

THÔNG BÁO KHOA HỌC

**ẢNH HƯỞNG CỦA LIỀU LƯỢNG *Lactobacillus acidophilus* LÊN TỶ LỆ SỐNG VÀ BIẾN THÁI CỦA ẤU TRÙNG CUA BIỂN (*Scylla paramamosain* Estampador, 1949)**

**EFFECT OF *Lactobacillus acidophilus* ON SURVIVAL RATE AND METAMORPHOSIS OF MUD CRAB LARVAE (*Scylla paramamosain* Estampador, 1949)**

Nguyễn Việt Bắc<sup>1</sup>

Ngày nhận bài: 05/08/2019; Ngày phân biên thông qua: 14/10/2019; Ngày duyệt đăng: 10/11/2019

**TÓM TẮT**

Cua biển là loài giáp xác quan trọng của ngành thủy sản. Nghiên cứu ảnh hưởng của liều lượng *Lactobacillus acidophilus* lên tỷ lệ sống và biến thái của ấu trùng cua biển (*Scylla paramamosain* Estampador, 1949) được thực hiện tại trại sản xuất giống giáp xác Trường Cao đẳng Cộng đồng Cà Mau nhằm góp phần hạn chế việc sử dụng kháng sinh, cải thiện năng suất và tỷ lệ sống trong ương ấu trùng cua biển. Thí nghiệm có 3 nghiệm thức với liều lượng *Lactobacillus acidophilus* khác nhau gồm  $10^4$  CFU/mL,  $10^5$  CFU/mL và  $10^6$  CFU/mL (theo thể tích) được thử nghiệm với ba lần lặp lại cho mỗi nghiệm thức. Ấu trùng được ương trong xô nhựa có thể tích 60 lít, với mật độ 200 ấu trùng/L. Kết quả nghiên cứu cho thấy mật độ vi khuẩn tổng trong bể nuôi cao nhất ở nghiệm thức bổ sung *Lactobacillus acidophilus* với liều lượng  $10^6$  CFU/mL ( $4,2 \times 10^5$  CFU/mL) và khác biệt có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ) với các nghiệm thức còn lại. Mật độ vi khuẩn *Vibrio* sp thấp nhất ở nghiệm thức 3 ( $0,21 \times 10^3$  CFU/mL) ( $p < 0,05$ ). Tỷ lệ biến thái và chiều dài ấu trùng *Zoea*<sub>5</sub> cao nhất ở nghiệm thức 2 ( $10^5$  CFU/mL) lần lượt là 65,6% và 4,44 mm. Chiều rộng mai (CW) *Cua*<sub>1</sub> cao nhất 3,13 mm ở nghiệm thức 2. Tuy nhiên, không có sự khác biệt đáng kể về các chỉ số này giữa các nghiệm thức ( $p > 0,05$ ). Tỷ lệ sống đến *Cua*<sub>1</sub> tốt nhất ở nghiệm thức 3 (8,54%) nhưng khác biệt không có ý nghĩa ( $p > 0,05$ ) với nghiệm thức 1 (8,12%) và nghiệm thức 2 (8,51%). Kết quả nghiên cứu cho thấy nên bổ sung *Lactobacillus acidophilus* với liều lượng  $10^5$  CFU/mL trong thực tế sản xuất giống.

Từ khóa: *Lactobacillus acidophilus*, cua biển, men vi sinh, *Scylla paramamosain*.

**ABSTRACT**

The effect of *Lactobacillus acidophilus* on survival rate and metamorphosis of mud crab larvae (*Scylla paramamosain* Estampador, 1949) was investigated at crustacean hatchery of Ca Mau community college. This experiment aimed to identify the suitable concentration of *Lactobacillus acidophilus* used to the minimise antibiotic application, to improve the production and survival rate of mud crab rearing. The experiment in the larval rearing period from zoea-1 stage to crab-1 stage was conducted with different densities of *Lactobacillus acidophilus* as following  $10^4$ ,  $10^5$  and  $10^6$  CFU/mL, respectively with three replicates per treatment. Larvae were reared in plastic tanks of 60 liters with the stocking density of 200 larvae/L. The results showed that the highest total bacteria was found in the treatment supplied concentration at  $10^6$  CFU/mL ( $4.2 \times 10^5$  CFU/ml). It was significantly different from other treatments ( $p < 0.05$ ). The level of *Vibrio* sp was significantly lowest in the third treatment ( $0.21 \times 10^3$  CFU/mL) ( $p < 0.05$ ). Metamorphic rate and the total length of zoea<sub>5</sub> stage in the treatment  $10^5$  CFU/ml were the highest with 65.6% and 4.44 mm, respectively. The body length of crab-1 was highest (3.13 mm) in treatment  $10^5$  CFU/mL and was not significantly different with other treatments ( $p > 0.05$ ). The survival of crab-1 was the best in the treatment  $10^6$  CFU/mL (8.54%); which was not significantly different from those of the first treatment (8.12%) and second treatment (8.51%) ( $p > 0.05$ ). The results suggested that addition of *Lactobacillus acidophilus* at concentrations at  $10^5$  CFU/mL could be applied to commercial production for mud-crab hachery.

