

ẢNH HƯỞNG CỦA HỖN HỢP *BACILLUS* SP. CHỌN LỌC LÊN TĂNG TRƯỞNG *ARTEMIA FRANCISCANA*

Phạm Thị Tuyết Ngân và Trần Sương Ngọc¹

¹ Bộ môn Thủy sinh học ứng dụng, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 10/6/2014

Ngày chấp nhận: 04/8/2014

Title:

Effect of selected *Bacillus* sp. on growth of *Artemia franciscana*

Từ khóa:

Artemia, *Bacillus*, Probiotic, tỷ lệ sống, sức sinh sản

Keywords:

Artemia, *Bacillus*, Probiotic, survival rate, fecundity

ABSTRACT

Study the effect of supplementation selective *Bacillus* sp. on the growth of *Artemia franciscana* to improve the efficiency of biomass production of natural food was conducted. The experiment included 4 treatments and 3 replications; in that (1) the control (no additional bacteria). (2) Additional mix of *Bacillus* B37 and B41, (3) additional Probiotic Pro – W. (4): additional Probiotic Inter pro. The density of additional *Bacillus* sp was similar in all treatments (10^6 CFU/mL). *Artemia* density in culture bottle was 100L ind./500 mL. The results showed that the survival rate of *Artemia* in additional treatments B37+B41 obtained highest (88%) and was significant difference ($p < 0.05$) compared to control (66.7%) or treatments with Pro-W and Inter -pro; 72 % and 71.7%, respectively. The length and the number of offsprings/brood in Pro W was highest (11.3 mm, 216 embryos/reproductions) and difference ($p < 0.05$) with B37+B41 (9.4 mm, 209.1 offsprings/brood). Percentage of males in control treatments (37.8%) was higher than in treatments with B37+B41 (31.8%), Inter Pro (33.5%) and Pro W (23.7%). Percentage of females in bacterial supplemented treatments was higher than control. Fluctuation of female in the control, Pro W, B37+41 and Inter-pro treatment were 61.5%, 76.3%, 68.2% and 66.5%, respectively.

TÓM TẮT

Nghiên cứu ảnh hưởng của việc bổ sung hỗn hợp vi khuẩn *Bacillus* sp chọn lọc lên tăng trưởng *Artemia franciscana* nhằm nâng cao hiệu quả sản xuất sinh khối thức ăn tự nhiên đã được thực hiện. Thí nghiệm gồm 4 nghiệm thức và 3 lần lặp lại; trong đó (1) đối chứng (ĐC): không bổ sung vi khuẩn, (2) bổ sung hỗn hợp vi khuẩn B37+41, (3) bổ sung chế phẩm vi sinh Pro-W và (4): bổ sung chế phẩm vi sinh Inter-pro. Mật độ vi khuẩn *Bacillus* sp bổ sung như nhau ở tất cả các nghiệm thức (10^6 CFU/mL). *Artemia* được nuôi trong chai 1L với mật 100 con/500 mL. Kết quả cho thấy tỉ lệ sống của *Artemia* ở nghiệm thức bổ sung B37+41 cao nhất (88%) và khác biệt ($p < 0,05$) so với đối chứng (66,7%). Tỷ lệ sống các nghiệm thức Pro- W và inter pro lần lượt là 72% và 71,7%. Chiều dài và số phôi/lần sinh sản ở nghiệm thức Pro-W cao nhất (11,3 mm, 216,0 phôi/lần sinh sản) và khác biệt ($p < 0,05$) với B37+41 (9,4 mm, 209,1 phôi/lần sinh sản). Tỷ lệ đực ở nghiệm thức ĐC (37,8%) cao hơn nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn B37+41 (31,8%), Inter pro (33,5%) và Pro W (23,7%). Tỷ lệ con cái ở những nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn cao hơn ĐC. Dao động ở các nghiệm thức ĐC, Pro W, B37+41 và Inter pro lần lượt 61,5%, 76,3%, 68,2% và 66,5%.

1 GIỚI THIỆU

Nuôi trồng thủy sản đã và đang trở thành một ngành kinh tế mũi nhọn trong nền kinh tế quốc dân. Đặc biệt ngành nuôi thủy sản đang ngày càng có vai trò quan trọng trong việc giải quyết nhu cầu thực phẩm của con người, nhất là đối với các sản phẩm có nguồn gốc từ biển. Với sự gia tăng dân số hiện nay và nhu cầu thực phẩm chất lượng cao, con người buộc phải chú ý đến nguồn lợi thủy sản. Ngoài việc khai thác giống tự nhiên thì việc sản xuất giống nhân tạo là vấn đề cấp thiết để cung cấp con giống chất lượng cho ngành nuôi trồng thủy sản. Trong quá trình sản xuất giống nhân tạo hiện nay thì việc giải quyết thức ăn tươi sống là khâu then chốt quyết định đến sự tăng trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng. Từ vai trò quan trọng đó thì nhiều loại thức ăn tươi sống được quan tâm nghiên cứu và sản xuất, đặc biệt phải kể đến *Artemia*.

