



**SO SÁNH KHẢ NĂNG CẢI THIỆN CHẤT LƯỢNG NƯỚC VÀ ỨC CHẾ *Vibrio* CỦA XẠ KHUẨN *Streptomyces parvulus* VÀ VI KHUẨN *Bacillus subtilis* CHỌN LỌC TRONG HỆ THỐNG NUÔI TÔM THẺ CHÂN TRẮNG (*Litopenaeus vannamei*)**

Phạm Thị Tuyết Ngân, Hồ Diễm Thơ và Trần Sương Ngọc

Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

**ABSTRACT**

The study was performed to evaluate effect of supplementing *B. subtilis* and *S. parvulus* in culture of the white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*). There were four treatments in triplicates including 1) the control (without supplementing bacteria); 2) supplementing *Bacillus subtilis*; 3) *Streptomyces parvulus* and 4) mixture of two these bacteria. All bacteria were added at concentration of 10<sup>5</sup> CFU/mL (5 days/time), shrimp with mean initial weight of 0.036 g were stocked in the 120 L-tanks at density of 0.5 ind./L. After 60 days, water quality parameters (COD, TAN, NH<sub>3</sub> and NO<sub>2</sub>) indicated that in the supplemental probiotic treatments had better decomposition of organic substances and lower *Vibrio* density than in the control treatments. Growth rate of shrimp in terms of daily weight gain and daily length gain were highest in treatment 3 (0.118±0.011 g/day) and 0.152±0.011 cm/day), and lowest in the control (0.076±0.008g/day) and 0.127±0.012 cm/day). Survival rate of shrimps were in the range of 44.7-64.7% in which the control treatment had a significantly lower value compared with other treatments. These results indicated that supplementation of these bacteria in the culture medium could promote a better decomposition of organic matter, help improve survival and growth rate of shrimp.

**TÓM TẮT**

Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của việc bổ sung vi khuẩn *Bacillus subtilis* và *Streptomyces parvulus* trong nuôi tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*). Thí nghiệm gồm 4 nghiệm thức được lặp lại 3 lần: 1) đối chứng (không bổ sung vi khuẩn); 2) bổ sung *B. subtilis*; 3) *S. parvulus* và 4) hỗn hợp 2 loài vi khuẩn trên với mật độ 10<sup>5</sup> CFU/mL (5 ngày/lần), tôm thí nghiệm có khối lượng trung bình 0,036 g được nuôi trong bể 120 L với mật độ 0,5 con/L. Sau 60 ngày nuôi, các thông số chất lượng nước (COD, TAN, NH<sub>3</sub> và NO<sub>2</sub>) cho thấy ở các nghiệm thức bổ sung probiotic trong môi trường nuôi đã thúc đẩy phân hủy vật chất hữu cơ tốt hơn và mật độ *Vibrio* thấp hơn so với nghiệm thức đối chứng. Tốc độ tăng trưởng của tôm gồm tăng trưởng trọng lượng tuyệt đối và tăng trưởng chiều dài tuyệt đối giữa các nghiệm thức cao nhất là nghiệm thức 3 (0,118±0,011 g/ngày) và 0,152±0,011 cm/ngày, và thấp nhất ở đối chứng (0,076±0,008g/ngày) và 0,127±0,012 cm/ngày. Tỷ lệ sống của tôm dao động trong khoảng 44,7-64,7%, trong đó nghiệm thức đối chứng thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức khác. Kết quả cho thấy bổ sung 2 loài vi khuẩn trên giúp tiến trình phân hủy vật chất hữu cơ nhanh hơn và ức chế sự phát triển *Vibrio* trong môi trường nuôi đồng thời làm tăng tỷ lệ sống và tăng trưởng của tôm.

**Thông tin chung:**

Ngày nhận: 27/04/2016

Ngày chấp nhận: 23/12/2016

**Title:**

Comparing the ability on improving water quality and inhibiting *Vibrio* of selected *Bacillus subtilis* and *Streptomyces parvulus* in white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

**Từ khóa:**

Tôm thẻ chân trắng, *Bacillus subtilis*, *Streptomyces parvulus*, chất lượng nước

**Keywords:**

White leg shrimp, *Litopenaeus vannamei*, *Streptomyces parvulus*, *Bacillus subtilis*, water quality

Trích dẫn: Phạm Thị Tuyết Ngân, Hồ Diễm Thơ và Trần Sương Ngọc, 2016. So sánh khả năng cải thiện chất lượng nước và ức chế *Vibrio* của xạ khuẩn *Streptomyces parvulus* và vi khuẩn *Bacillus subtilis* chọn lọc trong hệ thống nuôi tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 47b: 87-95.

## 1 GIỚI THIỆU

Thủy sản là ngành sản xuất thực phẩm có tốc độ phát triển nhanh nhất trên thế giới với các đối tượng nuôi mang lại hiệu quả kinh tế, trong đó có tôm thẻ chân trắng. Tốc độ phát triển ngành nuôi tôm công nghiệp đã dẫn đến tình trạng ô nhiễm môi trường và dịch bệnh. Để giải quyết vấn đề này, các chất hóa học và kháng sinh đã được thường xuyên sử dụng trong hoạt động nuôi tôm dẫn đến kháng thuốc và tồn dư kháng sinh tôm thu hoạch ảnh hưởng đến an toàn thực phẩm và xuất khẩu (Gomez-Gil *et al.*, 2000). Hiện nay, vi sinh vật hữu ích được sử dụng phổ biến là một giải pháp tích cực, có nhiều triển vọng để quản lý vi sinh vật trong ao nuôi, hạn chế sử dụng thuốc kháng sinh và giảm lượng chất thải hữu cơ thải ra môi trường góp phần phát triển nghề nuôi thủy sản bền vững. Nghiên cứu gần đây đã phân lập, định danh và đánh giá được hiệu quả xử lý nước của một số dòng vi khuẩn *Bacillus* có nguồn gốc từ ao nuôi tôm thâm canh tại tỉnh Sóc Trăng (Phạm Thị Tuyết Ngân và Phạm Hữu Hiệp, 2010). Bên cạnh đó, nghiên cứu khác nhận thấy xạ khuẩn *Streptomyces* được bổ sung vào bể nuôi tôm sú (*P. monodon*) hoặc cá cảnh (*Xiphophorus maculatus*) đã giúp cải thiện chất lượng nước, tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của tôm, cá nuôi tốt hơn so với bể đối chứng (Das, *et al.*, 2006; Selvakumar, *et al.*, 2013). Tuy nhiên, hiện nay vẫn chưa có nhiều nghiên cứu về sự tồn tại cũng như hiệu quả của dòng *Streptomyces* và *Bacillus* đến sự kháng *Vibrio* gây bệnh cho tôm nuôi. Vì vậy, đề tài: “So sánh khả năng cải thiện chất lượng nước và ức chế *Vibrio* của xạ khuẩn *Streptomyces* và vi khuẩn *Bacillus* chọn lọc trong hệ thống nuôi tôm thẻ chân trắng (*L. vannamei*)” được thực hiện với mục đích cải thiện chất lượng nước, tăng cường năng suất và tỷ lệ sống của tôm thẻ chân trắng.

