



DOI:10.22144/ctu.jvn.2021.051

THỰC NGHIỆM ƯƠNG ÁU TRÙNG CUA BIỂN (*Scylla paramamosain*) VỚI CÁC QUY TRÌNH KHÁC NHAU

Nguyễn Việt Bắc^{1,2*} và Vũ Ngọc Út³

¹Nghiên cứu sinh Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

²Trường Cao đẳng Cộng đồng Cà Mau

³Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Nguyễn Việt Bắc (email: nvbac87@gmail.com)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 28/09/2020

Ngày nhận bài sửa: 17/02/2021

Ngày duyệt đăng: 28/04/2021

Title:

Rearing mud crab (*Scylla paramamosain*) larvae with different practice protocols

Từ khóa:

Ấu trùng, cua biển, ozone, *Scylla paramamosain*

Keywords:

Mud crab, larvae, ozone, *Scylla paramamosain*

ABSTRACT

This study is aimed to determine the appropriate rearing protocol for growth, metamorphosis and survival rate of mud crab larvae (*Scylla paramamosain*). The experiment consisted of three treatments: (1) using of chemicals; (2) Ozone disinfection; (3) using of antibiotics. Mud crab larvae were stocked in 1.6 m³ tanks at 200 ind./L of density and 30 ‰ of salinity. The results showed that total bacteria count, *Vibrio* count, and parasitic prevalence in ozone disinfection treatment were 0.86 x 10⁴ cfu/mL, 0.16 x 10⁴ cfu/mL and 6.40%, respectively; and were significantly lower compared to others (p<0.05). The larval metamorphosis and total length in the ozone disinfection treatment were significantly higher than the chemical treatment (p<0.05). Moreover, survival rate of Crab-1 in the ozone treatment was also the highest (8.81 %) and was not significantly different compared to the antibiotic treatment (7.23%), but statistically higher than the chemical treatment (2.29%). Similarly, the gross profit in the ozone treatment was the highest (1.35), followed by the antibiotic treatment (0.85) and statistically greater than the chemical treatment (-0.40). These results suggested that ozone disinfection was an appropriate protocol for mud crab larviculture which could improve survival rate, larval stage index, water quality, and disease control.

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm xác định quy trình ương thích hợp cho tăng trưởng, tỷ lệ sống và biến thái của ấu trùng cua biển. Thí nghiệm gồm 3 nghiệm thức: (1) ương ấu trùng theo quy trình sử dụng hóa chất; (2) ương ấu trùng theo quy trình sử dụng ozone; (3) ương ấu trùng theo quy trình sử dụng kháng sinh. Ấu trùng được bố trí trong bể 1,6 m³ với mật độ 200 con/L và độ mặn 30 ‰. Kết quả thí nghiệm cho thấy mật độ vi khuẩn tổng, *Vibrio* spp và tỷ lệ nhiễm ký sinh trùng trên ấu trùng thấp nhất ở nghiệm thức sử dụng ozone lần lượt là 0,86 x 10⁴ cfu/mL, 0,16 x 10⁴ cfu/mL và 6,40% khác biệt có ý nghĩa (p<0,05) với các nghiệm thức còn lại. Chỉ số biến thái, tăng trưởng về chiều dài của ấu trùng qua các giai đoạn ở nghiệm thức sử dụng ozone cao hơn (p<0,05) so với nghiệm thức sử dụng hóa chất. Tỷ lệ sống đến giai đoạn Cua 1 cao nhất ở nghiệm thức sử dụng ozone (8,81%) khác biệt không có ý nghĩa (p>0,05) với nghiệm thức sử dụng kháng sinh (7,23%), nhưng khác biệt có ý nghĩa (p<0,05) với nghiệm thức sử dụng hóa chất (2,29%). Tương tự, tỷ suất lợi nhuận cao nhất ở nghiệm thức sử dụng ozone (1,35) khác biệt không có ý nghĩa (p>0,05) với nghiệm thức sử dụng kháng sinh (0,85), nhưng khác biệt có ý nghĩa (p<0,05) với nghiệm thức sử dụng hóa chất (-0,40). Nghiên cứu này cho thấy ozone thích hợp để ứng dụng trong ương nuôi ấu trùng cua biển để nâng cao tỷ lệ sống, chỉ số biến thái ấu trùng, cải thiện chất lượng nước và kiểm soát mầm bệnh trên ấu trùng cua biển.

1. GIỚI THIỆU

Cua biển (*Scylla paramamosain*) là một trong những đối tượng nuôi quan trọng ở khu vực Tây Thái Bình Dương do kích cỡ lớn, giàu dinh dưỡng, và được tiêu thụ mạnh ở nhiều nước trên thế giới. Trong những năm gần đây, diện tích nuôi cua biển ngày càng được mở rộng với nhiều hình thức nuôi khác nhau (Hungria et al., 2017), điều này đã gây áp lực rất lớn về nguồn cua giống do còn lệ thuộc rất nhiều vào tự nhiên (De Pedro et al., 2007). Do đó, các giải pháp kỹ thuật nhằm cải thiện tỷ lệ sống trong ương ấu trùng của biển ngày càng được quan tâm và phát triển (Nghia et al., 2007). Tuy nhiên, tỷ lệ sống của ấu trùng ở các trại giống còn thấp khoảng 5 – 11% (Trần Ngọc Hải & Nguyễn Thanh Phương, 2009) do nhiều nguyên nhân như ấu trùng bị nhiễm nấm (Lavilla & Peña, 2004), nguyên sinh động vật (Dat, 1999), nhiễm bệnh *Vibrio harveyi* (Lavilla-Pitogo et al., 2000). Để hạn chế rủi ro trong quá trình ương, cũng như hạn chế việc lạm dụng thuốc và hóa chất trong quá trình sản xuất giống cua biển, các quy trình ương hướng tới an toàn sinh học đã được nghiên cứu như sử dụng enzyme hoặc chế phẩm sinh học trong suốt quá trình ương (Nguyễn Việt Bắc, 2019; Talip et al., 2017; Trần Nguyễn Duy Khoa, 2018;). Nghiên cứu này so sánh các quy trình ương khác nhau nhằm xác định quy trình ương ấu trùng của biển thích hợp, hướng đến sự phát triển bền vững trong năng suất và chất lượng của giống.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguồn nước thí nghiệm

