

## ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC HÀM LƯỢNG GLUCOSE ĐẾN TỶ LỆ SỐNG VÀ SINH TRƯỞNG CỦA NGHÊU (*MERETRIX LYRATA*) GIỐNG

Ngô Thị Thu Thảo<sup>1</sup> và Lê Quang Nhã<sup>1</sup>

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

### Thông tin chung:

Ngày nhận: 30/12/2013

Ngày chấp nhận: 28/04/2014

### Title:

Effects of different glucose concentrations on the survival and growth rate of juvenile clam *Meretrix lyrata*

### Từ khóa:

Nghêu giống, *Meretrix lyrata*, glucose, chế phẩm sinh học

### Keywords:

*Meretrix lyrata*, glucose, probiotic

### ABSTRACT

Juvenile clams (*Meretrix lyrata*) with shell length 7-8 mm were cultured in 500 L tanks (containing 250 L of seawater) at the stocking density of 50 clams/tank. Clams were fed with algae from Tilapia - Green water system together probiotics and different concentrations of glucose (0, 35 and 70 µg/L). After 70 days of culture, highest survival rate (100%) was obtained at glucose concentration of 35 µg/L however it was not significant different ( $p>0.05$ ) from the control treatment (98.8%). Clam weight gain (0.36 g) and shell length (4.18 mm) was highest in highest glucose supplementation and significant different from the control ( $p<0.05$ ). Our findings showed that supplementation probiotics together glucose concentration of 70 µg/L resulted in highest growth rate of juvenile clam *Meretrix lyrata* compare to lower concentration or without glucose.

### TÓM TẮT

Nghêu giống (*Meretrix lyrata*) có chiều dài vỏ 7-8 mm được nuôi trong các bể có thể tích 500 lít (chứa 250 lít nước) với mật độ 50 con/bể. Nghêu được cho ăn tảo *Chlorella* từ hệ thống nước xanh - cá rô phi kết hợp với bổ sung chế phẩm sinh học có chứa vi khuẩn *Bacillus subtilis* và *Lactobacillus acidophilus* đồng thời với các hàm lượng glucose khác nhau là 0, 35 và 70 µg/L. Tỷ lệ sống của nghêu sau 70 ngày thí nghiệm đạt cao ở nghiệm thức bổ sung 35 µg/L glucose (100%) tuy nhiên không khác biệt ( $P>0,05$ ) so với nghiệm thức đối chứng (98,8%). Khối lượng (0,36g) và chiều dài nghêu (4,18 mm) tăng cao nhất ở nghiệm thức bổ sung glucose 70 µg/L và khác biệt so với không bổ sung ( $P<0,05$ ). Kết quả cho thấy khi bổ sung chế phẩm sinh học cùng với glucose 70 µg/L nghêu đạt chiều dài và khối lượng cao hơn so với nghiệm thức không bổ sung glucose hoặc bổ sung với hàm lượng thấp hơn.

## 1 GIỚI THIỆU

Nghêu (*Meretrix lyrata*) là một trong những đối tượng thủy sản có giá trị kinh tế cao ở Việt Nam. Ở phía Nam phân bố tự nhiên của nghêu khoảng 12.000 hecta tập trung nhiều ở vùng ven biển tỉnh Tiền Giang, Bến Tre, Trà Vinh. Gần đây, do nhu cầu tiêu thụ tăng cao nên việc nuôi Nghêu đã và

đang được mở rộng ra các tỉnh phía Bắc như Nam Định, Thanh Hóa, Nghệ An... Tuy nhiên, sản xuất giống nghêu vẫn chưa ổn định và khó có thể dự đoán do năng lực quản lý, kỹ thuật về sản xuất giống và ương nuôi nghêu còn hạn chế. Do đó, nghiên cứu để thiết lập các qui trình ương nuôi nâng cao sản lượng và chất lượng nghêu giống là cần thiết.