Artemia là thức ăn rất quan trọng và không thể thiếu trong nghề nuôi trồng thủy sản, nhất là trong khâu sản xuất giống. Ấu trùng *Artemia franciscana* lúc mới nở ở giai đoạn Instar I và Instar II có kích thước nhỏ hơn so với các dòng *Artemia* khác, là loại thức ăn lý tưởng cho giai đoạn đầu của ấu trùng giáp xác và cá con. Vì vậy, đây là loại thức ăn phổ biến trong các trại sản xuất giống, trại ương giống hay nuôi vỗ tôm, cá bố mẹ. Xác định rõ tầm quan trọng của nghề nuôi *Artemia* đã tạo tiền đề phát triển cho ngành *Artemia* nói riêng và ngành thủy sản Việt Nam nói chung. Vấn đề quan trọng đặt ra ở đây là làm sao ứng dụng cho tiến bộ khoa học, công nghệ mới vào nghề nuôi *Artemia* để góp phần tăng năng suất và chất lượng của *Artemia*.

Gần đây các nhà khoa học đã nghiên cứu nhiều về việc sử dụng các vi sinh vật hữu ích để tạo ra các chế phẩm sinh học. Một trong các nhóm được nghiên cứu nhiều nhất là nhóm *Bacillus*. Nhóm vi khuẩn *Bacillus* hiện đang được ứng dụng nhiều trong ngành nuôi trồng thủy sản. Tuy nhiên, ở Việt Nam có rất ít về nghiên cứu ứng dụng của vi khuẩn *Bacillus* lên *Artemia*. Chính vì vậy, nghiên cứu “Ảnh hưởng của hỗn hợp vi khuẩn *Bacillus* sp. chọn lọc lên tăng trưởng *Artemia franciscana*” đã được thực hiện với mục tiêu là khảo sát ảnh hưởng của vi khuẩn *Bacillus* lên quá trình nuôi *Artemia franciscana* nhằm góp phần nâng cao sinh khối *Artemia*. Với nội dung nghiên cứu ảnh hưởng tích cực của các dòng vi khuẩn *Bacillus* sp. đến chiều dài, số phôi/lần sinh sản, tỷ lệ sống của *Artemia franciscana* trong quá trình nuôi. Ngoài ra, hiệu quả của vi khuẩn *Bacillus* sp. đã được chọn lọc và *Bacillus* sp. có trong chế phẩm vi sinh lên chiều

dài, số phôi/lần sinh sản, tỷ lệ sống của *Artemia* cũng đã được so sánh.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Vật liệu nghiên cứu

Nguồn vi khuẩn: Vi khuẩn B37 (*Bacillus cereus*) và vi khuẩn B41 (*Bacillus amyloliquefaciens*) là vi khuẩn hữu ích đã được phân lập tại Vĩnh Châu, Sóc Trăng. Chế phẩm vi sinh Pro-W bao gồm các thành phần như sau (1 g): *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* (2.5×10^{12} CFU/g). Chế phẩm vi sinh Inter-pro Thành phần của chế phẩm vi sinh Inter pro trong 1 kg bao gồm); *B. subtilis*, *B. licheniformis*; *B. megaterium*; *B. polymoxya*; *Nitrosomonas*; *Lactobacillus* ($2,0 \times 10^9$ CFU/kg); Amylase (55000 UI); Protease (5000 UI); Cellulase (45000 UI); Lipase (50000 UI).

2.2 Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm bao gồm 4 nghiệm thức. Nghiệm thức 1: không bổ sung vi khuẩn (ĐC). Nghiệm thức 2: Bổ sung hỗn hợp vi khuẩn B37+B41. Nghiệm thức 3: Bổ sung chế phẩm vi sinh Pro W. Nghiệm thức 4: Bổ sung chế phẩm Inter Pro. *Artemia* được ấp nở ở độ mặn 35‰ trong điều kiện vô trùng. Trứng bào xác *Artemia* được áp dụng kỹ thuật bóc vỏ trước khi cho nở trong điều kiện vô trùng. Ấu trùng vô trùng được bố trí trong điều kiện có bổ sung sục khí liên tục bằng máy thổi khí, không khí được lọc qua bộ lọc có kích thước mắt lưới 0,2 μm trước khi vào chai nuôi. Sau đó Naupli được bố trí cho vào 12 chai thủy tinh (1L) đã tiệt trùng có chứa 500 mL nước có độ mặn 35‰ mật độ 100 con/500 mL. Tảo *Chaetoceros* được sử dụng làm nguồn thức ăn chính cho *Artemia* trong suốt quá trình nuôi. Vi khuẩn được bổ sung ngay sau khi tiến hành ấp và nuôi *Artemia* với mật độ bổ sung là như nhau 10^6 CFU/mL ở tất cả các nghiệm thức với nhịp bổ sung vi khuẩn 4 ngày/lần. Thí nghiệm được thực hiện liên tục trong 15 ngày.

2.2.1 Phương pháp nuôi tăng sinh vi khuẩn

Vi khuẩn *Bacillus* B37, B41 bảo quản trong tủ đông (-80°C) đã được phục hồi và cấy truyền trên môi trường TSA sau đó tăng hoạt lực trong môi trường LB, lắc trên máy lắc ở nhiệt độ 30°C trong 24 giờ tiến hành thu sinh khối cho vào nước muối sinh lý đã được hấp tiệt trùng và bổ sung vào chai thí nghiệm. Mật độ vi khuẩn đậm đặc được xác định bằng phương pháp đo OD tại bước sóng 600 nm (Leonel *et al.* 2006).

