

# ẢNH HƯỞNG CỦA VI KHUẨN HỮU ÍCH LÊN CÁC YẾU TỐ MÔI TRƯỜNG VÀ TÔM SÚ (*PENAEUS MONODON*) NUÔI TRONG BỂ

Phạm Thị Tuyết Ngân<sup>1</sup>, Vũ Ngọc Út<sup>1</sup>, Trương Quốc Phú<sup>1</sup> và Nguyễn Hữu Hiệp<sup>2</sup>

## ASBTRACT

*A study was conducted at Cantho University to assess the efficiency of beneficial bacteria (probiotics) in improving water quality, growth and survival rate of shrimp performance. In this study, an experiment was designed with four treatments (control: no addition of bacteria), three replicates each in which the Bacillus strain (namely B37) isolated from shrimp ponds in Soc Trang was compared with two other beneficial bacteria in the probiotic products including CNSH (produced by the Bio-technology Institute, Cantho University) and PrawnBac (from USA). The experiment was implemented in 500 L composite tanks lined with a mud layer of 10 cm. Shrimp were stocked at a density of 50 ind.m<sup>-2</sup> and water salinity was maintained at 16 ppt during 40 days of culture. Some water parameters, total bacteria, Bacillus and Vibrio counts were monitored every 5 days. Growth and survival rates of shrimp were evaluated at the end. The results indicated that COD, TAN, TKN, TN in sediment, TP in water and sediment were significantly improved in treatments supplemented with probiotics. Bacillus densities were higher in B37 and CNSH than those in other treatments. Vibrio were depressed in the bacterial treatments. Growth and survival rates of shrimp were also significantly better in these treatments. Of three bacteria strains, the B37 showed significant effects on water quality improvement and shrimp performance compared to other bacterial strains in the probiotic products (P<0.05).*

**Keywords:** Water quality, sediment, Probiotic, Penaeus monodon

**Title:** Effects of beneficial bacteria on water quality and shrimp (*Penaeus monodon*) cultured in tanks

## TÓM TẮT

*Nhằm đánh giá hiệu quả cải thiện chất lượng nước, sinh trưởng và tỉ lệ sống của tôm của các dòng vi khuẩn có lợi phân lập trong ao nuôi tôm sú đã được nghiên cứu tại khoa Thủy sản, Đại học Cần Thơ. Thí nghiệm bao gồm 4 nghiệm thức (đối chứng không bổ sung vi khuẩn) với 3 lần lặp lại, trong đó dòng vi khuẩn Bacillus phân lập được từ ao tôm sú ở Sóc Trăng (B37) được so sánh với 2 loại chế phẩm sinh học khác là CNSH (do Viện Công nghệ sinh học, Đại học Cần Thơ sản xuất) và PrawnBac (từ Mỹ). Thí nghiệm được bố trí trong bể composite 500L được trải một lớp bùn 10 cm với mật độ tôm sú là 50con/m<sup>2</sup> ở độ mặn 16‰ trong thời gian 40 ngày. Vi khuẩn được bổ sung với mật độ 10<sup>5</sup>CFU/mL. Một số chỉ tiêu chất lượng nước, mật độ vi khuẩn tổng, Bacillus, Vibrio được theo dõi 5 ngày/lần. Tăng trưởng và tỉ lệ sống của tôm được đánh giá khi kết thúc thí nghiệm. Kết quả cho thấy các chỉ tiêu môi trường như COD, TAN, TKN, TN trong bùn, TP trong nước và trong bùn ở các nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn được cải thiện tốt hơn so với đối chứng. Mật độ Bacillus ở nghiệm thức B37 và CNSH cao hơn nghiệm thức còn lại. Vi khuẩn Vibrio sp. bị lấn át ở các nghiệm thức bổ sung vi khuẩn. Tỉ lệ sống và tốc độ tăng trưởng của tôm ở các nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn cao hơn có ý nghĩa*

<sup>1</sup> Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup> Viện NC & PT công nghệ sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

thống kê so với các nghiệm thức còn lại. Trong các dòng vi khuẩn có lợi, B37 cho kết quả xử lý tốt nhất, tốt hơn có ý nghĩa so với các nghiệm thức khác ( $P < 0,05$ ).

