

ẢNH HƯỞNG CỦA THỨC ĂN KHÁC NHAU LÊN HOẠT TÍNH CỦA MEN TRYPSIN VÀ CHYMOTRYPSIN Ở CÁ BÔNG TƯỢNG BỘT (*Oxyeleotris marmoratus*)

Mai Viêt Văn¹, A.B. Abol-Munafi² và A.W.M. Effendy³

ABSTRACT

The aim of the study was to investigate the effects of different diets on trypsin and chymotrypsin activities of early marble goby larvae. Experimental treatments were set up with 2 types of food, namely live food (copepoda nauplii and rotifers) and artificial food (B.P) in green and clear water systems. Live food were fed at 5 ind./mL and artificial feed at 30 particles/mL. The trypsin and chymotrypsin activities of the larvae fed on various types of food using clear water were as low as 3,635-3,916U/mg tissue and 1,034-1,204U/mg tissue. Meanwhile, the trypsin and chymotrypsin activities of the larvae fed with the same types of food but in green water were higher (5,274-5,873U/mg tissue and 1,556-2,236U/mg tissue). Among the treatments using green water system, the highest trypsin and chymotrypsin activities were observed in the larvae fed on live food. However, there was no significant difference of trypsin and chymotrypsin levels ($p > 0.05$) among the larvae reared in the same culture conditions. The results indicated that there was no any effects of either live food or artificial feed on activities of trypsin and chymotrypsin in early stages of marble goby.

Keywords: *Oxyeleotris marmoratus*; trypsin, chymotrypsin

Title: Effects of different diets on trypsin and chymotrypsin activity of marble goby (*Oxyeleotris marmoratus*) larvae

TÓM TẮT

Thí nghiệm nhằm khảo sát sự ảnh hưởng của các loại thức ăn khác nhau lên hoạt tính trypsin và chymotrypsin ở cá bông tượng bột. Các nghiệm thức đã được bố trí với 2 loại thức ăn là thức ăn tươi sống và thức ăn nhân tạo B.P trong môi trường ương nước xanh và nước trong. Thức ăn tươi sống và thức ăn nhân tạo được cho ăn với mật độ 5 cá thể/mL và 30 hạt/mL. Hoạt tính của trypsin và chymotrypsin ở cá bông tượng bột được cho ăn với các loại thức ăn khác nhau trong môi trường ương nuôi nước trong rất thấp: 3.635-3.916U/mg mẫu cá và 1.034-1.204U/mg mẫu cá. Trong khi đó hoạt tính trypsin và chymotrypsin ở cá ương trong môi trường nước xanh với cùng loại thức ăn ở trên thì cao hơn: 5.274-5.873U/mg mẫu cá và 1.556-2.236U/mg mẫu cá. Giữa các nghiệm thức sử dụng nước xanh, thì hoạt tính trypsin và chymotrypsin đạt cao nhất khi cá được cho ăn thức ăn tươi sống (copepods trộn với rotifer). Tuy nhiên, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về hoạt tính trypsin và chymotrypsin giữa các nghiệm thức ương trong cùng một môi trường. Điều này chứng tỏ không có ảnh hưởng của thức ăn tươi sống và thức ăn nhân tạo lên hoạt tính của trypsin và chymotrypsin ở cá bông tượng bột.

Từ khóa: *Oxyeleotris marmoratus*; trypsin, chymotrypsin, thức ăn khác nhau

1 GIỚI THIỆU

Nhu cầu dinh dưỡng của động vật nói chung luôn thay đổi theo các giai đoạn phát triển trong vòng đời của chúng. Các thay đổi quan trọng về hình thái và sinh lý của động vật thủy sinh từ lúc mới nở đến khi trưởng thành được thể hiện qua các nhu

¹ Khoa Thủy Sản, Trường Đại học Cần thơ, Việt Nam.