Nước sử dụng trong thí nghiệm có độ mặn 30 ‰, được pha từ nguồn nước máy và nước ót có độ mặn 75 – 100 ‰. Nước sau khi pha được lọc qua than hoạt tính và lõi lọc gòn 1 µm (MBC, Graver USA), sau đó đi qua hệ thống đèn cực tím UV-C (254 nm) và xử lý EDTA (10 g/m³). Độ kiềm được duy trì ở mức 100 – 120 mg CaCO₃/L bằng NaHCO₃. Trong suốt thời gian thí nghiệm, tất cả các bể ương được sục khí liên tục và thay nước 3 ngày/lần với tỷ lệ 25%, thuốc và hóa chất được bổ sung vào bể ương sau khi thay nước.

2.2. Nguồn ấu trùng thí nghiệm

Nguồn ấu trùng trong thí nghiệm được thu từ cua mang trứng sau khi nở. Cua mang trứng được nuôi vỗ tại trại thực nghiệm – Trường Cao đẳng Cộng đồng Cà Mau. Cua cái dùng để nuôi vỗ là cua thành

thực tốt (đầy gạch, còn nguyên phụ bộ) được lựa chọn từ các đầm tôm quảng canh ở huyện Đầm Dơi – tỉnh Cà Mau. Cua được cắt mắt và nuôi vỗ trong bể 500 L có hệ thống lọc sinh học và được cho ăn sò huyết trong suốt quá trình nuôi vỗ. Sò huyết trước khi cho ăn được tách một bên vỏ rửa sạch và cho ăn theo nhu cầu của cua nuôi vỗ.

2.3. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được thực hiện trong hệ thống bể composite 1,6 m³. Sau khi nở, ấu trùng cua có tính hướng quang tốt được chọn để bố trí vào bể ương. Thí nghiệm ương ấu trùng với mật độ 200 con/L, trong thể tích nước 1 m³ và được bố trí hoàn ngẫu nhiên theo 3 nghiệm thức khác nhau với 3 lần lặp lại bao gồm (1) Ương ấu trùng theo quy trình sử dụng hóa chất (sử dụng luân phiên các hóa chất: 1 ppm iodine/lần/3 ngày, 5 ppm formol/lần/3 ngày) (De Pedro et al., 2007); (2) Ương ấu trùng theo quy trình sử dụng ozone (xử lý ozone 2 ngày/lần với nồng độ 0,05 ppm) (Nguyễn Việt Bắc & Vũ Ngọc Út, 2020); (3) Ương ấu trùng theo quy trình sử dụng kháng sinh (neomycin 2 ppm/ngày cho 3 ngày đầu giai đoạn zoea₁, megalopa, cua₁; rifamycin 1 ppm cho 3 ngày tiếp theo sau khi sử dụng neomycin và erythromycin 2 ppm/ngày cho 3 ngày tiếp theo) (Trần Thế Mưu & Vũ Văn Sáng, 2016).

Đối với quy trình sử dụng ozone, máy ozone có công suất 4 g/h (Ozone Max, OMZ-4) được dùng cho nghiệm thức 2, lắp với 3 vòi sục khí. Mỗi vòi sục khí được gắn với một viên đá bọt và được đặt trực tiếp vào 3 bể composite 1,6 m³. Hàm lượng ozone trong bể được đo liên tục bằng máy đo ozone (DOZ-30) đến khi bể ương đạt nồng độ 0,05 ppm thì ngừng sục khí ozone vào bể.

Ấu trùng cua được cho ăn luân trùng và ấu trùng *Artemia* 6 lần/ngày (lúc 6 giờ, 10 giờ, 14 giờ, 18 giờ, 22 giờ và 2 giờ) với chế độ cho ăn và liều lượng được trình bày chi tiết ở Bảng 1. DHA (Protein Selco của INVE Bi, thành phần gồm protein: min 27%; lipid: min 29%; n-3 HUFA min 80 mg/g khối lượng khô, DHA/EPA = 2) và vitamin C được dùng để giàu hóa luân trùng trong thời gian từ 6 – 8 giờ, với liều lượng 0,6 g DHA/500.000 luân trùng/lít nước và 1 g vitamin C/lít nước có độ mặn 30 ‰. Ấu trùng *Artemia* intar II được giàu hóa từ 8 – 12 giờ, với liều lượng 0,6 g DHA/200.000 *Artemia*/lít và 1 g vitamin C/lít. Thí nghiệm kết thúc sau khi ấu trùng chuyển sang giai đoạn Cua 1 hoàn toàn.

Bảng 1. Chế độ cho ăn (Nghia et al., 2007)

Thức ăn	Giai đoạn ấu trùng					Liều lượng
	Z1	Z2	Z3	Z4	Z5	
Rotifer (luân trùng) giàu hóa						10 – 20 con/mL
Artemia bung dù (Vinh Châu)						0,9 con/ml
Artemia giàu hóa						1,5 – 3 con/mL
Frippak 150						3 g/m ³ /lần

2.4. Theo dõi và thu mẫu các chỉ tiêu

Nhiệt độ và pH được đo hàng ngày bằng máy DYS-DMT 50, Oxy hòa tan được đo bằng máy 987A2-PD MIC (Đài Loan) lúc 7 giờ và 14 giờ. TAN, NO₂⁻ và Chemical Oxygen Demand (COD) được xác định mỗi 3 ngày/lần bằng phương pháp Indo-phenol blue, Dianozium và Iodine (American Public Health Association (APHA), 1995).

