



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*)

Huỳnh Hữu Điền¹, Phạm Thị Tuyết Ngân² và Trương Quốc Phú²

¹ Sinh viên cao học K19, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

² Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 16/06/2014

Ngày chấp nhận: 26/02/2015

Title:

Effects of supplementation of *Bacillus* bacteria on the growth, survival rate of white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and water quality in cultured tanks

Từ khóa:

Bacillus amyloliquefaciens, *Bacillus subtilis*, *Vibrio*, tôm thẻ chân trắng, tỉ lệ sống, sinh trưởng

Keywords:

Bacillus amyloliquefaciens, *Bacillus subtilis*, *Vibrio*, *Litopenaeus vannamei*, survival, growth

ABSTRACT

The present study was performed to evaluate the efficiency of supplementation of *Bacillus amyloliquefaciens* (B41) and *Bacillus subtilis* (B67) on the growth performance, survival rate of white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and the water quality in cultured tanks and each treatment had three replicates and lasted. The control treatment had no addition of *Bacillus* and two other treatments were supplemented with either *B. amyloliquefaciens* or *B. subtilis* in the cultured tanks, at density of 10^5 CFU/mL. Fifty shrimps with an average initial weight of 1.01g and length of 4.88 cm were stocked in the 120-L tank at the density of 50 inds/tank. After 60 days of culture, results showed that survival rate of shrimp of providing B41 was the highest (57.3%) and was the lowest (40%) at controlled treatment. *Bacillus* densities and total bacteria were the highest and were lowest at treatment of B67 (6.58×10^4 CFU/mL; 8.0×10^5 CFU/mL) and control treatment (4.8×10^3 CFU/mL; 4.8×10^5 CFU/mL) respectively. *Vibrio* density of treatments that provided *Bacillus* bacteria were of different significance and were lower than that of control treatment. Growths on weight and length of white shrimp were the highest at treatment that provided B41 bacteria (0.098 g/day and 0.097 cm/day) and were lowest at control treatment (0.092 g/day and 0.091 cm/day). Results of the third experiment indicated that survival and growth performance of shrimp in the two supplemented *Bacillus* groups were significantly better ($P < 0.05$) than that of the control group. When comparing two *Bacillus* strains tested, supplementation of B41 to the culture tank seemed to be more effective than B67 as expressed by shrimp had higher survival and growth rate and better water quality although there was no significant difference ($p > 0.05$). Therefore, B41 can be considered a good probiotic bacteria for applying in shrimp culture to promote the growth rate of shrimp and improve water quality in the rearing tank.

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá hiệu quả của các dòng vi khuẩn *Bacillus amyloliquefaciens* (B41), *Bacillus subtilis* (B67) lên sinh trưởng, tỷ lệ sống của tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) và chất lượng nước trong các bể nuôi. Thí nghiệm gồm 3 nghiệm thức và mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần là: 1) Không bổ sung vi khuẩn (ĐC); 2) Bổ sung vi khuẩn *Bacillus subtilis* (B67); 3) Bổ sung vi khuẩn *Bacillus amyloliquefaciens* (B41). Tôm thẻ chân trắng với khối lượng và chiều dài khi bố trí là 1,01 g và 4,88 cm được nuôi trong bể nhựa có thể tích 120 L với mật độ 50 con/bể. Sau 60 ngày nuôi, tỷ lệ sống ở nghiệm thức bổ sung vi khuẩn B41 đạt cao nhất (57,3%) và khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) với ĐC (40%) nhưng không khác biệt ($p > 0,05$) với B67 (55,3%). Khối lượng và chiều dài trung bình của tôm ở nghiệm thức B41 (6,88 g và 9,8 cm) cao hơn ($p < 0,05$) so với ĐC (6,47 g và 10,33 cm) nhưng không khác biệt ($p > 0,05$) với B67 (6,56 g và 10,56 cm). Chất lượng nước ở các nghiệm thức vượt mức cho phép nhưng ở nghiệm thức có bổ sung *Bacillus* thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) so với đối chứng. Mật độ *Bacillus* và tổng vi khuẩn trong nước cao nhất ở nghiệm thức B67 ($6,58 \times 10^4$ CFU/mL; $8,0 \times 10^5$ CFU/mL) nhưng thấp nhất ở đối chứng ($4,8 \times 10^3$ CFU/mL; $4,8 \times 10^5$ CFU/mL). Mật độ *Vibrio* ở các nghiệm thức bổ sung vi khuẩn *Bacillus* thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) với đối chứng. So với dòng B67 thì dòng B41 có hiệu quả tốt hơn dựa trên các chỉ tiêu về chất lượng nước, sinh trưởng và tỉ lệ sống của tôm.

1 GIỚI THIỆU

Với sự phát triển mạnh của nghề nuôi tôm thẻ chân trắng công nghiệp ở Việt Nam và trên thế giới, dẫn đến tình trạng ô nhiễm môi trường và lạm dụng kháng sinh. Do đó, việc sản xuất và sử dụng hiệu quả probiotic là phương pháp điều trị mới để hạn chế được mầm bệnh và ô nhiễm môi trường (Rengpipat *et al.*, 2000, Panigrahi và Azad, 2007 được trích dẫn bởi Lara-Flores, 2011). Những năm gần đây, Khoa Thủy sản-Trường Đại học Cần Thơ 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). Để tiếp tục công việc này một nghiên cứu thử nghiệm sản xuất chế phẩm vi sinh đơn dòng dạng bột từ các dòng *Bacillus* (B41 & B67) ở quy mô nhỏ để có cơ sở phát triển quy mô lớn hơn nhằm phục vụ cho nhu cầu sử dụng chế phẩm vi sinh trong nuôi trồng thủy sản một cách hiệu quả đã được thực hiện.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Bố trí thí nghiệm