Motoharu *et al.* (2010) cung cấp glucose với các hàm lượng từ 10-100 mg/L vào môi trường ương nghêu *Ruditapes philippinarum* và thấy rằng ấu trùng nghêu có khả năng hấp thu trực tiếp glucose và hàm lượng acid hữu cơ tổng cộng trong cơ thể tăng gấp 1,5 lần so với ban đầu. Glucose đồng thời cũng là nguồn cung cấp carbon cho các nhóm vi khuẩn dị dưỡng như *Bacillus* hoặc *Lactobacillus*... Đối với nhóm động vật thân mềm 2 mảnh vỏ, quá trình lọc thức ăn là quá trình không chọn lọc, các loại thức ăn bao gồm tảo, mùn bã hữu cơ, vi sinh vật... với kích thước phù hợp sẽ được lọc qua mang, cung cấp chất dinh dưỡng cho cơ thể. Prado *et al.* (2010) xác định động vật thân mềm có khả năng lọc và sử dụng được vi khuẩn và chất thải của vi khuẩn trong môi trường. Thúc đẩy sự phát triển và tăng cường mối liên kết của các loại thức ăn này trong môi trường ương nuôi động vật thân mềm hai mảnh vỏ sẽ góp phần nâng cao giá trị dinh dưỡng của thức ăn và nâng cao hiệu quả sản xuất.

## 2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Đối tượng và thời gian nghiên cứu

Nghêu giống có kích thước từ 7 – 8 mm được mua tại Tiền Giang và chuyển về Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ để tiến hành thí nghiệm. Thí nghiệm được tiến hành trong 70 ngày.

### 2.2 Phương pháp nghiên cứu

Thí nghiệm gồm có 4 nghiệm thức mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần. Thức ăn của nghêu trong tất cả các nghiệm thức đều là tảo từ hệ thống nước xanh cá rô phi các chất bổ sung khác nhau tùy theo các nghiệm thức là: 1) Đối chứng (chỉ cho ăn tảo); 2) Bổ sung chế phẩm sinh học (CPSH); 3) CPSH +35µg/L glucose; 4) CPSH +70µg/L glucose. Thành phần của CPSH sử dụng gồm *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus acidophilus* mật độ  $1,5 \times 10^9$ CFU được bổ sung trực tiếp vào bể nuôi với hàm lượng 50 µg/L định kỳ 7 ngày/lần. Glucose (53%) được bổ sung vào nghiệm thức 3 là 35 µg/L và nghiệm thức 4 là 70 µg/L vào buổi sáng mỗi ngày. Việc bổ sung glucose được tham khảo từ Motoharu *et al.* (2010) tuy nhiên hàm lượng glucose được giảm xuống do được bổ sung hàng ngày khi cho ăn.

Nghêu giống được nuôi trong bể nhựa có thể tích 500 lít (chứa 250 lít nước biên) với mật độ 50 con/bể. Bể nuôi được gắn sục khí liên tục nhằm cung cấp Oxy cho nghêu và sục khí kéo nước để tạo dòng nước từ đáy lên bề mặt. Nền đáy bể có cát trộn với bột vỏ sò dày 20 cm.

Hệ thống nước xanh - cá rô phi được chuẩn bị nhằm cung cấp tảo làm thức ăn cho nghêu. Cá có khối lượng 10 – 20 gam/con được nuôi trong bể 1 m<sup>3</sup> với mật độ 20 con/bể. Sau 3 ngày thả cá, quá trình thuần hóa được tiến hành để độ mặn trong bể nuôi đạt 20‰.

Các yếu tố môi trường như nhiệt độ và pH được kiểm tra hằng ngày vào lúc 8h sáng và 14h chiều bằng nhiệt kế thủy ngân và máy đo HANA. Độ mặn được kiểm tra định kỳ 3 ngày bằng khúc xạ kế ATAGO. Hàm lượng NH<sub>4</sub><sup>+</sup> và NO<sub>2</sub><sup>-</sup> trong bể nuôi nghêu được kiểm tra định kỳ hàng tuần bằng bộ test SERA (sản xuất tại Đức).

### 2.3 Phương pháp xác định mật độ vi khuẩn

Mật độ vi khuẩn tổng cộng, *Bacillus ssp* và *Vibrio ssp* được xác định 15 ngày/lần. Mẫu nước được lấy ở sát mặt đáy cát của bể nuôi. Tiến hành pha loãng mẫu nước với nước muối sinh lý đến nồng độ 10<sup>-1</sup> và tiếp tục pha loãng để được nồng độ 10<sup>-2</sup>. Đối với mẫu xác định mật độ vi khuẩn *Bacillus*, sau khi pha loãng đến nồng độ thích hợp mẫu được đem ủ ở 80°C trong 20 phút. Dùng Micropipete hút 100 µL dung dịch vi khuẩn cho vào các đĩa chứa môi trường thạch chuyên biệt rồi dùng que trải đều cho khô hoàn toàn. Các đĩa được đem ủ trong tủ ở nhiệt độ 28°C trong 24h, sau đó đem ra đọc kết quả. Số khuẩn lạc tổng cộng được đếm trên đĩa petri có số khuẩn lạc >20 và <200. Số lượng vi khuẩn được tính theo công thức:

