

Effects of probiotic on water quality, growth performance, survival rate and *Vibrio* density in Mud crab (*Scylla paramamosain*) juvenile nursery

Phat T. Le^{1,2}, Binh N. Mac¹, Son K. H. Nguyen¹, Manh N. Hoang¹, Tri N. Nguyen³, & Chat T. Ton^{1*}

¹Faculty of Fisheries, University of Agriculture and Forestry, Hue University, Hue, Vietnam

²Viet Uc Binh Dinh Joint Stock Company, Binh Dinh, Vietnam

³Faculty of Fisheries, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: October 06, 2024

Revised: December 28, 2024

Accepted: January 06, 2025

Keywords

Mud crab

Probiotic

Scylla paramamosain

Vibrio

*Corresponding author

Ton That Chat

Email:

ttchat@hueuni.edu.vn

ABSTRACT

The study aimed to evaluate the effects of probiotic (Vibrotech) on water quality, growth performance, survival rate, and *Vibrio* sp. density in mud crab juvenile nursery. The probiotic was applied in different forms: added only to rearing water (AW), added to both rearing water and feed (AW - AF), mixed into feed only (AF), and another group without probiotic served as a control (CT). After 30 days of rearing, the results indicated that probiotic significantly improved water quality, growth performance, survival rate, and reduced *Vibrio* sp. density compared to the control group ($P < 0.05$). Among the treatments, AW - AF showed the best results, including a specific growth rate in length of 5.60%/day, a survival rate of 43.44%, and a total *Vibrio* sp. density in the crab intestine of 3.4×10^4 CFU/g. The results of the study recommend that probiotic should be added to both rearing water and feed in crab juvenile nursery to enhance water quality, boost growth rates, improve survival rates, and limit pathogens caused by *Vibrio* sp.

Cited as: Le, P. T., Mac, B. N., Nguyen, S. K. H., Hoang, M. N., Nguyen, T. N., & Ton, C. T. (2025). Effects of probiotic on water quality, growth performance, survival rate and *Vibrio* density in Mud crab (*Scylla paramamosain*) juvenile nursery. *The Journal of Agriculture and Development* 24(5), 55-70.

Ảnh hưởng của probiotic lên chất lượng nước, sinh trưởng, tỷ lệ sống và mật độ *Vibrio* trong ương giống cua xanh (*Scylla paramamosain*)

Lê Tấn Phát^{1,2}, Mạc Như Bình¹, Nguyễn Khoa Huy Sơn¹, Hoàng Nghĩa Mạnh¹, Nguyễn Như Trí³ & Tôn Thất Chất^{1*}

¹Khoa Thủy Sản, Trường Đại Học Nông Lâm, Đại Học Huế, Huế

²Công ty Cổ Phần Việt Úc Bình Định, Bình Định

³Khoa Thủy Sản, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 06/10/2024

Ngày chỉnh sửa: 28/12/2024

Ngày chấp nhận: 06/01/2025

Từ khóa

Cua xanh

Probiotic

Scylla paramamosain

Vibrio

*Tác giả liên hệ

Tôn Thất Chất

Email:

ttchat@hueuni.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá chất lượng nước, tốc độ tăng trưởng, tỷ lệ sống của cua giống và mật độ vi khuẩn *Vibrio* sp. khi sử dụng probiotic (Vibrotech) ở các phương pháp khác nhau bao gồm: chỉ cho vào nước (AW), cho vào nước kết hợp trộn vào cho ăn (AW - AF), chỉ trộn vào thức ăn (AF) và nghiệm thức không sử dụng probiotic làm đối chứng (CT). Sau 30 ngày ương kết quả cho thấy, probiotic giúp cải thiện chất lượng nước, tốc độ tăng trưởng, tỷ lệ sống của cua giống và làm giảm mật độ *Vibrio* sp. so với nhóm đối chứng ($P < 0,05$). Trong đó, kết quả tốt nhất về tốc độ tăng trưởng đặc trưng về chiều dài (5,60%/ngày), tỷ lệ sống (43,44%) và mật độ *Vibrio* sp. tổng số trong ruột của ($3,4 \times 10^4$ CFU/g) được tìm thấy ở nghiệm thức AW - AF. Kết quả của nghiên cứu khuyến cáo nên bổ sung probiotic vào nước kết hợp trộn vào thức ăn trong ương của giống để cải thiện chất lượng nước, nâng cao tốc độ tăng trưởng, tỷ lệ sống và hạn chế mầm bệnh do *Vibrio* sp. gây ra.

1. Đặt Vấn Đề

Cua xanh (*Scylla paramamosain*) là loài giáp xác có giá trị kinh tế quan trọng đối với nghề nuôi thủy sản ở vùng châu Á và góp phần tăng sản lượng nuôi trồng thủy sản các quốc gia như Trung Quốc, Thái Lan, Philippines và Việt Nam (Johnston & Keenan, 1999). Từ khi nuôi tôm nước lợ đối mặt với những mối đe dọa từ dịch bệnh và ô nhiễm môi trường, cua *Scylla* sp. trở thành đối tượng có tiềm năng thay thế (Abol-Munafi & Azra, 2018).

Hiện nay, kháng sinh và hóa chất được sử dụng phổ biến trong ương giống cua xanh (*S. paramamosain*) nhằm phòng trừ mầm bệnh, đặc biệt là vi khuẩn *Vibrio* sp., tiềm ẩn nhiều rủi ro. Vì vậy, việc sử dụng probiotics trong ương giống cua xanh được xem là giải pháp khả thi, hiệu quả và mang lại sự bền vững cho các trại sản xuất cua giống. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra những tác dụng có lợi của probiotics được áp dụng trong nuôi trồng thủy sản, bao gồm: cải thiện chất lượng nước hệ thống nuôi, nâng cao miễn dịch, ức chế vi sinh vật gây bệnh, giảm mật độ *Vibrio*

sp. trong nước và trong hệ tiêu hóa của xanh (Wu & ctv., 2014; Onn, 2016; Tran, 2018). Trong thành phần của probiotics dùng trong nuôi trồng thủy sản, các chủng *Bacillus* sp. được sử dụng nhiều bởi các đặc tính và ưu điểm nổi bật của chúng. *Bacillus* sp. giúp cải thiện sức khỏe và tốc độ tăng trưởng của đối tượng thủy sản nuôi thông qua việc tối ưu hóa hệ thống miễn dịch, nâng cao khả năng tiêu hóa và hấp thụ thức ăn của vật chủ (Liu & ctv., 2009). Bên cạnh đó, tác dụng ức chế của *Bacillus* sp. được cho là do tổng hợp protein kháng khuẩn, cạnh tranh các chất dinh dưỡng và diện tích bề mặt với các loài vi khuẩn gây bệnh (Onn, 2016). Nhiều nghiên cứu cho thấy rằng, việc sử dụng probiotics chứa *Bacillus* sp. bổ sung vào nước và/hoặc trộn vào thức ăn đã làm tăng cường hoạt động của các enzyme tiêu hóa (amylase, protease và cellulase), tăng tốc độ tăng trưởng, khả năng miễn dịch và tỷ lệ sống trên các đối tượng thủy sản nuôi (Onn & ctv., 2013; Yeh & ctv., 2014; Tran, 2018). Probiotic thương mại (PondPlus®, Novozymes®) một hỗn hợp *Bacillus* sp. sử dụng trong ương giống cua xanh nâng cao tỷ lệ sống của ấu trùng và ức chế sự phát triển của vi khuẩn *Vibrio* sp. (Talib & ctv., 2017). Probiotic (*B. licheniformis*) nâng cao tốc độ tăng trưởng của ghe xanh (*Portunus pelagicus*) và ức chế sự phát triển của *Vibrio* sp. trong môi trường nước (Boonyapakdee & Bhujel, 2020). Wu & ctv. (2014) trộn probiotic (*B. subtilis*) ở hàm lượng

10^5 CFU/g vào thức ăn cho con giống cua xanh giúp nâng cao khả năng miễn dịch, kháng bệnh do *V. parahaemolyticus* gây ra và cải thiện tỷ lệ sống của cua.

Ở Việt Nam, việc ứng dụng prebiotics và probiotics trong ương giống và nuôi thương phẩm của xanh vẫn còn hạn chế. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của probiotic lên chất lượng nước, tốc độ tăng trưởng, tỷ lệ sống của con giống cua xanh và mật độ vi khuẩn *Vibrio* sp. trong nước và ruột của cua giống. Kết quả của nghiên cứu sẽ đưa ra các khuyến cáo hữu ích cho các trại sản xuất cua giống.