## 2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thời gian thực hiện từ tháng 8/2015 đến tháng 12/2015, tại Phòng thí nghiệm vi sinh, Bộ môn Thủy sinh học ứng dụng, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ.

### 2.2 Vật liệu nghiên cứu

Vi khuẩn *Bacillus* sp. phân lập từ ao nuôi tôm sú thâm canh ở huyện Vĩnh Châu, tỉnh Sóc Trăng (Phạm Thị Tuyết Ngân, 2012). Chủng xạ khuẩn *Streptomyces parvulus* được phân lập từ cây long huyết (Khieu Thi Nhan, 2015).

Tôm thẻ chân trắng (PL15) được mua từ trại giống tại Cần Thơ. Tôm được đo chiều dài và cân trọng lượng trước khi bố trí thí nghiệm

$0,036 \pm 0,014$  g/con và  $1,80 \pm 0,20$  cm/con. Tôm được xử lý bằng formol ở nồng độ 30 mg/L khoảng 15-30 phút trước khi bố trí. Bể được sục khí liên tục và độ mặn 15 mg/L.

### 2.3 Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm gồm 4 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần và được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên. Nghiệm thức 1 (Đối chứng: ĐC): Không bổ sung vi khuẩn, nghiệm thức 2 (NT2): Bổ sung vi khuẩn *B. subtilis*, nghiệm thức 3 (NT3): Bổ sung xạ khuẩn *S. parvulus*, nghiệm thức 4 (NT4): Hỗn hợp *B. subtilis* và *S. parvulus* (HH) (tỷ lệ 1:1). Mật độ sau khi bổ sung vào môi trường nước nuôi đạt  $10^5$  CFU/mL và chu kỳ bổ sung vi khuẩn vào bể là 5 ngày/lần. Thí nghiệm được bố trí trong 12 bể composite 120 lít đã được sát trùng bằng chlorine trước khi bố trí thí nghiệm. Mật độ thả tôm 0,5 con/lít. Tôm được cho ăn 4 lần/ngày bằng thức ăn công nghiệp GrowFeed cho tôm giai đoạn Postlarvae vào lúc 06, 11, 16 và 21 giờ, liều lượng cho ăn theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Thời gian thí nghiệm là 60 ngày.

### 2.4 Thu thập số liệu

Trong suốt quá trình thí nghiệm, pH và nhiệt độ được kiểm tra 2 lần/ngày (8 giờ và 14 giờ), các chỉ tiêu chất lượng nước (DO, COD, TAN,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{NO}_2$ ), và mật độ vi khuẩn được theo dõi định kỳ 5 ngày/lần. Mẫu vi khuẩn được thu trước khi bổ sung vi khuẩn. Tăng trưởng và tỷ lệ sống của tôm được xác định khi kết thúc thí nghiệm.

### Phương pháp thu và phân tích mẫu nước:

Mẫu nước được thu cách mặt nước khoảng 20-30 cm. Tất cả các chỉ tiêu môi trường được phân tích theo phương pháp chuẩn (APHA, 1995). Hàm lượng  $\text{NH}_3$  được tính dựa vào hàm lượng  $\text{NH}_4^+$  và bản phân trầm  $\text{NH}_3$  theo pH và nhiệt độ.

### Phương pháp xác định mật độ vi khuẩn:

Tổng vi khuẩn và *Vibrio* theo phương pháp tán mẫu trên đĩa thạch TCBS của Baumann *et al.* (1980).

Tỉ lệ sống (%) = số cá thể cuối/số cá thể đầu \*100.

Tăng trưởng tuyệt đối về khối lượng: DWG (g/ngày) =  $(W_t - W_0)/t$ .

Tăng trưởng tương đối về khối lượng: SGR(%/ngày) =  $((\ln W_t - \ln W_0)/(t - t_0)) * 100$  (%/ngày)

Tăng trưởng tuyệt đối về chiều dài: DLG (cm/ngày) =  $(L_t - L_0)/t$ .

Tăng trưởng tương đối về chiều dài: (%/ngày) =  $((\ln L_t - \ln L_0)/(t - t_0)) * 100$  (%/ngày)

Trong đó:  $L_0$ : Chiều dài tôm ở thời điểm ban đầu,  $L_t$ : Chiều dài tôm ở thời điểm t,  $W_0$ : Khối lượng tôm ban đầu,  $W_t$ : Khối lượng tôm ở thời điểm t, t: Thời gian nuôi.