2.2.2 Cách cho ăn và quản lý *Artemia* thí nghiệm

Tảo *Chaetoceros* sp được sử dụng làm thức ăn cho *Artemia* trong suốt quá trình nuôi. Chế độ cho ăn: 4 lần/ngày, liều lượng cho ăn theo kiểu thả mồi bằng cách quan sát màu nước trong chai, biểu hiện bơi lội *Artemia* và hiện diện thức ăn trong đường ruột *Artemia* (nếu đường ruột bị đứt quãng chứng tỏ lượng thức ăn đưa vào không đủ). Trong thời gian nuôi quản lý thức ăn luôn được chú trọng, không cho ăn quá dư thức ăn vì dễ làm bẩn nước và ảnh hưởng đến tỉ lệ sống của *Artemia*. Tảo *Chaetoceros* sp. được ly tâm trước khi cho *Artemia* ăn.

2.2.3 Cách thu mẫu

Các ống falcon, ống nghiệm được tiệt trùng trước khi thu mẫu. Các ống nghiệm chứa 9 mL nước muối sinh lý 0.85% đã được tiệt trùng ở 121°C trong 15 - 20 phút. Môi trường NA = 1,5% muối NaCl, TCBS (Thisosulfate Citrate Bile Sucrose Agar) và môi trường chuyên biệt cho *Bacillus* sp. Mẫu nước được thu bằng pipet tiệt trùng, sau đó tiến hành phân tích trong 2 giờ. Đối với mẫu phân tích môi trường thu bằng ống nhựa falcon đã được tiệt trùng sau đó cho vào chai nhựa 110 mL trữ lạnh để tiếp tục phân tích.

2.2.4 Phương pháp phân tích mẫu vi sinh trên môi trường thạch

Xác định mật độ vi khuẩn *Bacillus* bằng phương pháp đếm khuẩn lạc (Nguyễn Lâm Dũng, 1983).

Xác định mật độ vi khuẩn tổng cộng và *Vibrio* bằng phương pháp đếm khuẩn lạc (Baumann et al., 1980).

2.2.5 Xác định mật độ vi khuẩn trong chế phẩm vi sinh

1g chế phẩm được hòa tan vào 9 mL nước muối sinh lý sau đó để lên máy lắc 2 giờ để kích thích hệ vi khuẩn trong chế phẩm vi sinh (CPVS) hoạt động. Pha loãng với nước muối sinh lý ở độ pha loãng 10^{-5} . Cuối cùng cấy trải trên đĩa môi trường chuyên *Bacillus* sp. để xác định mật độ.

2.3 Các chỉ tiêu theo dõi

Môi trường: Nhiệt độ (°C) được đo bằng nhiệt kế thủy ngân 2 lần/ngày vào lúc 7 giờ và 14 giờ. Độ mặn (‰) được đo bằng khúc xạ kế (Salinometer) 1 lần/ngày vào lúc 7 giờ. pH được đo bằng pH kế 2 lần/ngày vào lúc 7 giờ và 14 giờ. Hàm lượng TAN và N-NO₂ được xác định bằng

phương pháp Indo-phenol blue và Dianozium. Việc thu mẫu để xác định chỉ tiêu TAN và NO₂ được thực hiện vào lúc đầu và kết thúc thí nghiệm.

Chỉ tiêu sinh học: Các chỉ tiêu sinh học của *Artemia* như tỷ lệ sống, tỷ lệ đực, cái, tăng trưởng chiều dài và số phôi/lần sinh sản, được thu một lần vào thời điểm kết thúc thí nghiệm (ngày thứ 15). Tỷ lệ sống của *Artemia* được xác định bằng phương pháp đếm trực tiếp bằng mắt thường, tỷ lệ đực cái cũng xem trực tiếp bằng mắt thường cũng tương tự như tỷ lệ sống. *Artemia* mang trứng được cho vào đĩa Petri và đưa lên kính nhìn nổi để đếm số phôi có trong buồng trứng, mỗi nghiệm thức được thực hiện trên 90 cá thể (mỗi chai 30 cá thể). Chiều dài của *Artemia* được xác định bằng cách bắt ngẫu nhiên 30 con, sau đó tiến hành đo dưới kính hiển vi chuyên dùng cho việc đo kích thước.

2.4 Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel (số trung bình, độ lệch chuẩn) và so sánh thống kê (một nhân tố) theo phần mềm Statistica, sử dụng phương pháp phân tích Anova ở mức ý nghĩa $p < 0,05$. Số liệu vi sinh được chuyển dạng thành Log trước khi xử lý bằng phần mềm Excel và sau đó được phân tích bằng phần mềm thống kê Statistica.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Một số yếu tố môi trường trong quá trình thí nghiệm

Theo Nguyễn Văn Hòa (2005) nhiệt độ là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến khả năng sinh trưởng và sinh sản của *Artemia*. Do thí nghiệm được bố trí trong phòng kín, nhìn chung qua thí nghiệm thì nhiệt độ trong chai tương đối ổn định. Nhiệt độ trung bình lúc 7 h ($27,4 \pm 0,94^\circ\text{C}$), 14 giờ ($32 \pm 0,72^\circ\text{C}$). Nhiệt độ ở các nghiệm thức dao động trong khoảng tương đối nhỏ và nằm trong ngưỡng tốt nhất cho sự phát triển của *Artemia*. Độ mặn ở các nghiệm thức được duy trì khoảng 35‰ nhằm tạo điều kiện cho vi khuẩn *Bacillus* phát triển. Độ mặn không ảnh hưởng rõ ràng đến sự sinh trưởng cũng như tốc độ tăng trưởng đặc trưng (%/ngày) của *Artemia* (Nguyễn Tấn Sĩ, 2009). Chỉ tiêu pH ở các nghiệm thức dao động trong khoảng 7,5-8. Theo Dhont và Lavens (1996) pH thích hợp cho *Artemia* nằm trong khoảng 6,5 - 8. Như vậy, pH ở các nghiệm thức dao động trong khoảng phù hợp cho sự phát triển của *Artemia*.

