

ẢNH HƯỞNG CỦA *BACILLUS* LÊN MÔI TRƯỜNG NUÔI VÀ TĂNG TRƯỞNG CỦA TÔM THẺ CHÂN TRẮNG (*LITOPENAEUS VANNAMEI*)

Phạm Thị Tuyết Ngân¹ và Trần Sương Ngọc¹

¹ Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 26/05/2014

Ngày chấp nhận: 30/10/2014

Title:

Effect of selected *Bacillus* on water quality and growth of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

Từ khóa:

Chất lượng nước, Probiotic, *Vibrio*, *Bacillus*, tôm chân trắng

Keywords:

Water quality, Probiotic, *Vibrio*, *Bacillus*, *Litopenaeus vannamei*

ABSTRACT

The influence of probiotics containing *Bacillus* sp (B2) and *Bacillus amiloliquefaciens* (B41) on water quality and white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) performance cultured in tanks were studied. The experiment included two bacterial treatments and one control treatment (without *Bacillus*). Each treatment was run triplicates. All treatments were set up in composite tanks with shrimp stocking density of 50 ind./100L. Bacterial density was 10^6 CFU/mL. The water quality in the different treatments such as temperature, pH, DO, COD, TSS, TAN and total alkalinity were collected and analysed following procedures of APHA (1995). Water samples were analyzed before adding bacteria and then sampled every 5 days during 60 days of experiment period. Results showed that water temperature, pH, total alkalinity remained stable and suitable for white leg shrimp. However, factors such as DO, COD, TSS, and TAN varied between treatments and tended to increase towards the end of the experiment, however those levels were still suitable for white leg shrimp. The density of *Vibrio* in additional bacterial treatments were lower than in the control. The survival rate of shrimp in B2 treatment ($70.0 \pm 5.3\%$) and B41 treatment ($86.7 \pm 3.1\%$) were significantly higher ($p < 0.05$) than those in the control treatments ($65.3 \pm 3.1\%$).

TÓM TẮT

Ảnh hưởng của chế phẩm vi sinh chứa dòng vi khuẩn *Bacillus* sp (B2) và *Bacillus amiloliquefaciens* (B41) đến chất lượng nước và tôm thẻ (*Litopenaeus vannamei*) nuôi trong bể đã được nghiên cứu. Thí nghiệm bao gồm hai nghiệm thức bổ sung vi khuẩn và một nghiệm thức đối chứng (không bổ sung vi khuẩn). Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần. Tất cả các nghiệm thức đều được thực hiện trong bể composite với mật độ 50 cá thể/100L. Mật độ vi khuẩn được bổ sung là 10^6 CFU/mL. Chất lượng môi trường nuôi ở các nghiệm thức khác nhau như nhiệt độ, pH, DO, COD, TSS, TAN và tổng độ kiềm đã được thu thập và phân tích theo phương pháp APHA (1995) lúc chưa bổ sung vi khuẩn và sau đó theo chu kỳ 5 ngày một lần trong 60 ngày thí nghiệm. Kết quả cho thấy nhiệt độ, pH, tổng độ kiềm duy trì ở mức thích hợp. Các yếu tố như DO, COD, TSS và TAN biến động giữa các nghiệm thức và có khuynh hướng tăng đến cuối thí nghiệm, nhưng nhìn chung phù hợp cho tôm thẻ chân trắng. Mật độ của *Vibrio* trong bể có bổ sung vi khuẩn luôn thấp hơn nghiệm thức đối chứng. Tỷ lệ sống của tôm trong nghiệm thức B2 ($70,0 \pm 5,3\%$) và B41 ($86,7 \pm 3,1\%$) luôn cao hơn có ý nghĩa ($p < 0,05$) khi so sánh với đối chứng ($65,3 \pm 3,1\%$).

1 GIỚI THIỆU

1.1 Giới thiệu

Trong những năm gần đây, chế phẩm vi sinh đang được sử dụng rộng khắp trong nuôi trồng thủy sản. Tuy nhiên, hiệu quả vẫn chưa được đánh giá đầy đủ nhất là hiệu quả kinh tế (Vũ Ngọc Út, 2011). Ngoài ra các chế phẩm vi sinh có mặt trên thị trường chủ yếu có nguồn gốc nội địa với chất lượng không ổn định và giá thành cao làm ảnh hưởng đến lợi nhuận của người nuôi. Vì vậy, nghiên cứu và lựa chọn các dòng vi khuẩn hữu ích là rất cần thiết trong nuôi trồng thủy sản, hạn chế sự ô nhiễm của môi trường, thúc đẩy và tăng cường sự bền vững của nghề nuôi. Việc ứng dụng vi sinh trong nuôi tôm thâm canh và bán thâm canh đang phát triển mạnh và rất cần thiết trong nghề nuôi tôm thương phẩm hiện nay. Với mục đích tạo môi trường tốt cho tôm sinh trưởng và phát triển, giảm bệnh tật, hạn chế sử dụng một số hóa chất và thuốc kháng sinh trong nuôi tôm. Ngoài ra, còn làm giảm các độc tố trong ao xuống mức thấp nhất (chủ yếu NH_3 , NO_2^- và H_2S), cải thiện màu nước, ổn định pH, cân bằng hệ sinh thái trong ao, phân hủy tối đa các chất hữu cơ và làm giảm độ nhớt của nước (nguyên nhân gây ra độ nhớt của nước?), ngăn ngừa tảo nở hoa và hấp thu nguồn tảo chết trong ao...