**2.5 Phương pháp phân tích số liệu**

Số liệu được tính giá trị trung bình và độ lệch chuẩn bằng chương trình Excel và phân tích thống kê ANOVA một nhân tố sử dụng phép thử Duncan bằng chương trình SPSS 16.0 ở mức ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

**3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**3.1 Biến động các yếu tố môi trường và vi sinh trong bể nuôi**

**3.1.1 Nhiệt độ, pH và độ mặn**

Nhiệt độ trong các bể nuôi dao động từ 25,9-27,6°C vào buổi sáng và 26,5-29,9°C vào buổi chiều. Theo Vũ Thế Trụ (2003), nhiệt độ thích hợp cho sự phát triển của tôm thẻ chân trắng nằm trong khoảng 23-30°C. Trong quá trình thí nghiệm, pH ở các nghiệm thức biến đổi không đáng kể qua các lần thu mẫu từ 7,5-8,2. Briggs *et al.* (1994) cho rằng nguồn nước có pH từ 7,5-8,5 là điều kiện tối ưu cho vi khuẩn nitrate hóa tăng trưởng. Độ mặn cũng được duy trì 15-17‰. Như vậy, các yếu tố nhiệt độ, pH và độ mặn trong quá trình thí nghiệm nằm trong khoảng thích hợp cho sự phát triển và tăng trưởng của tôm.

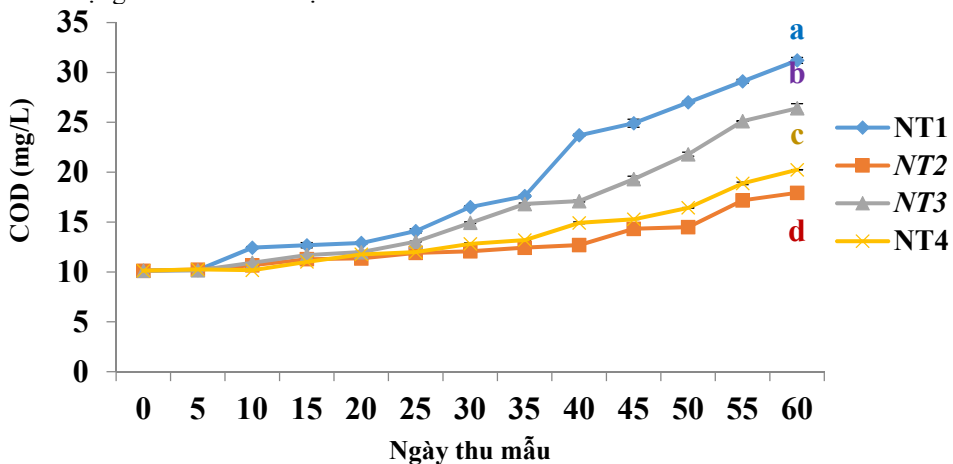
**3.1.2 Oxy hòa tan DO (Dissolved oxygen)**

Hàm lượng oxy hòa tan biến động từ 5,60- 7,46 mg/L và có xu hướng giảm dần vào cuối thí nghiệm. Hàm lượng DO ở NT2 đạt cao nhất

(6,32±0,08 mg/L) và thấp nhất ở NT1, không bổ sung vi khuẩn (5,70±0,10 mg/L). Theo Whestone *et al.* (2002), oxy hòa tan trong nước lý tưởng cho tôm là trên 5 mg/L và không vượt quá 15 mg/L. Gần về cuối thí nghiệm quá trình phân hủy vật chất hữu cơ diễn ra mạnh nên đã sử dụng nhiều lượng oxy hòa tan hơn, làm cho lượng oxy của NT1 thấp hơn nghiệm thức bổ sung vi khuẩn *B. subtilis* và *S. parvulus*. Như vậy, hàm lượng oxy hòa tan trong thí nghiệm là phù hợp với sự phát triển của tôm.

**3.1.3 Tiêu hao oxy hóa học (COD)**

Hình 1 cho thấy hàm lượng COD có xu hướng ngược với hàm lượng DO là tăng dần theo thời gian nuôi. Hàm lượng COD ở NT1 đạt cao nhất (31,2±0,3 mg/L) khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) so với các nghiệm thức còn lại (NT2, NT3 và NT4) với giá trị lần lượt là 25,9±4,1 mg/L, 20,2±0,1 mg/L và 17,9±0,1 mg/L. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Phạm Thị Tuyết Ngân (2012) khi bố trí tôm sú với mật độ 30 con/m<sup>2</sup> trong bể 500 L bổ sung vi khuẩn B67, B41 (10<sup>6</sup> CFU/mL) thì hàm lượng COD trong nghiệm thức B41 (12,8±4,0 mg/L) và B67 (12,9±4,4 mg/L) thấp hơn nhiều so với đối chứng (14,0±4,0 mg/L). Theo Boyd (1998), COD là một chỉ số đo mức độ giàu hữu cơ của nước ao. COD của nước ao có thể biến động từ 10-20 mg/L, thông thường thì dao động 40-80 mg/L và COD thích hợp nuôi thủy sản trong khoảng 15-20 mg/L. Như vậy, việc bổ sung vi khuẩn *B. subtilis*, *S. Parvulus* và hỗn hợp vào bể nuôi tôm đã giúp giảm ô nhiễm hữu cơ so với bể đối chứng, tốt nhất là bổ sung vi khuẩn *B. Subtilis*.



**Hình 1: Sự biến động COD trong quá trình thí nghiệm**

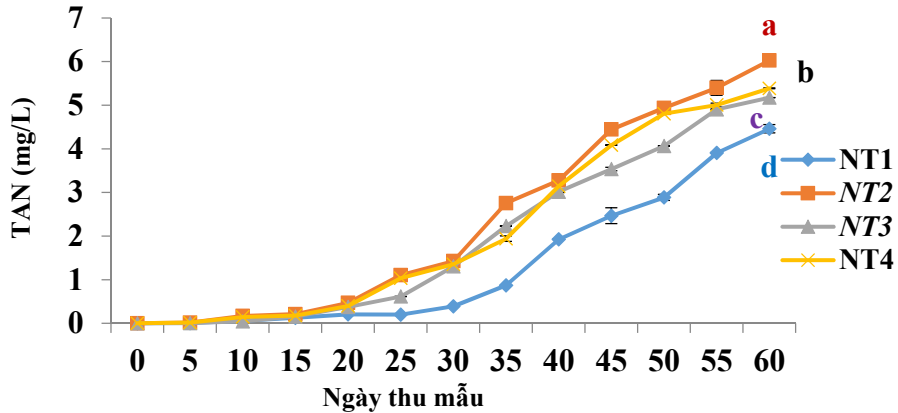
**3.1.4 Tổng đạm amon TAN (Total Ammonia Nitrogen)**

