

ẢNH HƯỞNG LIỀU LƯỢNG BỔ SUNG CHẾ PHẨM SINH HỌC LÊN VIBRIO VÀ TĂNG TRƯỞNG CỦA TÔM THẺ CHÂN TRẮNG (*Litopenaeus vannamei*) ỨNG THEO CÔNG NGHỆ BIOFLOC

Huỳnh Thanh Tới*, Nguyễn Thị Hồng Vân, Phạm Thị Tuyết Ngân

Khoa Thủy sản, Đại học Cần Thơ

*Tác giả liên hệ: httoi@ctu.edu.vn

Ngày nhận bài: 10.10.2018

Ngày chấp nhận đăng: 15.03.2019

TÓM TẮT

Thí nghiệm thực hiện nhằm đánh giá liều lượng bổ sung chế phẩm sinh học (probiotics) trong ương tôm thẻ chân trắng theo công nghệ biofloc lên sinh trưởng của tôm thẻ (*Litopenaeus vannamei*) giai đoạn tôm giống. Tôm thẻ giống (khối lượng là 0,007 g/cá thể; chiều dài là 0,9 cm/cá thể) được ương với mật độ là 2 con/L trong bể 100 L chứa 50 L nước biển 30‰. Probiotics được bổ sung mỗi ngày theo mỗi nghiệm thức với liều lượng 0,01 g/L (liều khuyến cáo) và ½, 2, 3, 4 lần liều khuyến cáo so với nghiệm thức đối chứng không bổ sung probiotics. Kết quả cho thấy sau 20 ngày ương tỉ lệ *Vibrio*/vi khuẩn tổng thấp hơn ở các nghiệm thức có bổ sung probiotics, tăng trưởng về chiều dài và khối lượng của tôm có cải thiện ở tất cả các nghiệm thức có bổ sung probiotics khi kết hợp với công nghệ biofloc, tôm ở nghiệm thức bổ sung probiotics gấp 3 lần liều khuyến cáo tốt hơn có ý nghĩa so với tôm nuôi không có bổ sung probiotics và không áp dụng quy trình biofloc. Từ các kết quả thu được có thể đưa ra kết luận rằng tỉ lệ *Vibrio*/tổng vi khuẩn giảm, sinh trưởng và tỉ lệ sống của tôm có cải thiện khi tôm ương được bổ probiotics kết hợp với kỹ thuật biofloc.

Từ khóa: Biofloc, probiotics, tôm thẻ chân trắng, *Litopenaeus vannamei*.

Effect of Probiotics Addition on *Vibrio* and Growth of Postlarval White-leg Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in Biofloc Nursery

ABSTRACT

This study was carried out to assess probiotics addition on *Vibrio* in culture medium and the growth performance of postlarval white-leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) using biofloc technology. The postlarvae (0.007 g/ind. in weight and 0.90 cm in length) were nursed at 2 postlarvae/l in 100 L tank containing 50 l of 30 ‰ seawater. Probiotics were daily added at 0.01 g/l (recommended concentration) and ½, 2 times, 3 times and 4 times recommended concentration compared to the control (without probiotics added). Results showed that after 20-day of culture the ratio of *Vibrio*/total bacteria was lower in the probiotics addition treatment than the control. The individual length and weight of shrimps increased in all treatments when probiotic added, especially the shrimps with three-times higher recommended concentration of probiotics significantly ($P < 0.05$) increased in length and weight than that in the control treatment. The results of this study indicated that the ratio of *Vibrio*/total bacteria was reduced and shrimp growth performance improved when probiotics was combined with biofloc technology.

Keywords: Probiotics, biofloc, white-leg shrimp, *Litopenaeus vannamei*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nghề nuôi tôm biển với mức độ ngày càng thâm canh đã làm cho môi trường nước bị ô nhiễm do sử dụng nhiều loại thuốc, hóa chất đồng thời ảnh hưởng đến chất lượng tôm sau thu. Vì vậy, việc nghiên cứu sử dụng các tác nhân sinh học là xu hướng tích cực góp phần ổn định môi trường và hạn chế dịch bệnh trong ao nuôi

thông qua mô hình nuôi kết hợp với biofloc (Apud & cs., 1983). Theo Furtado (2011), hệ thống xử lý chất thải là các chất lơ lửng trong nước chứa vi khuẩn dị dưỡng chiếm ưu thế, có tiềm năng sử dụng rất cao trong việc hạn chế thay nước và là nguồn thức ăn cho tôm.

Ngoài việc áp dụng công nghệ biofloc để làm sạch môi trường nước nuôi, chế phẩm sinh học (probiotics) cũng được sử dụng để xử lý nước môi