Keywords: *Lactobacillus acidophilus*, mud crab, probiotic, *Scylla paramamosain*.

<sup>1</sup> Trường Cao đẳng Cộng đồng Cà Mau

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong trại sản xuất giống cua biển, tỷ lệ sống của ấu trùng cua biển *Scylla paramamosain* thường rất thấp do ấu trùng bị nhiễm *Vibrio harveyi* từ cua mẹ mang trứng hoặc từ nguồn nước ương ấu trùng (Lavilla-Pitogo và ctv. 1992; Lavilla-Pitogo và De la pena, 2004). Để hạn chế rủi ro trong quá trình ương ấu trùng các trại giống thường sử dụng kháng sinh để phòng và trị bệnh, dẫn đến hình thành các chủng vi khuẩn kháng thuốc (Talpur và ctv., 2011). Trong những năm gần đây, việc sử dụng kháng sinh và hóa chất trong lĩnh vực nuôi trồng thủy sản đã có xu hướng giảm, nhằm hướng đến quy trình ương, nuôi thân thiện với môi trường và mang tính an toàn sinh học cao (Cabello, 2006).

Gần đây men vi sinh đã được chú ý và áp dụng nhiều cho các đối tượng nuôi thủy sản (Gatesoupe, 1999). Trong nuôi trồng thủy sản, chế phẩm sinh học thường được bổ sung trong thức ăn hoặc bổ sung trực tiếp vào môi trường nước (Moriarty, 1999). Nhiều nghiên cứu gần đây đã cho thấy hiệu quả cải thiện tăng trưởng và khả năng miễn dịch của động vật thủy sản khi được bổ sung chế phẩm sinh học trong quá trình ương nuôi cá, tôm và nhuyễn thể (Sumon và ctv., 2018; Thao và ctv., 2012). Tuy nhiên, có rất ít thông tin về việc ứng dụng chế phẩm sinh học trong ương ấu trùng cua biển (Talib và ctv., 2017). Nguyễn Việt Bắc và Dương Xuân Đào (2016) đã sử dụng các dòng vi khuẩn hữu ích khác nhau cho ương ấu trùng cua biển *Scylla paramamosain*. Kết quả cho thấy ấu trùng cua có tỷ lệ sống và tăng trưởng tốt nhất (10,04%) khi bể ương được bổ sung vi khuẩn *Lactobacillus acidophilus*, cao hơn nhiều so với nghiệm thức không bổ sung vi sinh (7,51%). Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu chưa chỉ ra ảnh hưởng của liều lượng *Lactobacillus acidophilus* được bổ sung đến sự phát triển của ấu trùng cua biển. Do đó, đề tài ảnh hưởng của liều lượng *Lactobacillus acidophilus* lên tỷ lệ sống và biến thái của ấu trùng cua biển (*S. paramamosain* Estampador, 1949) được thực hiện nhằm tìm ra liều lượng *Lactobacillus acidophilus* bổ sung tối ưu nhất cho ương ấu trùng cua biển.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Thí nghiệm gồm 3 nghiệm thức được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên trên các bể nhựa chứa 60 lít nước với mật độ vi khuẩn *Lactobacillus acidophilus* khác nhau, mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần. Chế phẩm sinh học *Lactobacillus acidophilus* (Han Wha Pharma, Hàn Quốc) được bổ sung định kỳ 3 ngày/lần, với mật độ vi khuẩn theo từng nghiệm thức thí nghiệm. Nước ương có độ mặn 26 ppt được mua từ cửa biển Gành Hào – Bạc Liêu. Ấu trùng Zoea<sub>1</sub> dùng cho thí nghiệm thu từ nguồn cua mẹ mua tại các ruộng nuôi tôm quảng canh ở huyện Đầm Dơi, Cà Mau về nuôi vỗ và sinh sản. Ấu trùng được ương với mật độ 200 con/L. Trong suốt thời gian ương, bể ương được sục khí liên tục và thay nước 3 ngày/lần, mỗi lần thay 25% lượng nước ương. Sau khi ấu trùng Megalop chuyển sang Cua<sub>1</sub> hoàn toàn thì thu hoạch toàn bộ cua con. Ấu trùng cua được cho ăn *Artemia* Vĩnh Châu 4 lần/ngày (lúc 6 giờ, 10 giờ, 14 giờ, 18 giờ) với chế độ cho ăn được trình bày trong Bảng 1. Trình bày cụ thể các loại thức ăn là *Artemia* đã sử dụng

- Nghiệm thức 1 (NT1): Bổ sung *Lactobacillus acidophilus* với mật độ 10<sup>4</sup> CFU/mL

- Nghiệm thức 2 (NT2): Bổ sung *Lactobacillus acidophilus* với mật độ 10<sup>5</sup> CFU/mL

- Nghiệm thức 3 (NT3): Bổ sung *Lactobacillus acidophilus* với mật độ 10<sup>6</sup> CFU/mL

Giá thể (lưới, chùm dây nylon...) được bố trí trong bể ương với diện tích 4 m<sup>2</sup> giá thể/m<sup>2</sup> bể ương khi ấu trùng chuyển sang giai đoạn Megalop.