Hàm lượng TAN ở nghiệm thức ĐC dao động ở giai đoạn đầu và cuối thí nghiệm (0,073 - 0,568 mg/L). Còn đối với những nghiệm thức có bổ sung

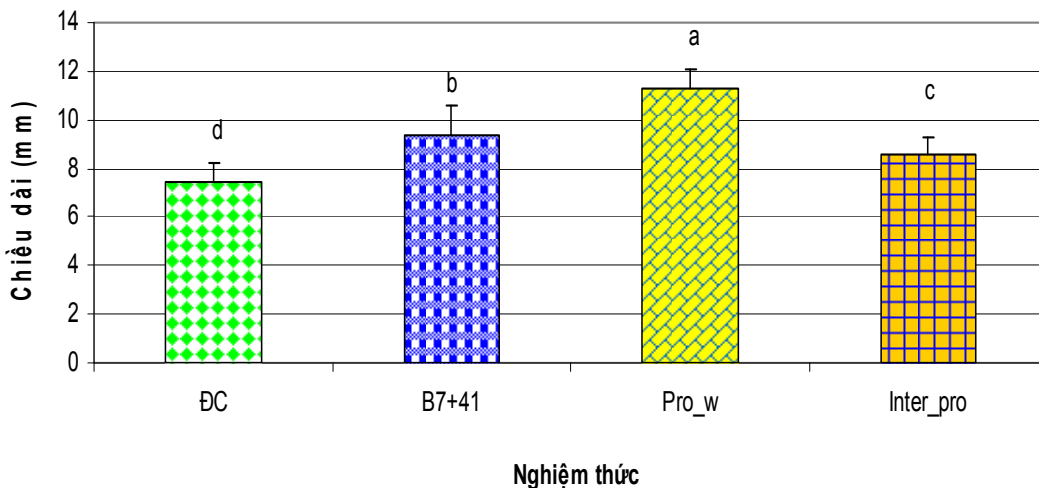
vi khuẩn tương đối ổn định hơn (0,093 – 0,284 mg/L). Vì vậy, đối với nghiệm thức bổ sung vi khuẩn thì TAN tương đối ổn định vì vi khuẩn có khả năng phân giải vật chất hữu cơ tồn đọng trong quá trình nuôi. Theo Bùi Quang Tề (2003) vi khuẩn dị dưỡng có chức năng phân hủy vật chất hữu cơ tồn đọng trong ao nuôi. Hàm lượng NO₂ ở nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn lúc đầu và cuối thí nghiệm ít chênh lệch và dao động trong khoảng 0,127 – 0,408 mg/L so với nghiệm thức ĐC (0,091 – 0,637 mg/L). Từ kết quả trên cho thấy đối với nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn đã góp phần cải thiện hàm lượng NO₂ trong môi trường nuôi *Artemia*.

3.2 Chỉ tiêu sinh học của *Artemia*

3.2.1 Chiều dài của *Artemia*

Chiều dài của *Artemia* được thể hiện qua Hình

1, trong đó chiều dài của *Artemia* ở nghiệm thức ĐC là thấp nhất (7,4±0,8 mm) và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với B37+41 (9,4±1,2 mm), Pro-W (11,3±0,8 mm) và Inter pro (8,6±0,7 mm). Trong 3 nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn thì nghiệm thức Pro-W (11,3±0,8 mm) đạt kích thước lớn nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với B37 +41 (9,4±1,2 mm) và Inter- pro (8,6±0,7 mm). Tuy nhiên, chiều dài của *Artemia* ở nghiệm thức B37+41 và Inter-pro khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Theo Phạm Thị Tuyết Ngân (2008) thì vi khuẩn hữu ích có khả năng cải thiện hệ vi sinh liên kết với vật chủ hay sống tự do trong môi trường, giúp hấp thu thức ăn tốt hơn đồng thời có thể nâng cao giá trị dinh dưỡng của thức ăn. Theo kết quả của Nguyễn Tấn Sỹ (2009) tại Khu Đồng Muối- Cam Ranh- Khánh Hòa đạt trung bình 8 mm sau 14 ngày nuôi.