Tôm thẻ chân trắng được cân khối lượng và đo chiều dài 20 con mỗi bể sau đó được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên vào bể 120 L, mật độ nuôi là 50 con/bể, nước trong bể nuôi duy trì ở mức 100 lít và lắp đặt hệ thống sục khí trong quá trình nuôi. Tôm được cho ăn bằng thức ăn công nghiệp thành phần 40% độ đậm đặc, lượng thức ăn theo nhu cầu của tôm chia làm 4 lần/ngày vào 6h (30%), 11h (15%), 16h (15%) và 21h (40%). Cho một ít thức ăn vào sàng ăn, số còn lại rải đều khắp bể. Sau mỗi lần cho ăn thì kiểm tra sàng ăn để điều chỉnh lượng thức ăn phù hợp. Sau khi xác định mật độ vi khuẩn dòng B41 và B67 được bổ sung vào bể đạt 10^5 CFU/mL trước khi thả tôm một ngày. Việc bổ sung vi khuẩn vào bể nuôi được thực hiện định kỳ 5 ngày/lần. Sau 60 ngày nuôi, tất cả tôm thẻ chân trắng trong mỗi bể được thu để xác định tỷ lệ sống, chiều dài và khối lượng tôm.

2.2 Các chỉ tiêu theo dõi

Mẫu nước được thu cách mặt nước 10 cm, thu trước khi bổ sung vi khuẩn vào bể để theo dõi các chỉ tiêu: TAN, COD, TSS, oxy và xác định mật độ tổng vi khuẩn, *Vibrio* và vi khuẩn *Bacillus*. Hàm lượng oxy được đo bằng máy YSI 55 Dissolved oxygen. Nhiệt độ, pH được đo 02 lần/ngày (sáng 8 giờ, chiều 14 giờ) bằng máy pHep by HANNA. Tất cả các chỉ tiêu chất lượng nước phân tích theo phương pháp chuẩn APHA (1995).

Xác định mật độ tổng vi khuẩn và *Vibrio* bằng phương pháp đếm khuẩn lạc (Baumann *et al.*, 1980) trên môi trường Trypticase Soya Agar (TSA) và môi trường Thiosulphate Citrate Bile Sucrose (TCBS). Xác định mật độ *Bacillus* theo phương pháp của Nguyễn Lâm Dũng, 1983; Harwood và Archibald, 1990).

Tỷ lệ sống tôm (%) = (số cá thể cuối thí nghiệm/số cá thể ban đầu) × 100

Công thức tính tăng trưởng tuyệt đối về khối lượng (g/ngày).

$$DWG \text{ (g/ngày)} = (W_t - W_o)/t$$

Công thức tính tăng trưởng tuyệt đối về chiều dài (cm/ngày)

$$DLG \text{ (cm/ngày)} = (L_t - L_o)/t$$

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

Sử dụng phần mềm Excel để tính các giá trị trung bình, độ lệch chuẩn và phân tích ANOVA một nhân tố trong SPSS 16.0 để so sánh thống kê các giá trị trung bình giữa các nghiệm thức ở mức $p < 0,05$ bằng phép thử Duncan.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Biến động các yếu tố môi trường

3.1.1 Nhiệt độ, pH

Giá trị trung bình của nhiệt độ và pH trong 60 ngày nuôi tôm thẻ chân trắng được thể hiện trong Bảng 1. Do hệ thống thí nghiệm được bố trí trong phòng, có gắn sục khí nên nhiệt độ, pH ít biến động trong quá trình thí nghiệm.

Bảng 1: Sự biến động của nhiệt độ, pH

Nghiệm thức	Nhiệt độ (°C)		pH	
	Sáng	chiều	Sáng	Chiều
ĐC	27,7±0,69	28,3±0,66	7,9±0,14	7,9±0,15
B67	27,6±0,70	28,4±0,70	7,9±0,12	8,0±0,14
B41	27,8±0,69	28,1±0,66	8,0±0,13	8,0±0,15

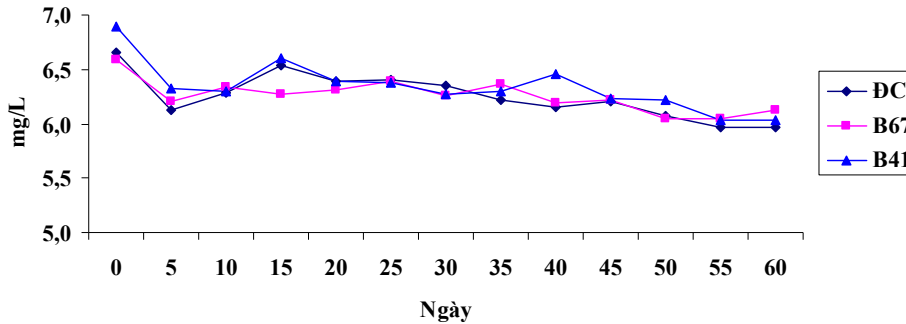
Nhiệt độ giữa các bể có bổ sung và không bổ sung vi khuẩn không có sự khác biệt và dao động từ 27,6°C vào buổi sáng đến 28,4°C vào buổi chiều. Nhiệt độ tối ưu cho sự phát triển của giáp xác dao động 25 – 30°C (Boyd, 1998). Từ đó cho thấy nhiệt độ trong thí nghiệm thích hợp cho sự phát triển của tôm. Yếu tố pH cũng không có sự biến động đáng kể và dao động trong khoảng từ 7,9 – 8,0 trong suốt thời gian thí nghiệm. Theo Chanratchakool *et*

al. (1995) thì pH ảnh hưởng trực tiếp hoặc gián tiếp đến tôm nuôi. pH thích hợp cho tôm từ 7,5 – 8,4 và dao động trong ngày không quá 0,5. Khi pH thấp sẽ làm tăng tính độc của H₂S, ngược lại độc tính của N-NH₃ sẽ tăng cao khi pH của nước tăng. Khoảng pH thích hợp cho tôm là từ 7-9 (Trương

Quốc Phú, 2006).