Các yếu tố môi trường như nhiệt độ được đo bằng máy đo pH-Nhiệt độ vào lúc 7 giờ và 14 giờ. TAN và Nitrit được đo 3 ngày/lần bằng phương pháp Indophenol blue và phương pháp Dianozium.

Mật độ vi khuẩn tổng và vi khuẩn *Vibrio* sp. trong nước được xác định 3 ngày/lần. Mẫu nước được cấy vào đĩa môi trường TCBS cho vi khuẩn *Vibrio* và môi trường NA chuyên biệt

**Bảng 1. Thức ăn và chế độ cho ăn của ấu trùng cua trong thí nghiệm**

Giai đoạn	Artemia bung dù	Ấu trùng Artemia	Ấu trùng Artemia giàu hóa DHA	Artemia khối	sinh
Zoea <sub>1</sub>	2,5 g/m <sup>3</sup> /lần				
Zoea <sub>2</sub>	3 g/m <sup>3</sup> /lần				
Zoea <sub>3</sub>		5 g/m <sup>3</sup> /lần			
Zoea <sub>4</sub>		6 g/m <sup>3</sup> /lần			
Zoea <sub>5</sub>			8 g/m <sup>3</sup> /lần		
Megalop				30 g/m <sup>3</sup> /lần	
Cua <sub>1</sub>				40 g/m <sup>3</sup> /lần	

cho tổng vi khuẩn, dùng que tán đều đến khi mẫu khô. Ủ trong tủ áp ở nhiệt độ 28°C và kiểm tra kết quả phân lập sau 24 giờ. Số khuẩn lạc tổng cộng được đếm trên những đĩa petri và được tính bằng đơn vị hình thành khuẩn lạc/mL mẫu nước.

Số tế bào/mL (CFU/mL) = số khuẩn lạc x độ pha loãng x 10

Tăng trưởng của ấu trùng Zoea<sub>1</sub>, Zoea<sub>2</sub>, Zoea<sub>3</sub>, Zoea<sub>4</sub>, Zoea<sub>5</sub>, Megalop được đo chiều dài tổng bằng kính hiển vi quang học có thước đo trục vi thị kính. Đo chiều rộng mai (CW) đối với Cua<sub>1</sub>. Mỗi thí nghiệm đo 30 con (Nguyễn Cơ Thạch, 1998).

Tỷ lệ biến thái của ấu trùng được xác định mỗi 3 ngày/lần bằng phương pháp dùng cốc thủy tinh 250 ml lấy mẫu nước ương có ấu trùng (nước ương và ấu trùng được sục khí đều) định lượng số ấu trùng trong cốc, mỗi bể được định lượng 3 lần/bể. Chỉ số biến thái được tính theo công thức

$$LSI = (N_1 \times n_1 + N_2 \times n_2 + \dots + N_i \times n_i) / (n_1 + n_2 + \dots + n_i)$$

Trong đó: N<sub>1</sub>, N<sub>2</sub>...N<sub>i</sub>: giai đoạn ấu trùng;

n<sub>1</sub>, n<sub>2</sub>...n<sub>i</sub>: số ấu trùng ở giai đoạn tương ứng.

Tỷ lệ sống của ấu trùng ở giai đoạn Zoea<sub>5</sub> được xác định bằng phương pháp dùng cốc 250 ml lấy đầy nước ương có ấu trùng và đếm toàn bộ ấu trùng trong cốc, mỗi bể được định lượng 3 lần. Giai đoạn Megalopa và Cua<sub>1</sub> được đếm toàn bộ số lượng trong bể tương ứng với mỗi giai đoạn. Tỷ lệ sống được tính bằng công thức sau:

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

Các giá trị thu thập được tính toán các giá trị trung bình, độ lệch chuẩn bằng phần mềm Excel, so sánh sự khác biệt giữa các thí nghiệm theo phương pháp phân tích ANOVA một nhân tố (phép thử Duncan) thông qua phần mềm SPSS 16.0 ở mức ý nghĩa (p<0,05).

### III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

#### 1. Các yếu tố môi trường

Biến động các yếu tố môi trường của bể ương suốt quá trình thí nghiệm được trình bày ở Bảng 2.

**Bảng 2. Các yếu tố môi trường trong thí nghiệm**

Thí nghiệm	Nhiệt độ (°C)		pH		Nitrit (mg/L)	TAN (mg/L)
	7 giờ	14 giờ	7 giờ	14 giờ		
NT1 (10 <sup>4</sup> CFU/mL)	28,2±0,05	29,7±0,05	7,80 – 7,84	7,84 – 7,88	0,33±0,01 <sup>a</sup>	0,47±0,04 <sup>a</sup>
NT2 (10 <sup>5</sup> CFU/mL)	28,1±0,01	29,7±0,07	7,95 – 7,96	7,90 – 8,03	0,21±0,07 <sup>a</sup>	0,44±0,03 <sup>a</sup>
NT3 (10 <sup>6</sup> CFU/mL)	28,2±0,03	29,6±0,01	8,04 – 8,08	8,05 – 8,09	0,25±0,02 <sup>a</sup>	0,46±0,01 <sup>a</sup>

Các giá trị trên cùng một cột có chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,05).