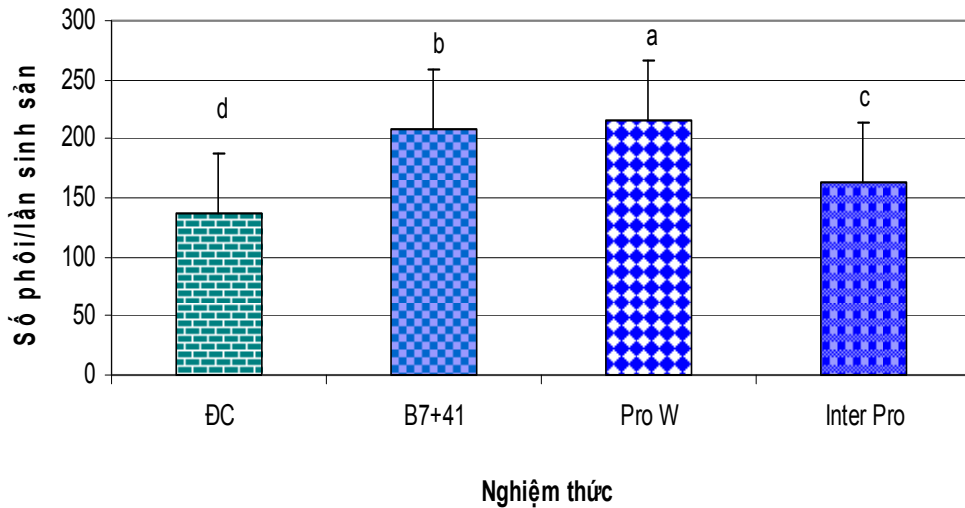


Hình 1: Chiều dài trung bình *Artemia* (mm/cá thể)

3.2.2 Trung bình số phôi/lần sinh sản

Chỉ tiêu số phôi/lần sinh sản được thể hiện ở Hình 2 và Bảng 1. Đối với những nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn thì trung bình số phôi/lần sinh sản cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với nghiệm thức ĐC (137,2 ± 3,5 phôi/lần sinh sản). Trong 3 nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn thì nghiệm thức Pro-W có số phôi/lần sinh sản cao nhất (216,0±6,6 phôi/lần sinh sản) so với B37+41 (209,1±6,5 phôi/lần sinh sản) hoặc Inter-pro (162,4±4,7 phôi/lần sinh sản) và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Kết quả cho thấy

Artemia ở nghiệm thức bổ sung vi khuẩn *Bacillus* con cái hình thành buồng trứng tốt hơn so với nghiệm thức ĐC. Theo Nguyễn Văn Hòa (2007) *Artemia* trưởng thành trong vòng 2 đến 3 tuần và tham gia sinh sản với sức sinh sản tối đa 300 ấu thể hoặc trứng bào xác cũng phù hợp với kết quả trên. Việc bổ sung vi khuẩn sẽ làm tăng số phôi/lần sinh sản vì *Artemia* có khả năng lọc vi khuẩn nên làm tăng khả năng hấp thu chất dinh dưỡng nên có số lượng phôi nhiều hơn. Kết quả cũng cho thấy là những nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn thì *Artemia* cái có số phôi nhiều hơn so với nghiệm thức không bổ sung vi khuẩn.

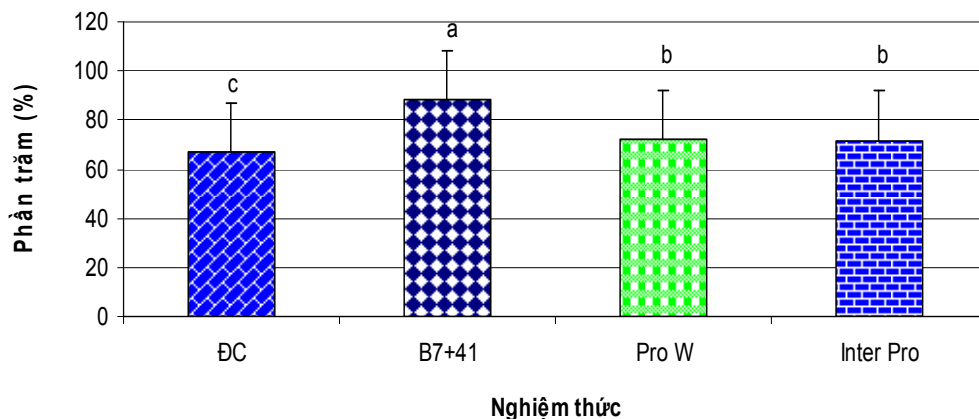


Hình 2: Số phôi/lần sinh sản trung bình của con cái

3.2.3 Tỷ lệ sống trung bình của Artemia

Artemia ở những nghiệm thức được bổ sung vi khuẩn có tỷ lệ sống cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với ĐC ($66,7 \pm 1,5\%$) kết quả thể hiện rõ ở Hình 3 và Bảng 1. Tỷ lệ sống ở nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn B37+41 cao nhất ($88 \pm 3,6\%$) và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) với Pro-W ($72,0 \pm 2\%$) và Inter-pro ($71,7 \pm 1,5\%$). Tuy nhiên, tỷ lệ sống của *Artemia* ở nghiệm thức Pro-W và Inter-pro khác biệt không

có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Kết quả cho thấy việc bổ sung vi khuẩn *Bacillus* góp phần cải thiện tỷ lệ sống của *Artemia*. Việc bổ sung vi khuẩn *Bacillus* có khả năng giúp *Artemia* hạn chế vi khuẩn gây bệnh, giảm tỷ lệ tử vong trong thí nghiệm cảm nhiễm, ức chế sự phát triển của vi khuẩn gây bệnh (Gomez-Gil *et al.*, 1998, Verschuere *et al.*, 1999). Vì vậy, nuôi *Artemia* bổ sung vi khuẩn sẽ làm tăng tỷ lệ sống cũng như tăng sinh khối của *Artemia* giúp nâng cao chất lượng *Artemia* trong quá trình nuôi.