Mật độ vi khuẩn tổng và *Vibrio* trong nước được xác định mỗi 3 ngày/lần bằng cách thu mẫu nước (1 mL) và tủa mẫu trên đĩa thạch, NA⁺ và TCBS của Baumann et al., (1980). Đĩa thạch được ủ trong tủ áp ở nhiệt độ 28°C và kiểm tra kết quả phân lập sau 24 giờ. Số khuẩn lạc tổng cộng được đếm và được tính bằng đơn vị hình thành khuẩn lạc cfu/mL mẫu nước theo công thức:

Mật độ vi khuẩn/mL (cfu/mL) = Số khuẩn lạc x độ pha loãng x 10

Ký sinh trùng trên ấu trùng của biển cũng được theo dõi định kỳ 3 ngày/lần bằng cách thu 100 ấu trùng cua/bê và quan sát trực tiếp trên kính hiển vi (Novex B Serries) với độ phóng đại 400 lần. Mức độ nhiễm ký sinh trùng được xác định theo công thức:

Mức độ nhiễm (%) = $\frac{\text{Số ấu trùng bị nhiễm}}{\text{Tổng số ấu trùng quan sát}} \times 100\%$

Chiều dài tổng của ấu trùng zoea₁, zoea₂, zoea₃, zoea₄, zoea₅, megalopa được xác định bằng kính hiển vi quang học có thước đo trực vi thị kính. Đối với giai đoạn cua con thì chiều rộng mai (CW) được xác định. Số lượng ấu trùng và cua được xác định trong mỗi nghiệm thức là 90 con (30 con/bê).

Tỷ lệ ấu trùng dị hình trên gai lưng, gai hàm trên, gai ngạnh ở 2 cuống râu được quan sát trực tiếp trên kính hiển vi (Novex B Serries) với độ phóng đại 400 lần. Tỷ lệ dị hình được xác định ở các giai đoạn của ấu trùng (Pates et al., 2017). Mỗi nghiệm thức quan sát 90 con (30 con/bê) và được tính theo công thức:

Tỷ lệ dị hình (%) = $\frac{\text{Tổng số ấu trùng dị hình}}{\text{Tổng số ấu trùng quan sát}} \times 100\%$

Chỉ số biến thái của ấu trùng được xác định cách mỗi 2 ngày/lần bằng cách dùng cốc thủy tinh 250

mL thu đầy nước trong bể (được sục khí đều), mỗi bể được thu 3 lần, với số lượng ấu trùng trong cốc dao động khoảng 40 đến 60 con/cốc/lần. Chỉ số biến thái của ấu trùng của biển được xác định bằng phương pháp thu toàn bộ số ấu trùng có trong cốc và quan sát trực tiếp trên kính lúp có độ phóng đại 20x – 40x (Optika – Italia). Chỉ số biến thái được tính theo công thức.

LSI = $\frac{N1 \times n1 + N2 \times n2 + \dots + Ni \times ni}{n1 + n2 + \dots + ni}$

Trong đó, N₁, N₂...N_i; giai đoạn ấu trùng; n₁, n₂...n_i; số ấu trùng ở giai đoạn tương ứng.

Tỷ lệ sống của ấu trùng ở các giai đoạn zoea được xác định cách mỗi 3 ngày/lần bằng cách dùng cốc thủy tinh 250 mL thu đầy nước trong bể (được sục khí đều), mỗi bể được thu 3 lần và đếm toàn bộ số ấu trùng có trong cốc, riêng tỷ lệ sống ở giai đoạn megalopa và cua₁ được xác định bằng cách đếm toàn bộ số lượng của mỗi giai đoạn có trong bể. Tỷ lệ sống được tính bằng công thức:

Tỷ lệ sống (%) = $\frac{\text{Tổng số ấu trùng thu}}{\text{Tổng số ấu trùng bố trí}} \times 100\%$

Hiệu quả kinh tế của các quy trình ương cua biển được đánh giá sau khi kết thúc quy trình ương và được tính bằng công thức sau:

Lợi nhuận = Tổng thu nhập - Tổng chi phí

Tỷ suất lợi nhuận = $\frac{\text{Tổng số ấu trùng thu}}{\text{Tổng số ấu trùng bố trí}}$

Số liệu thu được tính giá trị trung bình và độ lệch chuẩn bằng phần mềm 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. Các yếu tố môi trường

Sự biến động của các yếu tố môi trường nước ở các nghiệm thức được thể hiện ở Bảng 2. Trong suốt quá trình thí nghiệm, nhiệt độ nằm trong khoảng thích hợp cho ấu trùng phát triển, ít biến động giữa sáng và chiều (từ 26,6 đến 29,2°C). Giá trị pH cũng ít dao động và duy trì trong khoảng thích hợp 8,06

đến 8,22. Hàm lượng oxy hòa tan (DO) được duy trì thường xuyên ở mức 6,22 đến 6,72 mg/L. Theo Ganesh et al., (2015) thì nhiệt độ, pH và hàm lượng DO thích hợp cho ương ấu trùng của biển lần lượt

dao động từ 27 đến 32°C, pH dao động từ 7,5 đến 8,5 và DO là 4 mg/L. Như vậy, nhiệt độ, pH và DO trong thí nghiệm nằm trong khoảng thích hợp cho sự phát triển của ấu trùng của biển.

Bảng 2. Biến động môi trường nước bể ương trong thời gian thí nghiệm

Nghiệm thức	Thời gian	Nhiệt độ (°C)	pH	DO (mg/L)	COD (mg/L)	TAN (mg/L)	NO ₂ ⁻ (mg/L)
Hóa chất	Sáng	26,6±0,3	8,04±1,07	6,22±1,32	14,4±2,3 ^c	2,11±1,00 ^c	0,42±0,22 ^c
	Chiều	29,1±0,5	8,06±0,05	6,46±0,85			
Ozone	Sáng	26,7±0,4	8,06±1,27	6,30±1,31	12,4±1,2 ^a	1,46±0,70 ^a	0,22±0,13 ^a
	Chiều	29,0±0,5	8,22±1,12	6,72±0,89			
Kháng sinh	Sáng	26,8±0,4	8,06±1,08	6,23±1,33	13,5±1,8 ^b	1,93±0,91 ^b	0,26±0,15 ^b
	Chiều	29,2±0,5	8,08±0,06	6,52±0,86			

Các giá trị trên cùng một cột có số mũ khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