**Từ khóa:** Chất lượng nước, nền đáy, probiotic, tôm sú

## 1 GIỚI THIỆU

Trong gần hai thập kỷ qua nuôi trồng thủy sản đã phát triển mạnh mẽ theo hướng thâm canh hóa. Năng suất và sản lượng thủy sản không ngừng gia tăng, sản lượng thủy sản của thế giới năm 2008 lên đến trên 52 triệu tấn, tăng gấp trên 4 lần so với cuối thập kỷ 80 (FAO, 2008). Riêng diện tích nuôi tôm nước lợ ở Việt nam trong năm 2010 đạt trên 639.000 ha, sản lượng đạt gần 470.000 tấn. Tuy ngành sản xuất tôm giống còn nhiều bất cập nhưng nhìn chung chất lượng giống tôm nước lợ trong năm 2010 được kiểm soát chặt chẽ, giống tôm sú, tôm thẻ chân trắng đạt 43 tỷ con, cung cấp tại chỗ ở các tỉnh có điều kiện tự nhiên, môi trường phù hợp. Trong năm 2010 mặc dù người nuôi tôm trong nước gặp không ít khó khăn nhưng vẫn thu được lợi nhuận, sản xuất và tiêu thụ tôm vẫn thu được kết quả khả quan. Theo Tổng cục Thủy sản (Bộ NN & PTNT), năm 2010 diện tích nuôi tôm nước lợ trong cả nước bị thiệt hại hơn 60.000 ha, trong đó diện tích tôm bị bệnh là 26.000 ha chiếm hơn 4% diện tích nuôi cả nước. Bên cạnh thiệt hại về dịch bệnh, người nuôi tôm còn đối diện với không ít khó khăn do giá thức ăn thủy sản liên tục tăng (hoinghecvietnam.org.vn, 2011).

Cùng với sự gia tăng sản lượng, vấn đề môi trường cũng ngày càng trở nên quan ngại hơn. Sự tổng thải nước và chất thải rắn không qua xử lý từ các hệ thống nuôi thâm canh ra ngoài môi trường cùng với nước thải công nghiệp, sinh hoạt đã gây ô nhiễm nghiêm trọng nguồn nước và phá hủy các vùng sinh thái nuôi thủy sản làm cho các vi sinh vật gây phát triển và lan rộng một cách nhanh chóng. Theo Viện nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản 2 (2008), có tới 98% diện tích nuôi cá tra thải trực tiếp nước thải và bùn thải vào nguồn nước tự nhiên không qua xử lý. Hậu quả của việc thâm canh hóa nhưng môi trường không được kiểm soát là dịch bệnh lan tràn rộng khắp trong suốt nhiều năm qua và gây tổn thất lớn nhất là đối với nghề nuôi tôm sú.

Sử dụng các vi sinh vật hữu ích (Probiotic) được phân lập từ bùn đáy và nước ao nuôi để giải quyết vấn đề quản lý nước nuôi là xu hướng hiện nay trên thế giới nói chung và Việt Nam nói riêng. Tỷ lệ nông dân sử dụng chế phẩm sinh học tăng dần từ 35% năm 2003 lên 98% năm 2006, sản phẩm chế phẩm sinh học tuy không đa dạng như thuốc và hóa chất nhưng tỷ lệ nông dân sử dụng nhiều hơn trong việc xử lý nước, tạo màu, hấp thu khí độc trong nước. Tỷ lệ các hộ sử dụng chế phẩm sinh học nhiều hơn 10 lần/vụ có hiệu quả cao hơn các hộ sử dụng ít hơn 6 lần vụ (Nguyễn Hữu Đức, 2007). Hiện nay, ở nước ta chế phẩm sinh học được sử dụng rất phổ biến để cải thiện chất lượng nước. Tuy nhiên, việc đánh giá hiệu quả sử dụng của chế phẩm sinh học thông qua sự tồn tại, phát triển và tác động của các nhóm vi sinh vật hữu ích lên môi trường nuôi vẫn chưa được nghiên cứu nhiều.

## 2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Phương pháp bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí trong bể composite 500L được trải một lớp bùn 10 cm với mật độ tôm sú là 50con/m<sup>2</sup> ở độ mặn 16‰ trong thời gian 40 ngày. Vi khuẩn được bổ sung với mật độ 10<sup>5</sup>CFU/mL, nhịp bổ sung trước khi thả tôm và sau khi thả tôm 5 ngày/lần. Một số chỉ tiêu như chất lượng nước, mật độ vi khuẩn tổng, *Bacillus*, *Vibrio* được theo dõi 5 ngày/lần.

Các dòng vi khuẩn hữu ích được bổ sung theo 4 nghiệm thức khác nhau, mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần. Trong đó dòng *Bacillus cereus* G9842 (B37) có nguồn gốc từ Khoa Thủy Sản, Đại học Cần Thơ, được phân lập từ ao nuôi tôm sú huyện Vĩnh Châu, Sóc Trăng. Prawn Bac (PB) là chế phẩm sinh học được sản xuất tại Mỹ có thành phần là *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus amyloliquefaciens* và các loại enzym như Protease, Amylase, Esterase, Cellulose, Xylanase. Chế phẩm sinh học từ viện Nghiên cứu & phát triển Công nghệ sinh học, Đại Học Cần Thơ (CNSH), thành phần gồm có *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas* sp, nấm men *Lactobacillus* và nghiệm thức đối chứng, không bổ sung vi sinh vật hữu ích (ĐC).

Tôm được cho ăn bằng thức ăn công nghiệp TomBoys với liều lượng theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Tần suất cho ăn 5 lần/ngày vào lúc 06 giờ, 10 giờ, 14 giờ, 18 giờ, 22 giờ. Các yếu tố thủy lý hóa bao gồm pH, nhiệt độ, DO, COD, TN nước, TN Bùn, TAN được thu mỗi 5 ngày cùng lúc với mật độ tổng vi khuẩn, vi khuẩn *Bacillus*, vi khuẩn *Vibrio*. Tăng trưởng và tỉ lệ sống của tôm được ghi nhận vào cuối thí nghiệm.