Hàm lượng TAN trong thí nghiệm dao động từ 0,004-6,12 mg/L và có xu hướng tăng dần đến

cuối đợt nuôi (Hình 2). Hàm lượng TAN cao nhất ở NT2 (6,03±0,10 mg/L) và thấp nhất ở nghiệm thức ĐC (4,46±0,10 mg/L). Theo Huỳnh Hữu Điền và *ctv.* (2015), sau 40 ngày nuôi TAN ở nghiệm

thức B67, B41 và ĐC lần lượt là (7,80±1,56) (7,70±1,873 mg/L), (4,53±0,259 mg/L) là rất cao. 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), TAN trong môi trường ao nuôi phải nhỏ hơn hoặc bằng 3 mg/L. Nguyên nhân có thể là do vi khuẩn *Bacillus* sp. chuyển hóa đạm hữu cơ nên tạo ra nhiều NH<sub>4</sub><sup>+</sup> và NH<sub>3</sub>. Như vậy, vi khuẩn *B. subtilis* đã tham gia vào

quá trình phân hủy vật chất hữu cơ trong bể nuôi tốt hơn. Hàm lượng TAN trong NT3 thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với các NT2 và NT4. Tuy nhiên, NT3 cũng cao hơn có ý nghĩa đối với NT1. Điều này chứng tỏ *S. parvulus* mặc dù có hàm lượng TAN thấp hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức hỗn hợp và *B. subtilis*, nhưng *S. parvulus* vẫn tham gia tốt vào quá trình phân hủy các vật chất hữu cơ làm tăng cao hàm lượng TAN so với đối chứng.

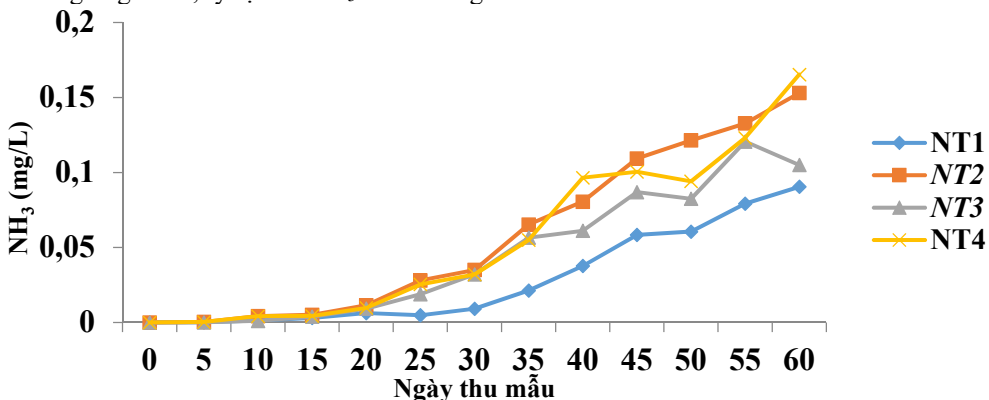


Hình 2: Sự biến động TAN trong quá trình thí nghiệm

3.1.5 Hàm lượng NH<sub>3</sub>

Trong thí nghiệm này NH<sub>3</sub> dao động từ 0-0,198 mg/L (Hình 3). Hàm lượng NH<sub>3</sub> cao nhất ở NT3 (0,198 mg/l) và thấp nhất ở nghiệm thức ĐC (0,067 mg/L). NH<sub>3</sub> trong các thùy vực được cung cấp từ quá trình phân hủy các protein, xác bã động vật phù du, sản phẩm bài tiết của động vật hay từ phân bón hữu cơ, vô cơ. Do đó, nhờ hoạt động của các vi khuẩn mà hàm lượng này trong các nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn có xu hướng tăng cao hơn so với đối chứng. Ngoài ra, tỷ lệ của NH<sub>3</sub>/TAN trong

nước phụ thuộc vào pH và nhiệt độ. Khi nhiệt độ và pH của nước tăng thì hàm lượng NH<sub>3</sub> sẽ gia tăng và ngược lại. Theo Cold and Armstrong (1981), pH > 7 không ảnh hưởng đến tôm, tuy nhiên làm tăng NH<sub>3</sub> và NH<sub>3</sub> được xem như có hại cho tôm. Chanratchakool (1995) cho biết NH<sub>3</sub> dễ dàng bay hơi ra môi trường ngoài nhờ sự khuấy mạnh và chuyển hóa thành NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Do đó, hàm lượng NH<sub>3</sub> không ổn định được giải thích là do bể nuôi tôm được sục khí mạnh.



Hình 3: Sự biến động NH<sub>3</sub> trong quá trình thí nghiệm

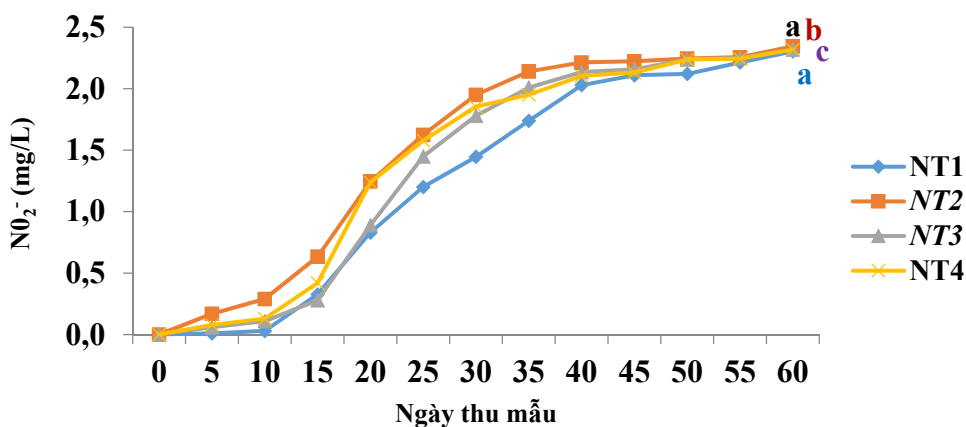
3.1.6 Nitrite (NO<sub>2</sub>)