² Viện Nuôi Trồng Thủy Sản Nhiệt Đới. Trường Khoa Học và Công Nghệ Kỹ Thuật Malaysia

³ Trung Tâm Công Nghệ Sinh Học Biển. Trường Khoa Học và Công Nghệ Kỹ Thuật Malaysia

cầu về dinh dưỡng và tính ăn ở giai đoạn ấu trùng, con giống và trưởng thành. Sự thay đổi đó diễn ra ở các cơ quan tiêu hoá và trong tiến trình tiêu hoá (Silva & Anderson, 1995).

Quá trình ương các loài ấu trùng cá, động vật hai mảnh vỏ và giáp xác phục vụ cho việc nuôi thương phẩm đến nay vẫn còn phụ thuộc vào tảo, luân trùng (*Brachionus plicatilis*), giáp xác và *Artemia* (Clark *et al.*, 1986). Điển hình, các loài vi tảo đã được sử dụng trong nuôi trồng thủy sản như là thức ăn tươi sống cho các giai đoạn tăng trưởng của động vật hai mảnh vỏ thân mềm (hàu, điệp, trai ngọc, hến và sò huyết), cho ấu trùng và hậu ấu trùng của bào ngư, giáp xác, một số loài cá và động vật phù du đã được sử dụng như là chuỗi thức ăn trong nuôi trồng thủy sản (Brown, 2002). Vi tảo đóng vai trò làm ổn định chất lượng môi trường nước, kiểm soát vi khuẩn và là nguồn dinh dưỡng của ấu trùng. Hiện nay, kỹ thuật nước xanh đã được sử dụng rộng rãi trong ương nuôi tôm và ấu trùng cá (Abol-Munafi *et al.*, 2002); bên cạnh vi tảo, luân trùng, trứng nước, động vật râu ngành và artemia đã được sử dụng như là thức ăn tươi sống thích hợp cho giai đoạn đầu của các loài ấu trùng cá biển và cá nước ngọt (Lavens & Sorgeloos, 1996; Ludwig, 1999; Treece & Davis, 2000).

Ở cá Bống tượng (*O. marmoratus*), phân tích thức ăn trong ống tiêu hóa của cá giống đã được thực hiện bởi Liem (2001). Kết quả cho thấy vào ngày thứ hai sau khi nở, cá bột đã ăn thực vật phù du với tần suất xuất hiện từ 95% ở ngày thứ 2 lên 100% vào ngày thứ 3. Bắt đầu từ ngày thứ 5 thì tần suất xuất hiện của tảo đã giảm xuống còn 20% sau đó thì được thay thế bởi động vật phù du ở ngày thứ 7. Abol-Munafi *et al.*, (2002), đã nghiên cứu sự ảnh hưởng của các loại thức ăn khác nhau và môi trường ương khác nhau lên tỉ lệ tăng trưởng và tỉ lệ sống của ấu trùng cá bống tượng, kết quả cho thấy tỉ lệ sống và tỉ lệ tăng trưởng cao nhất ở nghiệm thức được cho ăn ấu trùng copepods trong môi trường nước xanh (0.14mm.ngày⁻¹ và 43.20%). Ấu trùng được cho ăn tảo *Spirulina*, luân trùng, thức ăn nhân tạo và trùng tiêm mao cho tỉ lệ tăng trưởng thấp nhất và tỉ lệ sống cao nhất. Tỉ lệ sống của cá bột được cải thiện đáng kể khi cá được cho ăn các loại thức ăn khác nhau trong môi trường ương nước xanh. Tuy nhiên, mãi cho đến nay, vẫn chưa có tác giả nào nghiên cứu về lĩnh vực enzym tiêu hóa của cá bống tượng.