### 2.2 Phương pháp nuôi tăng sinh và xác định mật độ vi khuẩn

#### 2.2.1 Phương pháp nuôi tăng sinh vi khuẩn

Dòng vi khuẩn *Bacillus cereus* G9842 (B37) được phục hồi trên môi trường TSA, sau đó được tiếp tục nuôi tăng sinh bằng môi trường Luria Bertani (LB). Sau khi nuôi tăng sinh, mật độ vi khuẩn được xác định bằng phương pháp đo DO ở bước sóng 600nm. Các chế phẩm sinh học (CPSH và PB) được nuôi cấy trên máy lắc 1-2 giờ trước khi được đưa vào bể ương. Mật độ vi khuẩn *Bacillus* được xác định ở tất cả các nghiệm thức 10<sup>5</sup>CFU/mL.

#### 2.2.2 Phương pháp xác định mật độ tổng vi khuẩn và *Vibrio*

Nước muối sinh lý (0,85%) đã tiệt trùng ở 121°C trong 20 phút dùng để pha loãng mẫu được chứa trong các ống nghiệm 9mL. Môi trường TSA (Trypticase Soya Agar) + 1,5% muối (TSA<sup>+</sup>) và TCBS (Thiosulphate Citrate Bile Sucrose Agar) được chuẩn bị để cấy vi khuẩn. Một gam mẫu bùn được chuyển vào ống nghiệm chứa 9mL nước muối sinh lý đã tiệt trùng, trộn đều bằng máy Vortex khoảng 1 phút, được độ pha loãng 10<sup>-1</sup>. Tiếp tục pha loãng đến khi đạt được độ pha loãng thích hợp, bắt đầu từ độ pha loãng 10<sup>-2</sup> chỉ lắc 30 giây và để lắng 15 giây. Sau đó, 3 độ pha loãng thích hợp đã được chọn cho mật độ của vi khuẩn tổng cộng và vi khuẩn *Vibrio*. Từ mỗi nồng độ pha loãng, 100μL của mẫu nước đã được hút ra và cho vào các đĩa môi trường TSA<sup>+</sup> và TCBS, dùng que thủy tinh trải đều. Mỗi nồng độ pha loãng lặp lại 3 lần. Đĩa môi trường sau khi tán được ủ ở 30°C trong 24 – 28 giờ và mật độ vi khuẩn được xác định sau khi ủ.

### 2.2.3 Phương pháp xác định mật độ vi khuẩn *Bacillus sp*

Phương pháp pha loãng mẫu bùn được thực hiện giống như ở phần xác định vi khuẩn vibrio. Sau khi pha loãng, nhiệt kế được đặt vào một ống nghiệm khác có chứa nước và tất cả các ống nghiệm vừa pha loãng và ống nghiệm có nhiệt kế được xếp vào cùng một giá và nước nóng 80°C được rót vào trong ống nghiệm có nhiệt kế. Khi nhiệt kế đạt đến mức 80°C trong thời gian 10 phút thì các ống nghiệm được lấy ra để phân tích (Nguyễn Lâm Dũng, 1984). Ở mỗi ống nghiệm, 100µL dung dịch huyền phù vi khuẩn được hút ra bằng micropipette và cho vào các đĩa chứa môi trường chuyên biệt của giống *Bacillus* và được tán đều bằng que thủy tinh đến khi mẫu khô. Mỗi mẫu bùn được chọn 3 độ pha loãng khác nhau, mỗi độ pha loãng lặp lại 3 lần. Mẫu được ủ ở 28°C trong 24 - 48 giờ và mật độ vi khuẩn được xác định ngay sau khi ủ.

### 2.3 Phương pháp thu và phân tích chất lượng nước

Các chỉ tiêu như nhiệt độ, pH, đều được ghi nhận trước khi tiến hành thu mẫu. Các chỉ tiêu thủy hóa (DO, COD, TAN, TN nước, TN bùn) được thu cùng thời điểm với thu mẫu vi sinh. Tất cả các chỉ tiêu môi trường được phân tích theo phương pháp chuẩn (APHA *et al.*, 1995), đang được áp dụng tại phòng phân tích chất lượng nước, Khoa Thủy sản, trường Đại học Cần Thơ. Mẫu nước được thu bằng ống falcon tiệt trùng, cách mặt nước khoảng 20-30cm. Mẫu được trữ lạnh ngay sau khi thu ở 4°C và được phân tích trong vòng 2 giờ.

### 2.4 Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu thu thập được tính toán và thống kê mô tả bằng phần mềm Excel 2003 for Windows. Số liệu được so sánh thống kê ANOVA một nhân tố và phép thử DUNCAN bằng chương trình SPSS 11.5.

