

Effects of probiotic supplementation in rearing mud crab larvae (*Scylla paramamosain* estampador, 1949)

Vu H. Le¹, Tuyen B. Cao², & Bac V. Nguyen^{3*}

¹Faculty of Agriculture and Aquaculture, Bac Lieu University, Bac Lieu, Vietnam

²Faculty of Education, Bac Lieu University, Bac Lieu, Vietnam

³Faculty of Agricultural Economics, Ca Mau Community College, Ca Mau, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: March 29, 2024

Revised: July 30, 2024

Accepted: August 08, 2024

Keywords

Bacillus subtilis

Lactobacillus acidophilus

Mud crab

Probiotic

Scylla paramamosain

*Corresponding author

Nguyen Viet Bac

Email:

nvbac87@gmail.com

ABSTRACT

The research was conducted to evaluate effects of probiotics supplementation on growth performance and survival rate of mud crab (*Scylla paramamosain*) larvae. The experiment was arranged in a completely randomized design with 4 diets supplemented with various probiotics: (i) Control (w/o supplementation), (ii) *L. acidophilus*, (iii) *B. subtilis*, and (iv) a mixture of *L. acidophilus* and *B. subtilis*. A total of 12 composite tanks were filled with 60 L sterilized saline water (salinity 26 ppt) with a stocking density of 200 larvae/L and water exchange was controlled every 3 days (25% of the water volume). The probiotics (10^4 CFU/mL) were added separately to the experimental tanks every 3 days over a culture period. The *L. acidophilus* supplementation resulted in significantly higher total probiotics density (16.38×10^4 CFU/mL) compared with the control (6.37×10^4 CFU/mL) ($P < 0.05$). Furthermore, the control showed the highest *Vibrio* spp. density (6.67×10^3 CFU/mL) which differed significantly ($P < 0.05$) from remaining treatments with probiotics supplementation. The larval stage index (LSI) of mud crab larvae in probiotic-supplemented treatments did not differ significantly ($P > 0.05$). The control had the lowest Crablet₁'s survival rate (7.51%) which differed significantly from remaining treatments ($P < 0.05$). In contrast, the *L. acidophilus*-supplemented treatment achieved the highest survival rate (10.04%). In conclusion, the obtained results suggested that *L. acidophilus* supplementation was considered the most potential approach to mud crab larvae production.

Cited as: Le, V. H., Cao, T. B., & Nguyen, B. V. (2025). Effects of probiotic supplementation in rearing mud crab larvae (*Scylla paramamosain* estampador, 1949). *The Journal of Agriculture and Development* 24(5), 26-37.

Ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm sinh học trong ương ấu trùng cua biển (*Scylla paramamosain* estampador, 1949)

Lê Hoàng Vũ¹, Cao Bích Tuyền² & Nguyễn Việt Bắc^{3*}

¹Khoa Nông Nghiệp và Thủy Sản, Trường Đại Học Bạc Liêu, Bạc Liêu

²Khoa Sư Phạm, Trường Đại Học Bạc Liêu, Bạc Liêu

³Khoa Kinh Tế Nông Nghiệp, Trường Cao Đẳng Cộng Đồng Cà Mau, Cà Mau

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 29/03/2024

Ngày chỉnh sửa: 30/07/2024

Ngày chấp nhận: 08/08/2024

Từ khóa

Bacillus subtilis

Chế phẩm vi sinh

Cua biển

Lactobacillus acidophilus

Scylla paramamosain

***Tác giả liên hệ**

Nguyen Viet Bac

Email:

nvbac87@gmail.com

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm đánh giá ảnh hưởng của các loại chế phẩm sinh học lên tăng trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng cua biển (*Scylla paramamosain*). Thí nghiệm gồm 4 nghiệm thức: (i) Nghiệm thức đối chứng (không bổ sung chế phẩm sinh học), (ii) bổ sung *L. acidophilus*, (iii) bổ sung *B. subtilis*, (iv) bổ sung kết hợp *L. acidophilus* và *B. subtilis*, mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần và bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên. Ấu trùng được ương trong bể nhựa 60 L với mật độ 200 con/L, độ mặn 26 ppt và bể ương được thay 3 ngày/lần, với 25% thể tích nước. Trong suốt thời gian ương bể ương được bổ sung chế phẩm vi sinh mỗi 3 ngày/lần với mật độ 10^4 CFU/mL. Kết quả cho thấy mật độ vi khuẩn tổng cao nhất ở nghiệm thức bổ sung *L. acidophilus* ($16,38 \times 10^4$ CFU/mL) khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) so với nghiệm thức đối chứng ($6,37 \times 10^4$ CFU/mL). Mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp. ở nghiệm thức đối chứng cao nhất ($6,67 \times 10^3$ CFU/mL) khác biệt có ý nghĩa ($P < 0,05$) so với các nghiệm thức có bổ sung chế phẩm vi sinh. Chỉ số biến thái (LSI) của ấu trùng của các nghiệm thức sử dụng vi sinh khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ($P > 0,05$). Tỷ lệ sống đến Cua₁ thấp nhất ở nghiệm thức đối chứng (7,51%) khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) so với các nghiệm thức còn lại. Nghiệm thức bổ sung *L. acidophilus* cho tỷ lệ sống cao nhất (10,04%). Kết quả nghiên cứu này cho thấy bổ sung *L. acidophilus* trong ương ấu trùng cua biển đạt hiệu quả cao nhất.