Hàm lượng NO<sub>2</sub><sup>-</sup> ở các nghiệm thức biến động từ 0,001- 2,35 mg/L và khác biệt có ý nghĩa (p<0,05) giữa các nghiệm thức (Hình 4). Hàm lượng NO<sub>2</sub><sup>-</sup> cao nhất ở NT1 (2,34±0,03 mg/L) và

thấp nhất ở nghiệm thức ĐC (2,30±0,03 mg/L). Theo Phạm Thị Tuyết Ngân (2012), trong nuôi tôm nếu bổ sung vi khuẩn *Bacillus* sẽ kích thích nhóm vi khuẩn nitrate hóa (*Nitrosomonas* và *Nitrobacter*) phát triển tự nhiên do *Bacillus* tạo ra sản phẩm

$\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$  làm nguồn dinh dưỡng cho *Nitrosomonas* và  $\text{NO}_2^-$  là nguồn dinh dưỡng cho nhóm *Nitrobacter*. Do nhóm *Nitrosomonas* phát triển trong bể và chuyển hóa thành  $\text{NO}_2^-$ , nên hàm lượng  $\text{NO}_2^-$  ở các bể có bổ sung vi khuẩn cao hơn so với đối chứng. Theo Whetston *et al.* (2002) nồng độ  $\text{NO}_2^-$  trong ao nuôi tôm nhỏ hơn 0,23 mg/L được xem là an toàn. Nhìn chung, hàm lượng  $\text{NO}_2^-$  ở tất cả các nghiệm thức cao hơn mức thích hợp, tuy nhiên tôm được nuôi trong môi trường nước lợ có hàm lượng  $\text{Ca}^{2+}$  và  $\text{Cl}^-$  và sục khí có khuynh hướng làm giảm tính độc của  $\text{NO}_2^-$  (Boyd, 1990). Trên thực tế, nitrite có tác động mạnh đến

hemoglobin trong máu, oxy hóa Fe của hemoglobin, kết quả hemoglobin không thể kết hợp với oxy, gây ra hiện tượng bệnh máu nâu. Đối với giáp xác, máu có chứa hemoglobin có Cu trong thành phần cấu tạo, thay vì Fe như trên cá, do đó nồng độ nitrite cao không ảnh hưởng nhiều đến tôm. Mặt khác, nitrite đi vào máu qua mang, mức độ hấp thụ nitrit phụ thuộc vào tỉ lệ nitrite: chloride trong môi trường nước (Schwedler *et al.*, 1980) và khả năng chịu đựng nitrite có liên quan đến hàm lượng chloride trong môi trường. Do đó, ở các thực vật nước lợ có hàm lượng  $\text{Ca}^{2+}$  và  $\text{Cl}^-$  có khuynh hướng làm giảm tính độc của nitrate.



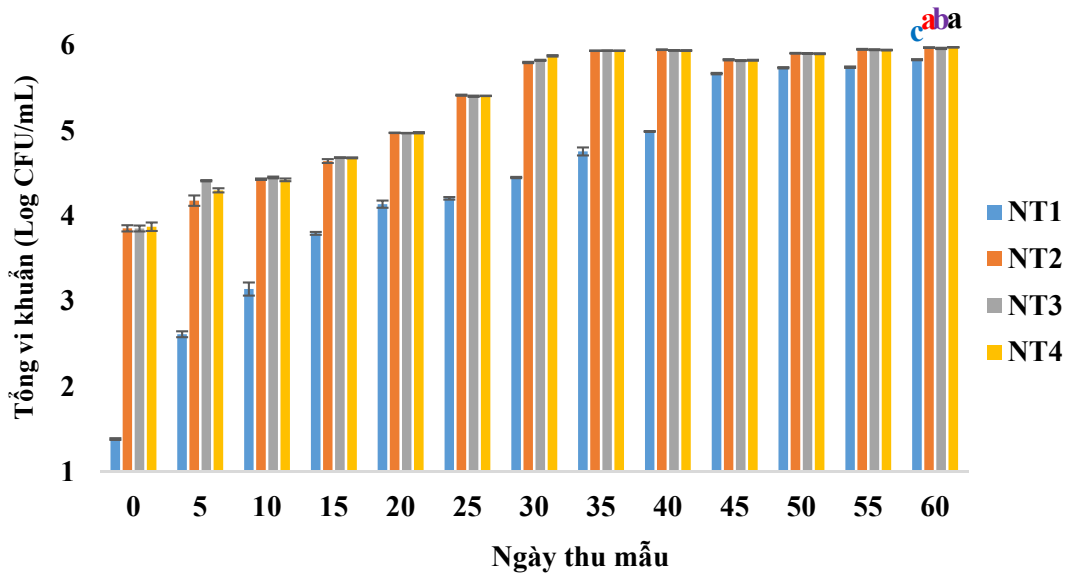
Hình 4: Sự biến động  $\text{NO}_2^-$  trong quá trình thí nghiệm

### 3.1.7 Biến động mật độ tổng vi khuẩn

Mật độ tổng vi khuẩn tăng cao trong suốt quá trình làm thí nghiệm, thấp nhất ở NT1 vào đầu thí nghiệm  $24,33 \pm 0,57$  CFU/mL, và khác biệt có ý nghĩa với các nghiệm thức còn lại. Vào cuối thí nghiệm, tổng vi khuẩn ở NT4 là cao nhất ( $9,45 \times 10^5 \pm 4,1 \times 10^3$  CFU/mL), khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ) với NT2 ( $9,36 \times 10^5 \pm 7,5 \times 10^3$  CFU/mL) nhưng khác biệt với NT3 ( $9,17 \times 10^5 \pm 1,4 \times 10^4$  CFU/mL) và NT1 ( $6,76 \times 10^5 \pm 1 \times 10^4$  CFU/mL). Kết quả này tương ứng với kết quả của Aftabuddin *et al.* (2013) khi dùng xạ khuẩn *Streptomyces fradiae* và vi khuẩn *Bacillus megaterium* như một loại chế phẩm vi sinh trong nuôi tôm sú, kết quả chỉ ra rằng sau 60 ngày nuôi,