Hàm lượng COD dao động từ 12,4 – 14,4 mg/L khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) giữa các nghiệm thức (Bảng 2). Hàm lượng COD thấp nhất ở nghiệm thức sử dụng ozone (12,4 mg/L) là do quá trình oxy hóa của ozone làm giảm hàm lượng COD trong nước (Tạ Văn Phương, 2006). Theo Boyd (1998), hàm lượng COD tốt nhất cho nuôi thủy sản phải nhỏ hơn 30 mg/L. Trong các bể thí nghiệm, COD cao nhất chỉ 14,4 mg/L cho thấy điều kiện bể ương ấu trùng của biển rất tốt và phù hợp cho sự phát triển của ấu trùng của biển. Hàm lượng TAN và nitrit thấp nhất ở nghiệm thức sử dụng ozone lần lượt là 1,46 mg/L và 0,22 mg/L khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) với hai nghiệm thức sử dụng hóa chất và sử dụng kháng sinh. Hàm lượng TAN và NO₂⁻ của nghiệm thức sử dụng ozone thấp là do ozon phản ứng trực tiếp hoặc gián tiếp với NH₃ và NO₂⁻ tạo thành N₂ (đối với NH₃) và NO₃⁻ đối với NO₂⁻ (Tanaka & Matsumura, 2003). Hàm lượng TAN thích hợp cho ương ấu trùng của biển không nên vượt quá 1 mg/L (Nghia et al., 2007) và không vượt quá 2,99 mg/L đối với NO₂⁻ (Seneriches-Abiera, 2007). Trong thí nghiệm này, hàm lượng TAN và NO₂⁻ ở nghiệm thức sử dụng hóa chất cao nhất là do tỷ lệ sống của ấu trùng của biển trong giai đoạn đầu của nghiệm thức này thấp, dẫn đến số lượng luân trùng và artemia trong bể ương thừa nhiều nên khi chúng chết sẽ phân hủy làm gia tăng hàm lượng TAN trong bể ương.

3.2. Biến động mật độ vi khuẩn tổng và vi khuẩn *Vibrio* spp

Bảng 3 cho thấy mật độ vi khuẩn tổng và vi khuẩn *Vibrio* spp ở nghiệm thức sử dụng ozone lần lượt là 0,86 x 10⁴ cfu/mL và 0,16 x 10⁴ cfu/mL, thấp nhất và khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) với các nghiệm thức còn lại. Kết quả này tương tự các nghiên cứu trước đây, khi định kỳ sục khí ozone vào

bể ương ấu trùng sẽ hạn chế sự gia tăng mật số của tổng vi khuẩn và vi khuẩn *Vibrio* spp nhờ vào khả năng sát khuẩn của ozone (Summerfelt et al., 2009; Tạ Văn Phương, 2006). Theo Trần Thị Tuyết Hoa và ctv. (2004), khả năng gây bệnh của *Vibrio* tùy thuộc vào từng chủng vi khuẩn *Vibrio* nhưng mật độ vi khuẩn *Vibrio* trong bể ương trong khoảng 10⁵ – 10⁷ cfu/mL sẽ gây độc cho hầu hết ấu trùng thủy sản. Kết quả thí nghiệm này cho thấy mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp dao động trong khoảng 0,16 x 10⁴ đến 0,29 x 10⁴ cfu/mL, chưa ảnh hưởng bất lợi đến sự phát triển của ấu trùng của biển. Bên cạnh đó, kết quả của thí nghiệm cũng cho thấy mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp (0,16 x 10⁴ cfu/ml) thấp nhất khi định kỳ sử dụng ozone trong quá trình ương ấu trùng.

Bảng 3. Mật độ vi khuẩn tổng và vi khuẩn *Vibrio* spp trong bể ương

Nghiệm thức	Trung bình	
	Vi khuẩn tổng (10 ⁴ cfu/mL)	<i>Vibrio</i> spp. (10 ⁴ cfu/mL)
Hóa chất	1,90±0,18 ^c	0,29±0,06 ^b
Ozone	0,86±0,12 ^a	0,16±0,02 ^a
Kháng sinh	1,39±0,19 ^b	0,22±0,02 ^{ab}

Các giá trị trên cùng một cột có số mũ khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

3.3. Tỷ lệ nhiễm protozoa

Tỷ lệ nhiễm Zoothamnium trên ấu trùng thấp nhất ở nghiệm thức sử dụng ozone (6,40 %) khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) với nghiệm thức sử dụng hóa chất (14,95 %) và nghiệm thức sử dụng kháng sinh (10,02 %) (Bảng 4). Mặc dù tỷ lệ nhiễm bệnh trên ấu trùng khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) giữa các nghiệm thức, nhưng trong quá trình quan sát thì ấu trùng chỉ nhiễm 1 – 3 cá thể *Zoothamnium* spp/ấu trùng của biển. Chính vì vậy,

cường độ nhiễm protozoa trên ấu trùng luôn ở mức thấp. Tỷ lệ nhiễm *Zoothamnium* spp cao nhất ở nghiệm thức sử dụng hóa chất (14,95 %) có thể do hàm lượng TAN và nitrit cao nhất ở nghiệm thức này, là điều kiện thuận lợi cho *Zoothamnium* sp phát triển (Jithendran et al., 2010; Jayasree et al., 2001). Hơn nữa, formol không có hiệu quả cao trong kiểm soát *Zoothamnium* khi nồng độ formol xử lý trong bể thấp hơn 10 ppm (Reddy et al., 1993). Tỷ lệ nhiễm ký sinh trùng thấp nhất ở nghiệm thức sử dụng ozone là do ozone đã cải thiện chất lượng nước như làm giảm hàm lượng TAN, làm giảm NO₂⁻ (Guzel-Seydim et al., 2004). Mặc khác ozone cũng hạn chế sự phát triển của ký sinh trùng thông qua các phản ứng oxy hóa. Theo Giese & Christensen (1954) trích dẫn bởi Lewis & Leong (1979), *Zoothamnium* spp chết hoàn toàn khi xử lý bằng ozone với nồng độ 0,04 ppm trong 2 giờ. Như vậy, kết quả thí nghiệm cho thấy có thể sử dụng ozone trong ương ấu trùng của biển để hạn chế *Zoothamnium* gây bệnh cho ấu trùng.