2. Vật Liệu và Phương Pháp

2.1. Vật liệu

Cua giống thí nghiệm là cua C1, có chiều dài, chiều rộng mai và khối lượng tương ứng: $2,52 \pm 0,13$ mm; $3,45 \pm 0,19$ mm và $0,015 \pm 0,001$ g, được sản xuất tại Trung tâm Giống Nông nghiệp Bình Định.

Probiotic sử dụng trong nghiên cứu là chế phẩm Vibrotech của Công ty cổ phần CP Việt Nam (thành phần chủ yếu theo công bố của nhà sản xuất bao gồm *Bacillus subtilis* 10^8 CFU/g, *Bacillus lateosporus* 10^8 CFU/g, chất mang) (Hình 1).



Hình 1. Probiotic (Vibrotech) sử dụng trong thí nghiệm.

2.2. Chuẩn bị thức ăn thí nghiệm

Phương pháp chế biến thức ăn: Thức ăn sử dụng trong thí nghiệm này là loại thức ăn chế biến từ *Acetes* sp. (thành phần dinh dưỡng được phân tích tại Viện nghiên cứu ứng dụng khoa học và công nghệ - Trường Đại học Quy Nhơn có hàm lượng protein thô 47,14%; lipid thô 4,71%; khoáng 15,12%; xơ thô 2,72% và carbohydrat 13,63%. Cách chế biến như sau: *Acetes* sp. được rửa sạch bằng nước máy và để ráo nước trong vòng 5 - 10 phút. Sau đó, được hấp chín cách thủy (ở nhiệt độ 100°C, trong 15 đến 20 phút). Thức ăn sau khi hấp chín được phơi khô dưới ánh nắng nhẹ, thoáng gió, sạch sẽ hoặc hong gió trong vòng 1 - 2 giờ.



Hình 2. Thức ăn chế biến từ *Acetes* sp. sử dụng trong thí nghiệm.

2.3. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được tiến hành trong bể xi măng có diện tích đáy 3 m² (duy trì mực nước 65 cm). Thiết kế theo kiểu ngẫu nhiên hoàn toàn bao gồm 4 nghiệm thức với 3 lần lặp lại. Nghiệm thức đối chứng không bổ sung probiotic vào nước và thức ăn (CT); Nghiệm thức bổ sung probiotic (Vibrotech) vào nước với lượng 4 mL/m³ (theo khuyến cáo của nhà sản xuất tương đương mật độ *B. subtilis* 4 × 10² CFU/mL + *B. laterosporus* 4 × 10² CFU/mL) (AW); Nghiệm thức bổ sung

Phương pháp bổ sung probiotic vào thức ăn: Probiotic được pha loãng bằng nước cất với tỷ lệ 1:5, khuấy đều sau đó phun đều lên thức ăn đã được chế biến để probiotic ngấm vào thức ăn trong khoảng 15 phút, sau đó sử dụng 5 g tinh bột (nhãn hiệu Nusted của công ty Elanco) hòa loãng trong 30 mL nước cất phun đều lên 01 kg thức ăn (để khô trong 30 phút) nhằm tạo lớp áo hạn chế probiotic tan vào nước khi cho cua ăn. Thức ăn sau phối trộn probiotic được bảo quản lạnh ở 4°C và sử dụng dần trong 7 ngày để duy trì mật độ lợi khuẩn hiện diện trong thức ăn (Hình 2).

probiotic vào nước với lượng 2 mL/m³ (tương đương mật độ *B. subtilis* 2 × 10² CFU/mL + *B. laterosporus* 2 × 10² CFU/mL) và vào thức ăn 20 mL/kg (tương đương mật độ *B. subtilis* 2 × 10⁶ CFU/g + *B. laterosporus* 2 × 10⁶ CFU/g) (AW - AF) và Nghiệm thức bổ sung probiotic vào thức ăn 40 mL/kg (tương đương mật độ *B. subtilis* 4 × 10⁶ CFU/g + *B. laterosporus* 4 × 10⁶ CFU/g) (AF). Cua giống được ương ở mật độ 300 con/m². Cho ăn 3 lần/ngày (6, 12 và 18 giờ), lượng thức ăn sử dụng 5 - 10% khối lượng thân. Thí nghiệm được tiến hành trong 30 ngày ương.

Nước cấp vào bể thí nghiệm là nước biển sạch đã được lọc qua bộ lọc cát và khử khuẩn bằng chlorine (25 ppm) được pha với nước ngọt để đạt độ mặn 15‰. Bể thí nghiệm được bố trí 01 viên sục khí/m² đáy bể đảm bảo cung cấp đủ hàm lượng ô xy cho cua. Trong mỗi bể thí nghiệm được bố trí 24 giá thể lưới lan đen (diện tích 0,25 m²/giá thể) + vỏ ngao dẫu (được bố trí một lớp mỏng, chiếm 60 - 70% diện tích đáy bể) để làm giá thể cho cua ẩn nấp.

Sau khi cho ăn 1 - 2 giờ, dùng đèn rọi quan sát lượng thức ăn dư thừa bám trên lưới lan và vỏ ngao để kiểm tra tình trạng bắt mồi của cua giống và điều chỉnh lượng thức ăn cho phù hợp trong lần cho ăn tiếp theo. Hàng ngày kiểm tra hoạt động và sức khỏe của cua giống để có những điều chỉnh kịp thời. Định kỳ thay nước 5 ngày/lần ở mức 30% lượng nước trong bể ương.

2.4. Phương pháp xác định các yếu tố môi trường của thí nghiệm

Trong quá trình thí nghiệm, các thông số nước quan trọng cơ bản trong mỗi bể được theo dõi hai lần mỗi ngày trong thời gian 06:00 và 14:00 giờ. Nhiệt độ và pH nước được đo bằng máy đo kỹ thuật số model: Mi 106 (độ chính xác nhiệt độ $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ và pH $\pm 0,02$). Hàm lượng ô xy hòa tan (DO) được đo bằng máy đo DO kỹ thuật số Model: Mi 605 (độ chính xác $\pm 1,5\%$ giá trị đo). Độ kiềm, NH₃, NO₂⁻ và độ mặn được đo tương ứng bằng Checker MARINE Alkalinity HI755 (độ chính xác $\pm 5\%$ giá trị đo), Checker MARINE line Ammonia HI784 (độ chính xác $\pm 5\%$ giá trị đo, NH₃ tự do được tính từ kết quả đo NH₃/NH₄⁺ theo công thức tính toán nhà sản xuất), Checker MARINE Nitrite ULR HI764 (độ chính xác $\pm 4\%$ giá trị đo) và bằng khúc xạ kế cầm tay ATAGO (độ chính xác $\pm 2\text{‰}$).

2.5. Phương pháp xác định khối lượng, chiều dài và chiều rộng mai cua

Khối lượng thân (BW) của cua được cân bằng cân điện tử ($\pm 0,001\text{ g}$), chiều dài mai (CL) và chiều rộng mai (CW) được đo bằng thước kẹp điện tử ($\pm 0,01\text{ mm}$) theo hướng dẫn của Fazhan & ctv. (2021). BW, CL và CW ở đầu và cuối thí nghiệm được lấy mẫu ngẫu nhiên cân và đo tương ứng 30 con cua cho mỗi bể thí nghiệm (90 con cho mỗi nghiệm thức). Số lượng cua còn sống được ghi lại để tính tỷ lệ sống và năng suất.

2.6. Phương pháp định lượng mật độ *Vibrio* sp. trong nước và ruột của giống

Mẫu nước và mẫu cua được thu định kỳ 7 ngày/lần vào buổi chiều (15:00 giờ); mẫu nước được lấy tại 3 điểm ở giữa nơi xáo trộn bởi sục khí trong bể ương. Trong khi, mẫu cua được thu ngẫu nhiên mỗi đợt 15 con/nghiệm thức.

Xác định mật độ *Vibrio* sp. trong nước và ruột của giống được tiến hành theo phương pháp đếm khuẩn lạc của Huys (2002) cụ thể như sau:

Mẫu nước thu từ bể ương được mang về phòng thí nghiệm và lọc qua giấy lọc (kích cỡ 40 μm) để loại bỏ các tạp chất. Tiếp đến lấy 01 mL mẫu nước cho vào ống nghiệm vô trùng thứ 1, sau đó thêm 9 mL nước vô trùng NaCl 1,5% (được dung dịch pha loãng 10⁻¹); tiếp tục thực hiện pha loãng đến 10⁻³. Sau đó, lấy 100 μL nước mẫu ở mỗi nồng độ pha loãng cấy đều trên đĩa petri có chứa môi trường đặc trưng Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose (TCBS), mỗi nồng độ lặp lại 3 lần. Ủ đĩa trong tủ ấm 31°C, sau 24 giờ tiến hành kiểm tra màu sắc và đếm số khuẩn lạc mọc trên mỗi đĩa.