Vấn đề về môi trường nuôi tôm đang gặp nhiều khó khăn do môi trường ngày càng bị ô nhiễm. Vi sinh vật hữu ích đóng vai trò quan trọng trong cải thiện môi trường là một ứng dụng được quan tâm nhiều nhất (Vũ Thế Trụ, 2011). Ngoài ra khi bổ sung vi sinh vật hữu ích, nhất là giống *Bacillus* vào ao nuôi các chỉ tiêu thủy lí, hóa, sinh được cải thiện rõ rệt. Vi khuẩn *Bacillus* sp là một trong các nhóm vi khuẩn có mặt nhiều nhất trong chế phẩm vi sinh, nó có vai trò quan trọng vì khả năng sản sinh nhiều sản phẩm biến dưỡng thứ cấp như kháng sinh, thuốc trừ sâu sinh học, hóa chất và enzyme (Ferarri *et al.*, 1993). Để đánh giá hiệu quả xử lí môi trường cũng như tác động lên chất lượng tôm thẻ nuôi của các dòng vi khuẩn *Bacillus* được phân lập trong ao nuôi tôm sú thâm canh, một nghiên cứu được thực hiện trong bể nuôi tại Khoa Thủy sản nhằm “Xác định sự ảnh hưởng của các chủng vi khuẩn *Bacillus* sp. lên tôm thẻ chân trắng”.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Vật liệu nghiên cứu

Nguồn vi khuẩn: Hai chủng *Bacillus* B2 và *Bacillus* B41 đã được phân lập tại Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ. Hai chủng vi khuẩn

phân lập được bố trí vào bể tôm thẻ chân trắng với mật độ 10^6 CFU/mL.

Tôm thẻ chân trắng (PL 9): được mua từ trại giống tại Cần Thơ, nuôi trong bể 30 ngày cho đến khi tôm đạt trung bình 1 g/con thì bố trí thí nghiệm. Tôm được đo chiều dài và cân trọng lượng 20 con trước khi bố trí thí nghiệm. Tôm được xử lí bằng formol ở nồng độ 30 mg/L khoảng 15-30 phút trước khi bố trí. Mật độ thả 0,5 con/lít.

Nguồn nước biển 100% có nguồn gốc từ Vĩnh Châu, Sóc Trăng được pha với nước máy đạt độ mặn 16‰. Nước được xử lí bằng chlorine với nồng độ 30 mg/L, sau đó bằng $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (dùng để trung hòa chlorine thừa) và sục khí trong khoảng 12-24 giờ. Bể composite 100 lít đã được xử lí và được bố trí trong phòng kín, theo hệ thống hồ, có sục khí liên tục. Bể composite 100 lít đã được sát trùng bằng chlorine nồng độ 30 ppm trong thời gian 30 phút trước khi bố trí thí nghiệm, để tránh nhiễm khuẩn.

Cách cho ăn và quản lý tôm nuôi thí nghiệm:

Tôm được cho ăn 4 lần/ngày bằng thức ăn công nghiệp Grow Feed vào lúc 06, 11, 16 và 21 giờ. Bể được xiphong 2 lần/ngày vào sáng và chiều và sục khí liên tục. Nước được thay định kì 30 ngày/lần với 1/3 lượng nước trong bể và bổ sung cho đạt 100 lít. Nước trong bể nuôi được thay ngoài định kỳ nếu kết quả kiểm tra chất lượng nước vượt giới hạn cho phép. Thời gian thí nghiệm 60 ngày.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được tiến hành với 3 nghiệm thức: Nghiệm thức 1 (ĐC): không cấy vi khuẩn, nghiệm thức 2: cấy vi khuẩn *Bacillus* chủng B2, nghiệm thức 3: cấy vi khuẩn *Bacillus* chủng B41. Mật độ được cấy là 10^6 CFU/mL. Thí nghiệm được tiến hành trong 9 bể composite 100 lít đã được sát trùng bằng chlorine trước khi bố trí thí nghiệm. Nước được bơm vào bể với thể tích 100 lít. Mật độ thả tôm 0,5 con/lít. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên. Trong suốt quá trình thí nghiệm, các chỉ tiêu chất lượng nước (nhiệt độ, pH, TSS, COD, TAN và độ kiềm tổng cộng), tỉ lệ sống của tôm và mật độ vi khuẩn được theo dõi. Đối với pH và nhiệt độ được kiểm tra 2 lần/ngày (6 giờ và 15 giờ); TSS, COD, TAN và độ kiềm tổng cộng kiểm tra định kì 5 ngày/lần. Sau mỗi lần kiểm tra, nếu độ kiềm tổng cộng thấp thì dùng NaHCO_3 để nâng kiềm ở mức ổn định. Mẫu vi khuẩn được thu trước khi bổ sung vi khuẩn (chu kỳ bổ sung vi khuẩn vào

bể nuôi là 5 ngày/lần), định kì 5 ngày thu mẫu một lần cho đến kết thúc thí nghiệm.

2.2.2 Phương pháp nuôi tăng sinh vi khuẩn

Hai chủng vi khuẩn *Bacillus* B2 và B41 được phục hồi trên môi trường NA. Các chủng này sau đó được tiếp tục nuôi tăng sinh bằng môi trường glucose. Sau khi nuôi tăng sinh, mật độ vi khuẩn được xác định bằng phương pháp đo OD ở bước sóng 600 nm.