Mục đích của đề tài nhằm nghiên cứu sự ảnh hưởng của các loại thức ăn khác nhau lên hoạt tính của enzym tiêu hóa trypsin và chymochypsin ở cá bống tượng bột.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Thiết kế thí nghiệm

Trứng cá Bống tượng *O. marmoratus* được thu từ ao nuôi vỗ cá bố mẹ thông qua sinh sản tự nhiên trong ao. Cá bột được ương trong bể composite 1000 L với mật độ là 10 con/L. Các nghiệm thức đã được bố trí với 2 loại thức ăn là thức ăn tươi sống (luân trùng, ấu trùng copepod và trứng nước) và thức ăn nhân tạo B.P (sản phẩm của Nippon Formula Food Mfg. Co., Ltd., Japan). Mỗi gram B.P chứa 7.8 x 10⁶ hạt có kích thước từ 30-160µm. Thức ăn tươi sống được cho ăn với mật độ 5 cá thể/ml. Mật độ thức ăn tươi sống được kiểm soát hàng ngày bằng buồng đếm động vật. Các nghiệm thức được thiết kế như trình bày ở Bảng 1. Nước xanh được lấy từ bể nuôi cá rô phi. Thành phần các giống tảo chính trong nước xanh gồm có

Chlorella, *Scenedesmus*, *Coelastrum*. Nhiệt độ môi trường nước, oxy hòa tan và pH trong suốt quá trình thí nghiệm dao động từ 29-30°C, 4.3-7.2 mg/l và 7.0-7.9.

Bảng 1: Các nghiệm thức thí nghiệm

Nghiệm thức	Mật độ thức ăn
1. Thức ăn tươi sống-Nước trong	5 cá thể.mL ⁻¹
2. Thức ăn nhân tạo-Nước trong	30 hạt. mL ⁻¹ (*)
3. Không cho ăn-Nước trong	-
4. Thức ăn tươi sống-Nước xanh	5 cá thể/ml - 0.6 x 10 ⁶ tế bào
5. Thức ăn nhân tạo-Nước xanh	30 hạt/ ml (*) - 0.6 x 10 ⁶ tế bào
6. Không cho ăn- Nước xanh	0.6 x 10 ⁶ tế bào

(*): 0.4 g.ngày⁻¹ cho mỗi bể

2.2 Thu mẫu

Mẫu cá được thu vào các ngày tuổi thứ 0 (cá mới nở), 2, 4 và 6. Mỗi lần thu ngẫu nhiên 200 con ở mỗi nghiệm thức. Tất cả các mẫu thu đều được trữ ở điều kiện -70°C cho đến khi phân tích hoạt tính của enzyme (Jalal, 2000).

2.3 Chuẩn bị mẫu cho ly trích enzym

Mẫu cá được rửa đông và nghiền trong dung dịch lạnh Tris-HCl 50 mM (pH 7.5). Sau đó ly tâm 15000 vòng.phút⁻¹ ở 4°C trong 15 phút. Dung dịch ly trích chứa enzym được trữ ở nhiệt độ -70°C trước khi phân tích hoạt tính của enzym.

2.4 Phân tích enzymes

Hoạt tính của trypsin và chymotrypsin được phân tích và tính toán theo phương pháp của Garcia-Carreno *et al.* (2003), sử dụng các cơ chất tổng hợp.

Đối với hoạt tính của trypsin: 10 µL dung dịch ly trích chứa enzym được trộn với 750 µL 0.1mM benzoyl-DL-arginin-p-nitroanilide (BAPNA) trong 50mM Tris-HCl pH 7.5 và dung dịch 20mM CaCl₂. Phản ứng được đo bởi máy đọc ELISA trong vòng 10 phút ở 30°C và bước sóng 410nm. Để dừng phản ứng cần thêm 30% acetic acid vào hỗn hợp cần phân tích.

Hoạt tính của chymotrypsin: 10 µL dung dịch ly trích chứa enzym được trộn với 750 µL 0.1mM succinyl (Ala)₂-pro-Phe-p-nitroanilide (SAPNA) trong 50mM Tris-HCl pH 7.5 và dung dịch 20mM CaCl₂. Phản ứng được đo bởi máy đọc ELISA trong vòng 3 phút ở 30°C và bước sóng 410nm.