3.1.2 Oxy hòa tan

Hệ thống thí nghiệm được bố trí trong phòng kín, có gắn sục khí nên oxy ít biến động trong quá trình thí nghiệm (Hình 1).



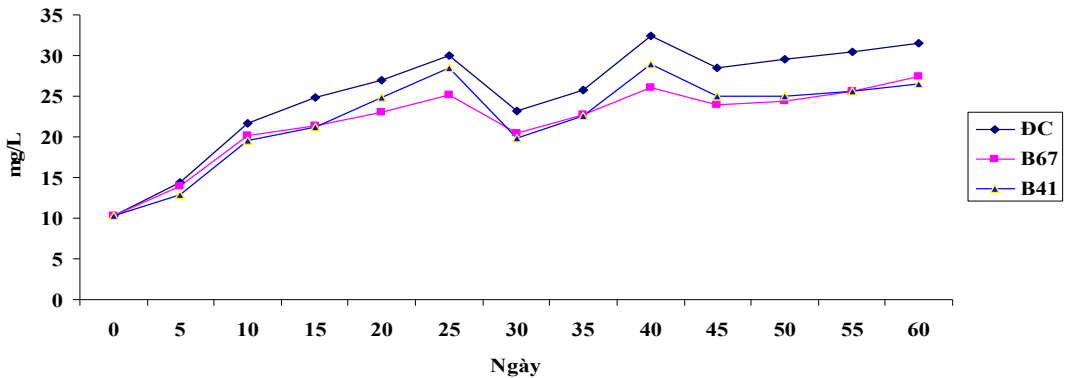
Hình 1: Sự biến động của oxy trong thời gian thí nghiệm

Oxy trong thí nghiệm dao động trong khoảng 5,96 – 6,89 mg/L. Trong 4 lần thu mẫu đầu tiên oxy hòa tan giữa các nghiệm thức khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$). Sau 30 ngày oxy hòa tan ở nghiệm thức ĐC ($6,35\pm0,035$ mg/L) khác biệt ($p<0,05$) so với nghiệm thức B67 ($6,25\pm0,035$ mg/L) nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$) với nghiệm thức B41 ($6,28\pm0,047$ mg/L). Gần về cuối thí nghiệm quá trình phân hủy vật chất hữu cơ mạnh nên đã sử dụng nhiều lượng oxy hòa tan hơn, làm cho lượng oxy của nghiệm thức ĐC thấp hơn nghiệm thức bổ sung vi khuẩn B67 và B41. Nghiệm thức bổ sung vi khuẩn B67 có oxy hòa tan ($6,13\pm0,026$ mg/L) và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$) với ĐC ($5,96\pm0,114$ mg/L) nhưng khác biệt không có ý nghĩa ($p>0,05$) với nghiệm thức B41. Theo Whetstone *et al.* (2002) oxy hòa tan lý tưởng cho tôm là 5mg/L và không vượt quá 15 mg/L. 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)

Hàm lượng COD ở các nghiệm thức dao động

từ 10,30 – 31,47 mg/L. Sau 25 ngày COD ở nghiệm thức đối chứng đạt cao nhất (29,93 mg/L) khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$) với nghiệm thức B67 nhưng không khác biệt ($p>0,05$) với nghiệm thức B41. Trong quá trình thí nghiệm, sau 25 và 40 ngày có thay nước nên lượng COD có giảm và vẫn tiếp tục tăng sau những ngày kế tiếp. Sau 60 ngày thí nghiệm COD ở các nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$) với đối chứng. Điều này có thể giải thích do vai trò phân hủy vật chất hữu cơ của vi khuẩn B67 và B41 đã làm giảm mức độ ô nhiễm. Theo Phạm Thị Tuyết Ngân (2011) khi bố trí tôm Sú với mật độ 30 con/m² trong bể 500 L có bổ sung vi khuẩn B67, B41 (10^6 CFU/mL) thì COD trong nghiệm thức B41 ($12,81\pm4,02$ mg/L) và B67 ($12,9\pm4,41$ mg/L) thấp hơn so với đối chứng ($14,04\pm4$ mg/L). Theo kết quả của Briggs và Funge-Smith (1994) khi nuôi tôm ở mật độ tăng dần 10; 30; 50 con/m² thì COD tăng lần lượt là 18,7; 27,6; 39 mg/L. Nhìn chung, COD trong quá trình thí nghiệm là tương đối cao và có khuynh hướng tăng dần vào cuối thí nghiệm (Hình 2).

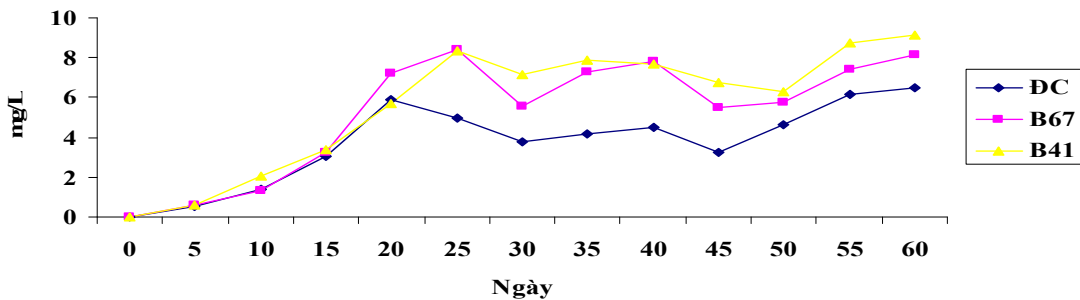


Hình 2: Biến động hàm lượng COD trong thời gian thí nghiệm

3.1.4 Tổng đạm amon (TAN)

Hàm lượng TAN ở các nghiệm thức dao động từ 0,00 – 9,14 mg/L. Sau 10 ngày thí nghiệm hàm lượng TAN tăng ở 3 nghiệm thức lần lượt là B41 (2,04±0,507 mg/L); B67 (1,32±0,156 mg/L); đối chứng (1,36±0,320 mg/L) và khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$). Chanratchakool (2003) nhận định rằng hàm lượng TAN thích hợp cho ao nuôi tôm trong khoảng 0,2 – 2 mg/L. Như vậy, TAN vẫn ở trong giới hạn cho phép trong 10 ngày đầu thí nghiệm nhưng sau 25 ngày thí nghiệm hàm lượng TAN ở nghiệm thức B67 (8,41±0,434 mg/L); B41 (8,32±0,744 mg/L), đối chứng