1. Giới Thiệu

Cua biển (*Scylla paramamosain*) loài đối tượng thủy sản có giá trị kinh tế cao vào được nuôi ở nhiều nơi trên thế giới, trong đó có Việt Nam. Những năm gần đây, diện tích nuôi cua biển ngày càng mở rộng dẫn đến nguồn giống cua biển từ tự nhiên đang giảm mạnh do việc khai thác quá mức để cung cấp cho nghề nuôi (Liew & ctv., 2024). Bên cạnh đó, việc phát triển công nghệ trại giống cho mục đích sản xuất giống cua biển ở quy mô thương mại cũng được tập trung nghiên cứu. Tuy nhiên, tỷ lệ sống của ấu trùng cua biển chịu ảnh hưởng nhiều yếu tố như: nhiễm khuẩn từ cua mẹ và môi trường (Talpur & ctv., 2011; Wu & ctv., 2016), chất lượng nước (Li & ctv., 2012), mật độ ương ấu trùng (Tran & Le, 2018) hay đặc điểm dinh dưỡng (Pavasovic, 2004; Tran & Le, 2017).

Gần đây, chế phẩm vi sinh đã được sử dụng và mang lại hiệu quả tích cực trên nhiều loài động vật thủy sản (Ringø, 2020). Một số nghiên cứu gần đây đã cho thấy hiệu quả của việc sử dụng chế phẩm vi sinh giúp cải thiện tăng trưởng, cải thiện dinh dưỡng và hoạt động của enzyme vào quá trình tiêu hóa của vật chủ, giúp vật chủ tăng cường các phản ứng miễn dịch và chống lại bệnh (Tran, 2018; Poolsawat & ctv., 2020). Chế phẩm vi sinh đóng vai trò như chất kích thích tăng trưởng, chất kích thích miễn dịch trên cá, tôm và chống lại mầm bệnh ở cua, cũng như kiểm soát chất lượng nước bể nuôi (Talpur & ctv., 2013). Trong bối cảnh những năm gần đây, nếu yêu cầu thực hành canh tác hiệu quả và thân thiện với môi trường được đặt lên hàng đầu thì probiotic ngày càng được sử dụng rộng rãi hơn (Dawood & ctv., 2019).

Các dòng vi khuẩn thuộc họ *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Aeromonas*, *Alteromonas*, *Arthrobacter*, *Bifidobacteria*, *Clostridium*, *Microbacteria*, *Paenibacillus*, *Phaeobacter*, *Pseudoalteromonas*, *Pseudomonas*, *Rhodospiridium*, *Roseobacter*, *Streptomyces* và *Vibrio* đã chứng minh được hiệu quả của chúng khi sử dụng cho các loài động vật thủy sản (Ringø & ctv., 2018; Dawood & ctv., 2019; Ringø & ctv., 2019). Trong đó, có một số họ đã được ứng dụng cho cua biển ở giai đoạn cua giống và cua trưởng thành (Tran & Li, 2022), với hình thức chủ yếu là bổ sung vào thức ăn hoặc bổ sung vào môi trường nước (Wu & ctv., 2014; Yeh & ctv., 2014; Yang & ctv., 2019). Tuy nhiên, cho đến hiện nay việc ứng dụng chế phẩm sinh học trong ương ấu trùng cua biển còn khá ít (Talib & ctv., 2017; Gunarto & ctv., 2021; Gunarto & ctv., 2024). Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định được loại chế phẩm vi sinh thích hợp bổ sung vào nước ương ấu trùng cua biển đạt tỷ lệ sống đến Cua₁ cao nhất. Qua đó, góp phần nâng cao hiệu quả ương ấu trùng cua biển và cung cấp nguồn cua giống có chất lượng tốt cho nuôi cua thương phẩm.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Nguồn nước thí nghiệm

Nước sử dụng trong thí nghiệm có độ mặn 26 ppt, được mua từ cửa biển Gành Hào, Bạc Liêu. Nước được lọc qua than hoạt tính và lõi lọc gòn 1 μm (MBC, Graver USA), sau đó đi qua hệ thống đèn cực tím UV-C (254 nm) và xử lý EDTA (10 g/m³). Độ kiềm được duy trì ở mức 100 - 120 mg CaCO₃/L bằng NaHCO₃. Trong suốt thời gian thí nghiệm, tất cả các bể ương được sục khí liên tục và thay nước 3 ngày/lần với tỷ lệ 25%, chế phẩm vi sinh được bổ sung vào bể ương sau khi thay nước.

2.2. Nguồn ấu trùng thí nghiệm

Nguồn ấu trùng trong thí nghiệm được thu từ cua mang trứng sau khi nở. Cua mang trứng được nuôi vỗ tại trại thực nghiệm, Trường Cao đẳng Cộng đồng Cà Mau. Cua cái dùng để nuôi vỗ là cua thành thực tốt (đầy gạch, còn nguyên phụ bộ) được lựa chọn từ các đầm tôm quảng canh ở huyện Đầm Dơi, tỉnh Cà Mau. Cua được cắt mắt và nuôi vỗ trong bể 500 L có hệ thống lọc sinh học và được cho ăn sò huyết trong suốt quá trình nuôi vỗ. Sau khi đẻ trứng, cua được chuyển sang bể ấp 100 L và thay 100% nước hàng ngày cho đến khi trứng nở. Ấu trùng cua hướng quang mạnh được thu và sử dụng cho thí nghiệm.

2.3. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên trong hệ thống xô nhựa 60 L, ấu trùng cua sau khi nở được thu và bố trí vào bể ương với mật độ 200 con/L và được bổ sung các chế phẩm sinh học khác nhau theo 4 nghiệm thức với 3 lần lặp lại bao gồm: (1) Không sử dụng chế phẩm sinh học; (2) Sử dụng *L. acidophilus*; (3) Sử dụng *B. subtilis* và (4) Sử dụng *B. subtilis* và *L. acidophilus*.