Mẫu ruột trước và ruột sau của cua được thu theo hướng dẫn của Li & ctv. (2012); Saqib & ctv. (2023). Mẫu cua giống sau khi vận chuyển đến

phòng thí nghiệm được gây mê lạnh tiếp đến rửa sạch bằng nước vô trùng và khử trùng lại bằng cồn (70%) trong 2 - 3 phút. Sử dụng kéo vô trùng cắt quanh rìa mai cua, bóc lớp mai ra sử dụng panme và kẹp gấp lấy ruột trước và ruột sau cho vào ống Eppendorf (2 mL), dùng chày nghiền và trộn đều mẫu sau đó cân lấy 0,1 g mẫu cho vào ống Eppendorf (2 mL) thứ 1 và thêm 500 μ L nước vô trùng NaCl 1,5% để tiếp tục nghiền mẫu, sau đó thêm nước vô trùng NaCl 1,5% đến đủ 1 mL. Lấy 100 μ L dung dịch ở ống Eppendorf 1 cho vào ống Eppendorf thứ 2 có sẵn 900 μ L nước vô trùng NaCl 1,5% (được dung dịch pha

loãng 10^{-1}); tiếp tục thực hiện pha loãng đến 10^{-4} . Sau đó lấy 100 μ L nước mẫu ở mỗi nồng độ pha loãng cấy đều trên đĩa petri có chứa môi trường TCBS, mỗi nồng độ lặp lại 3 lần. Ủ đĩa trong tủ ấm 31°C , sau 24 giờ tiến hành đếm số khuẩn lạc mọc trên mỗi đĩa. Mật độ *Vibrio* sp. được tính bằng đơn vị hình thành khuẩn lạc (CFU/mL hoặc CFU/g).

2.7. Các công thức tính toán

Tốc độ tăng trưởng đặc trưng theo chiều dài (SGR_{CL}) hoặc chiều rộng mai (SGR_{CW}) hoặc khối lượng cơ thể (SGR_{BW}) được tính theo công thức:

$$\text{SGR}_{\text{CL}} \text{ hoặc } \text{SGR}_{\text{CW}} \text{ hoặc } \text{SGR}_{\text{BW}} (\%/ \text{ngày}) = \left[\frac{\ln(X_2) - \ln(X_1)}{t_1 - t_2} \right] \times 100$$

Trong đó: X_1 là chiều dài, chiều rộng mai hoặc khối lượng thân tại thời điểm đo t_1 và X_2 là chiều rộng, chiều rộng mai hoặc khối lượng cơ thể tại thời điểm đo t_2 .

Tỷ lệ sống (SR) (%):

$$\text{SR}(\%) = \frac{N_f}{N_i} \times 100$$

N_i là số lượng cua giống ban đầu đưa vào thí nghiệm, N_f là số lượng cua giống thu được khi kết thúc thí nghiệm.

Năng suất (con/m^2):

$$\text{Năng suất} (\text{con}/\text{m}^2) = \frac{N_f}{S}$$

N_f là số lượng cua giống thu được khi kết thúc thí nghiệm, S là diện tích bể ương.

Tỷ lệ phân đàn (CV%):

$$\text{CV}(\%) = \frac{\text{Độ lệch chuẩn}}{\text{Trung bình}}$$

Tổng số *Vibrio* sp. trong mẫu nước (CFU/mL):

Mật độ *Vibrio* sp. trong nước (CFU/mL) = Số khuẩn lạc trung bình $\times$ độ pha loãng $\times 10$.

Tổng số *Vibrio* sp. trong ruột cua giống (CFU/g):

Mật độ *Vibrio* sp. trong ruột cua (CFU/g) = Số khuẩn lạc trung bình $\times$ độ pha loãng $\times 100$.

Hiệu quả kinh tế

Hiệu quả kinh tế được phân tích dựa trên tổng chi phí và tổng doanh thu để tính toán các chỉ tiêu lợi nhuận ròng cho 1 vụ ương và tỷ suất lợi nhuận trên tổng chi phí (%) (Xe, 2010).

2.8. Phân tích dữ liệu

Các giá trị trung bình và độ lệch chuẩn (SD) được tính toán trên phần mềm Excel version 2021. So sánh sự khác biệt giữa các nghiệm thức về chiều dài, chiều rộng mai, khối lượng thân cũng như tốc độ tăng trưởng, hệ số biến thiên, tỷ lệ sống, năng suất của cua và mật độ *Vibrio* sp. bằng phương pháp One - Way ANOVA, sử dụng phép kiểm tra hậu kiểm của Tukey được thực hiện trên phần mềm SPSS version 20.0 với mức ý nghĩa $P < 0,05$.

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Chất lượng môi trường nước

Biến động giá trị các chỉ số môi trường nước ở các nghiệm thức được trình bày tại Bảng 1. Trong thời gian thí nghiệm, nhiệt độ (dao động từ 26,00 - 29,60°C), pH (7,72 - 8,03), ô xy hòa tan (5,60 - 6,04 mg/L), độ kiềm (123,0 - 138,0 mg CaCO₃/L) ở các nghiệm thức không có sự khác biệt ($P > 0,05$), và nằm trong khoảng thích hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của xanh. Giá trị các chỉ số môi trường nước thích hợp cho sinh trưởng và phát triển của *Scylla* sp., gồm: nhiệt độ 27 - 32°C (Gong & ctv., 2015; Syafaat & ctv., 2020; 2021); DO > 5 mg/L, độ kiềm > 80 mgCaCO₃/L (tối ưu 120 mg CaCO₃/L), NO₂⁻ < 10 mg/L và NO₃⁻ < 5 mg/L (Shelley & Lovatelli, 2011); pH 7,5 - 8,5, NH₃ < 0,01 mg/L (Ganesh & ctv., 2015). Tuy nhiên, probiotic có ảnh hưởng tới hàm lượng NH₃ và NO₂⁻. Trong đó, hàm lượng NH₃ và NO₂⁻ ở nghiệm thức bổ sung probiotic vào nước (AW) và nghiệm thức bổ sung probiotic vào nước và vào thức ăn (AW - AF) thấp hơn đáng kể so với nghiệm thức đối chứng (CT) và nghiệm thức bổ sung probiotic vào thức ăn (AF) ($P < 0,05$).

Các dạng độc tố của ammonia được ghi nhận là một trong những nguyên nhân phổ biến gây chết động vật thủy sản, nhất là ở giai đoạn ấu trùng và trong nuôi thủy sản ở mật độ cao (Parra & Yu, 1999). Trong nghiên cứu này, hàm

lượng NH₃ có xu hướng tăng dần theo thời gian ương và đạt giá trị lớn nhất vào ngày thứ 15 ở nghiệm thức AW - AF (0,009 mg/L), ngày thứ 24 ở nghiệm thức CT (0,016 mg/L) và sau đó NH₃ có xu hướng giảm chậm dần ở cả 4 nghiệm thức. Tương tự, hàm lượng NO₂⁻ có xu hướng tăng dần đến ngày ương thứ 18 ở nghiệm thức AW, ngày ương thứ 24 ở nghiệm thức AW - AF và ngày ương thứ 30 ở nghiệm thức CT, hàm lượng trung bình NO₂⁻ cao nhất ở nghiệm thức CT (1,97 mg/L), kế đến AF (1,88 mg/L), AW - AF (1,27 mg/L) và thấp nhất ở nghiệm thức AW (1,14 mg/L). Kết quả nghiên cứu này đã chứng minh, sự bổ sung probiotic vào nước bể nuôi thí nghiệm hàng ngày ở nồng độ $2 - 4 \times 10^2$ CFU/mL giúp cải thiện chất lượng nước. Điều này, có thể do 2 chủng *Bacillus* khi bổ sung vào môi trường nước đã tạo ra môi trường thuận lợi cho các chủng lợi khuẩn phát triển giúp đẩy nhanh tốc độ phân hủy thức ăn thừa, phân thải và chuyển hóa các hợp chất nitơ trong nước, từ đó đã làm giảm đáng kể hàm lượng NO₂⁻ và NH₃ trong bể ương so với nhóm không bổ sung probiotic vào nước hoặc chỉ bổ sung vào thức ăn ($P < 0,05$) (Hình 3). Nhiều nghiên cứu của các nhóm tác giả (Nimrat & ctv., 2012; Tran, 2018; Monier & ctv., 2023) cho kết quả tương tự và đều khẳng định rằng sự hiện diện của hỗn hợp *Bacillus* sp., đóng vai trò thiết yếu trong chu trình nitơ, làm giảm TAN, NO₂⁻ và NO₃⁻ trong môi trường nước.