Nhiệt độ có ảnh hưởng rất lớn đến sự sinh trưởng và phát triển ấu trùng của biển. Ấu trùng của biển phát triển bình thường khi nhiệt độ nước bể ương nằm trong khoảng 25 – 30 °C (Zeng and Li, 1992). Nhiệt độ trong khoảng 29 – 30 °C, sẽ rút ngắn thời gian lột xác và biến thái của ấu trùng (Nurdiani and Zeng, 2007; Qiao *ctv.* 2010). Qua Bảng 2 cho thấy, nhiệt độ giữa các nghiệm thức tương đối ổn định từ 28,1 – 29,7 °C. Tóm lại, khoảng dao động này nằm trong khoảng thích hợp cho sự phát triển của ấu trùng.

pH là yếu tố môi trường ảnh hưởng trực tiếp đến sự phát triển của ấu trùng các loài giáp xác. pH thích hợp cho sự phát triển của ấu trùng của biển dao động trong khoảng 7,0 – 8,5 (Nguyễn Thanh Phương và Trần Ngọc Hải, 2004; Nguyễn Cơ Thạch, 1998). Như vậy, pH của các nghiệm thức trong thí nghiệm dao động trong khoảng 7,82 – 8,07 nằm trong khoảng thích hợp cho sự phát triển của ấu trùng.

Kết quả thí nghiệm cho thấy, hàm lượng nitrit giữa các nghiệm thức dao động từ 0,21 – 0,33 mg/L và khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Theo Seneriches – Abiera (2007), nồng độ  $\text{NO}_2^-$  an toàn cho từng giai đoạn ấu trùng của dao động từ 2,55 mg/L đến 6,99 mg/L. Như vậy hàm lượng nitrit trong thí nghiệm vẫn không ảnh hưởng bất lợi đến sự phát triển của ấu trùng.

Hàm lượng TAN trong suốt thời gian thí nghiệm không dao động lớn giữa các nghiệm

thức ( $p > 0,05$ ) và nằm trong khoảng 0,46 đến 0,48 mg/L. Nghĩa (2004) đã khuyến cáo, hàm lượng TAN trong bể ương ấu trùng của không nên vượt quá 1 mg/L. Như vậy hàm lượng TAN ở các nghiệm thức đều nằm trong khoảng thích hợp cho sự phát triển của ấu trùng của biển.

**2. Phân tích vi sinh**

Mật độ vi khuẩn tổng cộng cao nhất ở nghiệm thức bổ sung *Lactobacillus acidophilus* với mật độ  $10^6$  CFU/ml và khác biệt có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ) với hai nghiệm thức còn lại (Bảng 3). Kết quả phân tích mẫu cũng cho thấy mật độ vi khuẩn *Lactobacillus acidophilus* bổ sung vào bể ương càng tăng thì mật độ vi khuẩn *Vibrio sp* càng thấp và khác biệt có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ) so với nghiệm thức còn lại. Điều này cho thấy bổ sung vi khuẩn *Lactobacillus acidophilus* sẽ kiểm soát được vi khuẩn *Vibrio sp.* Theo Lavilla-Pitogo và *ctv.* (2001), mật độ vi khuẩn *Vibrio harveryi* trong bể ương ấu trùng của biển không được lớn hơn  $10^2$  CFU/mL. Kết quả Bảng 3 cho thấy, mật độ vi khuẩn *Vibrio sp.* khá cao ( $0,21 \times 10^3 - 0,73 \times 10^3$  CFU/mL), nhưng chưa ảnh hưởng bất lợi đến ấu trùng có lẽ do mật độ vi khuẩn *Vibrio harveyi* trong bể ương thấp. Kết quả này phù hợp với nhận định của Trần Thị Tuyết Hoa và *ctv.* (2004), khả năng gây độc của *Vibrio* tùy thuộc vào từng chủng vi khuẩn *Vibrio* nhưng mật độ vi khuẩn *Vibrio spp* trong bể ương  $10^5 - 10^7$  CFU/mL sẽ gây độc hầu hết ấu trùng thủy sản.

**Bảng 3. Mật độ vi khuẩn trong môi trường nước ương**

Nghiệm thức	Trung bình	
	Vi khuẩn tổng (CFU/mL)	<i>Vibrio sp.</i> (CFU/mL)
NT1 ( $10^4$ CFU/mL)	$1,6 \times 10^{5a}$	$0,73 \times 10^{3a}$
NT2 ( $10^5$ CFU/mL)	$1,9 \times 10^{5a}$	$0,63 \times 10^{3a}$
NT3 ( $10^6$ CFU/mL)	$4,2 \times 10^{5b}$	$0,21 \times 10^{3b}$

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

**3. Tỷ lệ biến thái và sinh trưởng của ấu trùng**

**3.1. Tỷ lệ biến thái**

Sự phát triển của ấu trùng của biển khác biệt không lớn giữa các nghiệm thức (Bảng 4). Sau 6 ngày ương tỷ lệ chuyển  $Zoea_3$  cao nhất ở nghiệm thức bổ sung  $10^6$  CFU/mL *Lactobacillus acidophilus* (73) khác biệt không có ý nghĩa

( $p > 0,05$ ) so với các nghiệm thức còn lại. Ngày ương thứ 9, tỷ lệ ấu trùng chuyển giai đoạn  $Zoea_4$  cao nhất ở nghiệm thức  $10^4$  CFU/mL *Lactobacillus acidophilus* (70,9) khác biệt có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ) so với các nghiệm thức  $10^5$  CFU/mL *Lactobacillus acidophilus* (68,7) và  $10^6$  CFU/mL *Lactobacillus acidophilus* (66,4).