trường nuôi trồng thủy sản và cân bằng vi khuẩn với mục đích kiểm soát dịch bệnh trong ao nuôi (Avnimelech, 1999). Đây là một phương án tối ưu hay còn gọi là giải pháp an toàn sinh học đang được sử dụng khá phổ biến hiện nay. Việc sử dụng probiotics sẽ hạn chế sử dụng hoá chất và kháng sinh, tạo điều kiện thuận lợi để các sản phẩm thủy sản nước ta bước vào thị trường khó tính một cách thuận lợi mà không phải gặp rào cản gì. Sử dụng probiotics trong nuôi trồng thủy sản giúp cải thiện màu nước, phân huỷ các chất hữu cơ, giúp tôm hấp thụ thức ăn tốt, giảm hệ số tiêu thụ thức ăn, kích thích hệ miễn dịch và đề kháng bệnh, giảm sốc khi môi trường biến đổi. Chế phẩm vi sinh có ưu điểm hơn hẳn các loại hoá chất và kháng sinh ở chỗ hạn chế được tối đa độc tố gây hại cho tôm (Adel & cs., 2017). Theo một số nghiên cứu trước đây (Rengpipat & cs., 1998; Avnimelech, 1999; Verschuere & cs., 2000), probiotics và biofloc thường được sử dụng riêng lẻ trong ương tôm, nhưng probiotics thường được sử dụng theo liều khuyến cáo, do đó chưa phát huy hiệu quả của vi sinh vật hữu ích trong xâm thực ban đầu với số lượng lớn đủ lấn át vi khuẩn gây bệnh. Do đó, để tìm hiểu và nâng cao tối đa hoạt lực của probiotics trong môi trường nuôi với kỹ thuật biofloc lên tôm thẻ giai đoạn giống, việc nghiên cứu ảnh hưởng liều lượng bổ sung chế phẩm sinh học lên mật số *Vibrio* và tăng trưởng của tôm thẻ chân trắng giai đoạn ương là điều cần thiết.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí với 7 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức có 3 lặp lại, được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với mật độ tôm thả 2 con/L. Trong quá trình thí nghiệm duy trì tỷ lệ C/N trong môi trường ương bằng 10, mỗi bể hình chóp 100 L chứa 50 L nước biển 30‰, được sục khí liên tục. Probiotics được phối trộn gồm *Lactobacillus* sp. 10^9 CFU/kg, *Bacillus subtilis* 10^9 CFU/kg, *Nitrobacter* sp. 10^7 CFU/kg, *Nitrosomonas* sp. 10^7 CFU/kg được bổ sung vào bể nuôi theo liều lượng khác nhau theo từng nghiệm thức như sau:

NT1 (Wo P & floc; ĐC1): Không bổ sung probiotics và C/N (Đối chứng 1).

NT2 (Wo P; ĐC2): Không bổ sung probiotics (Đối chứng 2).

NT3 (1/2×P): Bổ sung probiotics với 0,005 g/L

NT4 (1×P): Bổ sung probiotics (0,01 g/L)

NT5 (2×P): Bổ sung probiotics với 0,02 g/L

NT6 (3×P): Bổ sung probiotics với 0,03 g/L

NT7 (4×P): Bổ sung probiotics với 0,04 g/L

2.2. Chăm sóc quản lý

Tôm ương được cho ăn theo phần trăm khối lượng cơ thể ở các kích cỡ khác nhau cùng với quan sát thức ăn hằng ngày để điều chỉnh lượng thức ăn phù hợp, cho ăn khoảng 10-15% khối lượng thân.

Tôm được cho ăn 4 lần/ngày (7:00, 11:00, 15:00 và 19:00 giờ). Rỉ đường (38% carbon) được bổ sung hằng ngày để đạt được tỷ lệ C/N thích hợp (dựa vào hàm lượng TAN trong nước bể nuôi). Soda (NaHCO_3) được bổ sung 5 mg/l mỗi ngày sau khi rỉ đường được bón vào bể để ổn định pH nước.

Chế phẩm sinh học được bón định kỳ 5 ngày/lần vào buổi sáng (8:00 am), liều lượng tùy thuộc vào từng nghiệm thức cần cho thí nghiệm.

Tôm nuôi trong điều kiện không thay nước.

2.3. Thu thập và tính toán số liệu

2.3.1. Các yếu tố môi trường

Nhiệt độ, độ mặn, pH sẽ được đo 2 lần/ngày vào lúc 7:00 và 14:00 giờ. TAN (tổng đạm amonia) được đo 3 ngày/lần. Độ kiềm của bể nuôi được đo 5 ngày/lần

2.3.2. Biến động mật số vi khuẩn

Mẫu nước được thu định kỳ 5 ngày/lần vào buổi chiều (14:00 giờ), mẫu nước được lấy ngay điểm giữa của xáo trộn khí trong bể ương và phân tích ở phòng thí nghiệm để xác định mật độ tổng vi khuẩn và *Vibrio* cho đến khi kết thúc thí nghiệm. Nước trước khi cấy vào môi trường được tán đều bằng máy đánh và pha loãng mẫu.

Xác định mật độ tổng vi khuẩn và *Vibrio* spp. bằng phương pháp đếm khuẩn lạc: Sau khi pha loãng, dùng pipet hút 100 μL dung dịch

trong ống nghiệm chứa vi khuẩn cho vào các đĩa chứa môi trường thạch marine và thạch TCBS đã chuẩn bị sẵn, dùng que thủy tinh đã tiệt trùng tán đều đến khi mẫu khô, mỗi độ pha loãng lặp lại 2 lần. Mẫu sau khi tán đều được ủ ở 28-30°C trong 48 giờ. Đếm số khuẩn lạc trên đĩa môi trường (dao động 20-200 khuẩn lạc).

2.3.3. Các chỉ tiêu đánh giá tôm

Tốc độ tăng trưởng của tôm được xác định khi kết thúc thí nghiệm.