Bảng 4. Tỷ lệ nhiễm bệnh protozoa

Nghiệm thức	Tỷ lệ nhiễm bệnh (%)	Cường độ nhiễm bệnh
Hóa chất	14,95 ± 0,92 ^c	+
Ozone	6,40 ± 1,07 ^a	+
Kháng sinh	10,02 ± 1,48 ^b	+

Các giá trị trên cùng một cột có số mũ khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

Bảng 5. Tỷ lệ dị hình trên các phụ bộ của ấu trùng

Nghiệm thức	Gai lưng (%)	Gai hàm trên (%)	Gai ngạnh (%)
Hóa chất	1,27 ± 0,50 ^a	0,73 ± 0,42 ^a	0,67 ± 0,42 ^a
Ozone	2,00 ± 0,80 ^a	2,13 ± 0,61 ^b	1,67 ± 0,76 ^a
Kháng sinh	1,60 ± 0,69 ^a	1,47 ± 0,12 ^{ab}	1,27 ± 0,90 ^a

Các giá trị trên cùng một cột có số mũ khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

3.5. Chỉ số biến thái ấu trùng của biển

Trong suốt quá trình ương, ấu trùng của biển có xu hướng lột xác nhanh và đồng loạt hơn khi được sử dụng ozone. Nguyên nhân do ozone đã cải thiện được chất lượng nước bể ương, hạn chế ký sinh trùng và vi khuẩn phát triển trong bể ương (Bảng 2, 3 và 4). Chính vì vậy, chỉ số biến thái ở giai đoạn zoea₅ qua megalopa (sau 15 đến 17 ngày ương) và từ megalopa qua cua₁ (sau 25 ngày ương) của nghiệm thức này luôn cao nhất và khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) với các nghiệm thức còn lại (Bảng 6). Theo Nghia et al (2007), ấu trùng của mất 16 - 18 ngày cho các giai đoạn zoea và 7 - 8 ngày cho

3.4. Tỷ lệ dị hình trên ấu trùng

Tỷ lệ dị hình trên phụ bộ của ấu trùng của biển được trình bày ở Bảng 5. Tỷ lệ dị hình trên gai lưng, gai hàm trên và gai ngạnh của ấu trùng của biển trong thí nghiệm này dao động trong khoảng 0,67 đến 2,13 % có thể do hoạt động ăn lẫn nhau và gây tổn thương trong quá trình lột xác (Luppi & Spivak, 2007), căng thẳng bởi ô nhiễm môi trường (Beguer et al., 2008), lạm dụng thuốc kháng sinh và hóa chất (Beguer et al., 2008) đã dẫn đến ấu trùng dễ nhiễm bệnh và các bệnh này đã gây ra những tổn thương và dị hình về hình thái cơ thể (Gregati & Negreiros-Fransozo, 2009). Kết quả Bảng 5 cũng cho thấy tỷ lệ dị hình trên ấu trùng của nghiệm thức sử dụng ozone cao hơn các nghiệm thức còn lại có thể do ozone làm biến dạng tế bào và biểu mô của ấu trùng phình to (Reiser et al., 2010) hoặc ozone oxy hóa và làm tổn thương vỏ (Meunpol et al., 2003), đã dẫn đến hình thành những biến dạng nơi ấu trùng bị tổn thương sau khi chúng lột vỏ và hình thành vỏ mới, đặc biệt là trên ấu trùng của biển *Scylla serrata* (Pates et al., 2017). Samuelesen et al (2014) cho rằng tỷ lệ sống của ấu trùng tôm hùm sẽ giảm khi tỷ lệ dị hình ở chân bơi và đuôi từ 10 đến 15% vì chúng ảnh hưởng đến khả năng bắt mồi và bơi lội của ấu trùng. Tuy nhiên, tỷ lệ sống của ấu trùng của biển trong thí nghiệm này không bị ảnh hưởng bởi tỷ lệ dị hình, là do các dị hình này chủ yếu liên quan đến giáp đầu ngực (Gregati & Negreiros-Fransozo, 2009) và hình dạng của yếm của (Parkes et al., 2011).

giai đoạn Megalop. Theo Azam & Narayan (2013) và De Pedro et al., (2007) thì chỉ số biến thái của ấu trùng của biển sẽ thấp khi sử dụng kháng sinh hoặc hóa chất thường xuyên hoặc sử dụng ở nồng độ cao trong suốt quá trình ương ấu trùng. Qua kết quả thí nghiệm, chỉ số biến thái của ấu trùng của biển được cải thiện hơn khi sử dụng ozone trong quá trình ương. Như vậy, việc xử lý ozone trong ương ấu trùng của biển giúp ấu trùng lột xác đồng loạt hơn. Điều này có ý nghĩa quan trọng trong thực tế sản xuất giống cua, vì nó hạn chế được hiện tượng ăn nhau của ấu trùng của biển, đặc biệt là giai đoạn zoea₅ qua megalopa và từ megalopa qua cua₁.

Bảng 6. Chỉ số biến thái của ấu trùng cua biển

Ngày	Thí nghiệm		
	Hóa chất	Ozone	Kháng sinh
3	1,12 ± 0,04 ^a	1,30 ± 0,06 ^b	1,25 ± 0,02 ^b
5	1,76 ± 0,09 ^a	1,94 ± 0,01 ^b	1,92 ± 0,02 ^b
7	2,48 ± 0,05 ^a	2,79 ± 0,11 ^b	2,72 ± 0,03 ^b
9	3,00 ± 0,06 ^a	3,00 ± 0,05 ^a	3,00 ± 0,04 ^a
11	3,75 ± 0,07 ^a	3,87 ± 0,07 ^b	3,88 ± 0,04 ^b
13	4,63 ± 0,07 ^a	4,77 ± 0,05 ^b	4,59 ± 0,03 ^b
15	4,95 ± 0,03 ^a	4,96 ± 0,01 ^a	4,93 ± 0,03 ^a
17	5,19 ± 0,02 ^a	5,72 ± 0,07 ^b	5,68 ± 0,14 ^b
19	6,00 ± 0,00 ^a	6,00 ± 0,00 ^a	6,00 ± 0,00 ^a
21	6,00 ± 0,00 ^a	6,00 ± 0,00 ^a	6,00 ± 0,00 ^a
23	6,16 ± 0,06 ^a	6,28 ± 0,06 ^b	6,24 ± 0,03 ^{ab}
25	6,67 ± 0,05 ^a	6,84 ± 0,03 ^b	6,64 ± 0,10 ^a
27	7,00 ± 0,00 ^a	7,00 ± 0,00 ^a	7,00 ± 0,00 ^a