**Bảng 4. Tỷ lệ biến thái của ấu trùng cua biển qua các giai đoạn**

Nghiệm thức	Zoea <sub>2</sub> (3 ngày)	Zoea <sub>3</sub> (6 ngày)	Zoea <sub>4</sub> (9 ngày)	Zoea <sub>5</sub> (12 ngày)	Megalop (15 ngày)
NT1 (10 <sup>4</sup> CFU/mL)	47,8 ± 3,85 <sup>a</sup>	68,5 ± 5,09 <sup>ab</sup>	70,9 ± 10,7 <sup>a</sup>	58,9 ± 8,39 <sup>a</sup>	17,6 ± 3,85 <sup>a</sup>
NT2 (10 <sup>5</sup> CFU/mL)	47,8 ± 1,92 <sup>a</sup>	61,9 ± 23,4 <sup>a</sup>	68,7 ± 3,33 <sup>a</sup>	65,6 ± 13,9 <sup>a</sup>	17,8 ± 1,94 <sup>a</sup>
NT3 (10 <sup>6</sup> CFU/mL)	45,5 ± 1,92 <sup>a</sup>	73,0 ± 3,33 <sup>b</sup>	66,4 ± 3,85 <sup>a</sup>	63,3 ± 5,77 <sup>a</sup>	16,9 ± 1,92 <sup>a</sup>

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

Ấu trùng có xu hướng lột xác sớm hơn và biến thái tốt hơn vào giai đoạn Zoea<sub>5</sub> (sau 12 ngày ương), khi các bể ương được bổ sung định kỳ 10<sup>5</sup> và 10<sup>6</sup> CFU/mL *Lactobacillus acidophilus*, với tỷ lệ biến thái lần lượt là 65,6 và 63,3 khác biệt có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ) so với các nghiệm thức bổ sung 10<sup>4</sup> CFU/mL *Lactobacillus acidophilus* (58,9). Tỷ lệ ấu trùng Megalop xuất hiện sau 15 ngày ương dao động từ 16,9 – 17,8 và khác biệt không có ý nghĩa ( $p > 0,05$ ) giữa các nghiệm thức. Theo Nghia *et al* (2007), ấu trùng cua mất 16 - 18 ngày cho các giai đoạn Zoea và 7 – 8 ngày cho giai đoạn Megalop. Đồng thời tác giả cũng nhận định, ngoài giai đoạn Zoea<sub>1</sub>, Megalop và Cua<sub>1</sub> thì các giai đoạn còn lại của ấu trùng cua biển luôn tồn tại ở cả 2 giai đoạn Zoea cùng thời điểm. Nhìn chung, thời gian biến thái của các nghiệm thức này ngắn và chỉ số biến thái của ấu trùng (LSI) cũng cho thấy ấu trùng chuyển giai đoạn đồng đều ở các nghiệm thức, đặc biệt ở nghiệm thức bổ sung định kỳ 10<sup>6</sup> CFU/mL vi khuẩn *L. acidophilus* có sự chuyển giai ổn định qua từng giai đoạn của ấu trùng cua biển

**3.2. Sinh trưởng của ấu trùng qua các giai đoạn**

Chiều dài của ấu trùng qua các giai đoạn

giữa các nghiệm thức tương đối đồng đều nhau và khác biệt không có ý nghĩa ( $p > 0,05$ ) giữa các nghiệm thức (Bảng 5). Tuy nhiên vào giai đoạn Zoea<sub>3</sub> chiều dài của ấu trùng có sự khác biệt ( $p < 0,05$ ) giữa các nghiệm thức, chiều dài của ấu trùng cao nhất ở nghiệm thức bổ sung định kỳ 10<sup>4</sup> CFU/mL vi khuẩn *Lactobacillus acidophilus* (2,68 mm) và thấp nhất ở nghiệm thức bổ sung định kỳ 10<sup>6</sup> CFU/ml vi khuẩn *Lactobacillus acidophilus* (2,65 mm). Chiều rộng mai CW Cua<sub>1</sub> lớn nhất ở nghiệm thức bổ sung 10<sup>5</sup> CFU/mL *Lactobacillus acidophilus* (3,13 mm) nhưng khác biệt không có ý nghĩa ( $p > 0,05$ ) với các nghiệm thức còn lại. Theo Nguyễn Cơ Thạch (1998) kích thước trung bình của ấu trùng cua biển ở các giai đoạn Zoea 1, 2, 3, 4, 5 lần lượt là 1,25; 1,53; 1,93; 2,75 và 3,67 mm. Theo Nguyễn Thanh Phương và Trần Ngọc Hải (2004) kích cỡ ấu trùng cua ở các giai đoạn Zoea<sub>1</sub>, Zoea<sub>2</sub>, Zoea<sub>3</sub>, Zoea<sub>4</sub>, Zoea<sub>5</sub>, Megalopa và Cua<sub>1</sub> lần lượt là 1,65; 2,18; 2,70; 3,54; 4,50; 4,01 và 2.0 đến 3.0 mm. Kết quả nghiên cứu cho thấy, kích thước của ấu trùng cua biển được cải thiện đáng kể khi được bổ sung lợi khuẩn vào bể ương.