## 3 KẾT QUẢ THẢO LUẬN

### 3.1 Biến động các chỉ tiêu môi trường nước

#### **Nhiệt độ nước và pH:**

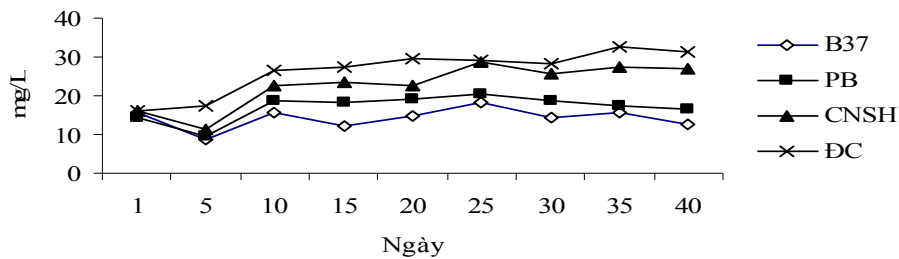
Nhiệt độ nước dao động từ 28-32°C và không biến đổi trong các nghiệm thức thí nghiệm do được bố trí cùng một khu vực. Theo Whetstone *et al.* (2002) tôm sú có thể sống và sinh trưởng tốt nhiệt độ từ 23-34°C và theo Boyd *et al.*, (2002) chênh lệch nhiệt độ ngày đêm không quá 5°C trong ngày được xem là tối ưu cho nuôi tôm. pH trong bốn nghiệm thức dao động từ (7,41-8,0), không có sự khác biệt giữa các nghiệm thức không có ý nghĩa do thời gian bố trí thí nghiệm ngắn nên biến động pH là không đáng kể phù hợp cho sự phát triển của tôm.

#### **DO**

Kết quả thí nghiệm cho thấy oxy hòa tan giữa các nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn và đối chứng khác biệt không có ý nghĩa ( $p > 0,05$ ). Oxy hòa tan trong thí nghiệm chủ yếu phụ thuộc vào quá trình sục khí. Theo Boyd, (2003) hàm lượng DO ở mức thích hợp cho sự sinh trưởng tối ưu của tôm sú từ 5-6 mg/L. Oxy hòa tan trong nước lý tưởng cho tôm là trên 5 mg/L và không vượt quá 15 mg/L (Whetsone *et al.* 2002).

**COD**

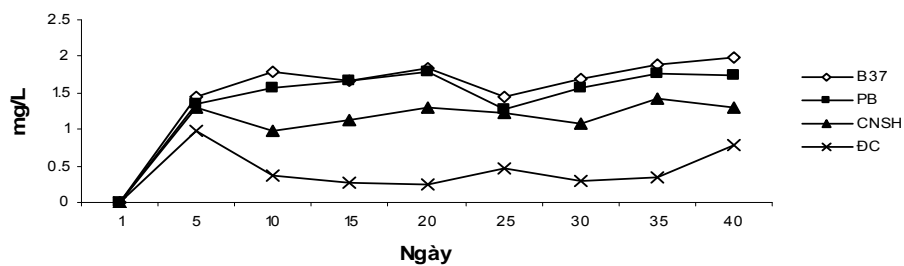
COD là lượng tiêu hao oxy trong quá trình phân hủy vật chất hữu cơ, là chỉ số đo mức độ giàu hữu cơ của nước ao. COD trong thí nghiệm có khuynh hướng tăng nhẹ và ổn định trong các lần thu mẫu (Hình 1). Ở nghiệm thức đối chứng COD cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ) so với các nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn. Kết quả cũng cho thấy COD ở nghiệm thức B37 dao động từ 8,7- 18,3 mg/L và nghiệm thức CNSH (9,5-20,4 mg/L) khác biệt có ý nghĩa thống kê so với hai nghiệm thức còn lại ( $p < 0,05$ ). Điều này có thể do hoạt động của các dòng vi khuẩn bổ sung trong hai nghiệm thức B37 và CNSH đã tham gia phân hủy các chất hữu cơ. Nghiệm thức PB (11,2- 28,7 mg/L) khác biệt không có ý nghĩa so với nghiệm thức ĐC (16,1-32,6 mg/L) ( $p > 0,05$ ), chứng tỏ hoạt động phân hủy vật chất hữu cơ của vi khuẩn ở nghiệm thức này thấp hơn so với 2 nghiệm thức B37 và CNSH.



Hình 1: Biến động COD trong thí nghiệm

**TAN**

Kết quả trình bày ở hình 2 cho thấy TAN ở các nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn cao hơn có ý nghĩa thống kê so với đối chứng ( $p < 0,05$ ). Đặc biệt TAN ở nghiệm thức B37 dao động trong khoảng ( $1,69 \pm 0,5$  mg/L) đạt giá trị cao nhất. Điều này chứng tỏ sự hoạt động phân hủy hữu cơ dư thừa của vi khuẩn ở nghiệm thức này mạnh hơn các nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn khác. Kết quả cũng cho thấy hàm lượng TAN tăng nhanh vào tuần thứ nhất và ổn định vào các tuần tiếp theo là do tuần đầu không có sự hoạt động của nhóm vi khuẩn nitrate hóa trong ao. Dần về cuối thời gian nuôi nhóm vi khuẩn này phát triển nên lượng TAN sinh ra đã được sử dụng.