2.2.3 Phương pháp thu và phân tích mẫu nước

Mẫu nước được thu cách mặt nước khoảng 20-30 cm. Sau đó, mẫu được trữ lạnh ngay ở 4°C và phân tích trong vòng 2 giờ. Tất cả các chỉ tiêu môi trường được phân tích theo phương pháp chuẩn (APHA, 2005). Các chỉ tiêu như nhiệt độ, pH, đều được ghi nhận trước khi tiến hành thu mẫu. Các chỉ tiêu thủy hóa (DO, COD, TAN, độ kiềm tổng cộng) được thu cùng thời điểm với thu mẫu vi sinh, trước khi bổ sung vi khuẩn.

– Phương pháp xác định mật độ vi khuẩn *Bacillus* bằng phương pháp đếm khuẩn lạc (Nguyễn Lân Dũng, 1983)

2.3 Tính tốc độ tăng trưởng và tỉ lệ sống của tôm

2.3.1 Tốc độ tăng trưởng của tôm

Trước khi bố trí thí nghiệm 20 con tôm được cân ngẫu nhiên, tính được trọng lượng trung bình (W_i). Khi kết thúc thí nghiệm cân ngẫu nhiên 20 con tôm trong mỗi nghiệm thức (W_f). Tốc độ tăng trưởng trọng lượng được tính theo công thức sau: Tăng trưởng = $W_f - W_i$ (W_f : khối lượng cuối, W_i : khối lượng đầu).

2.3.2 Tỉ lệ sống của tôm

Tỉ lệ sống của tôm được xác định khi kết thúc thí nghiệm bằng công thức: Tỉ lệ sống (%) = số cá thể cuối / số cá thể đầu *100

2.4 Phương pháp tính toán và xử lí số liệu

Các số liệu thu thập được tính toán và thống kê mô tả bằng phần mềm Excel. Số liệu được so sánh thống kê ANOVA một nhân tố và phép thử

DUNCAN bằng chương trình SPSS version 16.0. Mức ý nghĩa thống kê (0,05).

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Biến động một số chỉ tiêu môi trường nước

3.1.1 Nhiệt độ

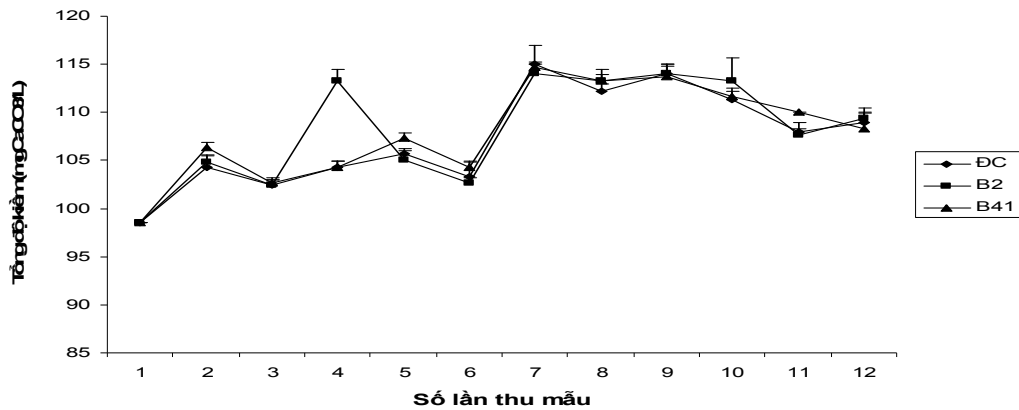
Nhiệt độ trong ba nghiệm thức dao động từ 28-28,7°C và phù hợp với nuôi tôm (Chanratchkool *et al.* (1995), Whetstone *et al.* (2002), Boyd *et al.* (2002).

3.1.2 pH

Nhìn chung, pH ở các nghiệm thức biến động không đáng kể qua các lần thu mẫu. Các nghiệm thức có xu hướng tăng nhẹ vào giữa thời gian thí nghiệm. Nguyên nhân là do vật chất hữu cơ trong bể tích lũy ngày càng nhiều từ thức ăn thừa, phân tôm và chịu sự biến động hàm lượng DO trong nước. Các nghiệm thức pH biến động không vượt quá 0,5 đơn vị pH (7,81-7,94). Vào buổi sáng pH dao động từ 7,81-7,84 và buổi chiều pH dao động từ 7,91-7,94. Theo Chanratchkool *et al.* (1995) thì pH của ao rất quan trọng, ảnh hưởng trực tiếp hoặc gián tiếp đến tôm nuôi và pH thích hợp cho tôm phát triển dao động từ 7,8-8,2. Theo Briggs *et al.* (1994) nguồn nước có pH từ 7,5-8,5 là điều kiện tối ưu cho vi khuẩn nitrate hóa tăng trưởng. Vì vậy, pH trong các bể đều thích hợp cho tôm phát triển.

3.1.3 Tổng độ kiềm

Độ kiềm ở các nghiệm thức dao động trong khoảng 98,5-114,7 mg $CaCO_3/L$. Ở nghiệm thức không bổ sung vi khuẩn thì tổng độ kiềm dao động trong khoảng 98,5-114 mg $CaCO_3/L$, còn hai nghiệm thức bổ sung vi khuẩn B2 và B41 lần lượt là 98,5-114 mg $CaCO_3/L$, 98,5-114,7 mg $CaCO_3/L$. Các nghiệm thức có sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$). Độ kiềm ở các nghiệm thức tăng là do trong suốt quá trình nuôi độ kiềm được giữ ở mức ổn định, bằng cách bổ sung $CaCO_3$ vào bể nuôi. Theo Trần Ngọc Hải *và ctv* (2004) thì độ kiềm tốt nhất cho tôm phát triển là 80-120 mg/L. Điều này cho thấy các bể nuôi có độ kiềm không khác biệt nhau và nằm trong khoảng cho phép để tôm phát triển.