**Bảng 5. Chiều dài (mm) các giai đoạn ấu trùng cua biển**

Giai đoạn	NT1 (10 <sup>4</sup> CFU/mL)	NT2 (10 <sup>5</sup> CFU/mL)	NT3 (10 <sup>6</sup> CFU/mL)
Zoea <sub>1</sub> (mm)	1,20 ± 0,00 <sup>a</sup>	1,20 ± 0,00 <sup>a</sup>	1,20 ± 0,00 <sup>a</sup>
Zoea <sub>2</sub> (mm)	2,15 ± 0,01 <sup>a</sup>	2,15 ± 0,01 <sup>a</sup>	2,15 ± 0,01 <sup>a</sup>
Zoea <sub>3</sub> (mm)	2,68 ± 0,01 <sup>b</sup>	2,66 ± 0,00 <sup>a</sup>	2,65 ± 0,01 <sup>a</sup>
Zoea <sub>4</sub> (mm)	3,68 ± 0,01 <sup>b</sup>	3,69 ± 0,00 <sup>b</sup>	3,59 ± 0,00 <sup>a</sup>
Zoea <sub>5</sub> (mm)	4,39 ± 0,01 <sup>a</sup>	4,44 ± 0,00 <sup>b</sup>	4,40 ± 0,01 <sup>a</sup>
Megalop (mm)	4,21 ± 0,01 <sup>a</sup>	4,21 ± 0,01 <sup>a</sup>	4,23 ± 0,01 <sup>b</sup>
Cua <sub>1</sub> (mm)	3,10 ± 0,02 <sup>a</sup>	3,13 ± 0,02 <sup>a</sup>	3,11 ± 0,02 <sup>a</sup>

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

**4. Tỷ lệ sống**

Tỷ lệ sống giữa các nghiệm thức có sự thay đổi giữa các giai đoạn phát triển của ấu trùng cua biển (Bảng 6). Tỷ lệ sống ở cuối giai đoạn Zoa<sub>5</sub> tương đối đồng đều giữa các nghiệm thức và cao nhất (73,5%) ở các bể được bổ sung định kỳ 10<sup>5</sup> CFU/mL vi khuẩn *Lactobacillus acidophilus* khác biệt có ý nghĩa (p<0,05) với các nghiệm thức còn lại. Tuy nhiên, tỷ lệ sống ở giai đoạn Megalop có sự chênh lệch cao giữa các nghiệm thức và cao nhất ở nghiệm thức bổ sung định kỳ 10<sup>6</sup> CFU/mL vi khuẩn *Lactobacillus acidophilus* (45,1%) khác biệt có ý nghĩa (p<0,05) so với nghiệm thức bổ sung định kỳ 10<sup>4</sup> CFU/mL và 10<sup>5</sup> CFU/mL vi khuẩn *Lactobacillus acidophilus* lần lượt là (36,2%) và (40,1%).

Tỷ lệ sống ở giai đoạn Cua<sub>1</sub> giữa các nghiệm thức dao động trong khoảng 8,12 – 8,54% và khác biệt không có ý nghĩa (p>0,05). Theo Nguyễn Việt Bắc và Dương Xuân Đào (2016), tỷ lệ sống của ấu trùng từ giai đoạn Zoa<sub>1</sub> – Cua<sub>1</sub> dao động từ 8,88 đến 10,04% khi chế phẩm sinh học được bổ sung vào bể ương ấu trùng, cao hơn nghiệm thức không bổ sung chế phẩm sinh học (7,51%). Tỷ lệ sống đến Cua<sub>1</sub> của nghiên cứu này thấp (8,12 – 8,54%), có thể do tập tính ăn nhau của ấu trùng Megalop, ấu trùng Megalop lột xác trước có thể ăn ấu trùng Megalop lột xác sau đó. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu này cao hơn với các quy trình sử dụng kháng sinh trong sản xuất giống hiện nay ở Đồng bằng sông Cửu Long (5 – 7%) (Trần Ngọc Hải và Nguyễn Thanh Phương, 2009), tỷ lệ sống giữa các nghiệm thức có sự thay đổi giữa các giai đoạn phát triển của ấu trùng cua biển (Bảng 6).

Tỷ lệ sống ở cuối giai đoạn Zoa<sub>5</sub> tương đối đồng đều giữa các nghiệm thức. Tỷ lệ sống cao nhất (73,5%) ở các bể được bổ sung định kỳ 10<sup>5</sup> CFU/mL vi khuẩn *Lactobacillus*

*acidophilus* khác biệt có ý nghĩa (p<0,05) với các nghiệm thức còn lại. Tỷ lệ sống thấp nhất ở nghiệm thức bổ sung định kỳ 10<sup>4</sup> CFU/mL vi khuẩn *Lactobacillus acidophilus* (69,9%) nhưng nghiệm thức này khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p>0,05) với nghiệm thức bổ sung định kỳ 10<sup>6</sup> CFU/mL vi khuẩn *Lactobacillus acidophilus* (70,4%).