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

### 2.4 Xác định tăng trưởng, tỷ lệ sống và hệ số độ béo của nghêu

Nghêu giống trong các bể thí nghiệm được thu mẫu định kỳ 15 ngày/lần để xác định chiều dài, khối lượng và tỷ lệ sống.

Tăng trưởng chiều dài tương đối (%/ngày) =  $(\ln L_2 - \ln L_1) \times 100/t$

Với L<sub>1</sub>: chiều dài vỏ tại thời điểm t<sub>1</sub>; L<sub>2</sub>: chiều dài vỏ tại thời điểm t<sub>2</sub> và t là thời gian nuôi.

Tăng trưởng khối lượng tương đối (%/ngày) =  $(\ln W_2 - \ln W_1) \times 100/t$

Với W<sub>1</sub>: khối lượng nghêu tại thời điểm t<sub>1</sub>; W<sub>2</sub>: khối lượng nghêu tại thời điểm t<sub>2</sub> và t là thời gian nuôi.

Chỉ số độ béo được xác định tại thời điểm bắt đầu thí nghiệm và lúc kết thúc thí nghiệm theo công thức:

$$\beta (\%) = 100 \times (DW_t / WW_t)$$

Với DW<sub>t</sub>: Khối lượng thịt sau khi sấy khô ở 65°C sau 48h và WW<sub>t</sub>: Khối lượng thịt nhều chưa sấy ban đầu.

**2.5 Phương pháp xử lý số liệu**

Sử dụng phần mềm Excel để tính giá trị trung bình, độ lệch chuẩn và vẽ đồ thị, phần mềm SPSS 16.0 dùng để so sánh sự khác biệt giữa các giá trị trung bình của các nghiệm thức bằng phương pháp ANOVA ở mức tin cậy  $p < 0,05$ .

**3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**3.1 Biến động các yếu tố môi trường**

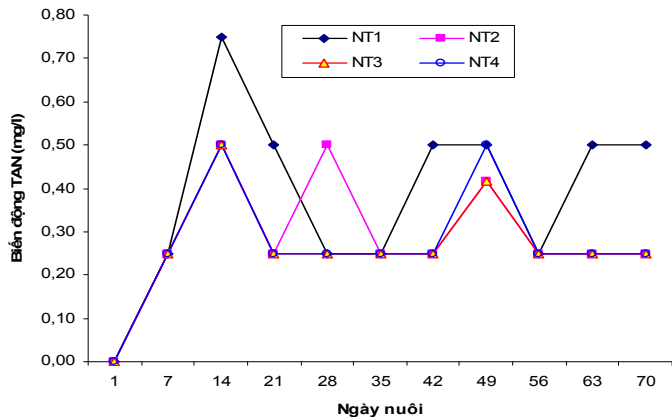
Trong quá trình thí nghiệm nhiệt độ trung bình của các nghiệm thức tương đối ổn định (24,2-28,7°C), nhiệt độ giữa buổi sáng và chiều ít biến động (1,26 - 2,72°C). Theo Nguyễn Đình Hùng (2007) nhiệt độ thích hợp sinh trưởng và phát triển của nhều từ 25 – 30°C.

Giá trị pH vào buổi chiều có sự biến động và tăng dần từ ngày 20 cho đến cuối thí nghiệm có thể do quá trình quang hợp của tảo làm pH biến động giữa các nghiệm thức (7,9 – 8,7).