tổng mật số vi khuẩn hiếu khí trong nước là  $10,33 \pm 0,5 \times 10^4$  thấp hơn có ý nghĩa so với các nghiệm thức được bổ sung vi khuẩn. Mật độ tổng vi khuẩn ở NT1 thấp hơn các nghiệm thức khác vào đầu thí nghiệm là do không có sự bổ sung vi khuẩn theo chu kỳ 5 ngày/lần. Sự tăng lên về tổng vi khuẩn ở nghiệm thức đối chứng được giải thích là do sự tích lũy các vật chất hữu cơ làm tăng nhanh số lượng các vi khuẩn sống trong môi trường nuôi, và đồng thời là sự tăng dần mật độ của các vi khuẩn gây bệnh theo thời gian nuôi. Theo Anderson (1993), tổng vi khuẩn trong nước sạch thường nhỏ hơn  $10^3$  CFU/mL và lớn hơn  $10^7$  CFU/mL trong nước bị ô nhiễm.



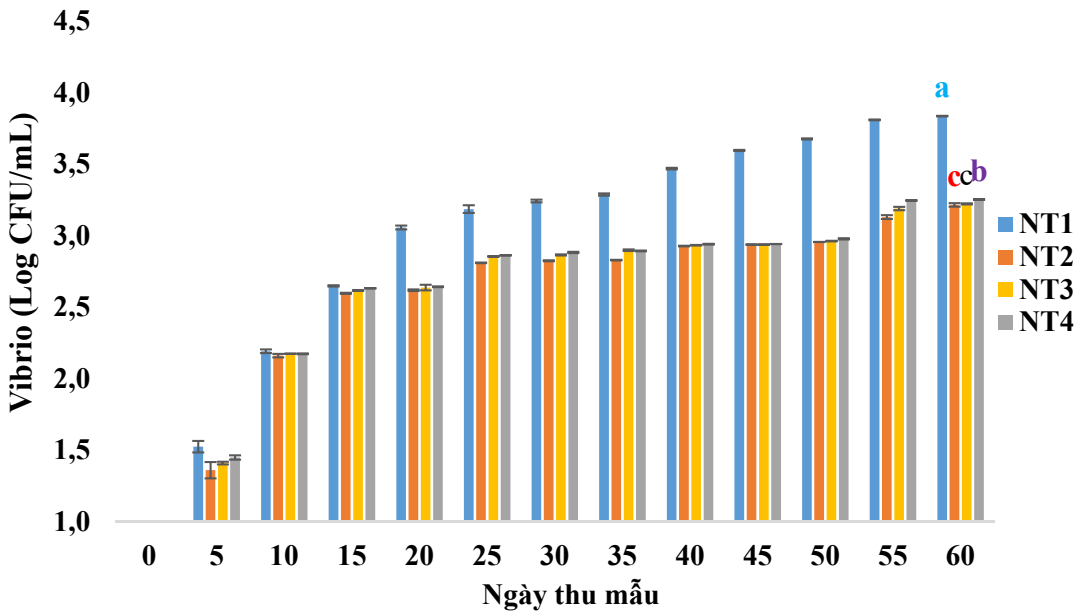


Hình 5: Biến động mật độ tổng vi khuẩn trong thời gian thí nghiệm

3.1.8 Biến động mật độ vi khuẩn *Vibrio*

Trong thí nghiệm này, mật độ *Vibrio* ở các nghiệm thức dao động từ  $1-4,2 \times 10^3$  CFU/mL (Hình 6). Nghiệm thức ĐC có mật độ *Vibrio* cao nhất ( $4,27 \times 10^3 \pm 404$  CFU/mL) so với NT2, NT3 và NT1 lần lượt là  $1,38 \times 10^2 \pm 12,5$  CFU/mL,  $2,26 \times 10^2 \pm 42,6$  CFU/mL và  $9,6 \times 10^2 \pm 26,5$  CFU/mL. Theo Aftabuddin *et al.* (2013), mật độ vi khuẩn *Vibrio* nghiệm thức đối chứng cao hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn *Bacillus* và xạ khuẩn *Streptomyces*. Nguyên nhân tăng cao ở nghiệm thức ĐC là do sự tích lũy chất

thải của tôm và thức ăn dư thừa 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 *B. subtilis* và *S. parvulus* định kì trong suốt quá trình thí nghiệm đã 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. Thông thường mật độ *Vibrio* trong bể hoặc trong ao nuôi tôm không thay nước có thể đạt  $>10^5$  CFU/mL.



Hình 6: Biến động mật độ *Vibrio* trong thời gian thí nghiệm

3.1.9 Tốc độ tăng trưởng của tôm sau 60 ngày nuôi

Tăng trưởng về khối lượng

Với khối lượng tôm ban đầu trung bình là 0,036 g, sau 60 ngày nuôi khối lượng tôm đạt trung bình 4,60-7,11 g, tương ứng với tốc độ tăng trưởng tuyệt

đối (DWG) là 0,076-0,111 g/ngày và tốc độ tăng trưởng tương đối (SGR) là 0,16-0,18 %/ngày (Bảng 1). Kết quả thống kê cho thấy nghiệm thức đối chứng không bổ sung vi khuẩn vào bể nuôi tôm có khối lượng và tốc độ tăng trưởng thấp nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) so với các nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn vào bể nuôi.

**Bảng 1: Tăng trưởng về khối lượng của tôm sau 60 ngày nuôi**

Nghiệm thức	Khối lượng đầu (g)	Khối lượng cuối (g)	DWG (g/ngày)	SGR (%/ngày)
NT1	0,036±0,014	4,60±0,15 <sup>d</sup>	0,076±0,008 <sup>d</sup>	8,09±0,17 <sup>d</sup>
NT2	0,036±0,014	5,51±0,37 <sup>c</sup>	0,091±0,013 <sup>c</sup>	8,38±0,23 <sup>c</sup>
NT3	0,036±0,014	7,11±0,28 <sup>a</sup>	0,118±0,011 <sup>a</sup>	8,82±0,15 <sup>a</sup>
NT4	0,036±0,014	6,70±0,11 <sup>b</sup>	0,111±0,008 <sup>b</sup>	8,72±0,12 <sup>b</sup>

Các giá trị trên cùng một cột có chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Ngoài ra, ở NT3 thì tôm có tốc độ tăng trưởng nhanh hơn đáng kể ( $p < 0,05$ ) so với nghiệm thức bổ sung vi khuẩn (NT2) và nghiệm thức bổ sung hỗn hợp vi khuẩn và xạ khuẩn (NT4).