Khối lượng và chiều dài tôm được xác định vào đầu và kết thúc thí nghiệm. Bắt 30 con ngẫu nhiên ở mỗi nghiệm thức, xác định chiều dài và khối lượng bằng cân điện tử hai số lẻ (0,00 g), chiều dài được đo từ đỉnh chũy đến chạc đuôi dưới kính lúp.

2.3.4. Tính toán số liệu

Đơn vị hình thành khuẩn lạc (CFU/mL) = số khuẩn lạc × độ pha loãng × 10

Tỉ lệ tổng *Vibrio*/tổng vi khuẩn

Tỉ lệ sống được thu thập số liệu khi kết thúc thí nghiệm.

Tỉ lệ sống (%) = $100 \times (\text{số tôm thu hoạch}/\text{số tôm thả})$

Tăng trưởng tuyệt đối về khối lượng (DWG; g/ngày) = $(W_c - W_d)/\text{thời gian nuôi}$

Tăng trưởng tuyệt đối về chiều dài (DLG; g/ngày) = $(L_c - L_d)/\text{thời gian nuôi}$

Tăng trưởng tương đối trọng lượng (SGR; %/ngày) = $100 \times (\ln W_c - \ln W_d)/\text{thời gian nuôi}$

Tăng trưởng tương đối về chiều dài SGR_L

(%/ngày) = $100 \times (\ln L_c - \ln L_d)/\text{thời gian nuôi}$.

Trong đó, W_d: khối lượng tôm ngày đầu (g); W_c: khối lượng tôm lúc thu mẫu (g); L_d: chiều dài tôm ngày đầu (cm); L_c: Chiều dài tôm lúc thu mẫu (g).

2.3. Xử lý thống kê

Số liệu được xử lý với bảng tính Excel để lấy giá trị trung bình, độ lệch chuẩn và Statistica 6.0 với phương pháp phân tích phương sai ANOVA một nhân tố được dùng để so sánh sự khác biệt có ý nghĩa giữa các nghiệm thức bằng phép thử Tukey ở mức ý nghĩa P < 0,05.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Các yếu tố môi trường nuôi trong bể

Tôm thẻ chân trắng là loài chịu đựng nhiệt độ với biên độ nhiệt rộng, phát triển tốt nhất ở nhiệt độ khoảng 23-30°C. Tôm thẻ giai đoạn nhỏ cũng phát triển tốt nhất ở nhiệt độ từ 20-30°C (Ponce-Palapox, 1997), do đó nhiệt độ trong bể thí nghiệm luôn được giữ ở 28 ± 2°C.

Ngoài nhiệt độ, pH nước cũng dao động trong ngày không lớn trong suốt quá trình thí nghiệm, pH trung bình thấp nhất là 8,1 và cao nhất là 8,3, pH trung bình giữa các nghiệm thức chênh lệch không nhiều và sai biệt không có ý nghĩa thống kê (P > 0,05). Theo Boyd & cs. (2002), pH dao động trong khoảng 7,5-9,0 là thích hợp cho nuôi tôm. Như vậy, pH trong thí nghiệm hiện tại phù hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của tôm.

Bảng 1. Biến động DO, NO₂⁻, NH₄⁺ và độ kiềm (KH) của môi trường thí nghiệm

Nghiệm thức	DO (mg/L)	NO ₂ ⁻ (mg/L)	NH ₄ ⁺ (mg/L)	KH (mg CaCO ₃ /L)
NT1 (Wo P&Floc)	4,5 ± 0,5	0,05 ± 0,07	0,28 ± 0,51	88,9 ± 7,7
NT2 (Wo P)	4,5 ± 0,5	0,05 ± 0,07	0,10 ± 0,05	91,0 ± 13,0
NT3 (1/2xP)	4,5 ± 0,5	0,06 ± 0,02	0,11 ± 0,06	90,7 ± 10,4
NT4 (1xP)	4,5 ± 0,5	0,06 ± 0,02	0,11 ± 0,08	90,7 ± 10,4
NT5 (2xP)	4,3 ± 0,8	0,06 ± 0,02	0,13 ± 0,09	86,3 ± 9,9
NT6 (3xP)	4,3 ± 0,8	0,05 ± 0,07	0,14 ± 0,09	93,0 ± 10,9
NT7 (4xP)	4,3 ± 0,8	0,06 ± 0,02	0,14 ± 0,09	95,5 ± 13,3

Bảng 2. Mật số tổng vi khuẩn (CFU/mL) trong thí nghiệm

Thí nghiệm	Mật số tổng vi khuẩn ($\times 10^5$ CFU/mL)			
	Ngày 5	Ngày 10	Ngày 15	Ngày 20
NT1 (Wo P&Floc)	0,2 \pm 0,0 ^a	0,5 \pm 0,2 ^a	0,8 \pm 0,1 ^a	5,3 \pm 0,3 ^a
NT2 (Wo P)	0,6 \pm 0,1 ^a	126,0 \pm 0,4 ^b	21,5 \pm 0,4 ^c	41,0 \pm 0,7 ^b
NT3 (1/2xP)	2,6 \pm 0,4 ^b	145,3 \pm 0,2 ^f	14,1 \pm 0,1 ^b	63,0 \pm 0,5 ^c
NT4 (1xP)	2,0 \pm 0,5 ^b	156,8 \pm 0,3 ^f	26,5 \pm 0,6 ^d	251,8 \pm 0,3 ^d
NT5 (2xP)	4,6 \pm 0,5 ^c	17,6 \pm 0,7 ^e	27,3 \pm 0,3 ^d	312,0 \pm 1,0 ^e
NT6 (3xP)	6,4 \pm 0,5 ^d	24,3 \pm 0,7 ^d	34,8 \pm 0,1 ^e	651,8 \pm 0,8 ^f
NT7 (4xP)	7,5 \pm 0,2 ^e	54,8 \pm 0,5 ^c	54,9 \pm 0,0 ^f	721,00 \pm 0,9 ^g