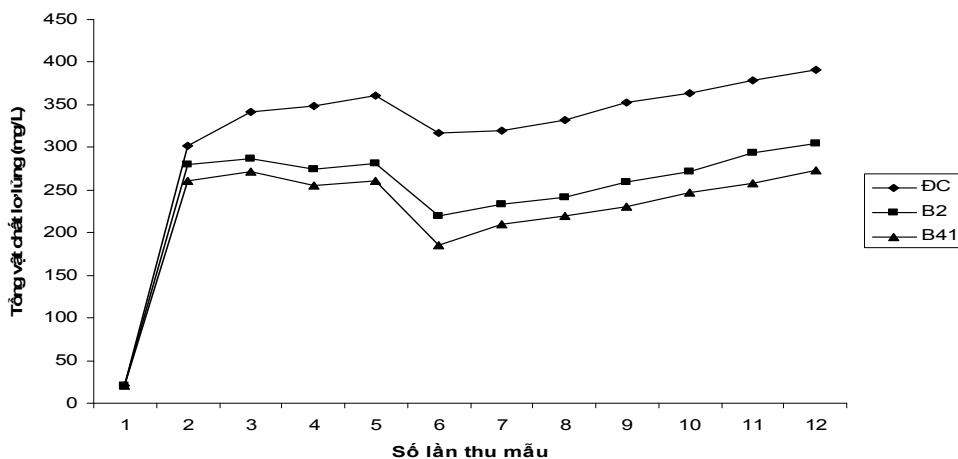


Hình 1: Sự biến động của độ kiềm tổng cộng trong thời gian thu mẫu

3.1.4 Tổng vật chất lơ lửng (TSS)

Kết quả khảo sát cho thấy tổng vật chất lơ lửng có khuynh hướng tăng dần theo thời gian nuôi và đạt cao nhất 390 mg/L (Hình 2). Một nghiên cứu khác của Phạm Thị Tuyết, (2012) nuôi tôm trong bể, hàm lượng TSS gần tương đương với nghiên cứu này (384 mg/L). Nếu so với kết quả nghiên cứu nuôi tôm ngoài ao đất, không bổ sung vi khuẩn hữu ích của (Nguyễn Thanh Long, 2008) thì mức tích lũy vật chất lơ lửng ngoài ao cao hơn nhiều (746 mg/L). Qua hình cho thấy sự biến động TSS ở

thí nghiệm thức ĐC, B2 và B41 lần lượt là 20-390, 20-304 và 20-303 mg/L. Qua đó, có sự khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) giữa các thí nghiệm thức. Đặc biệt là thí nghiệm thức B41 có TSS thấp hơn có ý nghĩa so với B2 ($p < 0,05$). Nhìn chung, tổng vật chất lơ lửng ở các bể có bổ sung vi khuẩn giảm so với bể đối chứng. Trong đó, thí nghiệm thức bổ sung vi khuẩn B41 có khả năng xử lý tối ưu. Điều này có thể giải thích do quá trình phân hủy hợp chất hữu cơ nhanh của chủng vi khuẩn B41 đã làm giảm một lượng đáng kể hợp chất hữu cơ trong nước làm cho TSS thấp hơn so với thí nghiệm thức đối chứng.



Hình 2: Sự biến động của tổng vật chất lơ lửng trong thời gian thu mẫu

3.1.5 Sự biến động Oxy hòa tan (DO)

Hàm lượng oxy hòa tan biến động từ 3,62-6,15 mg/L. Hàm lượng oxy trong thí nghiệm có xu hướng tăng ở 3 lần thu đầu, nhưng sau đó có xu hướng ổn định (5-6 mg/L). Nguyên nhân là do bể có sục khí liên tục nên hàm lượng oxy hòa tan ít

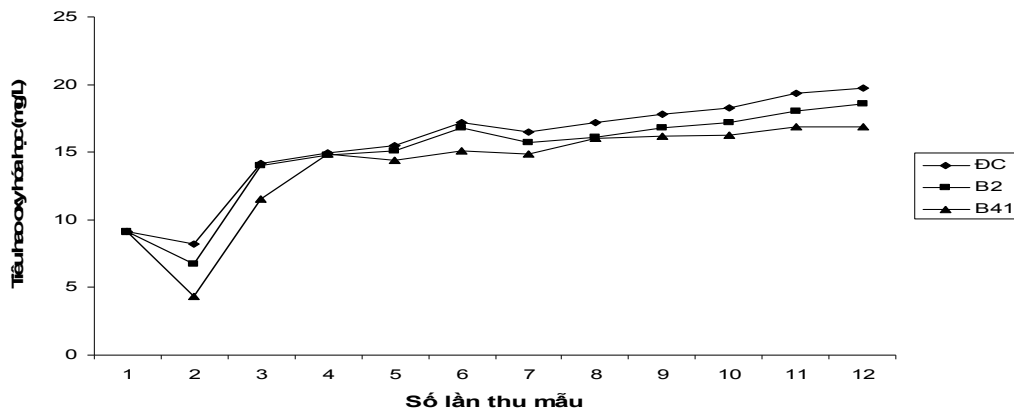
biến động. Hàm lượng oxy hòa tan ở thí nghiệm thức B41 ($5,02 \pm 0,5$ mg/L) thấp hơn so với bể đối chứng ($5,27 \pm 0,7$ mg/L). Oxy hòa tan trong nước lý tưởng cho tôm là trên 5 mg/L và không vượt quá 15 mg/L (Whetstone *et al.*, 2002). Do vậy, biến động của oxy hòa tan trong thí nghiệm là thích hợp cho sự phát triển của tôm. Dao động oxy hòa tan ở các

nghiệm thức có thể bị ảnh hưởng bởi hoạt động của vi khuẩn trong các bể và quá trình sục khí. Hàm lượng DO giữa các nghiệm thức có sự khác biệt không có ý nghĩa ($p>0,05$).