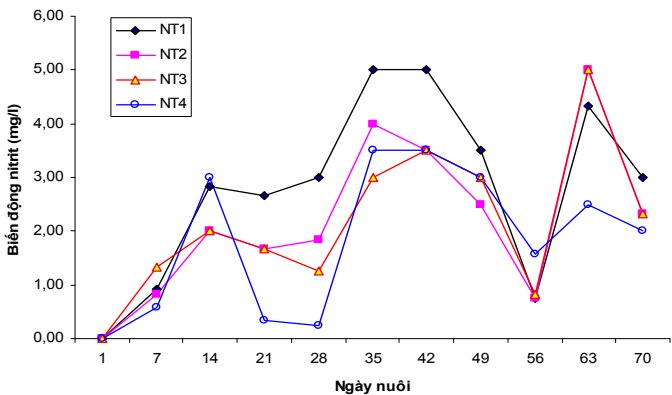
Hàm lượng NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/NH<sub>3</sub> ở nghiệm thức đối chứng biến động liên tục trong quá trình thí nghiệm (0,39 mg/L) cao hơn ở các nghiệm thức có bổ sung glucose và CPSH (0,27 – 0,29 mg/l). Theo Balcázar (2006) CPSH giúp cho quá trình phân giải các hợp chất hữu cơ hòa tan trong nước, từ đó giúp ổn định hàm lượng NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/NH<sub>3</sub>.

Trung bình hàm lượng N-NO<sub>2</sub> cao nhất ở nghiệm thức đối chứng (3,10 mg/L) và thấp nhất ở nghiệm thức bổ sung CPSH cùng với glucose 70 mg/L (2,02 mg/L). Theo Rajinikanth et al. (2010) khi sử dụng CPSH trong ao nuôi tôm ở liều lượng càng cao thì hiệu quả cải thiện hàm lượng NO<sub>2</sub> và NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/NH<sub>3</sub> càng rõ.

**Hình 1: Biến động hàm lượng NH<sub>4</sub>/NH<sub>3</sub> trong các nghiệm thức thí nghiệm**



**Hình 2: Biến động hàm lượng NO<sub>2</sub> (mg/L) trong các nghiệm thức thí nghiệm**



Kết quả thí nghiệm cho thấy trung bình hàm lượng NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/NH<sub>3</sub> và NO<sub>2</sub><sup>-</sup> ở nghiệm thức đối chứng cao hơn những nghiệm thức có bổ sung

CPSH và glucose (Bảng 1), sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

**Bảng 1: Biến động hàm lượng NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/NH<sub>3</sub> và NO<sub>2</sub><sup>-</sup> trong các nghiệm thức thí nghiệm**

| Chỉ tiêu   | NT1                      | NT2                      | NT3                      | NT4                      |
|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> /NH <sub>3</sub> (mg/L) | 0,39 ± 0,00 <sup>a</sup> | 0,29 ± 0,01 <sup>b</sup> | 0,26 ± 0,01 <sup>b</sup> | 0,27 ± 0,00 <sup>b</sup> |
| NO <sub>2</sub> (mg/L)                               | 3,10 ± 0,19 <sup>a</sup> | 2,44 ± 0,31 <sup>b</sup> | 2,39 ± 0,10 <sup>b</sup> | 2,02 ± 0,06 <sup>b</sup> |

Các số liệu trong cùng một hàng có chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ )

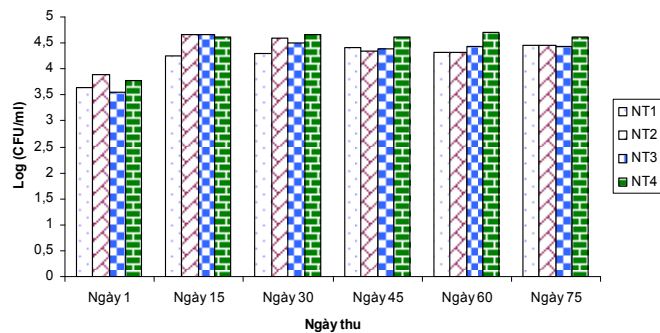
**3.2 Biến động mật độ vi khuẩn**

**3.2.1 Mật độ vi khuẩn tổng cộng (CFU/ml)**

Kết quả cho thấy sau 70 ngày nuôi mật độ vi khuẩn tổng cộng ở các nghiệm thức dao động trong khoảng 1,9 – 3,7 x 10<sup>4</sup> CFU/ml. Mật độ vi khuẩn trong bể chỉ dao động từ 3,5 – 7,6 x 10<sup>2</sup> CFU/ml trong những ngày đầu thí nghiệm. Từ ngày 15 đến ngày 70 mật độ vi khuẩn tổng tăng cao nhất ở nghiệm thức bổ sung CPSH và 70 µg/lit glucose từ 0,6x10<sup>4</sup> lên 4,21x10<sup>4</sup> CFU/ml. Prado *et al.* (2010)