Bảng 1. Thức ăn và chế độ cho ăn của ấu trùng cua trong thí nghiệm¹

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

¹Truong & ctv. (2007).

Giá thể (lưới, chùm dây nylon...) được bố trí trong bể ương khi ấu trùng chuyển sang cuối giai đoạn Megalop.

2.4. Theo dõi các chỉ tiêu

Nhiệt độ và pH được đo hàng ngày bằng máy DYS-DMT 50 lúc 7 giờ và 14 giờ. Total ammonia

Chế phẩm sinh học *L. acidophilus* (Han Wha Pharma, Hàn Quốc) và *B. subtilis* (Genchem polytase, Đài Loan) được bổ sung định kỳ 3 ngày/lần với liều lượng 10⁴ CFU/mL sau mỗi lần thay nước. Thí nghiệm được kết thúc sau khi ấu trùng chuyển sang giai đoạn Cua₁ hoàn toàn.

Ấu trùng cua được cho ăn ấu trùng *Artemia* 6 lần/ngày (lúc 6 giờ, 10 giờ, 14 giờ, 18 giờ, 22 giờ và 2 giờ) với chế độ cho ăn và liều lượng được trình bày chi tiết ở Bảng 1. Chất DHA (Protein Selco của INVE Bỉ, thành phần gồm protein: tối thiểu 27%; chất béo: tối thiểu 29%; n-3 HUFA: tối thiểu 80 mg/g khối lượng khô, DHA/EPA = 2) được dùng để giàu hóa ấu trùng *Artemia* intar II được giàu hóa từ 8 - 12 giờ, với liều lượng 0,6 g DHA/200.000 *Artemia*/L, trong nước có độ mặn 26 ppt. *Artemia* sinh khối (giai đoạn trưởng thành) được nuôi trong 2 bể composite 1 m³, với độ mặn 26 ppt. *Artemia* được cho ăn bằng bột đậu nành và tảo khô *Spirulina*. *Artemia* trưởng thành được thu hoạch bằng vợt, rửa sạch bằng nước ngọt trước khi cho ấu trùng megalop ăn.

nitrogen (TAN), NO₂⁻ được xác định 3 ngày/lần bằng phương pháp Indo-phenol blue, Dianozium và Iodine (APHA, 1995).

Mật độ vi khuẩn tổng và *Vibrio* trong nước được xác định 3 ngày/lần bằng cách thu mẫu nước (1 mL) và tán mẫu trên đĩa thạch, NA+ và TCBS (thiosulfate citrate bile sucrose) của Baumann & ctv. (1980). Đĩa thạch được ủ trong tủ ấp ở nhiệt độ 28°C và kiểm tra kết quả phân lập sau 24 giờ. Số khuẩn lạc tổng cộng được đếm và được tính bằng đơn vị hình thành khuẩn lạc CFU/mL mẫu nước theo công thức:

Mật độ vi khuẩn/mL (CFU/mL) = Số khuẩn lạc x độ pha loãng x 10

Kích thước của ấu trùng Zoea₁, Zoea₂, Zoea₃, Zoea₄, Zoea₅, Megalop được đo chiều dài tổng bằng kính hiển vi quang học có thước đo trực vi thị kính. Chiều rộng mai (CW) được đo đối với Cua₁. Mỗi nghiệm thức đo 30 con.

Tỷ lệ biến thái của ấu trùng được xác định 3 ngày/lần, sử dụng cốc thủy tinh 250 mL lấy đầy 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. Chỉ số biến thái được tính theo công thức

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

Bảng 2. Các yếu tố môi trường trong thí nghiệm

Nghiem thức (NT)	Thời gian	Nhiệt độ (°C)	pH	NO ₂ ⁻ (mg/L)	TAN (mg/L) ¹
NT1	Sáng	27,6 ± 0,2	8,04 ± 0,04	0,152 ± 0,120 ^b	1,822 ± 1,246 ^d
	Chiều	29,1 ± 0,5	8,07 ± 0,05		
NT2	Sáng	27,8 ± 0,4	8,03 ± 0,10	0,100 ± 0,069 ^a	0,509 ± 0,254 ^a
	Chiều	29,1 ± 0,4	8,05 ± 0,05		
NT3	Sáng	27,8 ± 0,4	8,03 ± 0,04	0,119 ± 0,098 ^a	0,737 ± 0,401 ^b
	Chiều	29,2 ± 0,5	8,06 ± 0,04		
NT4	Sáng	27,8 ± 0,3	8,03 ± 0,04	0,108 ± 0,082 ^a	0,944 ± 0,641 ^c
	Chiều	29,4 ± 0,5	8,06 ± 0,03		

¹TAN: total ammonia nitrogen.

^{a-d}Các giá trị trên cùng một cột có chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Trong đó : N₁, N₂...N_i: giai đoạn ấu trùng; n₁, n₂...n_i: số ấu trùng ở giai đoạn tương ứng.

Tỷ lệ sống của ấu trùng ở giai đoạn Zoea₅ 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 Cua₁ được đếm toàn bộ số lượng trong bể tương ứng với mỗi giai đoạn. Tỷ lệ sống được tính bằng công thức sau:

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

2.5 Xử lý thống kê

Các số liệu thu thập được tính giá trị trung bình, độ lệch chuẩn, so sánh sự khác biệt giữa các nghiệm thức áp dụng phương pháp ANOVA và phép thử DUNCAN ở mức ý nghĩa $P < 0,05$ sử dụng phần mềm Excel của Office 2003 và SPSS phiên bản 16.0.