Hoạt tính của trypsin và chymotrypsin được tính bởi công thức:

$$\text{Đơn vị hoạt tính (U)} = [(\text{Abs}_{410\text{nm}}/t) \times 1000 \times V] / 8800 \times W$$

Trong đó, Abs_{410nm} là giá trị tại bước sóng 410nm; 8800 là hệ số phân tử gram của para-nitroaniline được phóng thích từ chất tạo sắc BAPNA và SAPNA; t là thời gian (phút); V là thể tích dung dịch phản ứng; W là khối lượng mẫu cá đã sử dụng để ly trích enzym trong hỗn hợp phản ứng (mg).

2.5 Xử lý thống kê

Sử dụng phần mềm thống kê sinh học Statistica 5.5 để tính toán giá trị trung bình, độ lệch chuẩn và phân tích DUNCAN để tìm hiểu sự khác biệt giữa các trung bình nghiệm thức ở mức độ p < 0,05.

3 KẾT QUẢ

Hoạt tính trypsin ở cá bột được trình bày qua Bảng 2. Kết quả phân tích cho thấy hoạt tính trypsin ở các nghiệm thức ương trong môi trường nước trong có sự khác biệt thống kê ($p < 0.05$) so với các nghiệm thức ương trong môi trường nước xanh. Tuy nhiên, không có sự khác biệt thống kê ($p > 0.05$) giữa các nghiệm thức trong cùng một môi trường ương.

Bảng 2: Hoạt tính Trypsin (U/mg mẫu cá) của cá bột ương với các loại thức ăn khác nhau

Nghiệm thức	Số mẫu (n)	Hoạt tính trypsin
1. Thức ăn tươi sống-Nước trong	8	3,64 ± 0,910 ^a
2. Thức ăn nhân tạo-Nước trong	8	3,92 ± 0,735 ^a
3. Không cho ăn-Nước trong	8	3,64 ± 0,888 ^a
4. Thức ăn tươi sống-Nước xanh	8	5,87 ± 1,548 ^b
5. Thức ăn nhân tạo-Nước xanh	8	5,43 ± 1,023 ^b
6. Không cho ăn-Nước xanh	8	5,27 ± 0,815 ^b

Trung bình ± Độ lệch chuẩn. Các ký tự nằm kể trên giá trị biểu hiện sự khác biệt thống kê ở mức $p < 0,05$.

Hoạt tính trypsin của cá được cho ăn các loại thức ăn khác nhau trong môi trường nước trong rất thấp (3,64 – 3,92U/mg mẫu cá) so với hàm lượng trypsin của cá ương trong môi trường nước xanh (5,27-5,87U/mg mẫu cá). Giữa các nghiệm thức ương trong môi trường nước xanh thì hoạt tính trypsin cao nhất khi cá được cho ăn thức ăn tươi sống.

Hoạt tính chymotrypsin của cá bột ương được trình bày qua bảng 3. Tương tự như trypsin, hoạt tính chymotrypsin ở cá cho ăn các loại thức ăn khác nhau trong môi trường ương nước trong cũng thấp hơn cá ương trong môi trường nước xanh.

Bảng 3: Hoạt tính Chymotrypsin (U/mg mẫu cá) của cá bột ương với các loại thức ăn khác nhau

Nghiệm thức	Số mẫu (n)	Hoạt tính chymotrypsin
1. Thức ăn tươi sống-Nước trong	8	1,09 ± 0,564 ^a
2. Thức ăn nhân tạo-Nước trong	8	1,20 ± 0,719 ^a
3. Không cho ăn-Nước trong	8	1,03 ± 0,589 ^a
4. Thức ăn tươi sống-Nước xanh	8	2,24 ± 0,999 ^b
5. Thức ăn nhân tạo-Nước xanh	8	1,65 ± 0,792 ^{ab}
6. Không cho ăn-Nước xanh	8	1,56 ± 0,485 ^{ab}

Trung bình ± Độ lệch chuẩn. Các ký tự nằm kể trên giá trị biểu hiện sự khác biệt thống kê ở mức $p < 0,05$.