xác định động vật thân mềm có khả năng lọc và sử dụng được vi khuẩn và chất thải của vi khuẩn trong môi trường. Việc bổ sung CPSH ngoài việc ổn định môi trường còn có thể là nguồn cung cấp thức ăn cho nhiều loài động vật thân mềm. Theo Angel *et al.* (2009) việc bổ sung vi khuẩn *Lactobacillus* làm tăng tỷ lệ sống của ấu trùng hàu trong quá trình ương. Ngoài ra vi khuẩn bổ sung sẽ cạnh tranh môi trường sống với các loài vi khuẩn gây hại và giúp cho sinh vật tăng khả năng miễn dịch đối với những sinh vật gây hại (Balcázar, 2006).

**Hình 3: Biến động mật độ vi khuẩn tổng trong thí nghiệm**

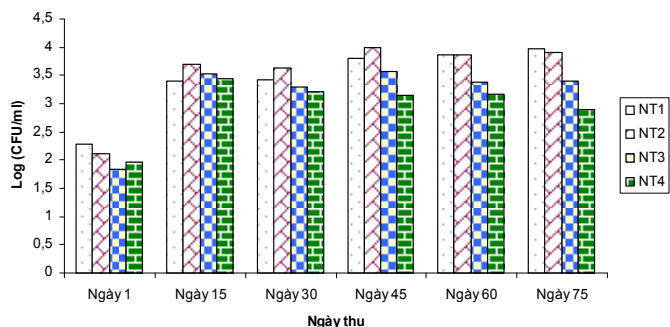


**3.2.2 Mật độ vi khuẩn Vibrio**

Mật độ vi khuẩn *Vibrio* ở nghiệm thức đối chứng đạt cao nhất (4,6x10<sup>3</sup> CFU/mL), và thấp nhất ở nghiệm thức bổ sung CPSH và 70 µg/L glucose (1,3x10<sup>3</sup> CFU/ml). Các nghiệm thức có bổ

sung CPSH hoặc lượng glucose thấp hơn thì mật độ vi khuẩn *Vibrio* ít biến động hơn nghiệm thức đối chứng (Hình 4). Theo Đặng Phương Nga *et al.*, (2007) vi khuẩn *Bacillus spp* có khả năng ức chế tốt một số loài vi khuẩn *Vibrio spp*.

**Hình 4: Biến động mật độ vi khuẩn Vibrio trong thí nghiệm**

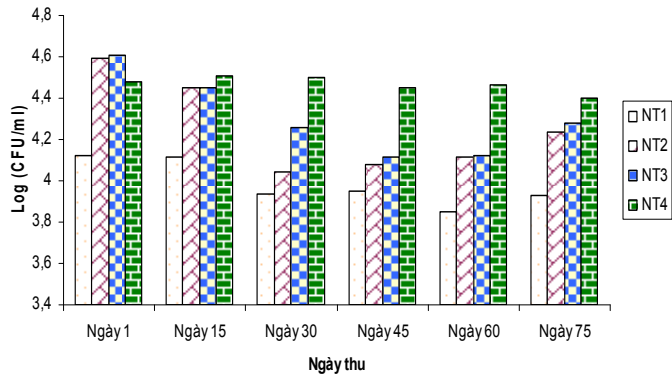


**3.2.3 Mật độ vi khuẩn Bacillus**

Mật độ vi khuẩn *Bacillus* tăng cao nhất ở nghiệm thức có bổ sung CPSH kết hợp 70 µg/L glucose (2,5x10<sup>4</sup> CFU/ml) và thấp nhất ở nghiệm thức đối chứng (0,84x10<sup>4</sup> CFU/ml), các nghiệm

thức khác có mật độ vi khuẩn *Bacillus* ở mức trung gian (Hình 5). Theo Vichai & Penkhae (2006) vi khuẩn *Bacillus* có khả năng chống vi khuẩn *Vibrio spp*. sau 12 giờ thí nghiệm, chủng *Bacillus spp*. có khả năng kháng vi sinh vật của nhờ một chất kháng sinh ngoại bào.