Ghi chú: Giá trị trung bình \pm Độ lệch chuẩn (SD). Các giá trị trên cùng một cột có các chữ cái theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Hàm lượng oxy hòa tan trong hệ thống thí nghiệm không có sự biến động nhiều do hệ thống được sục khí liên tục, hàm lượng oxy hòa tan từ 4,3 đến 4,5 mg/L (Bảng 1). Hàm lượng NO_2^- trung bình ở các thí nghiệm dao động trong khoảng 0,05–0,06 mg/L. Độ kiềm dao động trong khoảng 78,9–95,5 mg CaCO_3 /l.

Theo Whetstone & cs. (2002), mức độ an toàn của NH_4^+ nhỏ hơn 2 mg/L không ảnh hưởng đến tôm. Độ kiềm thích hợp cho tăng trưởng của tôm thẻ từ 120 đến 160 mg CaCO_3 /L, thấp hơn 40 mg CaCO_3 /L sẽ ảnh hưởng đến sức khỏe tôm, thêm vào đó độ kiềm cho ao nuôi tôm khuyến cáo từ 100 đến 150 mg/L (Palanikumar, 2011). Như vậy, hàm lượng NH_4^+ NO_2^- và độ kiềm trong nước ương của thí nghiệm này đều nằm trong khoảng thích hợp cho tôm phát triển.

3.2. Biến động mật số vi khuẩn trong suốt quá trình ương

Mật số vi khuẩn tổng ban đầu là 9×10^3 CFU/mL. Mật số vi khuẩn tổng ở thí nghiệm đối chứng (không sử dụng probiotics và không duy trì tỉ lệ C/N) luôn thấp hơn có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) so với các thí nghiệm duy trì tỉ lệ C/N và có bổ sung probiotics trong suốt quá trình thí nghiệm, (trừ ngày nuôi thứ 5). Ở ngày nuôi thứ 5, mật số vi khuẩn tổng có chiều hướng tăng dần từ NT3 đến NT6 theo sự tăng dần của liều lượng probiotics, nhưng đến lần thu mẫu thứ 2 (sau 10 ngày nuôi) thì mật độ vi khuẩn tổng tăng lên không theo lượng probiotics bón

vào, cao nhất ở NT3 ($156,75 \times 10^5$ CFU/mL) và NT4 ($145,30 \times 10^5$ CFU/mL), cao hơn có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) so với các thí nghiệm còn lại, kể đến là NT2 (126×10^5 CFU/mL) với chỉ thực hiện duy trì C/N. Trái lại, mật độ vi khuẩn ở các thí nghiệm bón bổ sung probiotics lần lượt là 2 lần (NT5), 3 lần (NT6) và 4 lần (NT7) liều 0,01 g/L thì chỉ đạt được lần lượt là 17,7, 24,3 và $54,77 \times 10^5$ CFU/mL. Từ ngày nuôi thứ 15 đến ngày nuôi thứ 20 thì mật số vi khuẩn tổng tăng dần theo thời gian và liều lượng probiotics bón vào. Ở ngày nuôi thứ 20, mật số vi khuẩn tổng dao động từ $5,3$ – 721×10^5 CFU/mL, mật số vi khuẩn tăng dần từ NT1 đến NT7, thấp nhất là ở NT1 ($5,3 \times 10^5$ CFU/mL) và cao nhất NT7 (721×10^5 CFU/mL), khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) khi so sánh mật số vi khuẩn trong từng cặp thí nghiệm.

Theo Hagiwata & cs. (1994), một số vi khuẩn trong môi trường nước bị biến động khi bổ sung probiotics vì có sự cạnh tranh lấn át trong môi trường sống. Điều này cũng khá tương đồng với kết quả về biến động mật số vi khuẩn biến động trong thí nghiệm hiện tại. Thêm vào đó, việc bón rỉ đường như là nguồn carbon đã kích thích vi khuẩn dị dưỡng (Avnimilech, 1999). Như vậy, sự biến động mật độ tổng vi khuẩn ở các thí nghiệm phụ thuộc vào lượng vi khuẩn bổ sung, sự tích lũy vật chất hữu cơ dư thừa. Theo Anderson (1993), tổng vi khuẩn trong 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. Theo

Pacheco-Vega & cs. (2018), tăng trưởng về khối lượng của tôm có cải thiện đáng kể khi bổ sung vi sinh vật hữu ích dòng *Lactobacillus plantarum* (vi khuẩn acid lactic, key T19) ở 10^8 CFU/mL so với 10^3 CFU/mL. Tóm lại, vi khuẩn tổng ở các nghiệm thức trong quá trình thí nghiệm vẫn nằm trong giới hạn cho phép và thích hợp phát triển cho tôm.