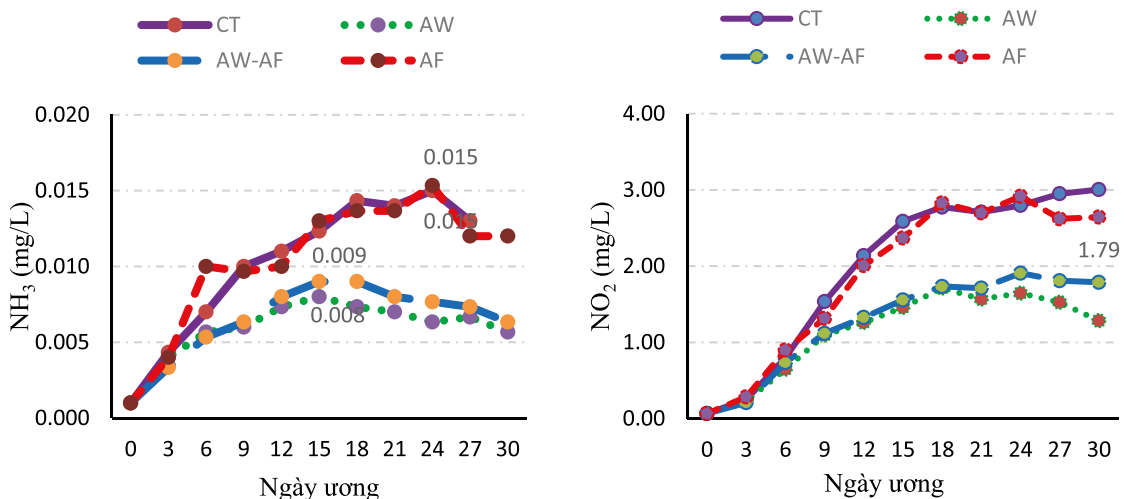
Bảng 1. Sự biến động của các chỉ số môi trường nước trong bể ương của giống

Chỉ số môi trường	Nghiệm thức			
	CT	AW	AW - AF	AF
Nhiệt độ (°C)	26,10 - 29,60	26,00 - 29,50	26,10 - 29,50	26,3 - 29,30
DO (mg/L)	28,21 ± 0,80 ^a	28,19 ± 0,77 ^a	28,22 ± 0,76 ^a	28,20 ± 0,76 ^a
pH	5,64 - 6,03	5,65 - 6,04	5,60 - 6,03	5,62 - 6,04
Độ kiềm (mgCaCO ₃ /L)	5,84 ± 0,10 ^a	5,83 ± 0,10 ^a	5,83 ± 0,11 ^a	5,85 ± 0,11 ^a
NH ₃ (mg/L)	7,75 - 8,01	7,71 - 8,02	7,75 - 8,02	7,72 - 8,03
NO ₂ ⁻ (mg/L)	125,00 - 135,00	129,00 - 138,00	128,00 - 136,00	123,00 - 136,00
	130,73 ± 2,79 ^a	133,20 ± 3,12 ^a	132,33 ± 2,09 ^a	130,53 ± 3,52 ^a
	0,001 - 0,016	0,001 - 0,009	0,001 - 0,010	0,001 - 0,017
	0,011 ± 0,005 ^b	0,006 ± 0,002 ^a	0,006 ± 0,003 ^a	0,010 ± 0,004 ^b
	0,07 - 3,06	0,07 - 1,78	0,07 - 1,97	0,07 - 3,03
	1,97 ± 1,08 ^b	1,14 ± 0,56 ^a	1,27 ± 0,64 ^a	1,88 ± 1,01 ^b

Ghi chú: Giá trị được trình bày là Trung bình ± độ lệch chuẩn. Các chữ cái a, b khác nhau trên cùng một hàng biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ($P < 0,05$). CT: nghiệm thức đối chứng không sử dụng probiotic; AW: nghiệm thức bổ sung probiotic vào nước; AW - AF: nghiệm thức bổ sung probiotic vào nước + trộn thức ăn; AF: nghiệm thức trộn probiotic vào thức ăn.

Một số nghiên cứu có kết quả tương đồng với nghiên cứu này, theo Tran (2018) thì hàm lượng TAN và NO₂⁻ có xu hướng tăng dần và tăng mạnh vào cuối chu kỳ ương ương ấu trùng của xanh. Thêm vào đó, việc bổ sung *B. subtilis* vào bể nuôi hàng tuần với mật độ 10⁶ CFU/mL đã giúp giảm

hàm lượng TAN và NO₂⁻. Tương tự, Kewcharoen & Srisapoom (2019) cũng báo cáo rằng, bổ sung *B. subtilis* với nồng độ 10³ - 10⁵ CFU/mL đã làm giảm hàm lượng ammoniac trong nước bể nuôi tôm *Litopenaeus vannamei*.

**Hình 3.** Biến động hàm lượng NH₃ và NO₂⁻ ở các nghiệm thức theo thời gian ương.

3.2. Sinh trưởng, tỷ lệ sống, năng suất và sự phân đàn của cua giống

Các chỉ tiêu về sinh trưởng của cua giống bao gồm: chiều dài mai, chiều rộng mai, khối lượng thân, tốc độ tăng trưởng đặc trưng về chiều dài mai (SGR_{CL}), chiều rộng mai (SGR_{CW}) và khối lượng thân (SGR_{BW}) cao nhất được tìm thấy ở nghiệm thức bổ sung probiotic vào nước và vào thức ăn (AW - AF) và có sự sai khác so với nghiệm thức đối chứng (CT) và nghiệm thức bổ sung probiotic vào thức ăn (AF) ($P < 0,05$). Tuy nhiên, không có sự sai khác khi so sánh với nghiệm thức bổ sung probiotic vào nước (AW)

($P > 0,05$) (Bảng 2). Trong khi đó, tỷ lệ sống (SR) và năng suất của giống (P) ở các nghiệm thức có sử dụng probiotic cao hơn so với nghiệm đối chứng ($P < 0,05$), nhưng không có sự sai khác giữa các bể có sử dụng probiotic (chỉ bổ sung vào nước, bổ sung vào nước và thức ăn hay chỉ trộn vào thức ăn) ($P > 0,05$). Tương tự, sử dụng probiotic giúp tạo ra đàn cua giống đồng đều hơn so với nghiệm thức không sử dụng ($P < 0,05$). Tuy nhiên, sự phân đàn về chiều dài mai, chiều rộng mai và khối lượng thân của cua giống không có sự khác biệt giữa các nghiệm thức có sử dụng probiotic ($P > 0,05$).

Bảng 2. Sinh trưởng, tỷ lệ sống, năng suất và sự phân đàn của cua giống

Chỉ tiêu đánh giá	Nghiệm thức			
	CT	AW	AW - AF	AF
CL_i (mm)	$2,52 \pm 0,13$	$2,52 \pm 0,13$	$2,52 \pm 0,13$	$2,52 \pm 0,13$
CL_f (mm)	$12,32 \pm 0,04^a$	$13,17 \pm 0,03^c$	$13,26 \pm 0,03^c$	$13,01 \pm 0,01^b$
SGR_{CL} (%/ngày)	$5,29 \pm 0,01^a$	$5,51 \pm 0,01^c$	$5,54 \pm 0,01^c$	$5,47 \pm 0,00^b$
CW_i (mm)	$3,45 \pm 0,19$	$3,45 \pm 0,19$	$3,45 \pm 0,19$	$3,45 \pm 0,19$
CW_f (mm)	$17,39 \pm 0,05^a$	$18,39 \pm 0,03^c$	$18,51 \pm 0,02^c$	$17,98 \pm 0,04^b$
SGR_{CW} (%/ngày)	$5,39 \pm 0,01^a$	$5,58 \pm 0,01^c$	$5,60 \pm 0,01^c$	$5,50 \pm 0,01^b$
BW_i (g)	$0,015 \pm 0,001$	$0,015 \pm 0,001$	$0,015 \pm 0,001$	$0,015 \pm 0,001$
BW_f (g)	$0,91 \pm 0,01^a$	$1,04 \pm 0,00^c$	$1,06 \pm 0,00^c$	$0,97 \pm 0,01^b$
SGR_{BW} (%/ngày)	$13,81 \pm 0,02^a$	$14,25 \pm 0,00^c$	$14,29 \pm 0,01^c$	$14,02 \pm 0,03^b$
SR (%)	$30,93 \pm 2,78^a$	$41,41 \pm 2,24^b$	$43,44 \pm 2,01^b$	$37,85 \pm 1,94^b$
Năng suất (con/m ²)	$92,78 \pm 8,33^a$	$124,22 \pm 6,71^b$	$130,33 \pm 6,03^b$	$113,56 \pm 5,83^b$
CV_{CL} (%)	$14,20 \pm 0,30^b$	$12,19 \pm 0,14^a$	$12,12 \pm 0,26^a$	$12,98 \pm 0,31^a$
CV_{CW} (%)	$14,31 \pm 0,24^b$	$12,27 \pm 0,21^a$	$12,12 \pm 0,09^a$	$12,29 \pm 0,22^a$
CV_{BW} (%)	$32,49 \pm 0,25^b$	$26,39 \pm 0,13^a$	$26,19 \pm 0,11^a$	$27,23 \pm 0,53^a$