3.1.6 Tiêu hao oxy hóa học (COD)

Biến động COD ở nghiệm thức đối chứng cao hơn so với các nghiệm thức có vi khuẩn. Điều này cho thấy hàm lượng hữu cơ trong nghiệm thức đối chứng cao hơn so với các nghiệm thức khác, cũng như vai trò phân hủy vật chất hữu cơ ở các nghiệm thức bổ sung vi khuẩn đã làm giảm đáng kể mức độ ô nhiễm. Trong 2 nghiệm thức bổ sung vi

khẩn, COD ở nghiệm thức B41 thấp nhất ($13,87\pm3,77$ mg/L) so với các nghiệm thức khác do vi khuẩn đã phân hủy phần lớn vật chất hữu cơ chỉ còn lại một lượng nhỏ nên lượng oxy cần cho quá trình phân hủy này rất ít. COD ở nghiệm thức B2 ($14,92\pm3,56$ mg/L) có sai biệt thống kê so với nghiệm thức đối chứng ($15,66\pm3,69$ mg/L). Hàm lượng COD ở các nghiệm thức dao động từ 4,55-19,75 mg/L, có khuynh hướng tăng dần vào cuối thí nghiệm. Nguyên nhân là do lượng thức ăn dư thừa và chất thải của tôm tích lũy theo thời gian, do đó phải cần nhiều oxy cho quá trình phân hủy các chất thải đó.

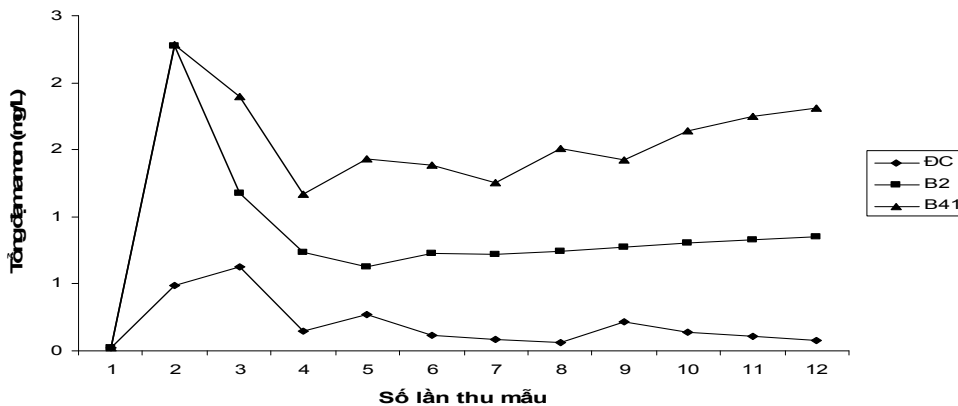


Hình 3: Sự biến động của COD trong thời gian thu mẫu

3.1.7 Tổng đạm amon (TAN)

Hàm lượng TAN dao động từ 0,02-2,29 mg/L. Hàm lượng TAN cao nhất ở lần thu mẫu thứ 2, nhưng từ lần thu mẫu thứ 3 thì hàm lượng đã giảm và nằm trong khoảng cho phép. Nguyên nhân có thể là do vi khuẩn *Bacillus* sp chuyển hóa đạm hữu cơ mạnh tạo ra nhiều NH_4^+ và NH_3 . Hàm lượng TAN ở các nghiệm thức bổ sung vi khuẩn B41 cao

hơn nhiều so với nghiệm thức đối chứng. Như vậy, vi khuẩn B41 đã phát huy được vai trò của mình trong việc phân hủy vật chất hữu cơ trong bể nuôi. Whetstone *et al.* (2002) cho rằng tôm có thể tồn tại và phát triển ở hàm lượng TAN dao động từ 0,02-2 mg/L và theo Boyd *et al.* (2002) thì TAN trong môi trường ao nuôi phải nhỏ hơn hoặc bằng 3 mg/L.



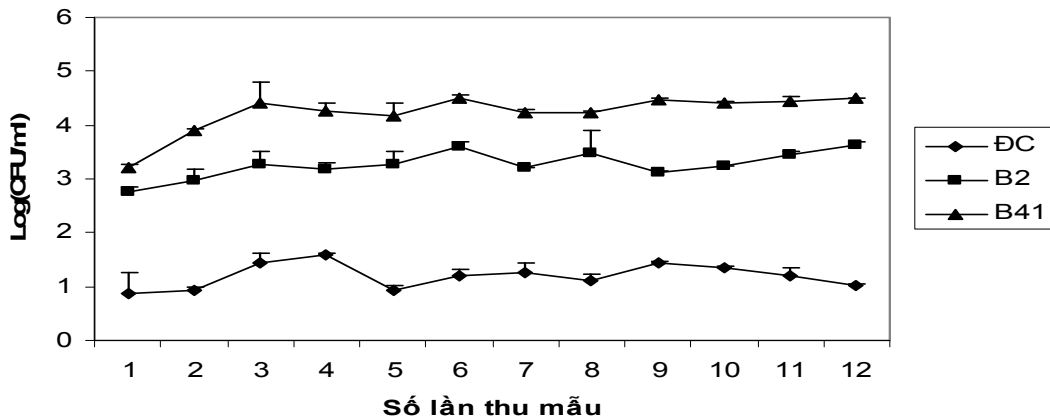
Hình 4: Sự biến động của TAN trong thời gian thu mẫu