3.3. Tỷ lệ giữa vi khuẩn *Vibrio* tổng và vi khuẩn tổng

Nhìn chung, tỷ lệ giữa *Vibrio* tổng và vi khuẩn tổng ở các nghiệm thức qua các đợt thu mẫu là rất thấp (Bảng 3). Ở NT1 và NT2 tỷ lệ giữa vi khuẩn *Vibrio* tổng và vi khuẩn tổng tăng dần theo thời gian nuôi, từ ngày nuôi thứ 5 đến ngày thứ 20 chỉ dao động từ 0,003-0,047%, còn ở các nghiệm thức có bổ sung probiotics hầu như tỷ lệ vi khuẩn *Vibrio* tổng/vi khuẩn tổng giảm dần theo thời gian và giảm gần như bằng 0. Có thể nói khi bổ sung probiotics theo định kì thì một số vi khuẩn có lợi đã kìm hãm sự phát triển của vi khuẩn *Vibrio*.

Theo Rengpipat & cs. (1998), bào tử *Bacillus* spp. như một tác nhân sinh học giúp làm giảm bệnh *Vibrio* spp. trong hệ thống nuôi. Theo Verschuere & cs. (2000), vi khuẩn *Bacillus subtilis* đóng vai trò quan trọng trong việc cải thiện môi trường nước. Vì vậy, duy trì mức độ vi khuẩn Gram dương trong ao có thể giảm sự tích lũy vật chất hữu cơ và các chất hòa tan. Mật độ vi khuẩn *B. subtilis* tăng lên không chỉ ức chế nhóm *Vibrio* gây hại mà còn tạo điều kiện cho nhóm vi khuẩn nitrate hóa cũng xuất hiện theo.

Theo Ouwehand & cs. (1999), vi khuẩn *Lactobacillus* spp. (có trong probiotics) có khả năng sinh ra các chất kháng khuẩn bao gồm: các axit hữu cơ (axit lactic và axit acetic), hydrogen peroxid, carbon dioxid và diacetyl cũng như bacteriocin. Axit lactic và axit acetic đều có khả năng hạn chế sự phát triển của các vi khuẩn khác vì chúng làm giảm pH bên trong đường ruột và chính điều này ảnh hưởng đến quá trình trao đổi chất của các vi khuẩn *Vibrio*. Ngoài ra, *Lactobacillus* spp. còn có khả năng sinh ra bacteriocin, một loại protein có khả năng tiêu diệt các vi khuẩn khác do sự tạo thành các

kênh làm thay đổi tính thấm của màng tế bào, nhiều loại bacteriocin còn có khả năng phân giải DNA, ARN và tấn công vào peptidoglycan để làm suy yếu thành tế bào, vì vậy sẽ ức chế sự phát triển của vi khuẩn gây bệnh như *Vibrio*, *E. coli* và một số virus khác. Theo Miao & cs. (2017), việc kết hợp bổ sung probiotics và công nghệ biofloc cũng làm tăng khả năng miễn dịch bệnh, tăng khả năng tiêu hóa và tăng trưởng tốt hơn ở tôm càng xanh so với tôm cho ăn thức ăn thông thường, vì thế khi bổ sung probiotics kết hợp với công nghệ biofloc ở thí nghiệm này cũng cải thiện được tăng trưởng của tôm thẻ ở giai đoạn giống.

3.4. Tăng trưởng của tôm thẻ chân trắng

3.4.1. Tăng trưởng về chiều dài

Sau 20 ngày nuôi chiều dài tôm tăng lên và có sự thay đổi giữa các nghiệm thức. Tăng trưởng về chiều dài tốt nhất là tôm trong nhóm nghiệm thức có bổ sung probiotics, cụ thể là tăng trưởng chiều dài cao nhất ở NT6 (3,41 cm/cá thể), tốt hơn có ý nghĩa ($P < 0,05$) so với tôm ở tất cả các nghiệm thức còn lại. Tốc độ tăng trưởng chiều dài tương đối thấp nhất ở NT1 (5,75 %/ngày) và cao nhất ở NT6 (7,56 %/ngày), nhưng khác biệt này không có ý nghĩa ($P > 0,05$). Tăng trưởng chiều dài tuyệt đối ở ngày 20 của tôm dao động 0,11-0,18 cm/ngày, tôm ở nhóm có bổ sung probiotics có tăng trưởng tuyệt đối cao hơn tôm ở các nghiệm thức đối chứng, nhưng khác biệt không có ý nghĩa ($P > 0,05$) giữa các nghiệm thức.

3.4.2. Tăng trưởng về khối lượng

Khối lượng ban đầu của tôm giữa các nghiệm thức khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$) (Bảng 4). Sau 20 ngày, khối lượng tôm có sự khác biệt thống kê giữa các nghiệm thức ($P < 0,05$). Tôm ở nghiệm thức có bổ sung probiotics và ứng dụng công nghệ biofloc có khối lượng trung bình cao hơn tôm nuôi không bổ sung probiotics và không ứng dụng biofloc (Đối chứng). Tăng trưởng khối lượng của tôm cao nhất ở NT6 (0,26 g/cá thể), khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) so với khối lượng tôm ở NT1 (0,19 g/con), nhưng không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$) so với các nghiệm thức còn lại.