Hình 3: Tỷ lệ sống (%) trung bình của Artemia

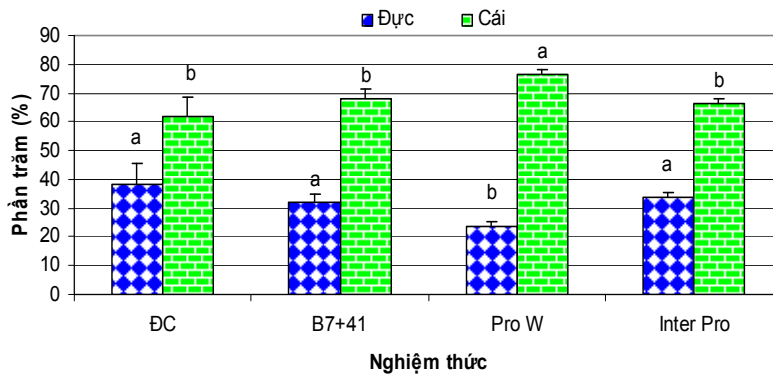
3.2.4 Tỷ lệ đực, cái trung bình của Artemia

Tỷ lệ *Artemia* đực, cái đực thể hiện qua Hình 4 và Bảng 1, tỷ lệ *Artemia* đực cao nhất ở nghiệm thức ĐC ($38,4 \pm 6,8\%$) khác biệt có ý nghĩa thống

kê ($p < 0,05$) so với nghiệm thức Pro-W ($33,5 \pm 1,7\%$). Ở nghiệm thức có bổ sung B37+41 thì tỷ lệ con đực ($31,8 \pm 1,8\%$) khác biệt ($p < 0,05$) với Pro-W ($33,5 \pm 1,7\%$) nhưng không khác biệt so với Inter-pro ($23,7 \pm 1,8\%$). Tỷ lệ *Artemia* cái ở

nghiệm thức Pro-W đạt cao nhất ($76,3 \pm 1,7\%$) và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) với ĐC ($61,5 \pm 6,8\%$). Tuy nhiên, tỷ lệ con cái ở nghiệm thức ĐC ($61,5 \pm 6,8\%$) tương đương ($p > 0,05$) với B37+41 ($68,2 \pm 3,2\%$) và Inter-pro ($66,5 \pm 1,6\%$).

Kết quả cho thấy nghiệm thức bổ sung vi khuẩn tỉ lệ cái cao hơn nghiệm thức không bổ sung vi khuẩn. Trong thực tế nếu tỉ lệ con cái cao hơn con đực thì năng suất nuôi đạt cao hơn nếu con cái đẻ trứng hoặc đẻ con.



Hình 4: Tỷ lệ đực, cái (%) trung bình của *Artemia*

Bảng 1: Các chỉ tiêu sinh học của *Artemia*

Chỉ tiêu sinh học <i>Artemia</i>	ĐC	B37+41	Pro W	Inter pro
Chiều dài (mm)	7,4 ± 0,8 ^d	9,4 ± 1,2 ^b	11,3 ± 0,8 ^a	8,6 ± 0,7 ^c
Số phôi/lần sinh sản	137,2 ± 3,5 ^d	209,1 ± 6,5 ^b	216,0 ± 6,6 ^a	162,4 ± 4,7 ^c
Tỷ lệ sống (%)	66,7 ± 1,5 ^c	88,0 ± 3,6 ^a	72,0 ± 2,0 ^b	71,7 ± 1,5 ^b
Tỷ lệ đực/cái (%)	34,8 ± 6,8 ^a	31,8 ± 3,2 ^a	23,7 ± 1,8 ^b	33,5 ± 1,7 ^a
	61,5 ± 6,8 ^b	68,2 ± 3,2 ^b	76,3 ± 1,7 ^a	66,5 ± 1,6 ^b

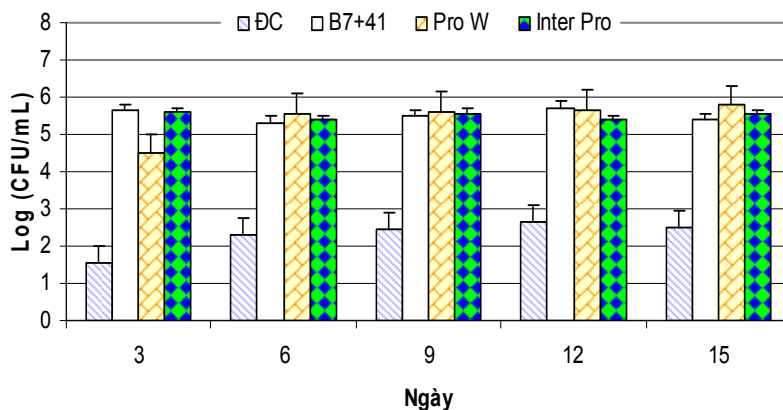
3.3 Biến động mật độ vi khuẩn trong nước

3.3.1 Biến động mật độ vi khuẩn *Bacillus* trong nước

trong nước

Kết quả biến động mật độ vi khuẩn *Bacillus* được thể hiện qua Hình 5. Mật độ vi khuẩn ở các nghiệm thức được bổ sung B37+41 ($3,5 \times 10^5$

CFU/mL), Pro-W ($3,7 \times 10^5$ CFU/mL) và Inter-pro ($3,2 \times 10^5$ CFU/mL) khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với ĐC ($2,6 \times 10^2$ CFU/mL). Các nghiệm thức được bổ sung vi khuẩn 4 ngày/lần cho thấy mật độ *Bacillus* tương đối ổn định trong quá trình thí nghiệm.