Tuy nhiên, tỷ lệ sống ở giai đoạn Megalop có sự chênh lệch khá cao giữa các nghiệm thức. Tỷ lệ sống cao nhất là ở nghiệm thức bổ sung định kỳ 10<sup>6</sup> CFU/mL vi khuẩn *Lactobacillus acidophilus* (45,1%) khác biệt có ý nghĩa (p<0,05) so với nghiệm thức bổ sung định kỳ 10<sup>4</sup> CFU/mL và 10<sup>5</sup> CFU/mL vi khuẩn *Lactobacillus acidophilus* lần lượt là (36,2%) và (40,1%) (p>0,05). Tỷ lệ sống ở giai đoạn Cua<sub>1</sub> giữa các nghiệm thức dao động trong khoảng 8,12 – 8,54% và khác biệt không có ý nghĩa (p>0,05). Theo Nguyễn Việt Bắc và Dương Xuân Đào (2016), tỷ lệ sống của ấu trùng từ giai đoạn Zoa<sub>1</sub> – Cua<sub>1</sub> dao động từ 8,88 đến 10,04% khi chế phẩm sinh học được bổ sung vào bể ương ấu trùng. Tỷ lệ sống đến Cua<sub>1</sub> của nghiên cứu này thấp (8,12 – 8,54%), có thể do tập tính ăn nhau của ấu trùng Megalop, ấu trùng Megalop lột xác trước có thể ăn ấu trùng Megalop lột xác sau đó. Mặc dù chưa có nghiên cứu chính xác mỗi một ấu trùng Megalop ăn bao nhiêu cá thể lột xác nhưng theo Nghĩa (2004) thì mỗi ngày một con Megalop sẽ ăn 114 cá thể nauplius Artemia. Kết quả này cho thấy cần phải có biện pháp hiệu quả hơn nữa để giảm đi sự ăn nhau của ấu trùng khi ương. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu này cao hơn với các quy trình sử dụng kháng sinh trong sản xuất giống hiện nay ở Đồng bằng sông Cửu Long (5 – 7%) (Trần Ngọc Hải và Nguyễn Thanh Phương, 2009), điều này cho thấy hoàn toàn có thể sử dụng men vi sinh để thay thế kháng sinh trong ương ấu trùng cua biển.

**Bảng 6. Tỷ lệ sống của ấu trùng cua (%) qua các giai đoạn Zoa<sub>5</sub>, Megalop và Cua<sub>1</sub>**

Nghiệm thức	Tỷ lệ sống của ấu trùng cua (%)		
	Zoa <sub>5</sub> (14 ngày)	Megalop (17 ngày)	Cua <sub>1</sub> (26 ngày)
NT1 (10 <sup>4</sup> CFU/mL)	69,9 ± 0,62 <sup>a</sup>	36,2 ± 1,64 <sup>a</sup>	8,12 ± 1,48 <sup>a</sup>
NT2 (10 <sup>5</sup> CFU/mL)	73,5 ± 0,57 <sup>b</sup>	40,1 ± 5,22 <sup>ab</sup>	8,51 ± 1,56 <sup>a</sup>
NT3 (10 <sup>6</sup> CFU/mL)	70,4 ± 0,72 <sup>a</sup>	45,1 ± 1,69 <sup>b</sup>	8,54 ± 0,26 <sup>a</sup>

Các giá trị trên cùng một cột có chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,05).

#### IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

Các yếu tố môi trường trong suốt thời gian thí nghiệm luôn nằm trong khoảng thích hợp cho sự phát triển của ấu trùng cua biển *Scylla paramamosain*.

Sử dụng *Lactobacillus acidophilus* trong ương ấu trùng cua biển giúp ức chế vi khuẩn

có hại, cải thiện tỷ lệ biến thái, tăng trưởng và tỷ lệ sống từ Zoea<sub>1</sub> đến Cua<sub>1</sub>, đặc biệt khi bổ sung được bổ sung *Lactobacillus acidophilus* với liều lượng 10<sup>5</sup> CFU/ml.

Cần có nghiên cứu ảnh hưởng của các dòng *Lactobacillus* lên giàu hóa thức ăn tươi sống đến tỷ lệ sống và biến thái ấu trùng cua biển.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