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Các yếu tố môi trường

Biến động yếu tố môi trường của các bể trong suốt quá trình ương ấu trùng của biển được trình bày ở Bảng 2.

Nhiệt độ và pH: Sự biến động của các yếu tố môi trường nước ở các nghiệm thức được thể hiện ở Bảng 2. Trong suốt quá trình thí nghiệm, nhiệt độ nằm trong khoảng thích hợp cho ấu trùng phát triển, ít biến động mạnh giữa sáng và chiều (từ 27,6 đến 29,2°C). Giá trị pH cũng ít dao động và duy trì trong khoảng thích hợp 8,03 đến 8,07. Theo Zeng & Li (1992), ấu trùng phát triển bình thường khi nhiệt độ nước bể ương trong khoảng 25 - 30°C. Bên cạnh đó, pH tối ưu cho sự phát triển và biến thái của ấu trùng cua từ 7,5 - 8,5 (Nguyễn & ctv., 1998).

Nitrit: Kết quả nghiên cứu cho thấy các nghiệm thức sử dụng chế phẩm vi sinh đều có hàm lượng nitrit thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) so với nghiệm thức đối chứng. Seneriches-Abiera (2007) đã báo cáo rằng, nồng độ NO_2^- an toàn cho từng giai đoạn ấu trùng cua là 4,16 mg/L đối với ấu trùng Z_1 ; 6,30 mg/L đối với ấu trùng Z_2 ; 2,55 mg/L đối với ấu trùng Z_3 ; 2,99 mg/L đối với ấu trùng Z_4 và 6,99 mg/L đối với Z_5 . Như vậy, hàm lượng NO_2^- trong các nghiệm thức thí nghiệm dao động trong khoảng 0,100 - 0,152 mg/L vẫn không ảnh hưởng bất lợi đến sự phát triển của ấu trùng.

TAN: Kết quả nghiên cứu cho thấy ở nghiệm thức đối chứng có hàm lượng TAN cao nhất là 1,852 mg/L khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) so với các nghiệm thức còn lại có sử dụng vi sinh dao động 0,509 - 0,944 mg/L. Churchill (2004) đã báo cáo rằng, giá trị $\text{LC}_{50-24\text{giờ}}$ của TAN đối với ấu trùng cua *Scylla serrata* là $39,7 \pm 2,0$ mg/L tại pH 8,2. Tuy nhiên, theo Nguyễn & Truong (2004), hàm lượng TAN trong bể ương ấu trùng cua không nên vượt quá 1 mg/L. Như

vậy các nghiệm thức sử dụng chế phẩm vi sinh có hàm lượng TAN đều nằm trong khoảng thích hợp cho sự phát triển của ấu trùng cua biển. Tuy nhiên, hàm lượng TAN ở nghiệm thức không bổ sung chế phẩm vi sinh khá cao (1,822 mg/L), hàm lượng này cao hơn mức khuyến cáo và có thể gây bất lợi cho sự phát triển của ấu trùng cua.

3.2. Mật độ vi khuẩn trong bể ương cua

Mật độ vi khuẩn tổng cộng của các nghiệm thức được thể hiện qua Bảng 3. Kết quả phân tích mẫu nước ương ấu trùng cua biển cho thấy mật độ vi khuẩn tổng cộng cao nhất ở nghiệm thức sử dụng chế phẩm sinh học *L. acidophilus* và thấp nhất ở nghiệm thức đối chứng (không sử dụng chế phẩm sinh học). Mật độ vi khuẩn tổng cộng ở các nghiệm thức bổ sung chế phẩm sinh học có mật độ tăng cao và khác biệt có ý nghĩa ($P < 0,05$) so với nghiệm thức đối chứng (Bảng 3). Kết quả này cho thấy việc bổ sung chế phẩm sinh học trong bể ương ấu trùng cua biển làm gia tăng mật độ vi khuẩn tổng và giảm mật độ vi khuẩn *Vibrio*. Việc sử dụng chế phẩm vi sinh đã làm giảm được mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp. gây bệnh trên ghẹ (Talpur & ctv., 2013; Boonyapakdee & Bhujel, 2020) và trên cua biển (Wu & ctv., 2014; Dan & Hamasaki, 2015; Nguyen, 2019). Do chế phẩm vi sinh đã cạnh tranh nơi cư trú hoặc năng lượng thông qua việc tạo ra các kháng sinh polymyxin, bacitracin và gramicidin (Gullian & ctv., 2004), lysozyme, protease, hydrogen peroxide (Verschuere & ctv., 2000), axit hữu cơ làm giảm độ pH của ruột (Vázquez & ctv., 2005), từ đó làm giảm hay ức chế sự phát triển của quần thể vi sinh vật có hại gây bệnh cho ấu trùng.

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

Thí nghiệm (NT)	Trung bình	
	Vi khuẩn tổng cộng (CFU/mL)	Vi khuẩn <i>Vibrio</i> spp. (CFU/mL)
NT1	$6,37 \times 10^4 \pm 5,09 \times 10^{4a}$	$6,67 \times 10^3 \pm 8,10 \times 10^{3b}$
NT2	$16,38 \times 10^4 \pm 7,92 \times 10^{4b}$	$0,34 \times 10^3 \pm 0,57 \times 10^{3a}$
NT3	$8,23 \times 10^4 \pm 5,17 \times 10^{4a}$	$1,55 \times 10^3 \pm 1,34 \times 10^{3a}$
NT4	$8,15 \times 10^4 \pm 4,16 \times 10^{4a}$	$0,78 \times 10^3 \pm 0,56 \times 10^{3a}$

^{a,b}Các giá trị trên cùng một cột có chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

