứng gồm 4 mL nhũ tương dầu olive, kết hợp với 3,2 mL dung dịch đệm Tris-HCl (0,1 M, pH 7,2) và 0,8 mL enzyme lipase. Sau 30 phút phản ứng, 16 mL acetone được thêm vào để dừng phản ứng. Tiến hành chuẩn độ hỗn hợp phản ứng với dung dịch NaOH 0,05 N, sử dụng khuấy từ ở tốc độ 200 rpm. Chuẩn độ được kết thúc khi dung dịch phản ứng đạt đến pH = 9.

Một đơn vị hoạt độ lipase (U) được định nghĩa là lượng enzyme cần thiết để giải phóng 1 µmol axit béo tự do trong 1 phút ở điều kiện thí nghiệm. Hoạt độ riêng được biểu thị dưới dạng U/mg protein.

### ***3.6.3. Xác định hoạt độ enzyme amylase bằng phương pháp dùng thuốc thử DNS***

Hoạt độ enzyme amylase được xác định bằng phương pháp sử dụng thuốc thử DNS (axit dinitrosalicylic)[27]. Nguyên tắc của phương pháp này là cho amylase tác dụng với cơ chất tinh bột, giải phóng maltose, và xác định lượng maltose sinh ra bằng phản ứng màu với thuốc thử DNS.

Hỗn hợp phản ứng gồm 1 mL dung dịch tinh bột 1% trong đệm phosphate 20 mM (pH 6,9) và 1 mL dung dịch enzyme thích hợp. Sau khi ủ ở 20°C trong 3 phút, phản ứng được dừng lại bằng cách thêm vào 1 mL thuốc thử DNS. Hỗn hợp sau đó được đun cách thủy trong 15 phút và làm nguội về nhiệt độ phòng và thêm vào 9,0 mL nước. Độ hấp thụ quang của hỗn hợp được đo ở bước sóng 540 nm. Lượng maltose giải phóng được xác định dựa trên đường chuẩn maltose.

Mẫu đối chứng được chuẩn bị tương tự, nhưng thuốc thử DNS được thêm vào trước khi bổ sung dung dịch enzyme. Một đơn vị hoạt độ amylase (U) được định nghĩa là lượng enzyme cần thiết để giải phóng 1,0 mg maltose từ tinh bột trong 3 phút ở pH 6,9 và nhiệt độ 20°C. Hoạt độ riêng được biểu thị dưới dạng U/mg protein.

### 3.7. Các yếu tố môi trường trong quá trình thí nghiệm

#### 3.7.1. Thí nghiệm 1 – Màu bề

Các thông số môi trường nước trong quá trình thí nghiệm:

Yếu tố Giá trị	Nhiệt độ (°C)		Độ mặn (‰)	pH	DO (mg O <sub>2</sub> /L)	TAN (mg N/L)
	Sáng	Chiều				
TB ± SD	27,5±0,68	30,0±0,85	33,0±0,55	7,98±0,11	5,23±0,13	0,64±0,18
Min - Max	26,0-29,0	29,0-31,0	32,0-34,0	7,80-8,20	5,00-5,50	0,40-1,00

#### 3.7.2. Thí nghiệm 2 – Độ mặn

Các thông số môi trường nước trong quá trình thí nghiệm:

Yếu tố Giá trị	Nhiệt độ (°C)		Độ mặn (‰)	pH	DO (mg O <sub>2</sub> /L)	TAN (mg N/L)
	Sáng	Chiều				
TB ± SD	27,3±0,55	30,1±0,53	33,1±0,49	7,93±0,21	5,31±0,23	0,66±0,21
Min - Max	26,0-29,0	29,0-31,0	32,0-34,0	7,80-8,20	5,00-5,60	0,45-1,00

#### 3.7.3. Thí nghiệm 3 – Nguồn carotenoids thực vật

Các thông số môi trường nước trong quá trình thí nghiệm:

Yếu tố Giá trị	Nhiệt độ (°C)		Độ mặn (‰)	pH	DO (mg O <sub>2</sub> /L)	TAN (mg N/L)
	Sáng	Chiều				
TB ± SD	27,7±0,72	30,2±0,61	33,2±0,44	7,94±0,16	5,18±0,18	0,67±0,19
Min - Max	26,0-29,0	29,0-31,0	32,0-34,0	7,80-8,20	5,00-5,70	0,40-1,10

#### 3.7.4. Thí nghiệm 4 – Nguồn carotenoids động vật

Các thông số môi trường nước trong quá trình thí nghiệm:

Yếu tố Giá trị	Nhiệt độ (°C)		Độ mặn (‰)	pH	DO (mg O <sub>2</sub> /L)	TAN (mg N/L)
	Sáng	Chiều				
TB ± SD	27,8±0,59	30,3±0,72	33,3±0,27	7,99±0,15	5,30±0,19	0,57±0,21
Min - Max	27,0-30,0	29,0-32,0	32,0-34,0	7,80-8,20	5,00-5,60	0,40-0,90



### 3.7.5. Thí nghiệm 5 – Hàm lượng carotenoids từ ớt chuông

Các thông số môi trường nước trong quá trình thí nghiệm:

Yếu tố Giá trị	Nhiệt độ (°C)		Độ mặn (‰)	pH	DO (mg O <sub>2</sub> /L)	TAN (mg N/L)
	Sáng	Chiều				
TB ± SD	27,4±0,62	30,3±0,57	33,1±0,45	7,95±0,15	5,26±0,13	0,53±0,16
Min - Max	26,0-29,0	29,0-32,0	32,0-34,0	7,80-8,20	5,00-5,50	0,40-1,00

### 3.7.6. Thí nghiệm 6 – Hàm lượng carotenoids từ vỏ tôm

Các thông số môi trường nước trong quá trình thí nghiệm:

Yếu tố Giá trị	Nhiệt độ (°C)		Độ mặn (‰)	pH	DO (mg O <sub>2</sub> /L)	TAN (mg N/L)
	Sáng	Chiều				
TB ± SD	27,2±0,66	30,4±0,63	33,3±0,67	7,97±0,17	5,33±0,19	0,52±0,13
Min - Max	26,0-30,0	29,0-32,0	32,0-35,0	7,80-8,30	5,00-5,70	0,40-0,90

### 3.7.7. Thí nghiệm 7 – Thời gian bổ sung carotenoids từ vỏ tôm

Các thông số môi trường nước trong quá trình thí nghiệm:

Yếu tố Giá trị	Nhiệt độ (°C)		Độ mặn (‰)	pH	DO (mg O <sub>2</sub> /L)	TAN (mg N/L)
	Sáng	Chiều				
TB ± SD	27,2±0,41	30,4±0,48	33,2±0,41	7,99±0,16	5,13±0,18	0,48±0,13
Min - Max	26,0-29,0	29,0-32,0	32,0-34,0	7,80-8,30	5,00-5,50	0,40-0,90

### 3.7.8. Thí nghiệm 8 – Đánh giá hiệu quả kết hợp môi trường và bổ sung carotenoids

Các thông số môi trường nước trong quá trình thí nghiệm:

Yếu tố Giá trị	Nhiệt độ (°C)		Độ mặn (‰)	pH	DO (mg O <sub>2</sub> /L)	TAN (mg N/L)
	Sáng	Chiều				
TB ± SD	27,4±0,72	30,6±0,53	33,1±0,39	7,96±0,12	5,28±0,20	0,51±0,21
Min - Max	26,0-30,0	29,0-32,0	32,0-34,0	7,80-8,20	5,00-5,60	0,40-1,00