(4,97±0,708 mg/L) và tương tự sau 40 ngày 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. Sau 25 và 40 ngày TAN đã tăng quá cao nên đã thay nước, sau những lần thu mẫu tiếp theo TAN vẫn tiếp tục tăng. Nhìn chung, TAN ở các nghiệm thức tương đối cao, ở 2 nghiệm thức B67 và B41 hàm lượng TAN khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$) với nhau và luôn cao hơn so với đối chứng. Như vậy, việc bổ sung vi khuẩn B67 và B41 đã có tác dụng làm tăng quá trình amon hóa từ đó làm hàm lượng TAN tăng đáng kể (Hình 3).

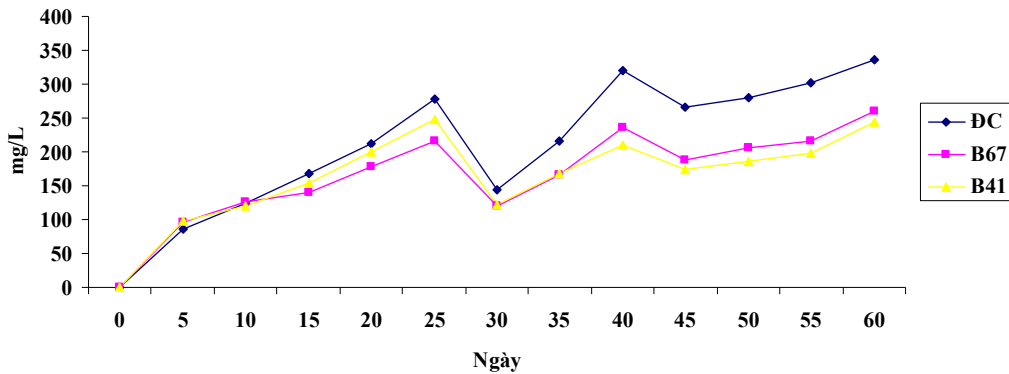


Hình 3: Biến động hàm lượng TAN trong thời gian thí nghiệm

3.1.5 Tổng vật chất lơ lửng (TSS)

TSS có xu hướng tăng vượt quá giới hạn cho phép vào 30 ngày đầu và cuối thí nghiệm nên trong thời gian bố trí thí nghiệm đã thay nước vào ngày 25 và ngày 40. TSS cao nhất ở nghiệm thức đối chứng (0 – 335 mg/L), khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$) với nghiệm thức B67 (0 – 261 mg/L) và B41 (0 – 249 mg/L). Sau 30 ngày trở đi thì TSS ở 2 nghiệm thức B67 và B41 gần như tương đương nhau ($p>0,05$) và cùng khác biệt có ý nghĩa

($p<0,05$) so với đối chứng. Điều này chứng tỏ vi khuẩn *Bacillus* B67 và B41 đã phân hủy nhanh hợp chất hữu cơ và làm giảm đáng kể lượng chất hữu cơ trong nước. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Phạm Thị Tuyết Ngân (2011) khi dùng vi khuẩn *Bacillus* B67, B41 và B9 với mật độ 10^6 CFU/mL để bổ sung vào bể nuôi tôm Sú thương phẩm thì hàm lượng TSS sau 90 ngày ở nghiệm thức đối chứng (368 mg/L) cao hơn so với bổ sung B67 (237 mg/L) hoặc B41 (305 mg/L).



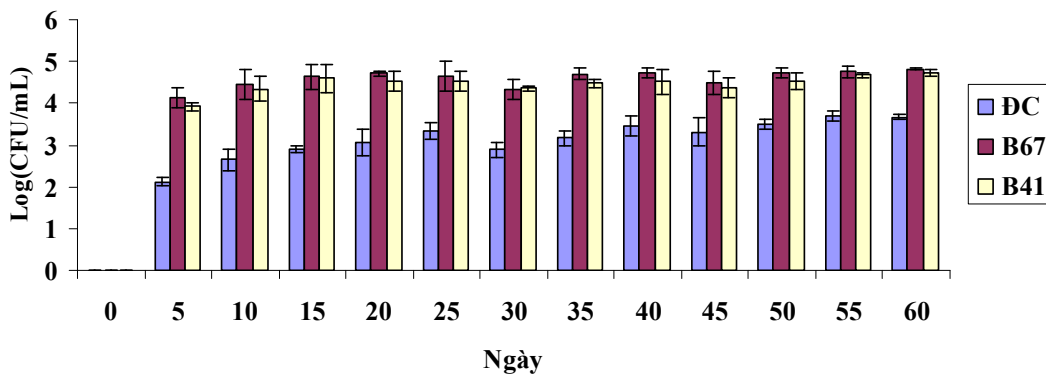
Hình 4: Biến động hàm lượng TSS trong thời gian thí nghiệm

3.2 Biến động mật số vi khuẩn trong nước

3.2.1 Biến động mật độ vi khuẩn *Bacillus*

Mật độ *Bacillus* ở nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn luôn cao hơn ĐC từ 1 – 1,5 đơn vị Log. Sau 15 ngày thí nghiệm, mật độ *Bacillus* tăng ở nghiệm thức đối chứng ($0 - 9 \times 10^2$ CFU/mL); B67 ($0 - 4,9 \times 10^4$ CFU/mL); B41 ($0 - 4,7 \times 10^4$ CFU/mL) và tăng nhanh về cuối thí nghiệm. Sau 60 ngày thí nghiệm mật độ *Bacillus* cao nhất ở nghiệm thức B67 ($6,6 \times 10^4$ CFU/mL) nhưng không khác biệt ($p > 0,05$) với nghiệm thức B41 ($5,4 \times 10^4$ CFU/mL).