##### Tiếng Việt

1. Nguyễn Việt Bắc và Dương Xuân Đào, (2016). Nghiên cứu sử dụng chế phẩm sinh học trong ương ấu trùng cua biển (*Scylla paramamosain* Estampador 1949). Kỷ yếu hội nghị khoa học trẻ thủy sản toàn quốc lần thứ VII, 15 - 24
2. Trần Ngọc Hải và Nguyễn Thanh Phương (2009). Hiện trạng kỹ thuật và hiệu quả kinh tế của các trại sản xuất giống cua biển. Tạp chí khoa học Đại Học Cần Thơ: 279 – 288.
3. Trần Thị Tuyết Hoa, Nguyễn Thị Thu Hằng, Đặng Thị Hoàng Oanh và Nguyễn Thanh Phương (2004). Thành phần loài và khả năng gây bệnh của nhóm vi khuẩn *Vibrio* phân lập từ hệ thống ương tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii* Deman, 1879). Tạp chí khoa học Đại Học Cần Thơ. 153 – 165.
4. Nguyễn Thanh Phương và Trần Ngọc Hải (2004). Giáo trình kỹ thuật sản xuất giống và nuôi giáp xác. Khoa Thủy Sản, Đại Học Cần Thơ.
5. Nguyễn Cơ Thạch (1998). Đặc điểm sinh học sinh sản và quy trình sản xuất của giống loài *Scylla paramamosain* Estampardo 1949. Tuyển tập các công trình nghiên cứu khoa học công nghệ - trung tâm nghiên cứu thủy sản III: 227 – 266.

##### Tiếng Anh

6. Cabello, F.C. (2006). Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environmental Microbiology*, 8: 1137-1144.
7. Gatesoupe, F.J. (1999). The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture*, 180:147-165.
8. Gomez-Gil, B., Roque, A., & Tumbull, J.F. (2000). The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms. *Aquaculture*, 191 (1-3):259-270.
9. Lavilla-Pitogo, C.R., Albright, L.J., Paner, M.G. & Suñaz, N.A. (1992). Studies on the sources of luminescent *Vibrio harveyi* in *Penaeus monodon* hatcheries. In: Shariff, M., Subasinghe, R.P. & Arthur, J.R. (Editors) *Diseases in Asian Aquaculture I*, Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines: 157-164.
10. Lavilla-Pitogo, C. R., Marcial, H.S., Pedrajas, S.A.G., Qunitio, E.T. & Millamena, O.M. (2001). Problems associated with tank-held mud crab (*Scylla* spp.) broodstock. *Asian Fisheries Science*, 14: 217 - 224.
11. Lavilla-Pitogo, C. R. & de la Peña, L.D. (2004). Diseases in eggs and larvae. In: Lavilla-Pitogo, C. R. and L.D. de la Peña (Editors), 2004. *Diseases in farmed mud crabs Scylla spp.: diagnosis, prevention, and control*. Tigbauan, Iloilo, Philippines: SEAFDEC Aquaculture Department: 11 – 36.

12. Nghia, T.T. (2004). Optimisation of mud crab (*Scylla paramamosain*) larviculture in Vietnam. Ph. D. thesis, Faculty of Agriculture and Applied Biology Science, University of Ghent, Belgium, 192 pp
  13. Nghia, T.T., Wille, M., Binh, T.C., Thanh, H.P., Danh, N.V. & Sorgeloos, P. (2007). Improved techniques for rearing mud crab *Scylla paramamosain* (Estampador 1949) larvae. *Aquaculture Research*, 38: 1539 – 1553
  14. Nurdiani, R. & Zeng, C. (2007). Effects of temperature and salinity on the survival and development of mud crab, *Scylla serrata* (Forsskål), larvae. *Aquaculture Research*, 38: 1529 – 1538.
  15. Moriarty, D. J. (1999). Disease control in shrimp aquaculture with probiotic bacteria. In Proceedings of the 8th international symposium on microbial ecology (pp. 237-243). Halifax, Canada: Atlantic Canada Society for Microbial Ecology.
  16. Qiao, Z., Wang, J.G., Yu, Z. L., Jiang, K. J., & Ma, L. B (2010). The novel hatchery facilities based on main effect factors of seedling rearing of mud crab (*Scylla* spp.) in China. *Journal of Life Sciences*, 4: 1334 – 7391.
  17. Seneriches-Abiera, M.L (2007). Acute toxicity of nitrite to mud crab *Scylla serrata* (Forsska<sup>o</sup>) larvae. *Aquaculture Research*, 38: 1495 – 1499.
  18. Sumon, M. S., Ahmmed, F., Khushi, S. S., Ahmmed, M. K., Rouf, M. A., Chisty, M. A. H., and Sarower, M. G. (2018). Growth performance, digestive enzyme activity and immune response of *Macrobrachium rosenbergii* fed with probiotic *Clostridium butyricum* incorporated diets. *Journal of King Saud University - Science*, 30(1): 21–28.
  19. Talpur, A.D., Memon, A. J., Khan, M. I., Ikhwanuddin, M., Daniel, M. D., & Abol-Munafi, A. B. (2011). Pathogenicity and antibiotic sensitivity of pathogenic flora associated with the gut of blue swimming crab, *Portunus pelagicus* (Linnaeus, 1758). *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10: 2106-2119.
  20. Thao, N. T. T., Dao, T. M. D., & Vo, M. T. (2012). Effects of probiotic supplementations on growth and survival rate of juvenile clam (*Meretrix lyrata*). *Can Tho University Journal of Science*, 21b: 97–107.
- Zeng, C. & Li, S. (1992). Effects of temperature on survival and development of the larvae of *Scylla serrata*. *Shuichan Xuebao*, 16: 213 – 221.