Các giá trị trên cùng một hàng có số mũ khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

3.6. Tăng trưởng của ấu trùng cua biển qua các giai đoạn

Tăng trưởng chiều dài của ấu trùng ở 3 thí nghiệm từ giai đoạn zoea₁ đến cua₁ được trình bày trong Bảng 7.

Bảng 7. Chiều dài (mm) các giai đoạn ấu trùng cua biển

Giai đoạn	Thí nghiệm		
	Hóa chất	Ozone	Kháng sinh
zoea ₁	1,64 ± 0,01	1,64 ± 0,01	1,64 ± 0,01
zoea ₂	2,16 ± 0,02 ^a	2,18 ± 0,02 ^c	2,16 ± 0,03 ^b
zoea ₃	2,65 ± 0,04 ^a	2,68 ± 0,03 ^b	2,68 ± 0,03 ^b
zoea ₄	3,61 ± 0,05 ^a	3,71 ± 0,02 ^c	3,63 ± 0,05 ^b
zoea ₅	4,48 ± 0,05 ^a	4,55 ± 0,04 ^c	4,52 ± 0,05 ^b
megalopa	4,20 ± 0,11 ^a	4,25 ± 0,06 ^b	4,24 ± 0,04 ^b
cua ₁	3,20 ± 0,05 ^a	3,23 ± 0,06 ^b	3,21 ± 0,05 ^{ab}

Các giá trị trên cùng một hàng có số mũ khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

Tăng trưởng về chiều dài của ấu trùng qua các giai đoạn cao nhất ở thí nghiệm sử dụng ozone và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) với thí nghiệm còn lại. Nguyên nhân do mật độ vi khuẩn, ký sinh trùng và chất lượng nước ở thí nghiệm sử dụng ozone luôn ở mức thấp nên ấu trùng bắt mồi tốt hơn, dẫn đến tăng trưởng của ấu trùng ở thí nghiệm này cũng tốt hơn. Theo Trần Ngọc Hải & Nguyễn Thanh Phương (2004), kích cỡ ấu trùng cua ở các giai đoạn zoea₁, zoea₂, zoea₃, zoea₄, zoea₅, megalopa lần lượt là 1,65; 2,18; 2,70; 3,54; 4,50; 4,01 và từ 2,0 đến 3,0 mm cho giai đoạn cua₁. Kết quả nghiên cứu này cho thấy việc sử dụng kháng sinh và hóa chất thường xuyên trong quá trình ương

sẽ ảnh hưởng đến tăng trưởng của ấu trùng cua biển. Do đó, cần có giải pháp hạn chế việc sử dụng kháng sinh và hóa chất trong thực tế ương ấu trùng cua biển.

3.7. Tỷ lệ sống

Tỷ lệ sống của ấu trùng cua biển qua từng giai đoạn luôn cao nhất ở thí nghiệm sử dụng ozone nhưng khác biệt không có ý nghĩa ($p > 0,05$) với thí nghiệm sử dụng kháng sinh. Tỷ lệ sống đến giai đoạn cua₁ cao nhất ở thí nghiệm sử dụng ozone (8,81 %) khác biệt không có ý nghĩa với thí nghiệm sử dụng kháng sinh (7,23 %), nhưng khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) với thí nghiệm sử dụng hóa chất (2,29 %) (Bảng 8). Việc lạm dụng các hóa chất và kháng sinh với liều lượng cao và thường xuyên đã gây độc cho ấu trùng, dẫn đến ấu trùng bơi lội chậm chạp, lắng đáy bể ương và làm giảm tỷ lệ sống của ấu trùng cua biển (De Pedro et al., 2007; Pates et al., 2017), đồng thời làm gia tăng nguy cơ hình thành các dòng vi khuẩn kháng thuốc trong quá trình ương (Zang et al., 2011) gây ảnh hưởng lớn đến nghề ương cua biển và các khía cạnh xã hội (Mezoud et al., 2016). Nghĩa et al (2007) cũng báo cáo rằng năng suất ấu trùng cua biển *S. paramamosian* đến giai đoạn zoea₄ cũng được cải thiện khi sử dụng ozone với nồng độ 0,06 ppm sục vào bể ương ấu trùng.

Bảng 8. Tỷ lệ sống (%) của ấu trùng cua biển qua các giai đoạn

Giai đoạn	Thí nghiệm		
	Hóa chất	Ozone	Kháng sinh
zoea ₁	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0
zoea ₂	73,8 ± 4,13 ^a	87,2 ± 4,88 ^b	86,1 ± 2,17 ^b
zoea ₃	40,1 ± 5,42 ^a	69,0 ± 3,60 ^b	66,9 ± 3,45 ^b
zoea ₄	34,7 ± 3,30 ^a	61,4 ± 1,59 ^b	57,1 ± 3,31 ^b
zoea ₅	25,9 ± 3,14 ^a	43,7 ± 3,22 ^c	35,1 ± 2,49 ^b
megalopa	19,8 ± 2,33 ^a	30,6 ± 3,54 ^b	26,6 ± 2,15 ^b
cua ₁	2,29 ± 0,94 ^a	8,81 ± 2,74 ^b	7,23 ± 1,01 ^b

Các giá trị trên cùng một hàng có số mũ khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

Kết quả tỷ lệ sống đến cua₁ của nghiên cứu này cũng phù hợp với kết quả khảo sát của Trần Ngọc Hải & Nguyễn Thanh Phương (2009) về tỷ lệ sống đến cua₁ tại các trại sản xuất giống cua biển dao động trong khoảng 5 – 11 %. Tuy nhiên, tỷ lệ sống cua biển khi ương bằng quy trình sử dụng ozone khác biệt không có ý nghĩa ($p < 0,05$) với quy trình sử dụng kháng sinh. Nhưng khi xét về khía cạnh môi trường, tính an toàn sinh học và khả năng bền vững của quy trình thì quy trình sử dụng ozone có nhiều triển vọng cho thực tế sản xuất giống cua biển hơn.