Tốc độ tăng trưởng tuyệt đối của tôm ở các nghiệm thức dao động từ 0,014 đến 0,019 g/ngày và tăng trưởng khối lượng tương đối dao động trong khoảng 11,9-13,9%/ngày, trong đó tôm ở NT6 có tăng trưởng tương đối và tăng trưởng tuyệt đối cao nhất, nhưng không có sai khác thống kê ($P > 0,05$) so với các nghiệm thức còn lại.

Theo Avnimilech (1999), duy trì C/N trong môi trường nuôi sẽ tạo ra các hạt biofloc, đây được xem là dạng thức ăn giàu đạm có mặt trong suốt quá trình nuôi. Thêm vào đó, bổ sung probiotics cũng làm tăng men tiêu hóa (enzyme) trong đường ruột của tôm, tăng khả năng kháng lại mầm bệnh và giúp hỗ trợ tăng trưởng của tôm. Theo Wang (2007), khi bổ sung vi khuẩn *Bacillus* sp. vào thức ăn của tôm thẻ với liều lượng từ 2 đến 20 g/kg thức ăn, sau 28 ngày nuôi thì tôm nhận khẩu phần ăn có chứa probiotics có hàm lượng men tiêu hóa như protease, lipase và cellulase cao hơn tôm sử dụng thức ăn không bổ sung probiotics. Tăng men tiêu hóa đồng nghĩa với thức ăn dễ tiêu hóa và hấp thụ tốt hơn cho vật nuôi. Thêm vào đó men tiêu hóa trypsin và chymotrypsin tăng lên khi sử dụng vi sinh hữu ích dòng *Bacillus subtilis* và *Enterococcus* sp. vào khẩu phần thức ăn của tôm sú giai đoạn hậu ấu trùng, dẫn đến khối lượng tôm ở nghiệm thức bổ sung probiotics tăng cao hơn có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) so với tôm cho ăn khẩu phần ăn không bổ sung probiotics (Nimrat & cs., 2013). Jamali & cs. (2015) đã bổ sung probiotic vào đường ruột của tôm thông qua *Artemia* và luân trùng (rotifer), với cách này *Artemia* và luân trùng đã được nhồi sinh học với vi khuẩn *Bacillus* spp. và

vi khuẩn *Bacillus licheniformis* trước khi cung cấp cho ấu trùng tôm thẻ chân trắng (*L. vannamei*). Kết quả cho thấy chiều dài và khối lượng tăng trưởng cũng như tỉ lệ sống cao có ý nghĩa ở nghiệm thức có bổ sung probiotics so với nghiệm thức không bổ sung. Tương tự, Miao & cs. (2017) cho rằng việc kết hợp bón probiotics và công nghệ biofloc cũng làm tăng khả năng miễn dịch bệnh, tăng men tiêu hóa và tăng trưởng tốt hơn ở tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*) so với tôm cho ăn thức ăn thông thường. Thí nghiệm hiện tại cũng cho kết quả tương tự, bổ sung probiotics kết hợp với công nghệ biofloc đã cải thiện được tăng trưởng của tôm thẻ ở giai đoạn giống.

3.6. Tỷ lệ sống

Sau 20 ngày nuôi tỉ lệ sống của tôm đạt cao nhất ở NT6 (90,6%) và thấp nhất là NT1 (73,8%), tỉ lệ sống tăng ở các nghiệm thức có bổ sung probiotics và duy trì tỉ lệ C/N trong quá trình ương nhưng không có sự khác biệt có ý nghĩa giữa nghiệm không bổ sung probiotics và không duy trì tỉ lệ C/N với các nghiệm thức thí nghiệm ($P > 0,05$). Zhou & cs. (2009) báo cáo rằng tỉ lệ sống của tôm thẻ giai đoạn hậu ấu trùng tăng cao có ý nghĩa khi bổ sung vi sinh hữu ích từ 1×10^5 , 5×10^5 và 1×10^6 CFU/mL so với tôm thẻ được ương không có bổ sung probiotics. Tuy nhiên, Arias-Moscoso & cs. (2018) lại cho là việc bổ sung probiotics thương mại trong ương tôm thẻ chân trắng không tăng tỉ lệ sống so với ương không bổ sung probiotics, giống như kết quả đạt được trong nghiên cứu này.

Bảng 3. Tỷ lệ giữa vi khuẩn *Vibrio* và tổng vi khuẩn (%)

Nghiệm thức	Tỷ lệ vi khuẩn/Vibrio (%)			
	Ngày 5	Ngày 10	Ngày 15	Ngày 20
NT1 (Wo P&Floc)	0,208 ± 0,001	0,295 ± 0,000	0,428 ± 0,000	0,047 ± 0,000
NT2 (Wo P)	0,175 ± 0,001	0,039 ± 0,000	0,011 ± 0,000	0,003 ± 0,000
NT3 (1/2xP)	0,012 ± 0,000	0,010 ± 0,000	0,007 ± 0,000	0,001 ± 0,000
NT4 (1x P)	0,005 ± 0,000	0,017 ± 0,000	0,003 ± 0,000	0,000 ± 0,000
NT5 (2xP)	0,028 ± 0,000	0,014 ± 0,000	0,004 ± 0,000	0,000 ± 0,000
NT6 (3xP)	0,014 ± 0,000	0,007 ± 0,000	0,002 ± 0,000	0,000 ± 0,000
NT7 (4xP)	0,021 ± 0,000	0,004 ± 0,000	0,001 ± 0,000	0,000 ± 0,000