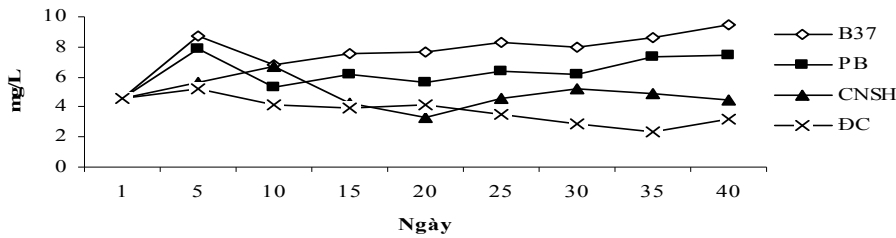


Hình 2: Biến động TAN trong thí nghiệm

Nghiệm thức vi khuẩn dòng B37 và nghiệm thức CNSH đều có TAN cao, chứng tỏ vai trò phân hủy hữu cơ của các hai dòng vi khuẩn được bổ sung tốt hơn.

**Tổng đạm trong nước (TN nước)**

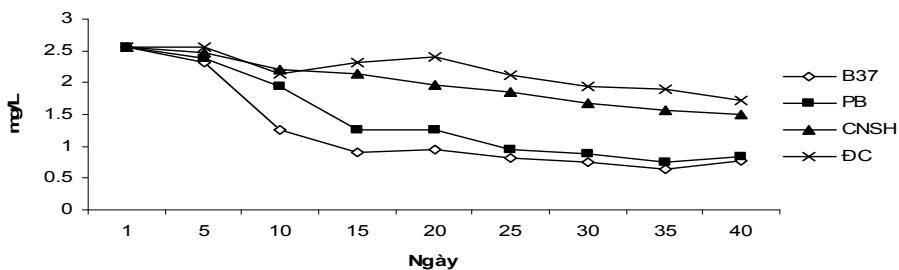
TN trong nước ở nghiệm thức B37 cao nhất so với các nghiệm thức còn lại (Hình 3). Xu hướng TN tăng dần về cuối vụ nuôi. TKN ở nghiệm thức B37 cao hơn (9,3 mg/L) so với nghiệm thức đối chứng (3,21 mg/L). TN trong nước của nghiệm thức chứa vi khuẩn cao hơn có thể là do sự vô cơ hóa các vật chất hữu cơ của các dòng vi khuẩn dị dưỡng *Bacillus* ở bùn đáy đã hòa tan vào môi trường nước. Nghiệm thức B37 có TN cao nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại ( $p < 0,05$ ). Điều này chứng tỏ hoạt động phân hủy hữu cơ ở bùn đáy bể nuôi của dòng vi khuẩn B37 đạt hiệu quả cao.



Hình 3: Biến động TN (Nước) trong thí nghiệm

**Tổng đạm trong bùn (TN Bùn)**

Tổng đạm trong bùn được thể hiện trong hình 4. Qua hình này cho thấy TN trong 10 ngày đầu cao nhất, sau đó có xu hướng giảm tùy theo nghiệm thức. Nghiệm thức B37 thấp nhất (0,77 mg/L), có thể vi khuẩn chuyển hóa đạm dạng hữu cơ sang vô cơ và hòa tan vào trong môi trường nước. Trong khi đó TN cao nhất (1,72 mg/L) ở nghiệm thức đối chứng, do bể đối chứng không bổ sung vi khuẩn *Bacillus*, nên vật chất hữu cơ còn tồn đọng nhiều ở lớp mùn bã hữu cơ. Trong 2 nghiệm thức còn lại, nghiệm thức PB có TN thấp hơn, có thể hoạt động phân hủy vật chất hữu cơ của nhóm này thấp và mật độ vi khuẩn *Bacillus* cũng thấp hơn (Hình. 5). Nhìn chung vật chất hữu cơ tích lũy ở bùn đáy ở các nghiệm thức có vi khuẩn bổ sung đều thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng ( $p < 0,05$ ).