Hoạt tính chymotrypsin cao nhất ở cá được cho ăn thức ăn tươi sống và ương trong môi trường nước xanh (2,24 ± 0,999U/mg mẫu cá), kế đó là nghiệm thức cá được cho ăn thức ăn nhân tạo ương trong nước xanh (1,65 ± 0,792U/mg mẫu cá) và thấp nhất ở cá không được cho ăn ương ở môi trường nước trong (1,034 ± 0,589U/mg mẫu cá). Tuy nhiên, sự khác biệt về hoạt tính enzym chymotrypsin giữa các nghiệm thức trong cùng một môi trường ương thì không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

4 THẢO LUẬN

Cá bột ương là loài cá dữ điển hình, có tính ăn thiên về động vật (Lê Như Xuân *et al.*, 2000), do đó khả năng tiêu hoá của cá phụ thuộc vào sự hiện diện của các

loại men tiêu hoá như trypsin, chymotrypsin, aminopeptidase, alkaline phosphatase và lipase (Buddington, 1985; Govoni *et al.*, 1986; Ribeiro *et al.*, 1999). Trong đó trypsin và chymotrypsin là hai loại men giữ vai trò quan trọng nhất giúp cho việc tiêu hoá thức ăn có nguồn gốc đạm (Hofer và Schiemer, 1981; Munilla-Moran *et al.*, 1990). Eshel *et al.* (1993) đã ước đoán có khoảng 40–50% đóng góp của trypsin vào tiến trình tiêu hoá protein của các loài cá có tính ăn thiên về động vật. Ngoài ra trypsin còn có vai trò hoạt hoá chính nó cùng với các tiền enzyme khác như trypsinogen và endopeptidases thành dạng hoạt động.

Ở cá Bống tượng, hàm lượng trypsin và chymotrypsin ở cá cho ăn các loại thức ăn khác nhau trong môi trường ương nước trong thấp hơn ($p < 0,05$) cá ương trong môi trường nước xanh. Điều đó chứng tỏ, vi tảo đóng vai trò quan trọng trong quá trình tiêu hoá của cá bống tượng bột. Kết quả này cũng giống với báo cáo của Senoo *et al.* (1994) cho rằng ở giai đoạn đầu cá bống tượng bột ăn tảo, sau đó chúng bắt đầu ăn trùng tiêm mao và luân trùng. Một số nghiên cứu khác cho rằng tảo có khả năng ảnh hưởng đến hoạt tính của men tiêu hoá ở ấu trùng cá. Đặc biệt là một số loài thuộc giống tảo *Chlorella* có chứa chất Specmin (Kneifel, 1977; Hamana và Matzusaki, 1982), chính chất này làm ảnh hưởng đến sự tiết enzyme của các tuyến tụy tạng, và thúc đẩy quá trình hoàn thiện về chức năng của ruột xảy ra sớm hơn (Peres *et al.*, 1997). Cahu và Zambonino Infante, 1995; Cahu *et al.* (1998) đã quan sát thấy có sự gia tăng về hàm lượng trypsin ở ấu trùng cá chêm Châu Âu *Dicentrarchus labrax* khi cá được cho ăn hỗn hợp thức ăn có chứa các amino axit tự do. Lazo *et al.* (2000) cho rằng sự hiện diện của tảo trong môi trường nước được sử dụng để ương ấu trùng cá *Sciaenops ocellatus* đã làm ảnh hưởng đến hoạt tính của trypsin và aminopeptidase.