3.2 Biến động mật số vi khuẩn trong nước

3.2.1 Biến động mật độ vi khuẩn *Bacillus*

Mật độ vi khuẩn *Bacillus* biến động trong khoảng $8,5-3,3 \times 10^4$ CFU/ml. Trong đó, mật độ vi khuẩn *Bacillus* ở nghiệm thức B2 cao nhất ($1,67 \times 10^3-3,3 \times 10^4$ CFU/ml), nghiệm thức đối chứng thấp nhất (8,5-29,3 CFU/ml) và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) về mật độ giữa hai nghiệm thức. Riêng 2 nghiệm thức có bổ sung vi

khẩn *Bacillus* thì nghiệm thức B2 ($0,5 \times 10^3-4,4 \times 10^3$ CFU/ml) thấp hơn có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với nghiệm thức B41, do chủng vi khuẩn này yếu và khó thích nghi trong môi trường bổ sung. Qua đó cho thấy các nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn *Bacillus* thì mật độ vi khuẩn *Bacillus* luôn cao hơn bề đối chứng 2-3 đơn vị Log và giữ ở mức 10^3-10^4 CFU/ml. Điều này thể hiện rõ hiệu quả việc bổ sung vi khuẩn định kì giúp cân bằng mật số vi khuẩn mong muốn ($< 10^7$ CFU/mL).



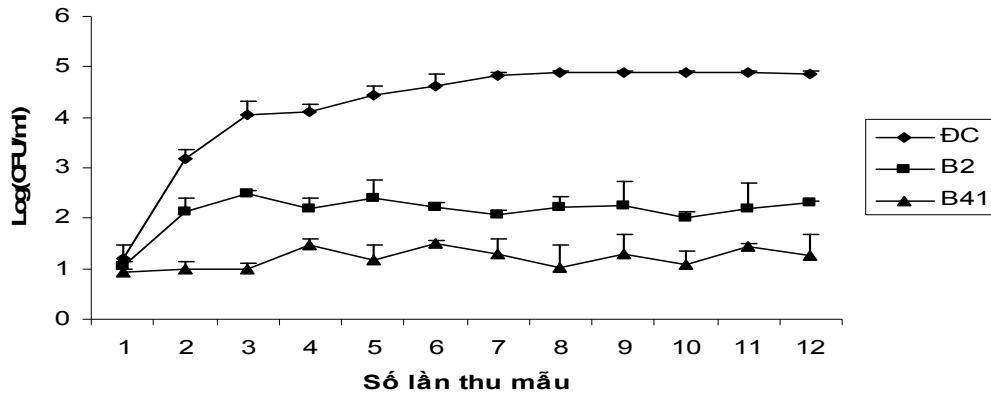
Hình 5: Biến động mật độ vi khuẩn *Bacillus* trong nước

3.2.2 Biến động mật độ vi khuẩn *Vibrio*

Qua 12 đợt thu mẫu, mật độ *Vibrio* trong nước ở các nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn khoảng 10^1-10^2 CFU/ml, còn nghiệm thức đối chứng dao động từ 10^3-10^4 CFU/ml. Từ đó cho thấy mật độ *Vibrio* ở nghiệm thức bổ sung vi khuẩn luôn thấp hơn nghiệm thức không bổ sung vi khuẩn từ 10-100 lần. Khi khảo sát mật độ giữa các nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn nhận thấy trong nước mật độ *Vibrio* chủng B2 và B41 lần lượt là 10^2 và 10^1 CFU/ml. Vi khuẩn B2 có khả năng kháng *Vibrio* tốt hơn B41; trong khi đó ở nghiệm thức đối chứng không bổ sung *Bacillus* nên mật độ *Vibrio* cao hơn (10^4 CFU/ml). Vi khuẩn *Vibrio* trong nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn *Bacillus* tương đối ổn định có thể là do việc bổ sung vi khuẩn *Bacillus* định kì trong suốt quá trình thí nghiệm đã làm giảm mật độ *Vibrio* phát triển. Nguyên nhân tăng cao ở

nghiệm thức đối chứng là do sự tích lũy chất thải của tôm và thức ăn dư thừa tích lũy trong suốt quá trình thí nghiệm tạo điều kiện thuận lợi cho *Vibrio* phát triển.

Kết quả này cho thấy việc bổ sung vi khuẩn *Bacillus* làm giảm mật độ vi khuẩn *Vibrio* trong hệ thống bể nuôi. Điều này phù hợp với nhận định của Moriarty (1998), bổ sung *Bacillus* có thể kiểm soát được *Vibrio*, tăng tỉ lệ sống của tôm, hạn chế được mầm bệnh do vi khuẩn phát sáng *Vibrio* sp. trong nước. Moriarty (1999) mật độ *Vibrio* vượt quá 10^3 CFU/ml sẽ gây hại cho tôm. Từ biểu đồ cho thấy mật độ vi khuẩn *Vibrio* vẫn nằm trong giới hạn cho phép nhưng ở nghiệm thức không bổ sung vi khuẩn *Bacillus* mật độ *Vibrio* vượt quá giới hạn cho phép. Tuy nhiên, mật độ vi khuẩn *Vibrio* không phải hoàn toàn là nhóm gây bệnh nên tôm vẫn phát triển tốt đến cuối thí nghiệm.