**Hình 5: Biến động mật độ vi khuẩn Bacillus spp trong thí nghiệm**



**3.3 Tỷ lệ sống (%)**

Tỷ lệ sống của nghêu ở các nghiệm thức khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Tuy nhiên, nghêu ở nghiệm thức bổ sung CPSH và 35  $\mu\text{g/L}$  glucose có tỷ lệ sống đạt 100%. Trong các nghiệm thức không bổ sung CPSH và glucose thì nghêu đạt tỷ lệ sống trung bình 98,85%. Kết quả này tương tự với kết quả của Macey & Coyne (2005) khi thử nghiệm thức ăn có trộn CPSH trên bào ngư *Haliotis*, sau đó gây cảm nhiễm với *Vibrio anguillarum*. Tác giả nhận thấy tỷ lệ sống của bào

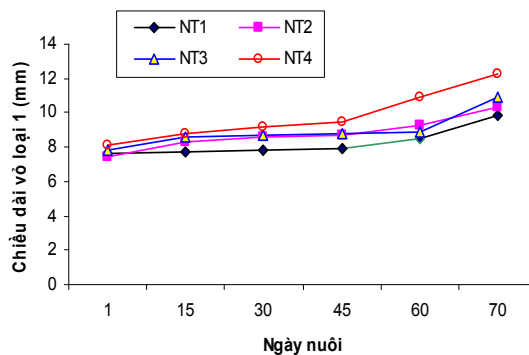
ngư ăn thức ăn có bổ sung CPSH đạt 62%, so với không bổ sung chế phẩm sinh học chỉ đạt 25%.

**3.4 Tốc độ sinh trưởng của nghêu**

**3.4.1 Chiều dài nghêu (mm)**

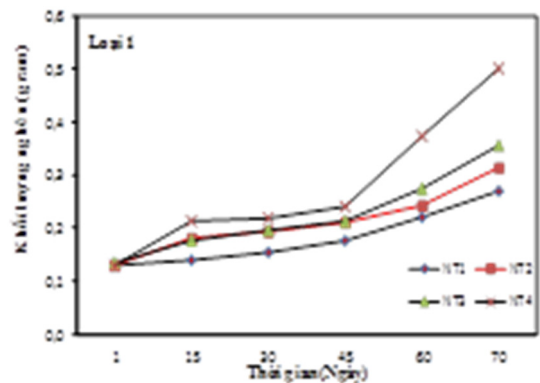
Chiều dài trung bình nghêu ở nghiệm thức có bổ sung CPSH tăng 1,7 lần so với nghiệm thức đối chứng (Hình 6). Macey & Coyne (2005) nghiên cứu khi bổ sung CPSH vào thức ăn bào ngư đã kết luận rằng CPSH có tác dụng giúp bào ngư tăng trưởng tốt hơn.

**Hình 6: Chiều dài Nghêu trong các nghiệm thức theo thời gian**



**3.4.2 Khối lượng nghêu (g)**

Khối lượng nghêu giống trung bình đạt cao nhất (0,5 g/cá thể) khi bổ sung CPSH và 70  $\mu\text{g/L}$  glucose và thấp nhất (0,27 g/cá thể) ở nghiệm thức đối chứng. Theo Balcázar (2006) CPSH góp phần cung cấp dinh dưỡng và enzyme tiêu hóa cho sinh vật từ đó giúp cho sinh vật hấp thu thức ăn tốt hơn. Sự có mặt đồng thời của vi khuẩn *Bacillus* và *Lactobacillus* trong CPSH bổ sung vào các bể nuôi nghêu có thể đã làm nguồn thức ăn trong bể phong phú hơn đồng thời giúp nghêu tiêu hóa thức ăn tốt hơn. Bên cạnh đó, hàm lượng glucose ở mức 70  $\mu\text{g/L}$  cũng đã góp phần cung cấp nguồn carbon tạo điều kiện cho các nhóm vi khuẩn này phát triển ổn định hơn trong bể nuôi.



**Hình 7: Khối lượng nghêu trong các nghiệm thức theo thời gian (g)**

**3.5 Chỉ số độ béo β (%)**

Chỉ số độ béo đạt cao nhất ở nghiệm thức có bổ

sung CPSH và 70 μg/L glucose (20,5%) nhưng không khác biệt so với nghiệm thức đối chứng (Bảng 2).