3.8. Hiệu quả kinh tế

Hiệu quả kinh tế trên 1 m³ nước ương được trình bày ở Bảng 9. Theo đó, năng suất cua₁, tổng thu và tỷ suất lợi nhuận cho một m³ nước ương ở nghiệm thức sử dụng ozone cao nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,05) với nghiệm thức sử dụng hóa chất, nhưng khác biệt không có ý nghĩa (p>0,05) với nghiệm thức sử dụng kháng sinh. Chi phí cho 1 m³ nước ương giữa các nghiệm thức dao động từ

2.996.000 đồng đến 3.130.000 đồng và thấp nhất ở nghiệm thức sử dụng ozone. Trần Ngọc Hải và Nguyễn Thanh Phương (2009) đã báo cáo tỷ suất lợi nhuận của các trại sản xuất giống cua biển ở Đồng bằng sông Cửu Long dao động trong khoảng -0,07 đến 2,07, trung bình là 0,83. Nhìn chung, tỷ suất lợi nhuận của thí nghiệm này cao và phù hợp với báo cáo của Trần Ngọc Hải và Nguyễn Thanh Phương (2009), đặc biệt là ở nghiệm thức sử dụng ozone.

Bảng 9. Hiệu quả kinh tế cho 1 m³ nước ương ấu trùng cua biển

Nghiệm thức	Hóa chất	Ozone	Kháng sinh
Năng suất Cua ₁ /m ³ (con)	4.573 ± 1.872 ^a	17.627 ± 2.637 ^b	14.467 ± 2.015 ^b
Giá bán (đ/con)	400 ± 0	400 ± 0	400 ± 0
Tổng thu (.000đ)	1.829 ± 749 ^a	7.050 ± 1.055 ^b	5.787 ± 806 ^b
Tổng chi (.000đ)	3.035 ± 0	2.996 ± 0	3.130 ± 0
Lợi nhuận (.000đ)	-1.205 ± 749 ^a	4.054 ± 1.055 ^b	2.657 ± 806 ^b
Tỷ suất lợi nhuận	-0,40 ± 0,25 ^a	1,35 ± 0,35 ^b	0,85 ± 0,26 ^b

Các giá trị trên cùng một hàng có số mũ khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,05)

4. KẾT LUẬN

Sử dụng ozone đã góp phần làm giảm mật độ vi khuẩn và ký sinh trùng trên ấu trùng cua tốt hơn khi sử dụng kháng sinh và hóa chất trong suốt quá trình ương.

Chỉ số biến thái, tăng trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng cua biển khi ứng dụng quy trình ozone cao hơn so với sử dụng kháng sinh và hóa chất. Do đó, nên ứng dụng ozone để thay thế quy trình sử dụng kháng sinh và hóa chất trong thực tế sản xuất giống cua biển.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

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

Baumann, P., Baumann, L., Bang, S.S., & Woolkalis, M.J. (1980). Reevaluation of the taxonomy of *Vibrio*, *Beneckea*, and *Photobacterium*: abolition of the genus *Beneckea*. *Current Microbiology*, 4(3), 127 – 132.

Boyd, C.E. (1998). Water Quality in Ponds for Aquaculture. Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University, Alabama, 482 pp.

Beguer, M., Pasquaud, S., Noel, P., Girardin, M., & Boet, P. (2008). First description of heavy skeletal deformations in *Palaemon* shrimp populations of European estuaries: the case of the Gironde (France). *Hydrobiologia*, 607(1), 225-229.

De Pedro, J.B., Quintio, E.T., & Parado-Esteva, F.D. (2007). Formalin as an alternative to

trifluralin as prophylaxis against fungal infection in mud crab *Scylla serrata* (Forsskål) larvae. *Aquaculture Research*, 38(14), 1554 -1562.

Dat, H.D. (1999). Preliminary studies on rearing of the larvae of the mudcrab (*Scylla paramamosain*) in South Vietnam. In: Keenan, C.P. and A.W. Blackshaw (Editors). Mud crab Aquaculture and Biology. Proceedings of an International Scientific Forum held in Darwin, Australia, 21 - 24 April 1997. ACIAR proceedings No. 78. Watson Ferguson and Company, Brisbane, Australia: 147 - 152.

Guzel-Seydim, Z. B., Bever, P.I., & Greene, A.K. (2004). Efficacy of ozone to reduce bacterial populations in the presence of food components. *Food Microbiology*, 21(4), 475 - 479.

Ganesh, K., Raj, Y.C.T.S., Perumal, S., Srinivasan, P., & Sethuramalingam, A. (2015). Breeding, larval rearing and farming of mangrove crab, *Scylla serrata* (Forsk., 1775). In: Perumal, S., A.R. Thirunavukkarasu. and P. Pachiappan (Editors). Advances in Marine and Brackishwater Aquaculture (pp. 164 – 172). Springer, India.

Gregati, R.A., & Negreiros-Franzoso, M.L. (2009). Occurrence of Shell disease and carapace abnormalities on natural population of *Neohelice granulata* (Crustacea: Varunidae) from a tropical mangrove forest, Brazil. *Marine Biodiversity Records*, 2(60), 1-3.

Hungria, D.B., Tavares, C.P.S., Pereira, L.A., Silva, U.A.T., & Ostrensky, A. (2017). Global status of production and commercialization of soft-shell crabs. *Aquaculture Interantional*, 25, 2213 – 2226.