Ghi chú: Giá trị được trình bày là Trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn. Các chữ cái a, b, c khác nhau trên cùng một hàng biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ($P < 0,05$). CT: nghiệm thức đối chứng không sử dụng probiotic; AW: nghiệm thức bổ sung probiotic vào nước; AW - AF: nghiệm thức bổ sung probiotic vào nước + trộn thức ăn; AF: nghiệm thức trộn probiotic vào thức ăn. CL_i (mm), CW_i (mm) và BW_i (g): Chiều dài, chiều rộng mai và khối lượng của ban đầu; CL_f (mm), CW_f (mm) và BW_f (g): là chiều dài, chiều rộng mai của và khối lượng của kết thúc thí nghiệm; $SGR_{CL, CW, BW}$ (%/ngày): tốc độ sinh trưởng đặc trưng chiều dài, chiều rộng mai và khối lượng của; SR (%): tỷ lệ sống của cuối thí nghiệm; $CV_{CL, CW, BW}$ (%): tỷ lệ phân đàn chiều dài, chiều rộng mai và khối lượng.

Các nghiệm thức bổ sung probiotic có chứa vi khuẩn *Bacillus* sp. vào nước bể ương hoặc trộn vào thức ăn đã làm thay đổi hệ vi sinh vật trong nước và ruột của giống giúp cải thiện môi trường bể nuôi. Mặt khác, theo Tran (2018) bổ sung *B. subtilis* vào bể ương của xanh làm tăng các hoạt tính của các enzyme tiêu hóa (amylase, lipase và protease) giúp cua tiêu hóa và hấp thụ thức ăn tốt hơn. Điều này làm tăng tốc độ tăng trưởng, tỷ lệ sống và độ đồng đều của cua giống. Do vậy, sự sinh trưởng của cua tốt nhất ở nghiệm thức AW - AF trong nghiên cứu này có thể do sự ảnh hưởng cộng hợp của môi trường nuôi và hiệu quả sử dụng thức ăn của cua tốt hơn khi cua được cho ăn thức ăn có bổ sung *Bacillus* sp. Theo Onn & ctv. (2013) bổ sung *Bacillus* sp. vào nước ương ấu trùng của xanh hàng ngày từ giai đoạn Zoea 1 đến Zoea 5 với nồng độ 10^3 - 10^4 CFU/mL đã làm tăng tỷ lệ sống và sự đồng đều của ấu trùng. Bổ sung *Bacillus* sp. vào nước với mức $1 - 2 \times 10^4$ CFU/mL đã giúp tăng tỷ lệ sống ấu trùng của xanh so với đối chứng ($P < 0,05$) (Talib & ctv., 2017); hay bổ sung *B. subtilis* với mức 10^6 CFU/mL hàng tuần vào nước bể ương đã làm tăng các hoạt tính enzyme tiêu hóa, rút ngắn thời gian biến thái và tăng tỷ lệ sống của ấu trùng cua so với nhóm không sử dụng (Tran, 2018). Tương tự trên tôm *L. vannamei*, việc bổ sung *Bacillus* gồm *B. subtilis* và *B. licheniformis* vào nước ao nuôi tôm với nồng độ 5×10^2 - $1,5 \times 10^3$ CFU/mL đã ảnh hưởng tích cực đến tốc độ tăng trưởng, enzyme tiêu hóa, trạng thái chống oxy hóa, chỉ số miễn dịch, khả năng kháng bệnh ở tôm nuôi, đồng thời, cải thiện FCR và tỷ lệ sống so với nhóm đối chứng (Monier & ctv., 2023).

Bên cạnh bổ sung probiotic trực tiếp vào nước, bổ sung probiotic vào thức ăn cho ấu trùng thủy sản cũng được nhiều tác giả quan tâm, nghiên cứu và kết quả cũng cho được những hiệu quả tích cực về tăng cường khả năng

kháng bệnh, tỷ lệ sống, sinh trưởng,... của đối tượng nuôi. Kết quả nghiên cứu của Yeh & ctv. (2014) khi bổ sung *B. subtilis* E20 ở mức tối ưu 10^9 - 10^{10} CFU/kg thức ăn cho cua xanh đã cải thiện phản ứng miễn dịch, khả năng kháng bệnh và tỷ lệ sống của cua. Cho cua xanh giai đoạn giống ăn thức ăn có bổ sung *B. subtilis* DCU hoặc *B. pumilus* BP với nồng độ 10^5 CFU/g thức ăn trong 30 ngày tăng tỷ lệ sống của khi cảm nhiễm với vi khuẩn *V. parahaemolyticus* trong 48 giờ (Wu & ctv., 2014).

Ziaei-Nejad & ctv. (2006) đã phát hiện rằng việc bổ sung *Bacillus* sp. trong ương tôm *Fenneropenaeus indicus* làm tăng hoạt tính của các enzyme tiêu hóa, số lượng vi khuẩn *Bacillus* sp. trong đường ruột, tỷ lệ sống và tốc độ tăng trưởng của tôm. Mặt khác, tôm được cho ăn *Artemia* làm giàu bằng *Bacillus* sp. ($2,2 \times 10^7$ CFU/mL) có số lượng vi khuẩn *Bacillus* sp. trong ruột cao hơn so với bổ sung probiotic vào nước bể ương ($7,3 \times 10^6$ CFU/mL bổ sung hàng ngày). Tuy nhiên, không có sự khác biệt về sinh trưởng và tỷ lệ sống của tôm giữa hai chế độ bổ sung khác nhau này. Tương tự, Zokaiefar & ctv. (2012) đã nghiên cứu bổ sung hỗn hợp hai chủng vi khuẩn *B. subtilis* (L10 và G1) ở hai nồng độ tương ứng là 10^5 và 10^8 CFU/g thức ăn; kết quả cải thiện tốc độ tăng trưởng và tỷ lệ sống của tôm (*L. vannamei*). Bên cạnh đó, kết quả nghiên cứu của Xie & ctv. (2019) cũng cho rằng, bổ sung probiotic hỗn hợp (*B. subtilis*, *B. licheniformis* và *Lactobacillus* sp.) vào thức ăn ở nồng độ 2 g/kg thức ăn cho tôm *L. vannamei* tăng khả năng sinh trưởng và miễn dịch không đặc hiệu, thay đổi hình thái ruột và hệ vi khuẩn đường ruột của tôm. Mặt khác, Kewcharoen & Srisapoom (2019) cũng cho rằng, bổ sung *B. subtilis* vào thức ăn ở mức 10^7 và 10^9 CFU/kg thức ăn cho tôm *L. vannamei*, giúp cải thiện tốc độ tăng trưởng, tăng tỷ lệ chuyển đổi thức ăn, tăng đáng kể phản ứng miễn dịch và cải thiện khả năng kháng bệnh phân trắng trên tôm.

3.3. Mật độ vi khuẩn *Vibrio* sp. trong nước và trong ruột của giống

Mật độ vi khuẩn *Vibrio* sp. tổng số trong nước bể ương của ở cả 4 nghiệm thức đều có xu hướng tăng dần theo thời gian ương. Sau 28 ngày ương, mật độ *Vibrio* sp. tổng số ở các nghiệm thức dao động từ $5,0 - 61,0 \times 10^2$ CFU/mL. Trong đó, mật độ *Vibrio* sp. có khuẩn lạc xanh (KLX)

dao động từ $1,1 - 48,2 \times 10^2$ CFU/mL, khuẩn lạc vàng (KLV) dao động từ $3,9 - 14,3 \times 10^2$ CFU/mL. Bổ sung probiotic làm giảm đáng kể mật độ vi khuẩn *Vibrio* sp. trong nước ($P < 0,05$). Cụ thể, mật độ *Vibrio* sp. tổng số, KLX và KLV thấp nhất được tìm thấy ở nghiệm thức AW và có sự khác biệt so với nghiệm thức CT và AF ($P < 0,05$). Tuy nhiên, không có sự khác biệt so với nghiệm thức AW - AF ($P < 0,05$) (Bảng 3).