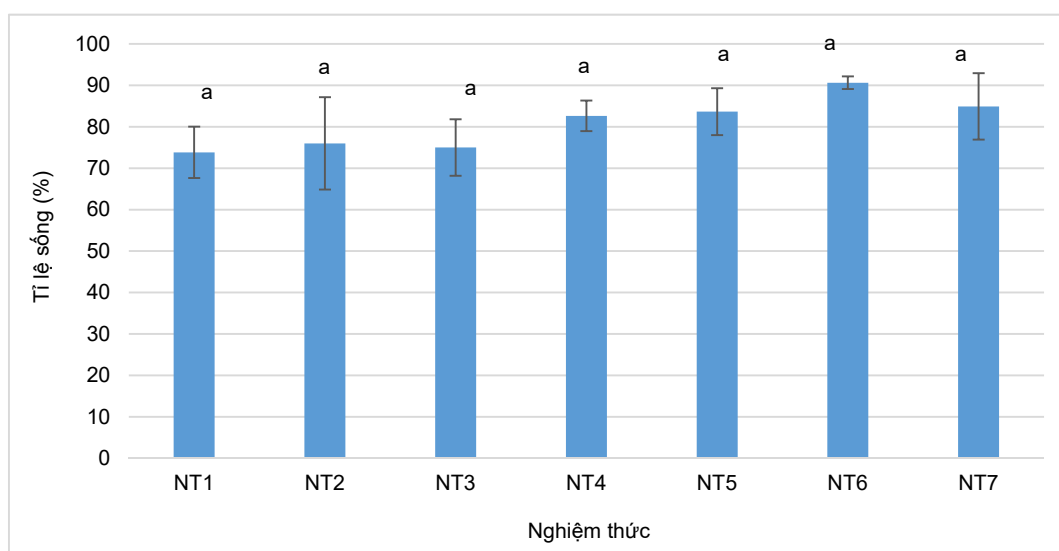
Ghi chú: Giá trị trung bình ± Độ lệch chuẩn (SD). Tỷ lệ giữa vi khuẩn *Vibrio* và tổng vi khuẩn sai biệt không ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) giữa các nghiệm thức.

Ảnh hưởng liều lượng bổ sung chế phẩm sinh học lên vibrio và tăng trưởng của tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) ương theo công nghệ biofloc

Bảng 4. Chiều dài tôm (cm/cá thể) và khối lượng tôm (g/cá thể) ở các nghiệm thức trong thời gian thí nghiệm

Nghiệm thức	Tăng trưởng về chiều dài		Tăng trưởng về khối lượng	
	L _{ngày đầu}	L _{ngày 20}	W _{ngày đầu}	W _{ngày 20}
NT1 (Wo P & Floc)	0,97 ± 0,09 ^a	2,53 ± 0,44 ^{ab}	0,007 ± 0,002 ^a	0,19 ± 0,02 ^a
NT2 (Wo P)	0,97 ± 0,09 ^a	2,48 ± 0,62 ^a	0,007 ± 0,002 ^a	0,20 ± 0,04 ^{ab}
NT3 (1/2xP)	0,97 ± 0,09 ^a	2,91 ± 0,57 ^b	0,007 ± 0,002 ^a	0,21 ± 0,04 ^{ab}
NT4 (1xP)	0,97 ± 0,09 ^a	2,81 ± 0,48 ^{ab}	0,007 ± 0,002 ^a	0,20 ± 0,05 ^{ab}
NT5 (2xP)	0,97 ± 0,09 ^a	2,88 ± 0,57 ^b	0,007 ± 0,002 ^a	0,22 ± 0,05 ^{ab}
NT6 (3xP)	0,97 ± 0,09 ^a	3,41 ± 0,41 ^c	0,007 ± 0,002 ^a	0,26 ± 0,04 ^b
NT7 (4xP)	0,97 ± 0,09 ^a	2,85 ± 0,51 ^{ab}	0,007 ± 0,002 ^a	0,22 ± 0,06 ^{ab}

Ghi chú: Giá trị trung bình ± Độ lệch chuẩn (SD). Các giá trị trên cùng một cột có các chữ cái trên khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ($P < 0,05$).



Hình 1. Tỷ lệ sống của tôm ở các nghiệm thức

Ghi chú: NT1: Không bổ sung probiotics và C/N; NT2: Không bổ sung probiotics; NT3: Bổ sung probiotics với 0,005 g/L; NT4: Bổ sung probiotics; NT5: Bổ sung probiotics với 0,02 g/L; NT6: Bổ sung probiotics với 0,03 g/L; NT7: Bổ sung probiotics với 0,04 g/L.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

4.1. Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy việc bổ sung probiotics thì vi khuẩn *Vibrio* xuất hiện với mật độ thấp trong quá trình nuôi.