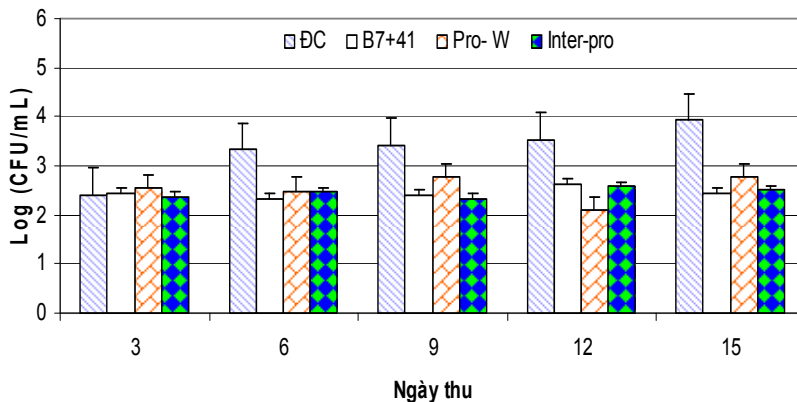
Hình 5: Biến động mật độ vi khuẩn *Bacillus* trong nước

3.3.2 Biến động mật độ vi khuẩn *Vibrio* trong nước

Mật độ vi khuẩn biến động được thể hiện qua Hình 6. Ở các nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn thì mật độ *Vibrio* thấp, dao động trong khoảng $(1,3 \times 10^2 - 6,1 \times 10^2)$ CFU/mL và trong đối ổn định còn đối với nghiệm thức ĐC tăng dần về sau. Trung bình mật độ vi khuẩn ở nghiệm thức ĐC đạt cao nhất $(3,8 \times 10^3)$ CFU/mL và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với B37+41 $(9,9 \times 10^2)$ CFU/mL, Pro-W $(3,9 \times 10^2)$ CFU/mL và Inter-pro $(2,8 \times 10^2)$ CFU/mL). Từ kết quả cho thấy nếu bổ sung vi khuẩn *Bacillus* sẽ làm giảm được mật độ vi khuẩn *Vibrio* trong nước, nguyên nhân là do mật độ vi khuẩn *Bacillus* ở B37+41, Pro-W, Inter-pro tương đối cao nên lấn áp được vi khuẩn *Vibrio*. Điều này phù hợp với nhận định của Moriarty (1998), bổ sung *Bacillus* có thể kiểm soát được *Vibrio*. Rengipipat *et al.* (1998) cho rằng bào tử *Bacillus* như một tác nhân sinh học giúp làm giảm bệnh *Vibrio* trong hệ thống nuôi thủy sản. Nghiên cứu của Hasting và Nealon (1981) cho rằng *Bacillus* có thể tạo ra một số chất kháng khuẩn hoặc một vài sản phẩm có thể tiêu diệt *Vibrio harveyi*. Theo Trần Thị Thu Hiền (2010) vi khuẩn *Bacillus* trong quá trình phát triển có thể sản sinh

ra chất kiềm hãm, ức chế với các vi khuẩn gây bệnh thông qua một số cơ chế cạnh tranh oxy, chất dinh dưỡng, cạnh tranh vị trí và sản sinh ra các chất ức chế sự phát triển của vi sinh vật gây bệnh. Một số nghiên cứu đã cho thấy vi khuẩn *Bacillus* có khả năng khống chế bệnh dịch bằng cách ức chế sự phát triển của vi khuẩn gây bệnh *Vibrio*, thúc đẩy quá trình thực bào, tăng hoạt động của Melanin và kháng khuẩn.

Theo Hasting và Nealon (1981) *Bacillus* S11 có thể tạo ra một số chất kháng khuẩn *Vibrio harveyi* và Moriarty (1998) khi sử dụng Probiotic có chứa chủng *Bacillus* spp cũng hạn chế được mầm bệnh vi khuẩn phát sáng *Vibrio* spp. Nghiên cứu của Vaseehara và Ramasamy (2003) cho thấy *Bacillus* có thể kiểm soát được mầm bệnh *Vibrio* trong điều kiện phòng thí nghiệm và ngoài thực tế. Phạm Thị Tuyết Ngân và Nguyễn Hữu Hiệp (2010) nghiên cứu vi khuẩn chuyển hóa đạm trong bùn đáy ao nuôi tôm sú cho thấy chất lượng nước ao nuôi được cải thiện đồng thời mật độ *Vibrio* ở các nghiệm thức bổ sung *Bacillus* thấp hơn so với đối chứng. Vì vậy, trong quá trình nuôi nếu bổ sung vi khuẩn *Bacillus* có thể kiểm soát sự phát triển của *Vibrio* gây bệnh phát sáng cho động vật thủy sản.



Hình 6: Biến động mật độ vi khuẩn *Vibrio* trong nước

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

4.1 Kết luận

– Tỷ lệ sống, chiều dài, số phôi trên lần sinh sản của *Artemia* trong các nghiệm thức có bổ sung vi khuẩn khác biệt có ý nghĩa so với nghiệm thức không bổ sung vi khuẩn.

– Bổ sung hỗn hợp vi khuẩn *Bacillus* B37+41 có hiệu quả tốt nhất về tỷ lệ sống của *Artemia*. Bổ

sung chế phẩm Pro-W cho kết quả tốt nhất về chiều dài và số phôi/lần sinh sản.