3.3. Các chỉ tiêu theo dõi ấu trùng

3.3.1. Tỷ lệ biến thái

Chỉ số biến thái LSI thể hiện sự biến thái và mức độ đồng đều của ấu trùng trong bể ương. Sự phát triển của ấu trùng của được quan sát thông qua chu kỳ lột xác và biến thái. Kết quả Bảng 4 cho thấy, ấu trùng ở các thí nghiệm sử dụng chế phẩm sinh học có xu hướng lột xác sớm và đồng loạt hơn ấu trùng ở thí nghiệm không sử dụng chế phẩm sinh học. Ấu trùng Megalop xuất hiện sau 15 ngày ương và biến thái hoàn toàn từ Zoea₅ sang Megalop sau 17 ngày ương; sau 25 ngày ương ấu trùng biến thái hoàn toàn từ Megalop sang Cua₁ ở tất cả các thí nghiệm. Tuy nhiên, chỉ số biến thái của ấu trùng khác

biệt không có ý nghĩa ($P > 0,05$) giữa các thí nghiệm trong suốt thời gian thí nghiệm (Bảng 4). Theo Truong & ctv. (2007), ấu trùng của mất 16 - 18 ngày cho các giai đoạn zoea và 7 - 8 ngày cho giai đoạn Megalop. Theo Azam & Narayan (2013) và Pedro & ctv. (2007), chỉ số biến thái của ấu trùng của biển sẽ thấp khi sử dụng kháng sinh hoặc hóa chất thường xuyên hoặc sử dụng ở nồng độ cao trong suốt quá trình ương ấu trùng. Trong thí nghiệm này, ấu trùng có xu hướng lột xác đồng loạt hơn khi sử dụng chế phẩm vi sinh trong quá trình ương. Điều này có ý nghĩa quan trọng trong thực tế sản xuất giống cua, vì nó hạn chế được hiện tượng ăn nhau của ấu trùng của biển, đặc biệt là giai đoạn zoea₅ qua megalopa và từ megalopa qua Cua₁.

Bảng 4. Chỉ số biến thái của ấu trùng của biển

Ngày	NT1	NT2	NT3	NT4
3	$1,23 \pm 0,05$	$1,23 \pm 0,11$	$1,23 \pm 0,05$	$1,26 \pm 0,05$
5	$1,93 \pm 0,05$	$2,00 \pm 0,00$	$2,10 \pm 0,10$	$2,13 \pm 0,15$
7	$2,86 \pm 0,05$	$2,90 \pm 0,10$	$2,90 \pm 0,10$	$2,93 \pm 0,05$
9	$3,63 \pm 0,11$	$3,63 \pm 0,11$	$3,63 \pm 0,11$	$3,80 \pm 0,17$
11	$4,23 \pm 0,11$	$4,30 \pm 0,20$	$4,30 \pm 0,20$	$4,36 \pm 0,11$
13	$4,86 \pm 0,05$	$4,96 \pm 0,11$	$4,96 \pm 0,11$	$5,00 \pm 0,10$
15	$5,60 \pm 0,10$	$5,66 \pm 0,05$	$5,66 \pm 0,05$	$5,63 \pm 0,05$
17	$6,00 \pm 0,00$	$6,00 \pm 0,00$	$6,00 \pm 0,00$	$6,00 \pm 0,00$
19	$6,00 \pm 0,00$	$6,00 \pm 0,00$	$6,00 \pm 0,00$	$6,00 \pm 0,00$
21	$6,00 \pm 0,00$	$6,00 \pm 0,00$	$6,00 \pm 0,00$	$6,00 \pm 0,00$
23	$6,20 \pm 0,05$	$6,30 \pm 0,10$	$6,26 \pm 0,05$	$6,30 \pm 0,10$
25	$7,00 \pm 0,00$	$7,00 \pm 0,00$	$7,00 \pm 0,00$	$7,00 \pm 0,00$

NT: thí nghiệm.

3.4. Kích thước của ấu trùng

Bảng 5. Kích thước của ấu trùng ở các nghiệm thức

Nghiem thức (NT)	NT1	NT2	NT3	NT4
Zoea ₁ (mm)	1,63 ± 0,01 ^a	1,62 ± 0,00 ^a	1,62 ± 0,00 ^a	1,63 ± 0,01 ^a
Zoea ₂ (mm)	2,17 ± 0,01 ^a	2,17 ± 0,01 ^a	2,17 ± 0,01 ^a	2,17 ± 0,01 ^a
Zoea ₃ (mm)	2,69 ± 0,00 ^{ab}	2,70 ± 0,01 ^b	2,68 ± 0,00 ^{ab}	2,67 ± 0,01 ^a
Zoea ₄ (mm)	3,63 ± 0,00 ^a	3,70 ± 0,01 ^b	3,71 ± 0,00 ^b	3,61 ± 0,00 ^a
Zoea ₅ (mm)	4,48 ± 0,03 ^a	4,54 ± 0,01 ^b	4,54 ± 0,00 ^b	4,54 ± 0,01 ^b
Megalop (mm)	4,15 ± 0,03 ^a	4,23 ± 0,01 ^b	4,23 ± 0,01 ^b	4,25 ± 0,01 ^b
Cua ₁ (mm)	3,17 ± 0,01 ^a	3,18 ± 0,02 ^{ab}	3,21 ± 0,02 ^{bc}	3,22 ± 0,02 ^c