Tăng trưởng về chiều dài và khối lượng của tôm sau 20 ngày ương có bổ sung probiotics tốt hơn của tôm không được bổ sung probiotics, đặc biệt khi probiotics được bổ sung gấp 3 lần liều

khuyến cáo (0,001 g/L) thì tôm tăng trưởng về chiều dài và khối lượng tốt hơn có ý nghĩa so với tôm nuôi không có bổ sung probiotics.

Bổ sung probiotics trong điều kiện có duy trì tỉ lệ C/N không cải thiện tỷ lệ sống của tôm.

4.2. Đề xuất

Do thí nghiệm này chỉ mới được thực hiện trong quy mô nghiên cứu nhỏ, nên cần phải được bố trí lại với diện tích nuôi lớn hơn để

chứng minh khả năng nhân rộng mô hình nuôi và đưa ra khuyến cáo cho người dân.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn ông Phạm Quốc Phẩm và bà Nguyễn Thị Ngọc Ánh đã giúp chuẩn bị bố trí thí nghiệm và thu thập số liệu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Adel M., El-Sayed A.F.M., Yeganeh S., Dadar M. & Giri S.S. (2017). Effect of potential probiotic *Lactococcus lactis* Subsp. Lactis on growth performance, intestinal microbiota, digestive enzyme activities, and disease resistance of *Litopenaeus vannamei*. *Probiotics & Antimicro.* 9: 150-156.
- Anderson I. (1993). The veterinary approach to marine prawns. *In: Brown L. (Ed.). Aquaculture for veterinarians: fish husbandry and medicine.* pp. 271-296.
- Apud F.D., Primavera, J.H. & Torres P.L. (1983). Farming of prawns and shrimps. SEAFDEC Aquaculture Department, Iloilo, Philippines. Extension Manual. 5: 67
- Arias-MoscOSO J.L., Espinoza-Barrón L.G., Miranda-Baeza A., Rivas-Vega M.E. & Nieves-Soto M. (2018). Effect of commercial probiotics addition in a biofloc shrimp farm during thenursery phase in zero water exchange. *Aquaculture Reports.* 11: 47-52.
- Avnimelech Y. (1999). Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture.* 176(3-4): 227-235.
- Boyd C.E., Hargreave J.A. & Clay J.W. (2002). Codes of practice and conduct of marine shrimps 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. p. 31.
- Furtado P.S. (2011). Effect of calcium hydroxide, carbonate and sodium bicarbonate on water quality and zootechnical performance of shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in bio-flocs technology (BFT) systems. *Aquaculture.* 321: 130-135.
- Hagiwara A., Hamada K., Hori S. & Hirayama K. (1994). Increased sexual reproduction in *Brachionus plicatilis* (Rotifera) with the addition of bacteria and rotifer extracts. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology.* 181: 1-8.
- Jamali H., Imani A., Abdollahi D., Roozbehfar R. & Isari A. (2015). Use of probiotic *Bacillus* spp. in rotifer (*Brachionus plicatilis*) and *Artemia* (*Artemia urmiana*) enrichment: Effects on growth and survival of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, larvae. *Probiotics & Antimicrobial proteins.* 7: 118-125.
- Miao S., Zhu J., Zhao C., Sun L., Zhang X. & Chen G. (2017). Effects of C/N ratio control combined with probiotics on the immune response, disease resistance, intestinal microbiota and morphology of giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). *Aquaculture.* 476: 125-133.
- Nimrat S., Tanutpongpalin P., Sritunyalucksana K., Boonthai T. & Vuthiphandchai V. (2013). Enhancement of growth performance, digestive enzyme activities and disease resistance in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) postlarvae by potential probiotic. *Aquaculture International.* 21: 655-666.
- Ouwehand A.C., Kirjavainen P.V., Shortt C. & Salminen S. (1999). Probiotics: mechanisms and established effects. *International Dairy Journal.* 9: 43-52.
- Pacheco-Vega J.M., Cadena-Roa M.A., Leyva-Flores J.A., Zavala-Leal O.I., Pérez-Bravo E. & Ruiz-Velazco J.M.J. (2018). Effect of isolated bacteria and microalgae on the biofloc characteristics in the Pacific white shrimp culture, *Aquaculture Reports.* 1: 24-30.
- Ponce-Palapox (1997). The effect of salinity and temperature on the growth and survival rates of postlarval *Penaeus vannamei*, Boone, 1931. *Aquaculture.* 157: 107-115.
- Rengpipat S., Phianphak W., Piyatirativivorakul S. & Menasveta P. (1998). Effects of a probiotics bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth. *Aquaculture,* 167: 301-313.
- Verschuere L., Rombaut G., Sorgeloos P. & Verstraete W. (2000). Probiotics Bacteria as Biological Control Agents in Aquaculture. *Microbiology and molecular biology reviews.* 64: 655-671.
- Wang Y. (2007). Effect of probiotics on growth performance and digestive enzyme activity of the shrimp *Penaeus vannamei*. *Aquaculture.* 269: 259-264.
- Whetstone J.M., Treece G.D. & Stokes A.D. (2002). Opportunities and constrains in marine shrimp farming. Southern Regional Aquaculture Center (SRAC) publication No. 2600 USDA.
- Zhou X., Wang Y. & Li W. (2009). Effect of probiotic on larvae shrimp (*Penaeus vannamei*) based on water quality, survival rate and digestive enzyme activities. *Aquaculture.* 287: 349-353.