Bảng 3. Mật độ *Vibrio* sp. tổng số, khuẩn lạc xanh (KLX) và khuẩn lạc vàng (KLV) trong nước bể ương của giống

Chỉ số	Nghiệm thức	Mật độ <i>Vibrio</i> trong nước (CFU/mL)			
		7 ngày	14 ngày	21 ngày	28 ngày
<i>Vibrio</i> tổng số ($\times 10^2$)	CT	$3,9 \pm 0,7^b$	$17,1 \pm 5,8^b$	$42,7 \pm 9,8^b$	$58,7 \pm 10,4^b$
	AsW	$1,5 \pm 0,5^a$	$2,3 \pm 0,8^a$	$3,8 \pm 0,9^a$	$5,0 \pm 0,9^a$
	AW - AF	$1,9 \pm 0,6^a$	$2,5 \pm 0,9^a$	$3,9 \pm 0,7^a$	$6,1 \pm 1,6^a$
	AF	$3,6 \pm 0,5^b$	$20,7 \pm 4,6^b$	$43,1 \pm 4,5^b$	$61,0 \pm 7,7^b$
KLX ($\times 10^2$)	CT	$2,3 \pm 0,5^b$	$11,9 \pm 5,2^b$	$32,0 \pm 10,3^b$	$48,2 \pm 10,7^b$
	AW	$0,4 \pm 0,3^a$	$0,5 \pm 0,2^a$	$1,0 \pm 0,4^a$	$1,1 \pm 0,4^a$
	AW - AF	$0,5 \pm 0,2^a$	$0,9 \pm 0,4^a$	$1,0 \pm 0,4^a$	$1,5 \pm 1,0^a$
	AF	$2,2 \pm 0,3^b$	$13,8 \pm 3,2^b$	$29,9 \pm 4,8^b$	$46,7 \pm 6,9^b$
KLV ($\times 10^2$)	CT	$1,7 \pm 0,2^b$	$5,2 \pm 2,0^b$	$10,7 \pm 4,7^b$	$10,4 \pm 4,6^b$
	AW	$1,1 \pm 0,3^a$	$1,8 \pm 0,6^a$	$2,8 \pm 0,5^a$	$3,9 \pm 1,2^a$
	AW - AF	$1,4 \pm 0,5^{ab}$	$1,7 \pm 0,6^a$	$3,0 \pm 0,6^a$	$4,5 \pm 1,3^a$
	AF	$1,3 \pm 0,3^{ab}$	$6,9 \pm 2,4^b$	$13,2 \pm 3,7^b$	$14,3 \pm 5,0^b$

Ghi chú: Giá trị được trình bày là Trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn. Các chữ cái a, b khác nhau trên cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ($P < 0,05$). CT: nghiệm thức đối chứng không sử dụng probiotic; AW: nghiệm thức bổ sung probiotic vào nước; AW - AF: nghiệm thức bổ sung probiotic vào nước + trộn thức ăn; AF: nghiệm thức trộn probiotic vào thức ăn.

Tương tự, mật độ *Vibrio* sp. tổng số trong ruột của giống ở cả 4 nghiệm thức đều tăng dần theo thời gian ương. Sau 28 ngày ương, mật độ *Vibrio* sp. tổng số trong ruột của giống dao động từ $3,4 - 9,8 \times 10^4$ CFU/g, KLX dao động từ $0,5 - 7,7 \times 10^4$ CFU/g, KLV dao động từ $2,2 - 3,3 \times 10^4$ CFU/g. Sự bổ sung probiotic đã làm giảm mật độ *Vibrio* sp. tổng số so với nghiệm thức đối chứng ($P < 0,05$). Đặc biệt, mật độ *Vibrio* sp. có KLX trong ruột của giống thấp nhất được tìm

thấy ở nghiệm thức AF, kể đến là AW - AF, AW và thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm ở nghiệm thức CT ($P < 0,05$). Tuy nhiên, không có sự sai khác có ý nghĩa về mật độ *Vibrio* sp. KLX giữa 3 nghiệm thức có bổ sung probiotic. Ngược lại, mật độ *Vibrio* sp. KLV thấp nhất được tìm thấy ở nghiệm thức CT ($P < 0,05$); nhưng mật độ *Vibrio* sp. KLV không sai khác có ý nghĩa giữa các nghiệm thức có bổ sung probiotic ở các phương pháp khác nhau ($P < 0,05$) (Bảng 4).

Bảng 4. Mật độ *Vibrio* sp. tổng số, khuẩn lạc xanh (KLX) và khuẩn lạc vàng (KLV) trong ruột của xanh

Chỉ số	Thí nghiệm	Mật độ <i>Vibrio</i> trong ruột (CFU/g)			
		7 ngày	14 ngày	21 ngày	28 ngày
<i>Vibrio</i> tổng số ($\times 10^4$)	CT	$1,6 \pm 0,3^a$	$3,8 \pm 0,5^c$	$5,9 \pm 0,7^b$	$9,8 \pm 0,9^b$
	AW	$1,4 \pm 0,4^a$	$3,1 \pm 0,3^b$	$3,5 \pm 0,5^a$	$4,3 \pm 0,8^a$
	AW - AF	$1,2 \pm 0,3^a$	$1,8 \pm 0,4^a$	$2,9 \pm 0,6^a$	$3,4 \pm 0,5^a$
	AF	$1,5 \pm 0,1^a$	$2,2 \pm 0,6^a$	$3,3 \pm 0,3^a$	$3,9 \pm 0,7^a$
KLX ($\times 10^4$)	CT	$1,0 \pm 0,2^b$	$2,2 \pm 0,3^c$	$4,4 \pm 0,9^c$	$7,7 \pm 1,2^b$
	AW	$0,4 \pm 0,1^a$	$1,3 \pm 0,3^b$	$1,1 \pm 0,4^b$	$1,3 \pm 0,5^a$
	AW - AF	$0,3 \pm 0,1^a$	$0,5 \pm 0,2^a$	$0,4 \pm 0,2^a$	$0,7 \pm 0,2^a$
	AF	$0,4 \pm 0,2^a$	$0,6 \pm 0,2^a$	$0,6 \pm 0,3^{ab}$	$0,5 \pm 0,3^a$
KLV ($\times 10^4$)	CT	$0,5 \pm 0,2^a$	$1,7 \pm 0,2^{ab}$	$1,5 \pm 0,4^a$	$2,2 \pm 0,5^a$
	AW	$1,0 \pm 0,3^b$	$1,8 \pm 0,3^b$	$2,4 \pm 0,4^b$	$3,0 \pm 0,5^b$
	AW - AF	$0,9 \pm 0,2^b$	$1,3 \pm 0,2^a$	$2,5 \pm 0,5^b$	$2,7 \pm 0,5^{ab}$
	AF	$1,1 \pm 0,2 \times 10^{4b}$	$1,7 \pm 0,4^{ab}$	$2,7 \pm 0,3^b$	$3,3 \pm 0,7^b$

Ghi chú: Giá trị được trình bày là Trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn. Các chữ cái a, b, c khác nhau trên cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các thí nghiệm ($P < 0,05$). CT: thí nghiệm đối chứng không sử dụng probiotic; AW: thí nghiệm bổ sung probiotic vào nước; AW - AF: thí nghiệm bổ sung probiotic vào nước + trộn thức ăn; AF: thí nghiệm trộn probiotic vào thức ăn.

Theo Rengpipat & ctv. (1998) *Bacillus* sp. được coi là tác nhân sinh học giúp hạn chế bệnh do *Vibrio* spp. gây ra trong hệ thống nuôi thủy sản. Các probiotics chứa *Bacillus* sp. chủ yếu đã được bổ sung vào thức ăn hoặc bổ sung trực tiếp vào nước đều mang lại hiệu quả như cải thiện tăng trưởng, giảm chi phí sản xuất, cải thiện phản ứng miễn dịch và khả năng chống chịu các điều kiện môi trường khắc nghiệt và dịch bệnh của động vật thủy sản (Rahman & ctv., 2021). Trong nghiên cứu này, sự suy giảm của mật độ vi khuẩn *Vibrio* sp. ở các thí nghiệm có bổ sung probiotic có thể do các chủng *Bacillus* sp. có trong chế phẩm sau khi vào bể ương hoặc ruột của đã làm thay đổi hệ vi sinh vật trong nước và ruột của giống thông qua việc tạo môi trường thuận lợi cho các chủng vi khuẩn có lợi phát triển. Các chủng này có thể tiết ra các chất hóa học có khả năng ức chế sự phát triển của *Vibrio* sp. hoặc cạnh tranh dinh dưỡng và giá thể của chúng. *B. subtilis* đã được báo cáo là phát triển mạnh trong ruột của động vật giáp xác (MacFaddin, 2000) tạo ra các quần thể vi khuẩn hữu ích tiết ra các chất hóa học ức chế hoặc tiêu diệt, cạnh tranh dinh dưỡng hoặc giá thể bám của các quần thể vi khuẩn khác (Fredrickson & Stephanopoulos,

1981; Verschuere & ctv., 2000). Theo Wu & ctv. (2014), bổ sung *B. subtilis* vào thức ăn cho của xanh đã giúp tăng khả năng miễn dịch, khả năng kháng bệnh ở của chống lại bệnh do tác nhân *Vibriosis* khi cảm nhiễm với *V. parahaemolyticus*. Tương tự, Onn (2016) cũng kết luận rằng, sử dụng probiotics có chứa *Bacillus* sp. đã giúp giảm lượng *V. parahaemolyticus* gây bệnh trên ấu trùng của *Scylla* sp. Bên cạnh đó, nghiên cứu của Tran (2018) cũng cho kết quả tương tự, ở thí nghiệm có bổ sung probiotic vào nước giúp ức chế *Vibrio* sp. ở mức thấp và ổn định ở mức an toàn cho ấu trùng của xanh (từ $0,3 - 1,32 \times 10^2$ CFU/mL).