^{a-c}Các giá trị trung bình trong cùng một hàng có ký hiệu khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Bảng 5 cho thấy, tăng trưởng của ấu trùng ở giai đoạn Zoea₁ và Zoea₂ khác biệt không có ý nghĩa ($P > 0,05$). Tuy nhiên, kích thước của ấu trùng từ Zoea₃ - Cua₁ ở các nghiệm thức bổ sung chế phẩm sinh học lớn hơn và khác biệt có ý nghĩa ($P < 0,05$) so với nghiệm thức đối chứng (không bổ sung chế phẩm sinh học). Theo Nguyen & Truong (2004), kích cỡ ấu trùng của

ở giai đoạn Zoea 1, 2, 3, 4, 5, Megalop và Cua₁ lần lượt là 1,25; 1,53; 1,93; 2,75; 3,67; 4,16; 2,0 - 3 mm. Tuy nhiên, kích thước ấu trùng sẽ thay đổi tùy theo điều kiện dinh dưỡng và mật độ ương ấu trùng (Tran & ctv., 2010). Nhìn chung qua kết quả thí nghiệm cho thấy, kích thước của ấu trùng có xu hướng lớn hơn nghiên cứu trước đó, đặc biệt ở giai đoạn megalop và Cua₁.

3.5. Tỷ lệ sống

Bảng 6. Tỷ lệ sống (%) của ấu trùng ở các nghiệm thức

Nghiem thức (NT)	NT1	NT2	NT3	NT4
Zoea ₅	70,4 ± 0,72 ^a	82,8 ± 0,42 ^c	71,2 ± 2,02 ^a	79,5 ± 0,48 ^b
Megalop	35,1 ± 1,69 ^a	41,4 ± 0,46 ^c	37,6 ± 2,02 ^a	39,2 ± 0,26 ^b
Cua ₁	7,52 ± 0,26 ^a	10,04 ± 0,90 ^b	8,88 ± 0,87 ^b	9,17 ± 3,30 ^b

^{a-c}Các giá trị trung bình trong cùng một hàng có ký hiệu khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Tỷ lệ sống của Cua₁ được cải thiện đáng kể khi bể ương được bổ sung chế phẩm vi sinh và khác biệt có ý nghĩa ($P < 0,05$) so với bể ương không được sử dụng vi sinh (Bảng 6). Các nghiên cứu trước đây đã chứng minh việc bổ sung vi khuẩn hữu ích khi ương ấu trùng động vật thủy sản sẽ giúp cải thiện quá trình tiêu hóa bằng cách tăng hoạt tính của enzyme, từ đó

tăng khả năng hấp thụ dinh dưỡng của ấu trùng (Prado & ctv., 2010). Bên cạnh đó vi sinh vật hữu ích còn tăng khả năng miễn dịch (Banerjee & Ray, 2017), điều này có thể giúp giải thích sự khác biệt về tỉ lệ biến thái và tỉ lệ sống của ấu trùng của biển ở các nghiệm thức. Zhou & ctv. (2009) và Zokaeifar & ctv. (2012) cũng báo cáo rằng Bacillus probiotic có khả năng làm tăng sức

sinh trưởng, tỉ lệ sống, hoạt tính enzyme tiêu hóa và biểu hiện của các gene miễn dịch trên ấu trùng tôm thẻ chân trắng. Hiệu quả tương tự cũng được ghi nhận trên ấu trùng tôm sú (Nimrat & ctv., 2012). Trong nghiên cứu này, ấu trùng có tỷ lệ sống tốt nhất (10,04%) khi bể ương được bổ sung vi khuẩn *L. acidophilus*. Kết quả nghiên cứu này tương tự như nghiên cứu trước đó. Talpur & ctv. (2011) đã báo cáo ấu trùng ghẹ *Portunus pelagicus* có tỷ lệ sống cao nhất (12%) khi các bể ương được bổ sung các vi khuẩn *Lactobacillus plantarum*. Kết quả nghiên cứu hiện tại cho thấy việc sử dụng chế phẩm vi sinh cho tỷ lệ sống khá cao (8,88 - 10,04%). Trong khi đó, tỷ lệ sống của cua khi áp dụng các quy trình ương bằng kháng sinh trong sản xuất giống ở Đồng bằng sông Cửu Long dao động trong khoảng 5 - 7% (Tran & Nguyen, 2009), điều này cho thấy hoàn toàn có thể sử dụng chế phẩm vi sinh để thay thế kháng sinh trong ương ấu trùng của biển.

4. Kết Luận

Việc bổ sung chế phẩm vi sinh với liều lượng 10^6 CFU/mL khi ương ấu trùng của biển cho hiệu quả cao, giúp cải thiện chất lượng nước như giảm hàm lượng TAN, nitrite và mật độ *Vibrio* trong nước.

Sử dụng chế phẩm vi sinh giúp cải thiện kích thước Cua₁ (3,18 - 3,22 mm). Tỷ lệ sống đạt cao nhất 10,08 % khi bổ sung chế phẩm vi sinh *Lactobacillus acidophilus*.

Lời Cảm Ơn

Chúng tôi cảm ơn bài báo do nhóm tác giả thực hiện và không có bất kỳ mâu thuẫn nào giữa các tác giả.