Giữa các nghiệm thức có sử dụng nước xanh, hoạt tính trypsin và chymotrypsin đạt cao nhất khi cá được cho ăn thức ăn tươi sống. Tuy nhiên, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức thức ăn khác nhau trong cùng một môi trường ương. Điều này chứng tỏ thức ăn tươi sống và thức ăn nhân tạo không có ảnh hưởng đến hoạt tính của trypsin và chymotrypsin. Kết quả này trùng hợp với kết quả nghiên cứu của rất nhiều tác giả. Zambonino-Infante *et al.* (1996) và Kolkovski *et al.* (1997) cho rằng sự đóng góp trực tiếp của thức ăn tươi sống lên hoạt tính của enzyme tiêu hóa ở cá *Dicentrarchus labrax* là không đáng kể. Kurokawa *et al.* (1998) đã phát hiện thấy không quá 1% lượng enzyme protease từ thức ăn tươi sống (luân trùng) có trong ruột ấu trùng cá sardine nhật bản *Sardinops melanotictus*. Và gần đây, Lazo *et al.* (2000) đã nghiên cứu trên ấu trùng cá *Sciaenops ocellatus*, kết quả cũng cho thấy hoạt tính đặc biệt của trypsin, lipase và amylase không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi cá được cho ăn động vật phù du và thức ăn viên nhân tạo. Điều đó cho thấy hàm lượng enzyme có trong thức ăn tươi sống đóng vai trò không đáng kể trong quá trình tiêu hóa của cá ở giai đoạn cá bột.

LỜI CẢM ƠN

Tác giả xin gửi lời cảm ơn chân thành đến bà Norazlina Abd Aziz, ông Muhammad Embong và bà Siti Tafsil Raudah Sh Abd Kadir thuộc trường Đại học Khoa học và Công nghệ Malaysia đã có nhiều đóng góp quý báu giúp tác giả hoàn thành tốt nội dung nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Abol-Munafi, A. B., Pham Thanh Liem and B. S. Ng. 2002. Studies on the Larval Rearing of *Oxyeleotris marmoratus* (Bleeker). Proceeding of Malaysian Science & Technology Congress (mstc) 2002. Symposium c: life sciences. Hotel Hilton Kuching, Sarawak, 12 - 14 December 2002.
- Brown, M. R. 2002. Nutritional value of microalgae for aquaculture. In: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M. G., Simoes, N. (Eds.). Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México.
- Buddington, R. K. 1985. Digestive secretions of lake sturgeon, *Acipenser fulvescens*, during early development. J. Fish Biol., 26: 715-723.
- Cahu, C. L., and J. L. Zambonino Infante. 1995. Effect of the molecular form of dietary nitrogen supply in sea bass larvae: response of pancreatic enzymes and intestinal peptidases. Fish Physiol. Biochem., 14:209-214.
- Cahu, C. L., J. L. Zambonino Infante, A. Peres, P. Quazuguel, and M. M. Le Gall. 1998. Algal addition in sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae rearing: effect on digestive enzymes. Aquaculture, 161:479-489.
- Clark, J., K. R. Murray, and J. R. Stark. 1986. Protease development in Dover sole (*Solea solea* L.). Aquaculture, 53: 253-262.
- Eshel, A., P. Lindner, P. Smirnoff, S. Newton, and S. Harpaz. 1993. Comparative study of proteolytic enzymes in the digestive tracts of the European sea bass and hybrid striped bass reared in freshwater. Comp. Biochem. Physiol., 106A: 627-634.
- Garcia-Carreno, F. L., M. A. Navarrete del Toro, and E. Serviere-Zaragoza. 2003. Digestive enzymes in juvenile green abalone, *Haliotis fulgens*, fed natural food. Comp. Biochem. Physiol., 134B:143-150.
- Govoni, J. J., G. W. Boehlert, and Y. Wanatabe. 1986. The physiology of digestion in fish larvae. Env. Biol. Fish., 16: 59-77.
- Hamana, K., and S. Matsuzaki. 1982. Widespread occurrence of norspermidine and norspermine in eukaryotic algae. J. Biochem., 91:1321-1328.
- Hofer, R., and F. Schiermer. 1981. Proteolytic activity in the digestive tract of several species of fish with different feeding habits. Oecologia, 48: 342-345.
- Jalal., K.C.A. 2000. Studies on nutrition and development of digestive function in tropical sport fish (*Tor tambroides* Bleeker) fry. Thesis. Doctor of Philosophy Universiti Putra Malaysia. 352pp. (Unpublished).
- Kneifel, H. 1977. Untersuchungen uber Inhaltsstoffe von Algen. Chemiker Zeitung, 101: 165-168.
- Kolkovski, S., A. Tandler, and M. S. Izquierdo. 1997. Effects of live food and dietary digestive enzymes on the efficiency of microdiets for sea bass (*Dicentrarchus Zabrax*) larvae. Aquaculture, 148:313-322.
- Kurokawa, T., M. Shiraishi, and T. Suzuki. 1998. Quantification of exogenous protease derived from zooplankton in the intestine of Japanese sardine *Sardinops melanoticus* larvae. Aquaculture, 161: 491-499.
- Lavens, P. and P. Sorgeloos. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper. No.361. Rom, FAO. 1996. 295p.
- Lazo, J.P., M. T. Dinis, G. J. Holt, C. Faulk, and C. R. Arnold. 2000. Co-feeding microparticulate diets with algae: toward eliminating the need of zooplankton at first feeding in larval red drum (*Sciaenops ocellatus*). Aquaculture, 188: 339-351.