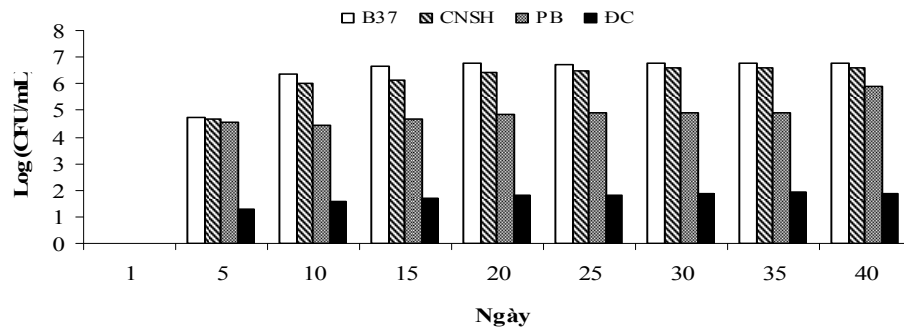


Hình 4: Biến động TN (Bùn) trong thí nghiệm

### 3.2 Biến động mật độ vi khuẩn trong các nghiệm thức

#### 3.2.1 Biến động mật độ vi khuẩn *Bacillus* trong bể nuôi

Kết quả phân tích cho thấy mật số vi khuẩn *Bacillus* trong nước ở các nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn dao động từ  $10^2$ - $10^3$  CFU/mL và cao hơn có ý nghĩa thống kê so với đối chứng ( $10^1$ - $10^2$  CFU/mL). Mật độ *Bacillus* ở nghiệm thức B37 và CNSH cao hơn có ý nghĩa thống kê so với 2 nghiệm thức còn lại. Nghiệm thức B37 có mật độ *Bacillus* cao nhất ( $9 \times 10^2$ - $5,6 \times 10^3$  CFU/mL) và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với hai nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn. So với nước, mật độ vi khuẩn trong bùn cao hơn khoảng 1- 2 đơn vị Log. Biến động mật số trong bùn cũng theo khuynh hướng như trong nước. Mật độ *Bacillus* trong bùn ở nghiệm thức B37 cũng có xu hướng duy trì ổn định và đạt giá trị cao nhất ( $6,2 \times 10^6$  CFU/g).



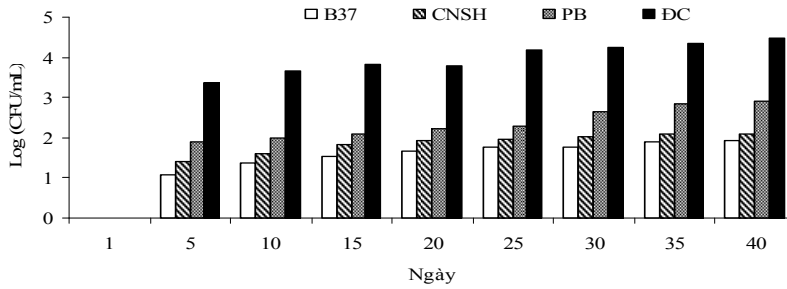
Hình 5: Biến động mật độ *Bacillus* trong bùn

Dòng vi khuẩn B37 được phân lập từ ao nuôi tôm sú thâm canh, nên có thể phát triển và tồn tại tốt trong môi trường nuôi tôm. Theo Verschuere *et al.*, (2000), nguyên tắc chung để ứng dụng thành công vi khuẩn hữu ích là nên sử dụng loài phân lập trên chính môi trường ứng dụng, sẽ làm tăng hiệu quả xử lý hơn. Nghiệm thức bổ sung chế phẩm sinh học CNSH có mật số vi khuẩn *Bacillus* dao động từ  $4,5 \times 10^4$ - $3,9 \times 10^6$  CFU/ml và các chỉ tiêu chất lượng nước cũng được cải thiện đáng kể. Loài vi khuẩn trong chế phẩm này cũng có nguồn gốc từ ao nuôi tôm sú thâm canh. Qua kết quả phân tích có thể kết luận chủng B37 và CNSH luôn tốt hơn các nghiệm thức còn lại về khả năng phân hủy hữu cơ và kháng năng tồn tại trong bể nuôi.

#### 3.2.2 Biến động mật độ tổng *Vibrio* trong bể nuôi

Tổng *Vibrio* trong nghiệm thức đối chứng luôn cao hơn các nghiệm thức bổ sung vi khuẩn, và có sự khác biệt ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) với các nghiệm thức còn lại (Hình 6). Tổng vi khuẩn *Vibrio* ở các nghiệm thức bổ sung vi khuẩn đều thấp và dao động ổn định trong suốt quá trình thí nghiệm. Nguyên nhân có thể là do sự bổ sung định kỳ các vi khuẩn từ chế phẩm sinh học đã cạnh tranh về nơi cư trú, thức ăn nên đã làm hạn chế sự phát triển của nhóm vi khuẩn *Vibrio*. Mặt khác, theo Rengpipat (1998) thì bào tử *Bacillus* có thể đóng vai trò như một tác nhân sinh học giúp làm giảm *Vibrio* trong hệ thống nuôi thủy sản. Ở nghiệm thức B37 mật độ *Vibrio* rất thấp, điều này cho thấy các dòng *Bacillus* bổ sung có khả năng làm giảm sự phát triển của *Vibrio*. Kết quả kiểm tra mật độ vi khuẩn trong bùn cũng theo qui

luật trên. Theo nhận định của Moriarty (1998) sau khi sử dụng Probiotic (chứa chủng *Bacillus subtilis*) thì tỷ lệ sống của tôm sú tăng, hạn chế được mầm bệnh do vi khuẩn phát sáng *Vibrio* sp. trong nước và trong bùn đáy ao. Ngoài ra, Hasting và Nealson (1981) cũng cho rằng *Bacillus* có thể tạo ra một số chất kháng khuẩn hoặc một vài sản phẩm có thể tiêu diệt *Vibrio harveyi*. *B. subtilis* cũng được cho là có khả năng tiết ra một số hợp chất diệt khuẩn và diệt nấm. Sản phẩm các kháng sinh được tiết ra là diffcicidin và oxydiffcicidin có khả năng kháng các loài vi khuẩn hiếu khí và kỵ khí (Zimmerman *et al.*, 1978). Với các khả năng này, vi khuẩn *Bacillus* dòng B37 đã giúp hạn chế sự phát triển của *Vibrio* trong thí nghiệm.