Trong kết quả nghiên cứu này, bổ sung probiotic làm giảm đáng kể mật độ *Vibrio* sp. tổng số và KLX trong nước, đặc biệt ở thí nghiệm thức AW và AW - AF Điều này có thể là nguyên nhân giải thích cho tỷ lệ sống của của giống tăng ở các thí nghiệm có bổ sung probiotic có chứa *B. subtilis* và *B. lateosporus*. Bởi khuẩn lạc xanh là tác nhân gây bệnh ở ấu trùng của biển và thường gây chết hàng loạt ở giai đoạn ấu trùng và Megalopa, sử dụng *Bacillus* sp. đã cải thiện tỷ lệ sống của ấu trùng của xanh và ức chế sự phát

triển của *Vibrio* sp. xanh (Talib & ctv., 2017). Tương tự, theo Durga (2020), sử dụng probiotic (chứa 11 loại *Bacillus* sp.) xử lý ao và bổ sung vào thức ăn nuôi tôm *L. vannamei* làm giảm mật độ *Vibrio* sp. tổng số và KLX trong nước, trầm tích và trong ruột tôm.

3.4. Sơ bộ hạch toán hiệu quả kinh tế

So với nhóm đối chứng, các bể có sử dụng probiotic không làm thay đổi đáng kể về tổng chi phí sản xuất (Bảng 5). Trong khi, bổ sung probiotic giúp cải thiện đáng kể doanh thu, lợi nhuận và tỷ suất lợi nhuận trong ương giống của xanh. Trong đó, sử dụng phương pháp kết hợp giữa bổ sung trực tiếp probiotic vào nước và

trộn vào thức ăn cho hiệu quả kinh tế cao nhất (đạt lợi nhuận 1.295.750 đồng/3 bể và tỷ suất lợi nhuận 58,28%). Giá thành của giống cao nhất ở nghiệm thức đối chứng (2.575 đồng/con) và thấp nhất ở nghiệm thức bổ sung probiotic vào nước và vào thức ăn (1.895 đồng/con). Bởi sự bổ sung probiotic đã làm tăng sản lượng của giống thu hoạch so với nhóm đối chứng. Giữa các nhóm bể có sử dụng probiotic ở các phương pháp khác nhau không có sự chênh lệch lớn về doanh thu, lợi nhuận và tỷ suất lợi nhuận. Do đó, bước đầu có thể khẳng định sử dụng probiotic làm tăng hiệu quả kinh tế trong ương giống của xanh và không có sự khác biệt đáng kể khi sử dụng ở các phương thức khác nhau.

Bảng 5. Hiệu quả kinh tế sử dụng probiotic trong giống ương của xanh

Nội dung	Đơn vị	Số lượng	Đơn Giá (VNĐ)	Nghiệm thức			
				CT	AW	AW - AF	AF
Con giống	con	2.700	400	1.080.000	1.080.000	1.080.000	1.080.000
Thức ăn (Ruốc)	kg	12	25.000	300.000	300.000	300.000	300.000
Probiotic xử lý nước (2 mL/m ³)	mL	360	170			61.200	
Probiotic xử lý nước (4 mL/m ³)	mL	720	170		122.400		
Probiotic trộn thức ăn (20 mL/kg)	mL	70	170			11.900	
Probiotic trộn thức ăn (40 mL/kg)	mL	140	170				23.800
Chlorine xử lý nước	kg	0,5	40.300	20.150	20.150	20.150	20.150
Điện nước	bể	3	50.000	150.000	150.000	150.000	150.000
Khấu hao tài sản	bể	3	100.000	300.000	300.000	300.000	300.000
Công chăm sóc	bể	3	100.000	300.000	300.000	300.000	300.000
Tổng chi	đồng			2.150.150	2.272.550	2.223.250	2.173.950
Số lượng của giống thu được	con			835	1.118	1.173	1.033
Giá thành của giống	con			2.575	2.033	1.895	2.105
Giá bán	đồng			3.000	3.000	3.000	3.000
Tổng thu	đồng			2.505.000	3.354.000	3.519.000	3.099.000
Lợi nhuận	đồng			354.850	1.081.450	1.295.750	925.050
Tỷ suất lợi nhuận (Lợi nhuận/Chi phí)	%			16,50	47,59	58,28	42,55

Ghi chú: CT: nghiệm thức đối chứng không sử dụng probiotic; AW: nghiệm thức bổ sung probiotic vào nước; AW - AF: nghiệm thức bổ sung probiotic vào nước + trộn thức ăn; AF: nghiệm thức trộn probiotic vào thức ăn.

4. Kết Luận

Bổ sung probiotic chứa *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. laterosporus*) vào nước hoặc kết hợp trộn vào thức ăn đã giúp cải thiện chất lượng nước (giảm NH₃, NO₂⁻) trong bể ương của giống. Đồng thời, làm tăng tốc độ tăng trưởng, tỷ lệ sống (tăng 6,92 - 12,51%), năng suất (tăng 23,7 - 40,5%) và tạo đàn của giống đồng đều hơn. Probiotic còn làm giảm mật độ vi khuẩn *Vibrio* sp. trong nước và ruột của cua, hạn chế mầm bệnh.

Lời Cam Đoan

Tôi xin cam đoan công trình nghiên cứu là công trình nghiên cứu khoa học của bản thân và các cộng sự. Các số liệu, kết quả được trình bày trong bài báo này là trung thực và chưa được ai công bố trong bất kỳ công trình nghiên cứu nào trước đây.

Lời Cảm Ơn

Nhóm tác giả bày tỏ lòng biết ơn tới Trung tâm Giống nông nghiệp Bình Định đã hỗ trợ cơ sở vật chất, trang thiết bị cho nghiên cứu. Cảm ơn Ban chủ nhiệm đề tài “Nghiên cứu giải pháp lưu giữ qua đông một số giống thủy sản có giá trị kinh tế cao phục vụ giống cho vụ nuôi sớm sau lũ ở vùng đầm phá Tam Giang - Cầu Hai tỉnh Thừa Thiên Huế” đã hỗ trợ kinh phí thực hiện nghiên cứu này (Mã đề tài: B2023 - DHH - 23).

Đạo Đức Đối Với Động Vật

Nghiên cứu này được thực hiện tuân thủ chặt chẽ các điều luật và quy định về quyền động vật. Được hội đồng Animal Ethics trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế kiểm duyệt và cấp chứng nhận theo số tham chiếu: HUVN0029: tháng 10 năm 2023.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Abol-Munafi, A. B., & Azra M. N. (2018). Climate change and the crab aquaculture industry: problems and challenges. *Journal of Sustainability Science and Management* 13, 1-4. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100301>.
- Boonyapakdee, A., & Bhujel, R. (2020). Determining the dose of dietary probiotic (*Bacillus licheniformis*) for the nursing of blue swimming crabs (*Portunus pelagicus*, L., 1758). *Turkish Journal of Fish Aquaculture Science* 20, 889-899. https://doi.org/10.4194/1303-2712-v20_12_05.
- Durga, P. B. (2020). Role of probiotics for reduction of vibrio contamination load in Tiger shrimp (*Penaeus monodon*) cultured pond. *Singapore Journal of Scientific Research* 10(3), 293-300. <https://doi.org/10.3923/sjsres.2020.293.300>.
- Fazhan, H., Waiho, K., Al-Hafiz, I., Kanan, N. A., Ishak, S. D., Afifah, A. N., Tola, S., & Ikhwanuddin, M. (2021). Composition, size distribution, length-weight relationship of sympatric mud crab species (*Scylla*) and the case of presumed hybrids. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 250, 107154. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2020.107154>.
- Fredrickson, A. G., & Stephanopoulos, G. (1981). Microbial competition. *Science* 13(4511), 972-979. <https://doi.org/10.1126/science.7268409>.
- Ganesh, K., Raj, Y. C. T. S., Peruma, S., Srinivasan, P., & Sethuramalingam A. (2015). Breeding, larval rearing and farming of mangrove crab, *Scylla serrata* (Forsk., 1775). In Perumal, S., & Pachiappan, T. A. R. P. (Eds.). *Advances in marine and brackishwater aquaculture* (1st ed., 163-172). Retrieved April 1, 2024, from https://doi.org/10.1007/978-81-322-2271-2_14.
- Gong, J., Yu, K., Shu, L., Ye, H., Li, S., & Zeng, C. (2015). Evaluating the effects of temperature, salinity, starvation and autotomy on molting success, molting interval and expression of ecdysone receptor in early juvenile mud crabs, *Scylla paramamosain*. (a.) *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 464, 11-17. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2014.12.008>.