- Lê Như Xuân, Dương Nhật Long, Từ Thanh Dung, Nguyễn Văn Kiêm, Phạm Minh Thành và Bùi Minh Tâm. 2000. Sinh học và kỹ thuật nuôi một số loài cá nước ngọt. Sở khoa học công nghệ và môi trường An giang. 182 trang.
- Ludwig, G. M. 1999. Zooplankton succession and larval fish culture in freshwater ponds. Southern Regional Aquaculture Center (SRAC) Publication No.700.
- Munilla-Moran, R., J.R. Stark, and A. Barbour. 1990. The role of exogenous enzymes in digestion in cultured turbot larvae *Scophthalmus maximus* L. Aquaculture, 88: 337-350.
- Peres, A., C. L. Cahu and J. L. Zambonino-Infante. 1997. Dietary spermine supplementation induces intestinal maturation in sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae. Fish Physiol. Biochem., 16:479-485.
- Pham Thanh Liem. 2001. Study on the early development and rearing of the Marble Goby (*O. marmoratus*) larvae. Thesis Master of Science Kolej Universiti Terengganu, Universiti Putra Malaysia. (Unpublished).
- Ribeiro, L., J. L. Zambonino-Infante, C. Cahu, and M. T. Dinis. 1999. Development of digestive enzymes in larvae of *Solea senegalensis*, Kaup 1858. Aquaculture, 179: 465-473.
- Senoo, S., K. J. Ang, and G. Kawamura. 1994. Development of sense organs and mouth and feeding of reared marble goby *Oxyeleotris marmoratus* larvae. Fish. Sci., 60: 361-368.
- Silva, S. S. D., and T. A. Anderson. 1995. Fish nutrition in aquaculture. Published by Chapman & Hall, 2-6 Boundary Row, London SE1 8HN. Chapman & Hall Aquaculture Series 1. pp.143.
- Treese, G. D., and D. A. Davis. 2000. Culture of small zooplankters for the feeding of larval fish. Southern Regional Aquaculture Center (SRAC). Publication No. 701.
- Zambonino-Infante, J. L., C. L. Cahu, A. Peres, P. Quazuguel, and M. M. Le Gall. 1996. Sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae fed different Artemia rations: growth, pancreas enzymatic response and development of digestive functions. Aquaculture, 139:129-138.