Jithendran, K.P.M., Poornima, C., Balasubramanian, P., & Kulasekarapandian, S. (2010). Diseases of

- mud crabs (*Scylla spp.*): an overview. *Indian Journal Fish*, 57(3), 55 – 63.
- Jayasree, L., Janakiram, P., & Madhavi, R. (2001). Epibionts and parasites of *Machrobrachium rosenbergii* and *Metapenaeus dobsoni* from Gosthani estuary. *Journal of Natural History*, 35(2), 157-167.
- Lavilla-Pitogo, C.R., Lio-Po, G.D., Cruz-Lacierda, E.R., Alapide-Tendencia, E.V., & De la Peña, L.D. (2000). Diseases of Penaeid Shrimps in the Philippines. Second Edition, Aquaculture Extension Manual No. 16. SEAFDEC, Aquaculture Department, Iloilo, Philippines. 83p
- Lewis, D.H., & Leong, J.K. (1979). Use of ozone for crustacean disease prevention. Texas A and M University, College Station, Texas 77843. 12 pp
- Luppi, T.A., & Spivak, E.D. (2007). Morphology of megalopa and first crab of *Cyrtograpsus angulatus*, with comments on the presence of an anomalous first crab stage in brachyuran crabs. *Journal of Crustacean Biology*, 27(1), 80-89.
- Meunpol, O., Lopinyosiri, K., & Menasveta, P. (2003). The effects of ozone and probiotics on the survival of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture*, 220(1-4), 437 - 448.
- Nghia, T.T., Wille, M., Binh, T.C., Thanh, H.P., Danh, N.V., & Sorgeloos, P. (2007). Improved techniques for rearing mud crab *Scylla paramamosain* (Estampador 1949) larvae. *Aquaculture Research*, 38(14), 1539 – 1553.
- Nguyễn Việt Bắc. (2019). Ảnh hưởng của liều lượng *Lactobacillus acidophilus* lên tỷ lệ sống và biến thái của ấu trùng cua biển (*Scylla paramamosain* Estampador, 1949). *Tạp chí khoa học Công nghệ Thủy sản*, 4: 3 – 11.
- Nguyễn Việt Bắc & Vũ Ngọc Út. (2020) Ảnh hưởng của tần suất sử dụng ozone đến tỷ lệ sống và biến thái của ấu trùng cua biển (*Scylla paramamosain*). *Tạp chí khoa học Đại học Cần Thơ*, 56(6B), 237 – 245.
- Parkes, L., Qunito, E.T., & Le Vay, L. (2011). Phenotypic differences between hatchery-reared and wild mud crabs *Scylla serrata* and effects of conditioning. *Aquaculture International*, 19(2), 361 – 380.
- Pates, Jr. G.S., Qunitio, E.T., Qunitio, G.F., & Parado-Esteva, F.D. (2017). Morphological Deformities in Mud Crab *Scylla serrata* Juveniles Exposed to Antibiotics during the Larval Stage. *Aquaculture research*, 48(5), 2102 – 2112.
- Reiser, S., Schroeder, J.P., Wuertz, S., Kloas, K., & Hanel, R. (2010). Histological and physiological alterations in juvenile turbot (*Psetta maxima*, L.) exposed to sublethal concentrations of ozone-produced oxidants in ozonated seawater. *Aquaculture*, 307(1-2), 157 – 164.
- Reddy, K.A., Sinha, A., & Sinha, P.S.R.K. (1993). Efficacy of formalin for the treatment of Zoothamnium infection in freshwater prawn hatchery. *The third Indian fisheries forum proceeding*, 113 – 114.
- Samuelesen, O.B., Lunestad, B.T., Farestveit, E., Grefsrud, E.S., Hannisdal, R., Holmelid, B., Tjensvoll, T., & Agnalt, A.L. (2014). Mortality and deformities in European lobster (*Homarus gammarus*) juveniles exposed to the anti-parasitic drug teflubenzuron. *Aquatic Toxicology*, 149, 8 – 15.
- Seneriches-Abiera, M.L. (2007). Acute toxicity of nitrite to mud crab *Scylla serrata* (Forsska^o) larvae. *Aquaculture Research*, 38(14), 1495 – 1499.
- Summerfelt, S.T., Sharrer, M.J., Tsukuda, S.M., & Gearhart, M. (2009). Process requirements for achieving full-flow disinfection of recirculating water using ozonation and UV irradiation. *Aquaculture Engineering*, 40(1), 17 – 27.
- Talip, A., Onn, K.K., Chowdury, M.A., Din, W.M.W., & Yahya, K. (2017). The beneficial effects of multispecies *Bacillus* and probiotics in enhancing culture performance for mud crab *Scylla paramamosain* larvae culture. *Aquaculture international*, 25(2), 849 – 866.
- Trần Thế Mưu & Vũ Văn Sáng. (2016). Nghiên cứu tác nhân gây bệnh phát sáng do vi khuẩn *Vibrio harveyi* trên ấu trùng và giống cua xanh (*Scylla serrata*) trong trại sản xuất giống. *Tạp chí khoa học và công nghệ biển*, 16(2), 214 – 219.
- Tạ Văn Phương. (2006). Ứng dụng ozone xử lý nước và vi khuẩn *Vibrio* spp trong bể ương ấu trùng tôm sú. *Tạp chí khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 25 – 33.
- Tanaka, J., & Matsumura, M. (2003). Application of ozone treatment for ammonia removal in spent brine. *Advances in Environmental Research*, 7(4), 835 – 845.
- Trần Ngọc Hải & Nguyễn Thanh Phương. (2004). Giáo trình kỹ thuật sản xuất và nuôi giáp xác. Khoa Thủy sản. Đại Học Cần Thơ. 94 trang
- Trần Ngọc Hải & Nguyễn Thanh Phương. (2009). Hiện trạng kỹ thuật và hiệu quả kinh tế của các trại sản xuất giống cua biển ở Đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Khoa học - Đại học Cần thơ*, 12, 279 – 288.
- Trần Nguyễn Duy Khoa. (2018). Ảnh hưởng của probiotic (*Bacillus plicatilis*) lên chất lượng nước, tỷ lệ sống và hoạt tính enzyme tiêu hóa của ấu trùng cua biển (*Scylla paramamosain*). *Tạp chí khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 54(1), 1 – 8.