Tăng trưởng về chiều dài

Bảng 2 cho thấy tôm có chiều dài ban đầu trung

binh là 1,80 cm và khi kết thúc thí nghiệm có chiều dài trung bình ở các nghiệm thức là 9,44-10,90 cm, tốc độ tăng trưởng chiều dài tuyệt đối (DLG) đạt 0,127-0,152 cm/ngày, tốc độ tăng trưởng tương đối đạt 2,76-3,01%/ngày. Qua phân tích thống kê cho thấy chiều dài và DLG ở nghiệm thức đối chứng thấp hơn có ý nghĩa với các nghiệm thức còn lại.

**Bảng 2: Tăng trưởng về chiều dài của tôm sau 60 ngày nuôi**

Nghiệm thức	Chiều dài đầu (cm)	Chiều dài cuối (cm)	DLG (cm/ngày)	SGR <sub>L</sub> (%/ngày)
NT1	1,80±0,20	9,44±0,71 <sup>d</sup>	0,127±0,012 <sup>d</sup>	2,76±0,13 <sup>d</sup>
NT2	1,80±0,20	9,75±0,53 <sup>c</sup>	0,133±0,009 <sup>c</sup>	2,81±0,10 <sup>c</sup>
NT3	1,80±0,20	10,94±0,65 <sup>a</sup>	0,152±0,011 <sup>a</sup>	3,01±0,10 <sup>a</sup>
NT4	1,80±0,20	10,20±0,41 <sup>b</sup>	0,140±0,007 <sup>b</sup>	2,90±0,07 <sup>b</sup>

Các giá trị trên cùng một cột có chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Huỳnh Hữu Điền (2015) cho biết khi nuôi tôm thẻ bằng các dòng vi khuẩn có ích thì DWG ở B41 (*Bacillus amyloliquefaciens*) là cao nhất (0,098 g/ngày), khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức ĐC (0,092 g/ngày) và nghiệm thức B67 (0,093g/ngày). Hơn nữa, DLG của B41 là (0,091 cm/ngày), khác biệt có ý nghĩa với nghiệm thức ĐC (0,091 cm/ngày) và không có ý nghĩa thống kê với B67 (0,095 cm/ngày). Việc bổ sung vi khuẩn định kỳ 5 ngày một lần giúp duy trì ổn định mật số vi khuẩn phân hủy hữu cơ và thức ăn dư thừa. Điều này đã tạo điều kiện lý tưởng cho tôm sinh trưởng và giúp hạn chế được sự phát triển của các vi khuẩn gây bệnh. Tạo điều kiện thuận lợi cho tôm sinh trưởng tốt, lột xác và tăng trưởng nhanh.

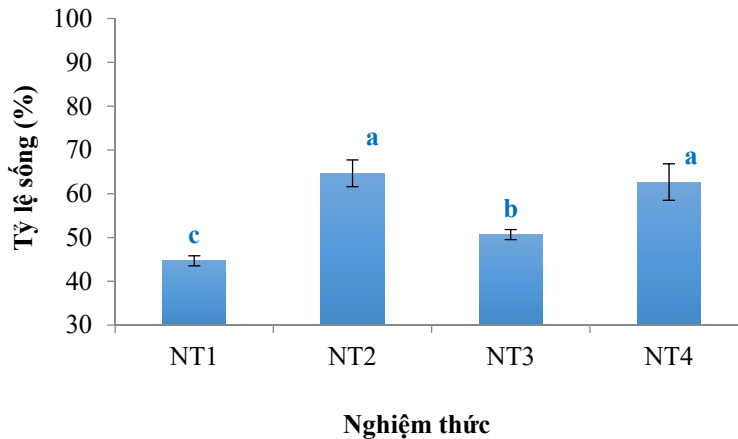
Kết quả này tương tự với các nghiên cứu trước, khi bổ sung vi khuẩn *Bacillus* và xạ khuẩn *Streptomyces* vào bể nuôi tôm sú (*P.monodon*) hoặc cá cảnh (*Xiphophorus maculates*) đã giúp cải thiện chất lượng nước trong bể nuôi, đồng thời, tốc độ tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của tôm và cá nuôi tốt hơn nhiều so với bể đối chứng

không bổ sung vi khuẩn hoặc xạ khuẩn (Das, et al., 2006; Selvakumar, et al., 2013).

3.1.10 Tỷ lệ sống của tôm sau 60 ngày nuôi

Tỉ lệ sống của tôm khi kết thúc thí nghiệm dao động từ 44,7-64,7%, trong đó nghiệm thức đối chứng có tỉ lệ sống thấp nhất và khác biệt có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ) so với các nghiệm thức bổ sung vi khuẩn. Mặc dù NT2 và NT4 không có sự khác biệt thống kê ( $p > 0,05$ ) nhưng khác nhau có ý nghĩa so với NT3 và NT1.

Huỳnh Hữu Điền và ctv. (2015) cho biết tỷ lệ sống ở nghiệm thức đối chứng là thấp nhất (40±4%), khác biệt có ý nghĩa với B67 (*Bacillus subtilis* 55,3±6,11%) và B41 (*Bacillus amyloliquefaciens* 57,3±1,15%). Nguyên nhân là do trong quá trình bắt mồi *Bacillus* đã đi vào ruột tôm thông qua thức ăn, vì tôm ăn tầng đáy và mật độ *Bacillus* trên bề mặt bể nuôi rất cao ( $10^5$ - $10^6$  CFU/mL), chính các vi khuẩn đường ruột này đã góp phần làm ổn định hệ vi khuẩn đường ruột, kích thích tiêu hóa, giảm hệ số chuyển hóa thức ăn (Phạm Thị Tuyết Ngân 2012).