Mật độ *Bacillus* ở nghiệm thức đối chứng đạt thấp nhất ($4,8 \times 10^3$ CFU/mL) và khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) so với nghiệm thức B67 và B41. Sau 55 ngày nuôi thì mật độ *Bacillus* ở đối chứng là 3,7 LogCFU/mL; B67 là 4,8 LogCFU/mL; B41 là 4,7 LogCFU/mL và tương đương với kết quả của Zokaeifar (2014) ở nghiệm thức bổ sung vi khuẩn *Bacillus subtilis* L10 và G1 vào bể đạt mật độ 10^5 CFU/mL, sau 55 ngày thí nghiệm mật độ *Bacillus subtilis* L10 và G1 đạt $4,84 \pm 0,06$ Log (CFU/mL) có sự khác biệt với ĐC ($3,94 \pm 0,03$ Log(CFU/mL)) (Hình 5).



Hình 5: Biến động mật độ *Bacillus* trong thời gian thí nghiệm

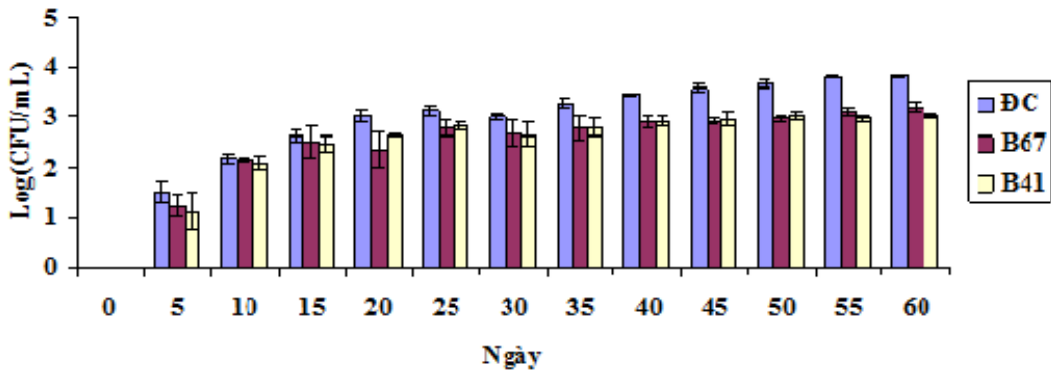
3.2.2 Biến động mật độ vi khuẩn *Vibrio*

Sau 15 ngày bố trí, mật độ *Vibrio* ở 3 nghiệm thức lần lượt là ĐC ($4,4 \times 10^2$ CFU/mL); B67 ($3,9 \times 10^2$ CFU/mL) và B41 ($3,3 \times 10^2$ CFU/mL) khác biệt không có ý nghĩa ($p > 0,05$) với nhau. Từ ngày 20 đến cuối thí nghiệm, mật độ *Vibrio* tăng dần, cao nhất ở ĐC ($6,8 \times 10^3$ CFU/mL) và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) với nghiệm thức B67 ($1,6 \times 10^3$ CFU/mL) và B41 ($1,1 \times 10^3$ CFU/mL).

Riêng hai nghiệm thức B67, B41 mật độ vi khuẩn *Vibrio* khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Mật độ *Vibrio* tăng ở các nghiệm thức có thể do tích lũy thức ăn dư thừa. Mật độ *Vibrio* ở 2 nghiệm thức bổ sung vi khuẩn *Bacillus* tăng ít hơn so với nghiệm thức ĐC chứng tỏ vi khuẩn *Bacillus* được bổ sung định kỳ đã hạn chế sự phát triển của *Vibrio*. Điều này phù hợp với kết quả của Wang (2006) khi sử dụng chế phẩm vi sinh trong ao nuôi tôm thẻ chân trắng đã hạn chế được vi khuẩn

Vibrio sp. trong bùn ($3,65 \times 10^3$ CFU/mL) trong khi đó ao đối chứng là ($1,16 \times 10^5$ CFU/mL). Theo Dalmin (2001) khi sử dụng chế phẩm sinh học đã làm giảm *Vibrio sp.* và trực khuẩn có lợi tăng để cải thiện chất lượng nước, thúc đẩy tốc độ tăng trưởng, tỉ lệ sống và tăng cường sức khỏe cho tôm.

Mật độ *Vibrio* không vượt quá 10^3 CFU/mL sẽ không gây hại cho tôm (Moriarty, 1999). Như vậy, mật độ *Vibrio* ở các nghiệm thức vẫn nằm trong giới hạn cho phép và không ảnh hưởng đến sự phát triển của tôm.