**Bảng 2: Chiều dài (mm), khối lượng (g) và hệ số độ béo của nghêu sau 70 ngày thí nghiệm**

|                | NT1                      | NT2                       | NT3                       | NT4                      |
|----------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|
| Chiều dài (mm) | 9,61 ± 1,16 <sup>a</sup> | 10,4 ± 0,95 <sup>b</sup>  | 10,96 ± 0,97 <sup>b</sup> | 12,6 ± 1,75 <sup>c</sup> |
| Khối lượng (g) | 0,28 ± 1,16 <sup>a</sup> | 0,37 ± 0,09 <sup>b</sup>  | 0,41 ± 0,13 <sup>b</sup>  | 0,53 ± 0,19 <sup>c</sup> |
| Độ béo (%)     | 20,3 ± 2,71 <sup>a</sup> | 20,47 ± 2,78 <sup>a</sup> | 18,9 ± 1,47 <sup>a</sup>  | 20,5 ± 1,65 <sup>a</sup> |

Các số liệu trong cùng một hàng có chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ )

**4 KẾT LUẬN**

Bổ sung chế phẩm sinh học kết hợp glucose góp phần làm giảm hàm lượng NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/NH<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub>- trong môi trường ương nghêu giống.

Sau 70 ngày thí nghiệm, nghêu ở các nghiệm thức có bổ sung chế phẩm sinh học và glucose có tỷ lệ sống không khác biệt so với đối chứng ( $p > 0,05$ ).

Chiều dài và khối lượng của nghêu đều đạt cao nhất ở nghiệm thức có bổ sung chế phẩm sinh học và hàm lượng glucose 70 μg/lít.

Việc bổ sung chế phẩm sinh học và glucose đã góp phần hạn chế sự phát triển của vi khuẩn Vibrio và làm tăng mật độ vi khuẩn Bacillus trong bể ương.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Angel I. Campa-Córdova. 2009. Growth, survival and superoxide dismutase activity in juvenile *Crassostrea corteziensis* (Hertlein, 1951) treated with probiotics. *Hidrobiologica*: 151-157.
2. Đặng Phương Nga và ctv, 2007. Khả năng ức chế vi khuẩn gây bệnh Vibrio trong nước nuôi tôm của Bacillus subtilis HY1 và Lactococcus Lactis CC4K. *Tạp chí Công nghệ sinh học* 5(3): trang 383 – 390.
3. Balcázar J.L. 2006. The role of probiotics in aquaculture. *Veterinary Microbiology* 114: 173-186.
4. Macey, B.M. & V.E Coyne, 2005. Improved growth rate and disease resistance in farmed *Haliotis midae* through probiotic treatment. *Aquaculture* 245: 249-261.

5. Motoharu U., Masaei K. and Tatsuo M. 2010. Growth promotion of the Juvenile clam, *Ruditapes philippinarum*, on sugars supplemented to the rearing water. *Aquaculture* 302 (3-4): 243- 247.
6. Ngô Anh Tuấn. 2004. Ảnh hưởng của thức ăn lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng điệp seo (*Comptopallium radula* Linne, 1758). *Tuyển tập báo cáo khoa học toàn quốc lần thứ ba*. Nhà xuất bản Nông nghiệp: 210 – 219.
7. Prado S, Romalde J.L. and Barja J.L., 2010. Review of probiotics for use in bivalve hatcheries. *Vet. Microbiol.*: 97 – 187.
8. Rajinikanth. 2010. Efficacy of Probiotics, Growth Promoters and Disinfectants in Shrimp Grow out Farms. *American-Eurasian J. Agric & Environ. Sci.*, 7(3): 347 – 354.
9. Soudant, P., Paillard, C., Choquet, G., Lambert, C., H.I. Reid, Marhic, A., Donaghy, L., Birkbeck, T.H. 2004. Impact of season and rearing site on the physiological and immunological parameters of the Manila clam *Venerupis* (=Tapes, = *Ruditapes*) *philippinarum*. *Aquaculture* 229: 401-418.
10. Zhuang, S.H., Z.Q. Wang, 2004. Influence of size, habitat and food concentration on the feeding ecology of the bivalve *Meretrix meretrix* Linnaeus. *Aquaculture* 241: 689-699.
11. Vichai D. and Penkhae W. 2006. In vitro Antimicrobial Activity of *Bacillus* spp. against Pathogenic *Vibrio* spp. in Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*). *Kasetsart Journal: Natural Science* 40 (4): 949 – 957.