Hình 7: Tỷ lệ sống của tôm thẻ chân trắng sau 60 ngày nuôi

#### 4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

##### 4.1 Kết luận

– Bổ sung vi khuẩn *Bacillus subtilis* và xạ khuẩn *Streptomyces parvulus* giúp thúc đẩy nhanh phân hủy vật chất hữu cơ trong môi trường nuôi tôm, trong đó bổ sung *B. subtilis* giúp làm giảm ô nhiễm hữu cơ trong môi trường bể nuôi tốt hơn hỗn hợp và *S. parvulus* trong được thể hiện ở hàm lượng COD, TAN NH<sub>3</sub> và NO<sub>2</sub>.

– So với nghiệm thức bổ sung vi khuẩn *B. subtilis*, nghiệm thức bổ sung *S. parvulus* và nghiệm thức bổ sung hỗn hợp cho kết quả tốt hơn trong việc ức chế mật độ vi khuẩn *Vibrio* trong môi trường nuôi.

– Bổ sung probiotic giúp cải thiện tỷ lệ sống và tăng trưởng tốt của tôm hơn so với đối chứng, trong đó bổ sung xạ khuẩn *S. parvulus* kích thích tốc độ tăng trưởng của tôm tốt nhất so với nghiệm thức hỗn hợp và nghiệm thức bổ sung vi khuẩn *B. subtilis*.

##### 4.2 Đề xuất

Nghiên cứu cần được tiếp tục thực hiện để tìm ra mật độ bổ sung xạ khuẩn *Streptomyces parvulus* thích hợp cũng như tỷ lệ phối trộn trong hỗn hợp *Bacillus subtilis* và *Streptomyces parvulus* trong ương và nuôi tôm thẻ chân trắng.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

APHA, AWWA, WEF, 1995. Standard method for the examination of water and wastewater (19th Edidtion). Washington DC, American Public Health Association (APHA).

Aftabuddin, S., Kashem, M.A., Kader, M.A., Sikder, M.N.A. and Hakim, M.A. 2013. Use of *Streptomyces fradiae* and *Bacillus megaterium* as probiotics in the experimental culture of tiger

shrimp *Penaeus monodon* (Crustacea, Penaeidae). *AACL Bioflux* 6, 253-267.

Anderson, I., 1993. The veterinary approach to marine prawns. In: *Aquaculture for veterinarians: fish husbandry and medicine* (Editor Brown L.): 271-296.

Baumann, P., L. Baumann, S. S. Bang, and M. J. Woolkalis. 1980. Reevaluation of the taxonomy of *Vibrio*, *Beneckeia*, and *Photobacterium*: abolition of the genus *Beneckeia*. *Curr. Microbiol.* 4:127 – 132.

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, 31 pp.

Briggs, M.R.P. and S.J. Funge-Smith, 1994. A nutrient budget of some intensive marine ponds in Thailand. *Aquacult. Fish. Manage.* 24: 189-811.

Cold, J.E. and D.A. Armstrong. 1981. Nitrogen toxicity to crustaceans, fish and molluscs. Page 34-47 in L.J. Allen and E.C. Kinney, editors. *Proceedings of the Bioengineering Symposium for Fish Culture*. Fish culture section of the American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, USA.

Das, S., Lyla, P.S. and Khan, S.A., 2006. Application of *Streptomyces* as a probiotic in the laboratory culture of *Penaeus monodon* (Fabricius). *The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgheh* 58, 198-204.

Gomez-Gil B., A. Roque and J.F. Turnbull, 2000. The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms. *Aquaculture*, 191: 259- 270.

Hoa, T.T.T., Hang N.T.T., Oanh D.T.H, and Phuong, N.T., 2004. Species composition and pathogenicity



- of bacteria *Vibrio* isolates from freshwater prawn nursery systems (*Macrobrachium rosenbergii*, Deman, 1879). *Journal of Science, University of Can Tho*. Pages 153-165.
- Huỳnh Hữu Điền, Phạm Thị Tuyết Ngân và Trương Quốc Phú, 2015. Ảnh hưởng của các dòng vi khuẩn *Bacillus* đến sinh trưởng, tỷ lệ sống và các yếu tố môi trường trong bể nuôi tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*). *TCKH, ĐHCT* số: 36, trang 98-106.
- Khieu Thi Nhan, 2015. Characterization and evaluation of antimicrobial and cytotoxic effects of *Streptomyces* sp. HUST012 isolated from medicinal plant *Dracaena cochinchinensis* Lour. Hanoi University of Science and Technology.
- Moriarty, D.J.W., 1998. Control of luminous *Vibrio* species in *Penaeid* aquaculture ponds. *Aquaculture*, 164: 351-358.
- Phạm Thị Tuyết Ngân và Phạm Hữu Hiệp, 2010. Định danh các vi khuẩn chuyển hóa đạm bằng phép thử sinh hóa và kỹ thuật sinh học phân tử. Đại học Cần Thơ. Kỷ yếu Hội nghị Khoa học Thủy sản lần 4: 42-54.
- 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.
- Selvakumar, D., Jyothi, P.M. and K. Dhevendaran, K. 2013. Application of *Streptomyces* as a single cell protein to the juvenile fish *Xiphophorus maculatus*. *World Journal of Fish and Marine Sciences* 5, 582-586.
- Tăng Thị Chính và Đặng Đình Kim, 2007. Sử dụng chế phẩm sinh học trong nuôi tôm cao sản, Viện Công nghệ Môi trường, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam ([http://www.nea.gov.vn/tap\\_chi/toan\\_van/11-2k6-08.htm](http://www.nea.gov.vn/tap_chi/toan_van/11-2k6-08.htm), ngày 4/6/2007).
- Vũ Thế Trụ, 2003. Cải tiến kỹ thuật nuôi tôm tại Việt Nam. Nhà xuất bản nông nghiệp thành phố Hồ Chí Minh. 205 trang.
- Whestone, J.M., G.D. Treece and A.D. Stokes, 2002. Opportunities and constraints in marine shrimp farming. Southern Regional Aquaculture Center (SRAC) publication No. 2600 USDA.