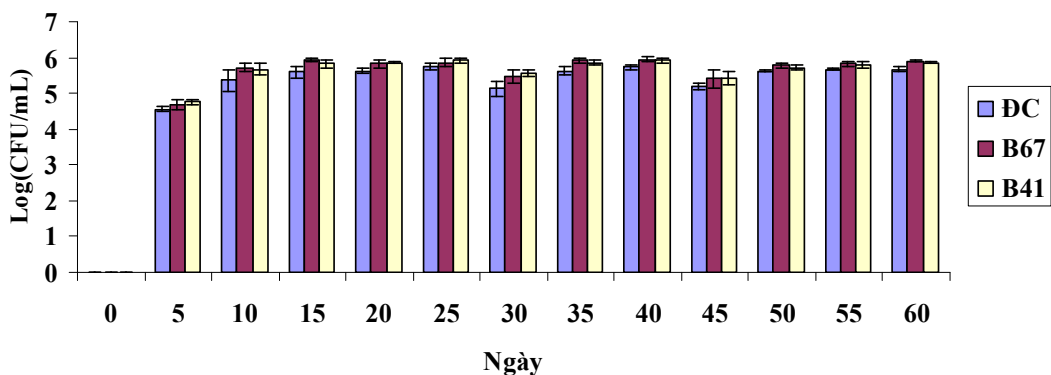


Hình 6: Biến động mật độ *Vibrio* trong thời gian thí nghiệm

3.2.3 Biến động mật độ tổng vi khuẩn

Hình 7 cho thấy mật độ tổng vi khuẩn trong nước khá ổn định và dao động từ $3,7 \times 10^4$ - $8,0 \times 10^5$ CFU/mL. Nhìn chung, mật độ tổng vi khuẩn ở các nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn cao hơn nghiệm thức đối chứng và khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ($p < 0,05$). Trong quá trình thí nghiệm đã thay nước sau 25 và 40 ngày ở các nghiệm thức nên mật độ vi khuẩn có giảm nhưng không đáng kể và tiếp tục tăng sau đó. Sau 60 ngày, tổng vi khuẩn cao nhất ở nghiệm thức B67 ($8,0 \times 10^5$ CFU/mL) khác biệt không có ý nghĩa

thống kê ($p > 0,05$) với nghiệm thức B41 ($7,1 \times 10^5$ CFU/mL). Ở nghiệm thức ĐC có mật độ tổng vi khuẩn là thấp nhất ($4,8 \times 10^5$ CFU/mL) và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) với hai nghiệm thức B67 và B41. Như vậy, sự biến động mật độ tổng vi khuẩn ở các nghiệm thức phụ thuộc vào lượng vi khuẩn bổ sung, sự tích lũy thức ăn thừa và chất thải của tôm. Theo Anderson (1993) tổng vi khuẩn trong môi trường nước sạch nhỏ hơn 10^3 CFU/mL và nước trở nên bẩn, có hại cho tôm cá khi tổng vi khuẩn vượt 10^7 CFU/mL. Tóm lại, tổng vi khuẩn ở các nghiệm thức trong quá trình thí nghiệm nằm trong giới hạn cho phép.



Hình 7: Biến động mật độ tổng vi khuẩn trong thời gian thí nghiệm

3.3 Sự tăng trưởng của tôm thẻ chân trắng

3.3.1 Sự gia tăng khối lượng và chiều dài của tôm thẻ chân trắng sau 60 ngày bố trí

Tôm lúc bố trí có khối lượng và chiều dài nằm trong khoảng 1- 1,02 g và 4,83 – 4,99 cm. Sau 60 ngày, tôm ở nghiệm thức bổ sung vi khuẩn B41 đạt kết quả cao nhất về khối lượng và chiều dài (6,88 g và 10,80 cm), khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) với nghiệm thức ĐC (6,47 g và 10,33 cm) nhưng không khác biệt ($p > 0,05$) với nghiệm thức B67 (6,56 g và 10,56 cm). Nghiệm thức bổ sung vi khuẩn B67 có khối lượng và chiều dài cao hơn nghiệm thức ĐC nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa ($p > 0,05$).

Ziaei-Nejad (2006) khi bổ sung chế phẩm vi sinh dạng bột gồm 5 loài vi khuẩn *Bacillus*

(*B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. polymyxa*, *B. laterosporus* và *B. circulans*) vào ao nuôi tôm thẻ chân trắng ở mật độ 1×10^7 CFU/mL, thì chiều dài và trọng lượng của tôm từ PL₃₀ đến PL₁₂₀ là (12,36 cm và 13,22 g) khác biệt không có ý nghĩa với đối chứng (12,17 cm và 12,26 g). Theo Zokaeifar (2014) khi bổ sung hai chủng vi khuẩn *Bacillus subtilis* L10 và G1 tỷ lệ bằng nhau, với 2 mật độ 10^5 CFU/ml và 10^8 CFU/ml vào bể 500 L nuôi tôm thẻ chân trắng (0,67g/con) với mật độ 1 con/5 L. Sau 8 tuần nuôi thì khối lượng tôm ở nghiệm thức 10^5 CFU/ml (3,06 g) khác biệt không có ý nghĩa ($p > 0,05$) với 10^8 CFU/ml (3,32 g) và cả hai khác biệt có ý nghĩa với đối chứng (2,07 g). Như vậy, việc bổ sung vi khuẩn *Bacillus* vào bể nuôi ngoài việc phân hủy chất thải và thức ăn dư thừa của tôm mà còn góp phần vào sự tăng trưởng của tôm.

Bảng 2: Khối lượng (gam) và chiều dài (cm) của tôm thẻ chân trắng sau 60 ngày thí nghiệm

Nghiệm thức	Ngày 1		Ngày 60	
	Khối lượng (g/con)	Chiều dài (cm/con)	Khối lượng (g/con)	Chiều dài (cm/con)
ĐC	1,00±0,035 ^a	4,85±0,065 ^a	6,47±0,135 ^b	10,33±0,112 ^b
B67	1,02±0,015 ^a	4,83±0,095 ^a	6,56±0,250 ^{ab}	10,56±0,302 ^{ab}
B41	1,02±0,044 ^a	4,99 ±0,064 ^a	6,88±0,139 ^a	10,80±0,124 ^a

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

3.3.2 Tốc độ tăng trưởng

Kết quả Bảng 3 cho thấy tốc độ tăng trưởng tuyệt đối về khối lượng của tôm dao động từ 0,092 g/ngày ở nghiệm thức ĐC đến 0,098 g/ngày ở nghiệm thức B41. Như vậy, ở nghiệm thức B41 tốc độ tăng trưởng của tôm là cao nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê với ĐC nhưng khác biệt không có ý nghĩa ($p > 0,05$) với nghiệm thức B67, tuy nhiên nghiệm thức B67 (0,093 g/con) khác biệt không có

ý nghĩa thống kê so với ĐC. Tương tự về chiều dài, thì tốc độ tăng trưởng tuyệt đối ở nghiệm thức B41 là cao nhất (0,097 cm/ngày) khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) với đối chứng (0,091 cm/ngày) nhưng không khác biệt với B67 (0,095 cm/ngày). Reid & Arnold, (1992) nuôi tôm trong hệ tuần hoàn với mật độ cao (970 con/m³) thì tốc độ tăng trưởng khối lượng của tôm nuôi chỉ đạt 0,61 g/tuần (0,087g/ngày) () thấp hơn nhiều so với kết quả nghiên cứu này (0,092- 0,098 g/ngày).