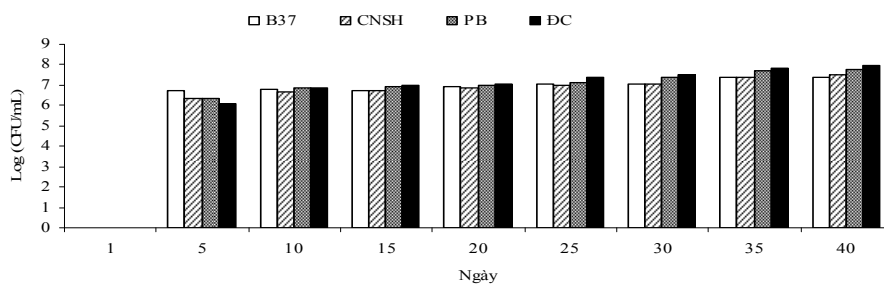


Hình 6: Biến động mật độ *Vibrio* trong bùn

Ở nghiệm thức đối chứng tổng vi khuẩn *Vibrio* tăng dần về cuối đợt thí nghiệm, với mật độ  $9 \times 10^2 - 7,2 \times 10^3$  CFU/mL trong nước và  $1,2 \times 10^3 - 2,1 \times 10^4$  CFU/g trong bùn. Nguyên nhân là do bể nuôi về cuối thí nghiệm có sự tích tụ thức ăn và phân tôm dư thừa, tạo môi trường dơ bẩn là môi trường thuận lợi cho *Vibrio* phát triển.

### 3.2.3 Biến động mật độ tổng vi khuẩn trong bể nuôi

Kết quả phân tích cho thấy tổng vi khuẩn trong bùn và trong nước lần lượt dao động từ  $1,2 \times 10^6 - 9,2 \times 10^7$  CFU/g và  $1,1 \times 10^3 - 2,7 \times 10^4$  CFU/mL. Mật độ vi khuẩn tổng ở nghiệm thức đối chứng tăng rất nhanh và luôn cao hơn có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại. Tổng vi khuẩn của nghiệm thức đối chứng cao hơn các nghiệm thức khác có thể phần lớn do nhóm vi khuẩn *Vibrio* chiếm ưu thế. Ở nghiệm thức bổ sung vi khuẩn, tổng vi khuẩn trong bùn đáy chủ yếu là nhóm vi khuẩn *Bacillus* sp. Điều này cũng phù hợp với các nghiên cứu trước đây khi bổ sung vi khuẩn định kỳ vào bể nuôi sẽ làm hạn chế sự phát triển của các nhóm vi khuẩn có hại khác (Phạm Thị Tuyết Ngân và Trương Quốc Phú, 2010)



Hình 7: Biến động mật độ tổng vi khuẩn (trong bùn) trong thí nghiệm



**3.3 Tốc độ tăng trưởng tuyệt đối và tỷ lệ sống của tôm:**

Kết quả tăng trọng khi kết thúc thí nghiệm được thể hiện trong Bảng 1. Tôm trong các nghiệm thức bổ sung vi khuẩn có tốc độ tăng trưởng khác biệt có ý nghĩa thống kê với nghiệm thức đối chứng ( $p < 0,05$ ). Nghiệm thức B37 có tốc độ tăng trưởng trung bình cao nhất ( $0,1 \pm 0,03$  g/ngày) và khác biệt với hai nghiệm thức bổ sung vi khuẩn còn lại. Việc bổ sung vi khuẩn vào bể thí nghiệm nhằm cải thiện môi trường sống tốt nhất cho tôm, giúp giảm các yếu tố gây hại như  $NH_3$ ,  $H_2S$ ,... 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.

**Bảng 1: Tốc độ tăng trưởng tuyệt đối của tôm trong các nghiệm thức**

Nghiệm thức	B37	CNSH	PB	Đối chứng
Tốc độ tăng trưởng trung bình (g/ngày)	$0,1 \pm 0,03^a$	$0,06 \pm 0,01^b$	$0,06 \pm 0,01^b$	$0,04 \pm 0,02^c$
Tỷ lệ sống (%)	$98 \pm 2,3^a$	$94 \pm 3,5^a$	$89 \pm 3,4^b$	$70 \pm 6,4^c$

Tỉ lệ sống của tôm ở nghiệm thức B37 và CNSH cao nhất lần lượt là 98% và 94% và sai khác rất có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng (70%) và nghiệm thức PB (89%). Tuy nhiên, tỉ lệ sống của tôm ở 2 nghiệm thức B37 và CNSH khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $P > 0,05$ ).

Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Moriarty (1998), tác giả đã sử dụng probiotic (chứa dòng *Bacillus*) trong bể nuôi tôm sú thì tỷ lệ sống của tôm tăng cao hơn đối chứng. Ngoài ra, theo Vaseeharan *et al.* (2003) khi sử dụng vi khuẩn *Bacillus* trong ao nuôi tôm giúp tăng cường sự tăng trưởng và nâng cao tỉ lệ sống của tôm sú.

**4 KẾT LUẬN**

Dòng vi khuẩn B37 và các dòng vi khuẩn chứa chế phẩm CNSH đều có các chỉ số chất lượng nước tốt hơn so với đối chứng và chế phẩm PB; mật độ vi khuẩn *Bacillus* sp. luôn được duy trì ổn định.

Tổng vi khuẩn *Vibrio* của nghiệm thức bổ sung vi khuẩn luôn thấp hơn nghiệm thức đối chứng.

Tôm trong các nghiệm thức bổ sung vi khuẩn hữu ích có tốc độ tăng trưởng và tỉ lệ sống cao hơn đáng kể tôm ở nghiệm thức đối chứng.

Dòng vi khuẩn B37 phân lập từ các ao nuôi tôm sú ở Sóc Trăng thể hiện tính ưu việt của một dòng vi sinh vật hữu ích trong việc xử lý mùn bã hữu cơ, cải thiện chất lượng nước và sinh trưởng của tôm sú nuôi so với các dòng vi khuẩn từ các chế phẩm sinh học khác.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- APHA, AWWA, WEF, 2005. Standard method for the examination of water and wastewater (19 th Edition). Washington DC, American Public Health Association (APHA).
- Bộ Thủy Sản, 2006. Báo cáo đánh giá kết quả thực hiện chương trình phát triển nuôi trồng thủy sản giai đoạn 2000-2005 và biện pháp thực hiện đến năm 2010. Hà Nội, 168 trang
- Boyd, C.E. 1990. Water quality in pond for aquaculture. Birmingham Publishing Co., Birmingham, USA. 482p.
- Boyd C.E., Hargreaves J.A. & Clay J.W. (2002). Codes of Practice and Conduct of Marine Shrimp Aquaculture. Report prepared under the World Bank, NACA, WWF and FAO Consortium Programme on shrimp farming and the environment. Published by the Consortium. World Bank, Washington, DC, USA, 31pp.
- Boyd, C.E. 2003. Bottom soil and water quality Management in shrimp ponds. Journal of applied Aquaculture; vol. 13, no.1/2; pp.11-33, 2003 ISSN: 1045-4438.
- FAO (2008). Fisheries and aquaculture statistic. FAO Yearbook, 220 p.
- Verschuere, L., Rombaut G., Sorgeloos P., & Verstraete W., 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. Microbiology and Molecular Biology Review 64, 655-671.
- Rengpipat, S., W. Phianphak, S. Piyatirativivorakul and P. Menasveta, 1998. Effects of a probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth. Aquaculture 167, 301-313.
- Hasting, J.W and K.H. Nealson., 1981. The symbiotic luminous bacteria. In: the Prokaryotes II. Springer-Verlag, New York, 1960p.
- Nguyễn Lân Dũng. 1983 Thực tập vi sinh vật học. Nhà xuất bản Đại Học và Trung học chuyên nghiệp Hà Nội.
- Phạm Thị Tuyết Ngân và Trương Quốc Phú, 2010. Biến động các yếu tố môi trường và mật độ vi khuẩn *Bacillus* sp trong bể nuôi tôm sú. Trong tạp chí khoa học, Đại học Cần Thơ, 2010, số: 14B, trang 29-42.
- Vaseeharan, B and Ramasamy, P. 2003. Control of pathogenic *Vibrio spp* by *Bacillus subtilis* BT23, a possible probiotic treatment for black tiger shrimp *Penaeus monodon*. In The society for Applied Microbiology, 36, 83-87.
- Whetstone, J.M., G. D. Treece, C. L. B and A. D. Stokes, 2002. Opportunities and Contrains in Marine Shrimp Farming. Southern Regional Aquaculture Center (SRAC) publication No. 2600 USDA.
- Moriarty, D.J.W. 1998. Control of luminous *Vibrio* species in Penaeid aquaculture ponds. Aquaculture 164 : 351-258.
- Zimmerman SB, Schwartz CD, Monaghan RL, Pleak BA, Wiessberger B, Gilfillan EC, Mochales S, Hernandez S, Currie SA, Tejera E, Stapley EO., 1987. Difficidin and oxydifficidin: Novel broad spectrum antibacterial antibiotics produced by *Bacillus subtilis*. J. Antibiotics, 40(12): 1677-1681.