- Huys, G. (2002). *Preservation of bacteria using commercial cryopreservation systems (Standard operation procedure, Asia Resist, 35)*. Ghent University, Ghent, Belgium.
- Johnston, D., & Keenan, C. P. (1999). Mud crab culture in the Minh Hai Province, South Vietnam. In Keenan, C. P., & Blackshaw, A. (Eds.). *Mud Crab Aquaculture and Biology: Proceedings of An International Scientific Forum Held in Darwin* (95-98). Canberra, Australia: Australian Centre for International Agricultural Research.
- Kewcharoen, W., & Srisapoome, P. (2019). Probiotic effects of *Bacillus* spp. from Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) on water quality and shrimp growth, immune responses, and resistance to *Vibrio parahaemolyticus* (AHPND strains). *Fish Shellfish Immunology* 94, 175-189. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.09.013>.
- Li, S., Sun, L. B., Wu, H. J., Hu, Z., Liu, W., Li, Y., & Wen, X. B. (2012). The intestinal microbial diversity in mud crab (*Scylla paramamosain*) as determined by PCR-DGGE and clone library analysis. *Journal of Applied Microbiology* 113(6), 1341-1351. <https://doi.org/10.1111/jam.12008>.
- Liu, C. H., Chiu, C. S., Ho, P. L., & Wang, S. W. (2009). Improvement in the growth performance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, by a protease-producing probiotic, *Bacillus subtilis* E20, from natto. *Journal of Applied Microbiology* 107(3), 1031-1041. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04284.x>.
- MacFaddin, J. F. (2000). *Biochemical tests for identification of medical bacteria* (3rd ed.). Pennsylvania, USA: Lippincott Williams and Wilkins.
- Monier, M. N., Kabary, H., Elfeky, A., Saadony, S., Nadia, N. B. A., Eissa, M. E. H., & Eissa, E. S. (2023). The effects of *Bacillus* species probiotics (*Bacillus subtilis* and *B. licheniformis*) on the water quality, immune responses, and resistance of whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) against *Fusarium solani* infection. *Aquaculture International* 31, 3437-3455. <https://doi.org/10.1007/s10499-023-01136-1>.
- Nimrat, S., Suksawat, S., Boonthai, T., & Vuthiphandchai, V. (2012). Potential *Bacillus* probiotics enhance bacterial numbers, water quality and growth during early development of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Veterinary Microbiology* 159, 443-450. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.04.029>.
- Onn, K. K. (2016). *The effects of Bacillus and Lactobacillus as probiotics on mud crab Scylla paramamosain (Estampador, 1949) zoea larval culture performance* (Unpublished master's thesis). Universiti Sains Malaysia, George Town, Malaysia.
- Onn, K. K., Talib, A., Chowdhury, A., Yahya, K., & Din, W. M. W. (2013). The effects of probiotics in Mud Crab *Scylla paramamosain* Larval cultures. In *Conference: The Asian-Pacific Aquaculture* (53-56). Ho Chi Minh City, Vietnam: Asian-Pacific Aquaculture Conference.
- Parra, G., & Yúfera, M. (1999). Tolerance response to ammonia and nitrite exposure in larvae of two marine fish species (gilthead seabream *Sparus aurata* L. and Senegal sole *Solea senegalensis* Kaup). *Aquaculture Research* 30, 857-863. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.1999.00414.x>.
- Rahman, A., Shefat, S. H. T., & Chowdhury, M. A. (2021). Effects of probiotic *Bacillus* on growth performance, immune response and disease resistance in aquaculture, immune response and disease resistance in aquaculture. *Journal of Aquaculture Research and Development* 12(4), 634. <https://hal.science/hal-03633413>.
- 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. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00305-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00305-6).
- Saqib, H. S. A., Yuan, Y., Kazmi, S. S. U. H., Li, S., Zheng, H., Zhang, Y., Ikhwanuddin, M., & Ma, H. (2023). Salinity gradients drove the gut and stomach microbial assemblages of mud crabs

- (*Scylla paramamosain*) in marine environments. *Ecological Indicators* 151, 110315. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2023.110315>.
- Shelley, C., & Lovatelli, A. (2011). *Mud crab aquaculture: A practical manual* (Fisheries and Aquaculture Technical Paper No. 567). Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Syafaat, M., Azra, M., Mohamad, F., Che-Ismael, C., Amin-Safwan, A., Asmat-Ullah, M., Syahnon, M., Ghazali, A., Abol-Munafi, A. B., & Ma, H. (2021). Thermal tolerance and physiological changes in mud crab, *Scylla paramamosain* crablet at different water temperatures. *Animals* 11(4), 1146. <https://doi.org/10.3390/ani11041146>.
- Syafaat, M. N., Mohammad, S., Azra, M. N., Ma, H., Abol-Munafi, A. B., & Ikhwanuddin, M. (2020). Effect of water temperature on survival, growth and molting cycle during early crablet instar of mud crab, *Scylla paramamosain* (Estampador, 1950). *Thalassas: An International Journal of Marine Sciences* 36, 543-551. <https://doi.org/10.1007/s41208-020-00233-9>.
- Talib, A., Onn, K. K., & Chowdury, M. A. (2017). The beneficial effects of multispecies *Bacillus* as probiotics in enhancing culture performance for mud crab *Scylla paramamosain* larval culture. *Aquaculture International* 25, 849-866. <https://doi.org/10.1007/s10499-016-0070-5>.
- Tran, N. D. K. (2018). Effects of probiotics (*Bacillus subtilis*) on water quality, survival rate, and digestive enzyme activity of Mud crab larvae (*Scylla paramamosain*). *CTU Journal of Science* 54(1), 1-8. <https://doi.org/10.22144/ctu.jsci.2018.001>.
- Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., & Verstraete, W. (2000). Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 64, 655-671. <https://doi.org/10.1128/MMBR.64.4.655-671.2000>.
- Wu, H. J., Sun, L. B., Li, C. B., Li, Z. Z., Zhang, Z., Wen, X. B., Hu Z., Zhang, Y. L., & Li, S. K. (2014). Enhancement of the immune response and protection against *Vibrio parahaemolyticus* by indigenous probiotic *Bacillus* strains in mud crab (*Scylla paramamosain*). *Fish and Shellfish Immunology* 41(2), 156-162. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.08.027>.
- Xe, D. V. (2010). Economic efficiency analysis of agricultural production model: A case study in Cai Lay district, Tien Giang province. *CTU Journal of Science* 13, 113-119.
- Xie, J. J., Liu, Q., Liao, S., Fang, H. H., Yin, P., Xie, S. W., Tian, L. X., Liu, Y. J., & Niu, J. (2019). Effects of dietary mixed probiotics on growth, non-specific immunity, intestinal morphology and microbiota of juvenile pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish and Shellfish Immunology* 90, 456-465. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.04.301>.
- Yeh, S. P., Chiu, C. H., Shiu, Y. L., Huang, Z. L., & Liu, C. H. (2014). Effects of diets supplemented with either individual or combined probiotics, *Bacillus subtilis* E20 and *Lactobacillus plantarum* 7-40, on the immune response and disease resistance of the mud crab, *Scylla paramamosain* (Estampador). *Aquaculture Research* 45, 1164-1175. <https://doi.org/10.1111/are.12061>.
- Ziaei-Nejad, S., Rezaei, M. H., Takami, G. A., Lovett, D. L., Mirvaghef, A. R., & Shakouri, M. (2006). The effect of *Bacillus* spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. *Aquaculture* 252, 516-524. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.07.021>.
- Zokaefar, H., Balcázar, J. L., Saad, C. R., Kamarudin, M. S., Sijam, K., Arshad, A., & Nejat, N. (2012). Effects of *Bacillus subtilis* on the growth performance, digestive enzymes, immune gene expression and disease resistance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish and Shellfish Immunology* 33, 683-689. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.05.027>.