Lời Cảm Ơn

Nhóm tác giả gửi lời cảm ơn đến lãnh đạo Trường Đại học Bạc Liêu và Trường Cao đẳng Cộng đồng Cà Mau. 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.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- APHA (American Public Health Association). (1995). *Standard method for the examination of water and wastewater* (19th ed.). Washington DC, USA: American Public Health Association.
- Azam, K., & Narayan, P. (2013). Safe usage of antibiotic (Oxytetracycline) in larval rearing of mud crab, *Scylla serrata* (Forsskal, 1775) in Fiji. *World Journal of Fish and Marine Science* 5(2), 209-213.
- Banerjee, G., & Ray, A. K. (2017). The advancement of probiotics research and its application in fish farming industries. *Research in Veterinary Science* 115(3), 66-77. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.01.016>.
- Baumann, P., Baumann, L., Bang, S. S., & Woolkalis, M. J. (1980). Reevaluation of the taxonomy of *Vibrio*, *Beneckea*, and *Photobacterium*: Abolition of the genus *Beneckea*. *Current Microbiology* 4(3), 127-132. <https://doi.org/10.1007/BF02602814>.
- 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 Fisheries and Aquatic Sciences* 20(12), 889-899. http://doi.org/10.4194/1303-2712-v20_12_05.
- Churchill, G. J. (2004). *An investigation into the captive spawning, egg characteristics and egg quality of the mud crab (Scylla serrata) in South*

- Africa* (Unpublished master's thesis). Rhodes University, Grahamstown, South Africa.
- Dan, S., & Hamasaki, K. (2015). Evaluation of the effects of probiotics in controlling bacterial necrosis symptoms in larvae of the mud crab *Scylla serrata* during mass seed production. *Aquaculture International* 23(1), 277-296. <http://dx.doi.org/10.1007/s10499-014-9815-1>.
- Dawood, M. A. O., Koshio, S., Abdel-Daim M. M., & Doan, H. V. (2019). Probiotic application for sustainable aquaculture. *Reviews in Aquaculture* 11(3), 907-924. <https://doi.org/10.1111/raq.12272>.
- Gullian, M., Thompson, F., & Rodríguez, J. (2004). Selection of probiotic bacteria and study of their immunostimulatory effect in *Penaeus vannamei*. *Aquaculture* 233(1-4), 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.09.013>.
- Gunarto, G., Alfiansah, Y. R., Muliani, M., Herlinah, H., Nurbaya, N., & Rosmiati, R. (2024). Determining the doses of probiotics for application in *Scylla tranquebarica* (Fabricius 1798) larvae to produce crablet. *Fisheries and Aquatic Sciences* 27(3), 180-194. <https://doi.org/10.47853/FAS.2024.e18>.
- Gunarto, G., Tampangalo, B. R., & Muliani, M. (2021). The application of erythromycin, elbayou, and Rica-1 probiotic in the rearing of *Scylla paramamosain* mud crab larvae development into the crablet stage. *Thalassas: An International Journal of Marine Sciences* 37(14), 465-475. <https://doi.org/10.1007/s41208-021-00327-y>.
- Liew, K. S., Yong, F. K. B., & Lim, L. S. (2024). An overview of the major constraints in *Scylla* mud crabs grow-out culture and its mitigation methods. *Aquaculture Studies* 24(1), AQUAST993. <http://doi.org/10.4194/AQUAST993>.
- Li, K. S., Zhang, Z., Li, B. C., Zhou, Z. L., Liu, H. W., Li, Y. Y., Zhang, L. Y., Zheng, P. H., & Wen, B. X. (2012). Molecular cloning and expression profiles of nitric oxide synthase (NOS) in mud crab *Scylla paramamosain*. *Fish and Shellfish Immunology* 32(4), 503-512. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2011.12.002>.
- Nguyen, B. V. (2019). Effect of *Lactobacillus acidophilus* on survival rate and metamorphosis of mud crab larvae (*Scylla paramamosain* Estampador, 1949). *Nha Trang University - Journal of Fisheries Science and Technology* 4, 3-10. <https://doi.org/10.53818/jfst.04.2019.383>.
- Nguyen, T. C., & Truong, T. Q. (2004). Effects of salinity and food on the development of crab embryos and larvae (*Scylla paramamosain*). In Nguyen, D. H., Nguyen, T. X. T., Tran, C. T. K., Nguyen, C., Nguyen, T. T. B., Le, M. D., Nguyen, T. C., Dao, T. V., Le, V., & Thai, C. N. (Eds.). *Collection of scientific and technological research works (1984-2004)* (215-220). Ho Chi Minh City, Vietnam: Ho Chi Minh City Agricultural Publisher.
- Nguyen, T. C., Truong, T. Q., Nguyen, D., Nguyen, T. T., Ha, K. V., & Do, P. V. (1998). Biological characteristics of reproduction and production process of crabs of the species *Scylla paramamosain* Estampardo 1949. In Nguyen, D. H., Nguyen, T. X. T., Tran, C. T. K., Nguyen, C., Nguyen, T. T. B., Le, M. D., Nguyen, T. C., Dao, T. V., Le, V., & Thai, C. N. (Eds.). *Collection of scientific and technological research works (1984-2004)* (227-266). Ho Chi Minh City, Vietnam: Ho Chi Minh City Agricultural Publisher.
- 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(3-4), 443-450. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.04.029>.
- Pedro, J. B., Quintio, E. T., & Parado-Esteva, F. D. (2007). Formalin as an alternative to trifluralin as prophylaxis against fungal infection in mud crab *Scylla serrata* (Forsskal) larvae. *Aquaculture Research* 38(14), 1554-1562. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2011.12.002>.