Bảng 3: Tốc độ tăng trưởng của tôm thẻ chân trắng

Nghiệm thức	ĐC	B67	B41
DWG (g/ngày)	0,092±0,002 ^b	0,093±0,004 ^{ab}	0,098±0,002 ^a
DLG (cm/ngày)	0,091±0,003 ^b	0,095±0,004 ^{ab}	0,097±0,003 ^a

Các giá trị trên cùng một hàng có chữ cái khác nhau thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

Kết quả về tốc độ tăng trưởng của tôm cho thấy ở các nghiệm thức bổ sung vi khuẩn B67 và B41 thì tăng trưởng của tôm nhanh hơn nghiệm thức không bổ sung vi khuẩn. Kết quả này cũng rất phù hợp với nhận định của Ziaei-Nejad (2006) cho rằng sự hiện diện của vi sinh vật hữu ích có thể kích thích các enzym nội sinh được sản xuất bởi tôm làm tăng hoạt động của các enzym tiêu hóa dẫn đến tăng cường tiêu hóa và tăng hấp thu thức ăn. Do đó, nó góp phần cải thiện tỉ lệ sống, tăng trưởng và

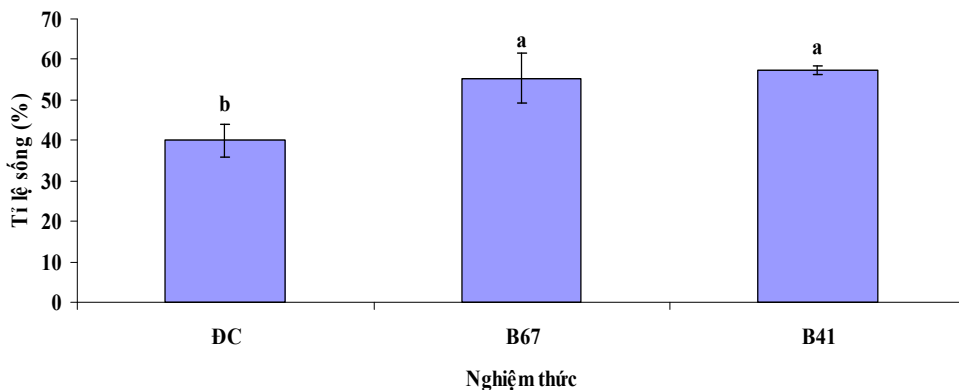
giảm FCR. Như vậy, việc bổ sung vi khuẩn B67 và B41 định kỳ giúp phân hủy vật chất hữu cơ trong bể nuôi, kích thích tiêu hóa và duy trì môi trường ổn định góp phần cho sự tăng trưởng của tôm. Trong đó, khi bổ sung vi khuẩn B41 vào bể thì tăng trưởng của tôm là tốt nhất.

3.3.3 Tỉ lệ sống

Tỉ lệ sống tôm thẻ chân trắng có giá trị thấp nhất là ở nghiệm thức ĐC (40±4 %) và khác biệt

có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) với nghiệm thức B67 ($55,3 \pm 6,11$ %) và B41 ($57,3 \pm 1,15$ %). Tỷ lệ sống của tôm cao nhất ở nghiệm thức B41 và khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) với nghiệm thức B67. Kết quả tỷ lệ sống này cũng phù hợp với kết quả tăng trưởng ở nghiệm thức B41 là tăng trưởng tốt nhất và tỷ lệ sống cao nhất, đồng thời tỷ lệ sống ở các nghiệm thức B67 và B41 cũng khác biệt không có ý nghĩa với nhau. Theo Zokaeifar (2014) khi bổ sung hai chủng vi khuẩn *Bacillus subtilis* L10 và G1 tỷ lệ bằng nhau, với mật độ 10^5 CFU/ml vào bể 500 L nuôi tôm thẻ chân trắng (0,2 con/L), sau 8 tuần tỷ lệ sống ở 10^5 CFU/ml (97%) khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) với đối chứng (89%). Thí nghiệm ảnh hưởng của mật độ khác nhau: 40, 60 và 80 PL₁₅/m² trong bể composit 4m² trong nhà đối với tôm chân trắng (*Litopenaeus*

vannamei) nuôi thương phẩm trong thời gian 75 ngày thì tỷ lệ sống cao nhất ở lô 40 con/m² ($79,7 \pm 2,6$ %) và thấp nhất ở lô 80 con/m² ($70,3 \pm 3,3$ %) ($p < 0,05$) nhưng không có sự sai khác ($p > 0,05$) đáng kể giữa hai mật độ 40 con/m² ($79,7 \pm 2,6$ %) và 60 con/m² ($78,7 \pm 2,9$ %) (Nguyễn Phương Toàn, 2013). So sánh với cùng điều kiện mật độ nuôi, dường như kết quả về tỷ lệ sống của tôm chân trắng trong nghiên cứu này đạt thấp. Như vậy, có thể tỷ lệ sống ở các nghiệm thức thấp do mật độ nuôi quá cao (500 con/m^3) cùng với vật chất hữu cơ tích lũy nhiều, việc bổ sung các dòng *Bacillus* đã góp phần phân hủy vật chất hữu cơ giúp chất lượng nước tốt hơn nên tỷ lệ sống ở nghiệm thức bổ sung vi khuẩn B67 và B41 cao hơn ĐC.



Hình 8: Tỷ lệ sống của tôm thẻ chân trắng sau 60 ngày nuôi

4 KẾT LUẬN

Chất lượng nước ở các nghiệm thức cao hơn giới hạn cho phép nhưng ở nghiệm thức có bổ sung *Bacillus* B41 có giá trị thấp nhất.