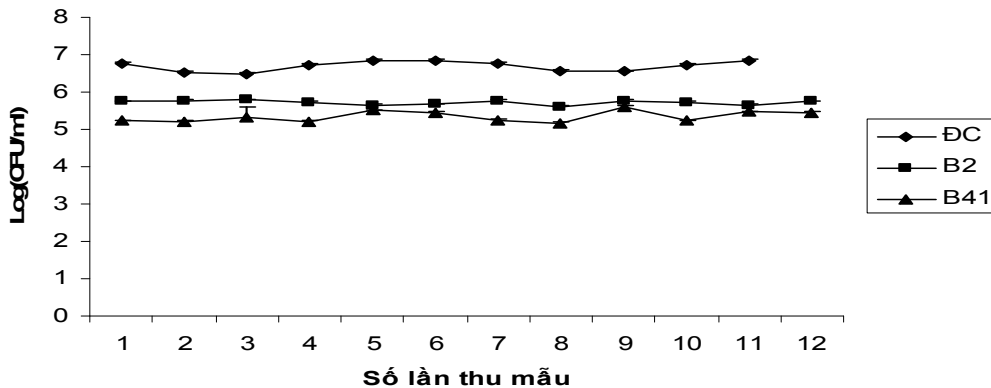


Hình 6: Biến động mật độ vi khuẩn *Vibrio* trong nước

3.2.3 Biến động mật độ tổng vi khuẩn

Kết quả cho thấy mật độ vi khuẩn trong nước dao động từ 10^5 - 10^6 CFU/ml. Trong nước các nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn có kết quả tổng vi khuẩn thấp hơn hẳn đối chứng 1 đơn vị Log (10 lần), do *Bacillus* có thể đã ức chế các loài vi khuẩn khác. Nhìn chung, mật độ tổng vi khuẩn ở nghiệm thức đối chứng có số lượng tăng cao và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại ($p < 0,05$). Sự biến động mật độ tổng vi khuẩn ở

nh nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn *Bacillus* phụ thuộc vào thời gian và lượng vi khuẩn bổ sung. Trong khi nghiệm thức đối chứng mật độ tổng vi khuẩn tăng dần do sự tích lũy thức ăn và chất thải của tôm. Theo Anderson (1993) trong nước sạch thì tổng vi khuẩn nhỏ hơn 10^3 CFU/ml. Nếu mật độ vi khuẩn vượt quá 10^7 CFU/ml sẽ có hại cho tôm nuôi và môi trường trở nên bẩn. Mật độ tổng vi khuẩn ở các nghiệm thức vẫn nằm trong giới hạn cho phép đến khi kết thúc vụ nuôi.



Hình 7: Biến động mật độ tổng vi khuẩn trong nước

3.3 Tốc độ tăng trưởng về chiều dài và trọng lượng của tôm

3.3.1 Trọng lượng

Qua bảng cho thấy tốc độ tăng trưởng về chiều dài và tăng trọng ở các nghiệm thức có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Đặc biệt có sự khác biệt rõ rệt của nghiệm thức B41 và ĐC. Ở nghiệm thức ĐC tăng trưởng là $4,02 \pm 0,2$ g/con, trong khi ở nghiệm thức B41 tăng trưởng gấp 1,5 lần ($6,13 \pm$

$0,1$ g/con) so với ĐC. Ở nghiệm thức B2 và ĐC không có sự khác biệt ý nghĩa thống kê.

Bảng 1: Chiều dài của tôm

Nghiệm thức	ĐC	B2	B41
Tốc độ tăng trưởng chiều dài (%)	31,63 ^a	34,42 ^b	42,48 ^c

* Các giá trị trên cùng một hàng có chữ cái khác nhau thì khác biệt rất có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$)

Trong cùng điều kiện chăm sóc như nhau, nhưng tốc độ tăng trưởng của tôm giữa các nghiệm thức bổ sung vi khuẩn *Bacillus* và đối chứng có sự khác biệt. Việc bổ sung vi khuẩn vào bể nhằm cải tạo môi trường nước đã ảnh hưởng đến sự phát triển của tôm nuôi. Sự hiện diện của vi khuẩn *Bacillus* trong bể đã làm giảm các chất gây độc cho tôm, cũng như làm giảm mầm bệnh tấn công. Việc bổ sung định kì vi khuẩn *Bacillus* góp phần phân hủy các hợp chất hữu cơ dư thừa trong bể nuôi tôm làm duy trì môi trường nuôi ổn định, kích thích sử dụng thức ăn và sinh trưởng của tôm. Điều này phù hợp với các nghiên cứu khác có bổ sung vi khuẩn *Bacillus*, việc bổ sung vi khuẩn hữu ích không chỉ làm tăng khả năng phân giải các chất hữu cơ, làm sạch và ổn định môi trường nước mà còn làm tăng

năng suất gần gấp hai lần so với ao nuôi không bổ sung vi khuẩn hữu ích.

3.3.2 Tỷ lệ sống tôm nuôi

Tỷ lệ sống của tôm trong thí nghiệm biến động từ 65,53-86,7% có sự khác biệt ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn và nghiệm thức ĐC. Trong hai nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn thì nghiệm thức B41 (86,7±3,1^c %) khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức B2 (70,0±5,3^b %). Việc bổ sung các chủng vi khuẩn hữu ích đã giúp cải thiện được môi trường nước nuôi, giảm thiểu ô nhiễm nền đáy, đồng thời cũng làm giảm sự phát triển của các dòng vi khuẩn có hại như *Vibrio*.