- org/10.1111/j.1365-2109.2007.01723.x.
- Poolsawat, L., Li, X., He, M., Ji, D., & Leng, X. (2020). *Clostridium butyricum* as probiotic for promoting growth performance, feed utilization, gut health and microbiota community of tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*). *Aquaculture Nutrition* 26(3), 657-670. <https://doi.org/10.1111/anu.13025>.
- Prado, S., Romalde, J. L., & Barja, J. L. (2010). Review of probiotics for use in bivalve hatcheries. *Veterinary Microbiology* 145(3-4), 187-197. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.08.021>.
- Ringø, E. (2020). Probiotics in shellfish aquaculture. *Aquaculture Fish* 5(1), 1-27. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2019.12.001>.
- Ringø, E., Doan, H. V., Lee, H. S., & Song, S. K. (2019). Lactic acid bacteria in shellfish: Possibilities and challenges. *Reviews in Fisheries Science and Aquaculture* 28(2), 139-169. <https://doi.org/10.1080/23308249.2019.1683151>.
- Ringø, E., Hoseinifar, S. H., Ghosh, K., Doan, H. V., Beck, B. R., & Song, S. K. (2018). Lactic acid bacteria in finfish - An update. *Frontiers in Microbiology* 9, 1818. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01818>.
- Seneriches-Abiera, M. L., Parado-Esteva, F., & Gonzales, G. A. (2007). Acute toxicity of nitrite to mud crab *Scylla serrata* (Forsskal) larvae. *Aquaculture Research* 38(14), 1495-1499. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01794.x>.
- Talib, A., Onn, K. K., Chowdury, M. A., Din, W. M. W., & Yahya, K. (2017). The beneficial effects of multispecies *Bacillus* as probiotics in enhancing culture performance for mud crab *Scylla paramamosain* larval culture. *Aquaculture International* 25(2), 849-866. <https://doi.org/10.1007/s10499-016-0070-5>.
- Talpur, A. D., Ikhwanuddin, M., Abdullah, M. D. D., & Bolong, A. M. A. (2013). Indigenous *Lactobacillus plantarum* as probiotic for larviculture of blue swimming crab, *Portunus pelagicus* (Linnaeus, 1758): Effects on survival, digestive enzyme activities and water quality. *Aquaculture* 416-417, 173-178. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.09.018>.
- Talpur, A. D., Memon, A. J., Khan, M. I., Ikhwanuddin, M., Danish Daniel, M. M., & Abol-Munafi, A. B. (2011). Supplementation of indigenous *Lactobacillus* bacteria in live prey and as water additive to Larviculture of *Portunus pelagicus* (Linnaeus, 1758). *Advance Journal of Food Science and Technology* 3(5), 390-398.
- Tran, H. N., & Le, V. Q. (2018). Study on the density reduction at different stages of rearing mud crab *Scylla paramamosain*. *CTU Journal of Science* 48, 42-48. <https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2017.615>.
- Tran, H. N., & Le, V. Q. (2017). The effect of replacing *Artemia* by formulated feed on growth, survival rate of mud crab larvae. *CTU Journal of Science* 49, 122-127. <https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2017.030>.
- Tran, H. N., & Nguyen, P. T. (2009). Current status of technical and economic efficiency of sea crab hatchery farmings in the Mekong Delta. *CTU Journal of Science* 12, 279-288.
- Tran, K. N. D. (2018). Effect of probiotic (*Bacillus subtilis*) on water quality, survival rate and digestive enzyme activities of mud crab larvae (*Scylla paramamosain*). *CTU Journal of Science* 54, 1-8. <https://doi.org/10.22144/ctu.jvi.2018.001>.
- Tran, N. M., Tran, X. A., & Tran, H. N. (2010). Nursery mud crab (*Scylla paramamosain*) larvae in two stages Zoea1 - Zoea5 and Zoea5 - Cua1 with different densities and feeding regimes. *Scientific Magazine of Can Tho University* 14b, 289-297.
- Tran, T. N., & Li, S. K. (2022). Potential role of prebiotics and probiotics in conferring health benefits in economically important crabs. *Fish and Shellfish Immunology Reports* 3, 100041. <https://doi.org/10.1016/j.fsirep.2021.100041>.
- Truong, N. T., Wille, M., Tran, B. C., Hoang, T. P., Nguyen, D. V., & Sorgeloos, P. (2007).

- Improved techniques for rearing mud crab *Scylla paramamosain* (Estampador 1949) larvae. *Aquaculture Research* 38(14), 1539-1553. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01814.x>.
- Vázquez, J. A., González, M. P., & Murado, M. A. (2005). Effects of lactic acid bacteria cultures on pathogenic microbiota from fish. *Aquaculture* 245(1-4), 149-161. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.12.008>.
- Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., & Verstraete, W. (2000). Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and Molecular 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>.
- Wu, Y. Q., Wang, Q. S., You, H. C., & Li, Y. Y. (2016). Immune response of mud crab, *Scylla Paramamosain*, to bacterial Lipopolysaccharide. *Journal of The World Aquaculture Society* 47(6), 843-853. <https://doi.org/10.1111/jwas.12300>.
- Yang, H. Q., Lü, L. Y., Zhang, M., Gong, Y., Li, Z. Z., Tran, T. N., He, Y. Y., Zhu, H. C., Lu, S. Y., Zhang, L. Y., & Li, K. S. (2019). Lactic acid bacteria, *Enterococcus faecalis* Y17 and *Pediococcus pentosaceus* G11, improved growth performance, and immunity of mud crab (*Scylla paramamosain*). *Fish and Shellfish Immunology* 93, 135-143. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.07.050>.
- 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(7), 1164-1175. <http://dx.doi.org/10.1111/are.12061>.
- Zeng, S. C., & Li, J. S. (1992). Effects of temperature on survival and development of the larvae of *Scylla serrata*. *Shuichan Xuebao* 16, 213-221.
- Zhou, X. X., Wang, B. Y., & Li, F. W. (2009). Effect of probiotic on larvae shrimp (*Penaeus vannamei*) based on water quality, survival rate and digestive enzyme activities. *Aquaculture* 287(3-4), 349-353. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.10.046>.
- Zokaeifar, 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(4), 683-689. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.05.027>.