Sau 60 ngày nuôi mật độ *Bacillus* và tổng vi khuẩn trong nước ở nghiệm thức đối chứng đạt thấp nhất ($4,8 \times 10^3$ CFU/mL; $4,8 \times 10^5$ CFU/mL) khác biệt ($p < 0,05$) so với B67 ($6,58 \times 10^4$ CFU/mL; $8,0 \times 10^5$ CFU/mL) hoặc B41 ($5,4 \times 10^4$ CFU/mL; $7,1 \times 10^5$ CFU/mL). Mật độ *Vibrio* ở nghiệm thức bổ sung vi khuẩn *Bacillus* B41 và B67 ($1,1 \times 10^3$ và $1,6 \times 10^3$ CFU/mL) thấp hơn so với đối chứng ($6,8 \times 10^3$ CFU/mL).

Tăng trưởng của tôm ở các nghiệm thức bổ sung vi khuẩn *Bacillus* cao hơn đối chứng, trong đó chiều dài và khối lượng tôm cao nhất khi bổ sung vi khuẩn *Bacillus* B41 (6,88 g; 10,80 cm) và thấp nhất là ở nghiệm thức đối chứng (6,47 g; 10,33 cm).

Tỷ lệ sống của tôm khi bổ sung *Bacillus amyloliquefaciens* cao nhất (57,3%) và thấp nhất khi không bổ sung vi khuẩn (40%).

Vi khuẩn *Bacillus amyloliquefaciens* có hiệu quả tốt hơn *Bacillus subtilis* dựa trên các chỉ tiêu về chất lượng nước, tăng trưởng và tỷ lệ sống của tôm thí nghiệm.

5 ĐỀ XUẤT

Đưa chế phẩm vào thử nghiệm trên ao nuôi tôm thực tế để đánh giá hiệu quả của chế phẩm, từ đó sản xuất với qui mô lớn hơn nhằm phục vụ cho nuôi trồng thủy sản một cách hiệu quả.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

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

2. APHA, AWWA, WEF, 1995. Standard method for the examination of water and wastewater (19 th Edidtion). Washington DC, American Public Health Association (APHA).
3. 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
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: 189-811.
5. Boyd, C.E., 1998. Water quality for pond aquaculture. Alabama Agriculture experiment Station. Auburn University. Alabama Research and Development Series. (Department of fisheries and Applied Aquacultures Auburn University, Alabama 36849 USA). No. 43,37p.
6. Chanratchakool, P., 1995. White patch disease of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *AAHRI Newsletter.*4,3.
7. Chanratchakool, P., 2003. Problem in *Penaeus monodon* culture in low salinity areas. *Aquacult. Asia*, 8: 54-55.
8. Dalmin, G., K. Kathiresan and A. Purushothaman, 2001. Effect of probiotics on bacterial population and health status of shrimp in culture pond ecosystem. *Indian J. Exp. Biol.*, 39(9): 939-42.
9. Harwod, C. and A. Archibald, 1990. Growth, maintenance and general techniques. In: C.R., Harwood, S.M. Cutting, (Eds), *Molecular Biological Methods for Bacillus*. Wiley, Chichester, England: 1-26.
10. Lara-Flores, 2011. The use of probiotic in aquaculture: an overview. *International Research Journal of Microbiology (IRJM)* Vol. 2(12): 471-478.
11. Moriaty, J.W. David, 1999. Disease control in shrimp Aquaculture with probiotic bacteria. *Biomangement system Pty. Ltd.*, 315 Main road, Wellington point. Quennsland 4160 Australia and Department of Chemical Engineering. The University of Queensland. Qld. 4072 Australia.
12. Nguyễn Lân Dũng, 1983. Thực tập vi sinh vật học. Nhà xuất bản Đại học và Trung học chuyên nghiệp Hà Nội, 368 trang.
13. Nguyễn Phương Toàn, Vũ Văn Sáng, Nguyễn Việt Vương, Nguyễn Quang Tuất, Đặng Thị Diệu, Đoàn Thị Ninh, Trần Thế Mưu, Vũ Văn In, 2013. Ảnh hưởng của mật độ lên sinh trưởng và tỉ lệ sống của tôm thẻ chân trắng spf nuôi thương phẩm trong bể composit trong nhà (*Litopenaeus vannamei*). Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản, Khoa Chăn Nuôi & Nuôi trồng Thủy sản, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội, 2013.
14. 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.
15. Phạm Thị Tuyết Ngân, 2011. Nghiên cứu quần thể vi khuẩn chuyển hóa đạm trong ao nuôi tôm sú (*Penaeus monodon*). *Luận án tiến sĩ. Đại học Cần Thơ.*
16. Reid B. and C.R. Arnold. 1992. The Intensive Culture of the Penaeid Shrimp *Penaeus vannamei* Boone in a Recirculating Raceway System. *Journal of the World Aquaculture Society.* 23: 146-153.
17. Trương Quốc Phú, 2006. Quản lý chất lượng nước trong nuôi thủy sản. *Khoa Thủy sản-Trường Đại học Cần Thơ.* 199 trang.
18. Wang ,Y., L. Zha and Z. Xu, 2006. Effects of probiotics on *Penaeus vannamei* pond sediments. *Feed Science Institute of Zhejiang University, Hangzhou, China.* 17 (9): 1765-7.
19. 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.*
20. Ziaei-Nejad, S., M.H. Rezaei, G.A. Takami, D.L. Lovett, AR. Mirvaghefi, M. Shakoun, 2006. The effect of *Bacillus* spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. *Aquaculture*, 252: 516-524.
21. Zokaefifar, H., N. Babaei, C.R. Saad, M.S. Kamarudin, K. Sijam and J.L. Balcazar, 2014. Administration of *Bacillus subtilis* strains in the rearing water enhances the water quality, growth performance, immune response, and resistance against *Vibrio harveyi* infection in juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*, 36: 68-74.