Bảng 2: Trọng lượng của tôm

Nghiệm thức	TB Trọng lượng thả (g/con)	TB Trọng lượng thu (g/con)	Tăng trọng (g)	DWG (g/ngày)	SGR (%/ngày)
ĐC	0,93	4,94	4,02	0,07	0,81 ^a
B2	0,96	5,30	4,35	0,07	0,82 ^a
B41	0,92	7,05	6,13	0,10	0,87 ^b

Các giá trị trên cùng một hàng có chữ cái khác nhau thì khác biệt rất có ý nghĩa thống kê (p<0,01)

Bảng 3: Tỷ lệ sống của tôm

Nghiệm thức	ĐC	B2	B41
Tỷ lệ sống (%)	65,3±3,1 ^a	70,0±5,3 ^b	86,7±3,1 ^c

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

4.1 Kết luận

Hầu hết các chỉ tiêu chất lượng nước được cải thiện rõ rệt ở tất cả các nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn so với không bổ sung vi khuẩn. Cả 2 chủng vi khuẩn bổ sung đều có tác dụng tốt đến chất lượng nước và tôm nuôi; nhưng hiệu quả xử lý của chủng B41 tốt hơn so với B2 dựa trên các chỉ tiêu chất lượng nước, tỷ lệ sống và tốc độ tăng trưởng. Mật độ tổng vi khuẩn và *Vibrio* trong nước ở nghiệm thức có bổ sung cả 2 chủng vi khuẩn *Bacillus* đã thực nghiệm luôn thấp hơn nghiệm thức đối chứng.

4.2 Đề xuất

Cần có những nghiên cứu tiếp theo về bổ sung vào bể nuôi tôm những mật độ vi khuẩn khác nhau, nuôi tôm ở nhiều mật độ khác nhau và những nghiên cứu ở ngoài thực tế, có bổ sung các chủng vi khuẩn hữu ích để tìm ra chủng có khả năng xử lý hiệu quả nhất chất lượng ao nuôi. Bên cạnh đó, có nhiều nghiên cứu hơn nữa về định danh các chủng vi khuẩn hữu ích có trong tự nhiên.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. APHA, AWWA, WEF, 1995. standard method for the examination of water and wastewater (19th edition). washington dc, american public health association (apha).
2. Anderson, I., 1993. The veterinary approach to marine prawns. In: Aquaculture for veterinarians: fish husbandry and medicine (Editor Brown L.): 271-296.
3. Boyd, C.E., J.A. Hargreave and J.W. Clay, 2002. Codes of Practice and Conduct of Marine Shrimp Aquaculture. Report prepared under the World Bank, NACA, WWF and FAO Consortium Programme on shrimp farming and the environment. Published by the Consortium. World Bank, Washington, DC, USA, 31pp.
4. Briggs, M.R.P. and S.J. Funge-Smith, 1994. A nutrient budget of some intensive marine ponds in Thailand. Aquacult. Fish. Manage, 24: 789-811.
5. Chanratchakool, P., 1995. White patch disease of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). AAHRI Newsletter. 4, 3.

6. Ferrari, E., Jarnagin, A.S., Schmidt, B.F., 1993. Commercial production of extracellular enzymes. In: Sonenshein, A.L., Hoch, J.A., Losick, R. (Eds), *Bacillus subtilis* and Other Gram-positive bacteria. American Society for Microbiology, Washington, DC, pp. 917-937.
7. Moriarty, D. J. W., 1999. Disease control in shrimp Aquaculture with probiotic bacteria. Biomangement system Pty. Ltd., 315 Main road, Wellington point. Queensland 4160 Australia and Department of Chemical Engineering. The University of Queensland. Qld. 4072 Australia.
8. Moriarty, D.J.W., 1998. Control of luminous *Vibrio* species in Penaeid aquaculture ponds. *Aquaculture*, 164: 351-358.
9. Nguyễn Lâm Dũng, 1983. Thực tập vi sinh vật học. Nhà xuất bản Đại học và Trung học chuyên nghiệp Hà Nội, 368 trang.
10. Nguyễn Thanh Long và Võ Thành Toàn, 2008. Đánh giá mức độ tích lũy đạm, lân trong mô hình nuôi tôm sú (*Penaeus monodon*) thâm canh. Tạp chí Khoa học. Đại học Cần Thơ, 1: 44-52.
11. Phạm Thị Tuyết Ngân, 2012. Luận án tiến sĩ, chuyên ngành nuôi trồng thủy sản, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ, 159 trang.
12. Phạm Thị Tuyết Ngân, Vũ Ngọc Út, Trương Quốc Phú và Nguyễn Hữu Hiệp, 2011. Ảnh hưởng của vi khuẩn hữu ích lên các yếu tố môi trường và tôm sú (*P. monodon*) nuôi trong bể. TCKH, ĐHCT số: 20B, trang 59-68.
13. Vũ Ngọc Út, 2011. Ứng dụng chế phẩm sinh học (Probiotics) trong nuôi trồng thủy sản. Một số nguyên lý và kỹ thuật ứng dụng trong nuôi trồng thủy sản, quyển 1. Nhà xuất bản Nông nghiệp: 44-46.
14. Whestone, J.M., G.D. Treece and A.D. Stokes, 2002. Opportunities and constrains in marine shrimp farming. Southern Regional Aquaculture Center (SRAC) publication No. 2600 USDA.