4.2 Đề xuất

– Cần tiếp tục nghiên cứu nuôi *Artemia* có bổ sung vi khuẩn ở nhiều độ mặn khác nhau và nuôi ở thể tích lớn hơn.

– Thử nghiệm nuôi *Artemia* cho ăn bằng men bánh mì và có bổ sung vi khuẩn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Baumann, P., L. Baumann, S. S. Bang, and M. J. Woolkalis. 1980. Evaluation of the taxonomy of *Vibrio*, *Beneckeia*, and *Photobacterium*: abolition of the genus *Beneckeia*. *Curr. Microbiol.* 4:127–132.
2. Bùi Quang Tề, 2003. Bệnh của tôm nuôi và biện pháp phòng trị. Nhà xuất bản Nông Nghiệp, Hà Nội, 112 trang.
3. Dhont, J. & P. Lavens. 1996. Tank production and use of ongrown *Artemia*, p. 164-195. In P. Lavens & P. Sorgeloos (Eds.). *Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture*. FAO Fisheries Technical Paper 361, Rome.
4. Gomez-Gil, B., M.A. Herrera-Vega, F.A. Abreu-Grobois and A. Roque, 1998. Bioencapsulation of two different *Vibrio* species in nauplii of the brine shrimp (*Artemia franciscana*). *Appl. Environ. Microbiol.* 64: 2318-2322.
5. Hasting, J.W. and K.H. Neelson, 1981. The symbiotic luminous bacteria. In: *The Prokaryotes II*. Springer-Verlag, New York, 1960p.
6. Huỳnh Trường Giang. 2012. Giáo trình hóa phân tích ứng dụng thủy sản. Khoa Thủy sản – Trường Đại học Cần Thơ.
7. Moriarty, D.J.W., 1998. Control of luminous *Vibrio* species in Penaeid aquaculture ponds. *Aquaculture*, 164: 351-358.
8. Nguyễn Lâm Dũng, 1983. Thực tập vi sinh vật học. Nhà xuất bản Đại học và Trung học chuyên nghiệp Hà Nội, 368 trang.
9. Nguyễn Tấn Sỹ, 2009. Ảnh hưởng của mật độ thả giống đến năng suất sinh khi *Artemia franciscana* nuôi trong ao đất tại Cam Ranh. *Tạp chí Khoa học – Công nghệ thủy sản*. Số đặc biệt – 2009. Trang 35 - 39.
10. Nguyễn Thị Ngọc Anh và Nguyễn Văn Hòa. 2004. Ảnh hưởng của Phương thức thu hoạch đến năng suất sinh khối *Artemia* ở ruộng muối. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. Trang 256-267.
11. Nguyễn Văn Hòa. 2005. Nâng cao hiệu quả của việc nuôi sinh khối *Artemia* trên ruộng muối. *Báo cáo khoa học đề tài cấp bộ*.
12. Nguyễn Văn Hòa. 2007, *Artemia* – Nghiên cứu và ứng dụng trong nuôi trồng thủy sản. Nhà xuất bản Nông nghiệp, 134 trang.
13. Phạm Thị Tuyết Ngân và Nguyễn Văn Hòa. 2004, Tìm hiểu cơ chế tiềm sinh và phương pháp chế biến bảo quản trứng bào xác *Artemia*. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ – Chuyên ngành Thủy sản*. Trang 329-335.
14. Phạm Thị Tuyết Ngân, Nguyễn Hữu Hiệp, 2010. Biến động mật độ vi khuẩn hữu ích trong ao nuôi tôm sú (*Penaeus monodon*) thâm canh. Trong *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, số 14, trang 166-176.
15. Phạm Thị Tuyết Ngân. 2008. Bài giảng vi sinh học ứng dụng trong thủy sản. Khoa Thủy sản – Trường Đại học Cần Thơ. 150 trang.
16. Rengpipat, S. and S. Rukpratanporn, 1998. Probiotics in aquaculture: a case study of probiotics for larvae of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). In: *Book of Abstracts of the Fifth Asian Fisheries Forum - International Conference on Fisheries and Food Security Beyond the Year 2000*. Asian Fisheries Society, Chiang Mai, Thailand, 193p.
17. Trần Thị Thu Hiền, 2010. Phân lập và tuyển chọn chủng vi khuẩn thuộc chi *Bacillus* ứng dụng tạo chế phẩm sinh học để xử lý môi trường nuôi trồng thủy sản. *Luận văn cao học*. Đại học Bách Khoa Hà Nội, 35 trang.
18. Trương Quốc Phú. 2006. Giáo trình quản lý chất lượng ao nuôi thủy sản, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ, 201 trang.
19. Vaseeharan, B. and P. Ramasamy, 2003. Control of pathogenic *Vibrio* spp by *Bacillus subtilis* BT23, a possible probiotic treatment for black tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Soc. Appl. Microbiol.* 36: 83-87.
20. Verschuere, L., G. Rombaut, G. Huys, J. Dhont, P. Sorgeloos and W. Verstraete, 1999. Microbial control of the culture of *Artemia* juveniles through pre-emptive colonization by selected bacterial strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 2527-2533.
21. <http://www.bohai-Artemia.com/application.html>
22. http://www.mekongfish.net.vn/uploads/tailieu_xuatban/baocao
23. <http://www.texbookofbacteriology.net/Bacillus.htm>
24. <http://www.thuvienkhoahoc.com/tusach/subtilis>
25. <http://www.upwardquest.com/Bacillus-subtilis.html>