TRƯỜNG ĐẠI HỌC TÂY ĐÔ
KHOA SINH HỌC ỨNG DỤNG

LUẬN VĂN TỐT NGHIỆP ĐẠI HỌC
CHUYÊN NGÀNH NUÔI TRỒNG THỦY SẢN
MÃ SỐ: 304

ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ SỬ DỤNG CHẾ PHẨM SINH HỌC TRONG SẢN XUẤT GIỐNG TÔM CÀNG XANH THEO QUI TRÌNH NƯỚC XANH CẢI TIẾN

SV THỰC HIỆN
CHÂU HỐT SEN
MSSV: 06803033
LỚP: NTTS K1

Cần Thơ, 2010

TRƯỜNG ĐẠI HỌC TÂY ĐÔ
KHOA SINH HỌC ỨNG DỤNG

LUẬN VĂN TỐT NGHIỆP ĐẠI HỌC
CHUYÊN NGÀNH NUÔI TRỒNG THỦY SẢN
MÃ SỐ: 304

ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ SỬ DỤNG CHẾ PHẨM SINH HỌC TRONG SẢN XUẤT GIỐNG TÔM CÀNG XANH THEO QUI TRÌNH NƯỚC XANH CẢI TIẾN

CÁN BỘ HƯỚNG DẪN
Ths. NGUYỄN LÊ HOÀNG YẾN

SV THỰC HIỆN
CHÂU HỐT SEN
MSSV: 06803033
LỚP: NTTS K1

Cần Thơ, 2010

XÁC NHẬN CỦA HỘI ĐỒNG BẢO VỆ LUẬN VĂN TỐT NGHIỆP ĐẠI HỌC

Luận văn: Đánh giá hiệu quả sử dụng chế phẩm sinh học trong sản xuất giống tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*) theo qui trình nước xanh cải tiến.

Sinh viên thực hiện: CHÂU HỐT SEN

Lớp: Nuôi Trồng Thủy Sản K1

Đề tài đã được hoàn thành theo yêu cầu của cán bộ hướng dẫn và hội đồng bảo vệ luận văn đại học Khoa Sinh học ứng dụng - Đại học Tây Đô.

Cần Thơ, ngày 22 tháng 07 năm 2010

Cán bộ hướng dẫn **Sinh viên thực hiện**

Châu Hốt Sen

Ths. Nguyễn Lê Hoàng Yến

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG

…….....

CHƯƠNG 1 ĐẶT VẤN ĐỀ

1.1 Giới thiệu

Đồng Bằng Sông Cửu Long (ĐBSCL) là nơi có tiềm năng rất lớn cho nuôi trồng thủy sản nước ngọt, trong đó diện tích nuôi tôm càng xanh (TCX) tại các tỉnh (ĐBCL) đã tăng nhanh trong những năm gần đây và hiện đạt gần 5.000 ha, tăng gấp 10 lần so với thời điểm 5 năm trước đây (TTXVN, 11/1/2008). Diện tích tăng nhanh nhờ chủ động được nguồn con giống với kỹ thuật sinh sản nhân tạo nhưng vẫn chưa đáp ứng được nhu cầu về số lượng con giống cũng như chất lượng. Hiện nay do nhu cầu phát triển nguồn lợi thủy sản đặc biệt là nghề nuôi TCX đang trên đà phát triển mạnh nên nhu cầu về con giống cũng tăng. Do đó việc sản xuất giống tôm càng xanh nhân tạo chất lượng là yếu tố cần thiết và phù hợp với nhu cầu nuôi TCX hiện nay.

Trong vài năm gần đây việc sản xuất giống TCX theo qui trình nước xanh cải tiến đã được áp dụng phổ biến nhưng hiện nay việc quản lý môi trường còn gặp khó khăn do hàm lượng đạm trong nước tăng rất cao làm ảnh hưởng đến tỉ lệ sống của ấu trùng và hiệu quả sản xuất. Do đó, việc sử dụng chế phẩm sinh học nhằm để duy trì chất lượng nước cho bể ương và đạt được hiệu quả cao là vấn đề cần giải quyết trong sản xuất giống tôm càng xanh ở ĐBSCL.

Hiện nay việc sử dụng chế phẩm sinh học (CPSH hay men vi sinh), trong nuôi trồng thủy sản là hướng đi có ý nghĩa thực tiễn về khía cạnh bảo vệ môi trường và đảm bảo hiệu quả sản xuất, từ đó góp phần đưa nghề nuôi thủy sản phát triển bền vững. Tuy nhiên việc sử dụng CPSH trong ương ấu trùng tôm càng xanh đến nay vẫn chưa được quan tâm nghiên cứu nhiều nên việc sử dụng CPSH trong các trại giống tôm càng xanh ở ĐBSCL còn rất hạn chế. Theo nghiên cứu của Lê Đình Duẩn và *ctv*, (2007), việc nuôi thử nghiệm tôm sú bằng chế phẩm sinh học cho kết quả rất khả quan, các chế phẩm không những làm tăng khả năng phân giải các chất hữu cơ, làm sạch và ổn định môi trường nước mà còn tăng năng suất gấp 2 lần so với nghiệm thức đối chứng. Vì vậy, đề tài "**Đánh giá hiệu quả sử dụng chế phẩm sinh học trong sản xuất giống tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*) theo qui trình nước xanh cải tiến**" được thực hiện

1.2 Mục tiêu của đề tài

Đánh giá hiệu quả sử dụng chế phẩm sinh học trong quản lý môi trường bể ương, nhằm góp phần từng bước hoàn thiện qui trình sản xuất giống TCX đạt hiệu quả cao và đưa vào thực tiễn sản xuất.

1.3 Nội dung của đề tài

Đánh giá hiệu quả sử dụng từng loại chế phẩm sinh học trong sản xuất giống tôm càng xanh đến tỷ lệ sống và tăng trưởng của ấu trùng theo qui trình nước xanh cải tiến.

CHƯƠNG 2 LƯỢC KHẢO TÀI LIỆU

2.1 Sơ lược về đặc điểm sinh học của tôm càng xanh

2.1.1 Vị trí phân loại

Theo Đặng Ngọc Thanh *và csv* (2001), tôm càng xanh có vị trí phân loại như sau:

Ngành: ARTHOROPODA

Lớp: CRUSTACAE

Bộ: DECAPODA

Phân bộ: CARIDEA

Họ: PALAEMONIDAE

Giống: Macrobrachium

Loài: *Macrobrachium rosenbergii* De Man 1879.

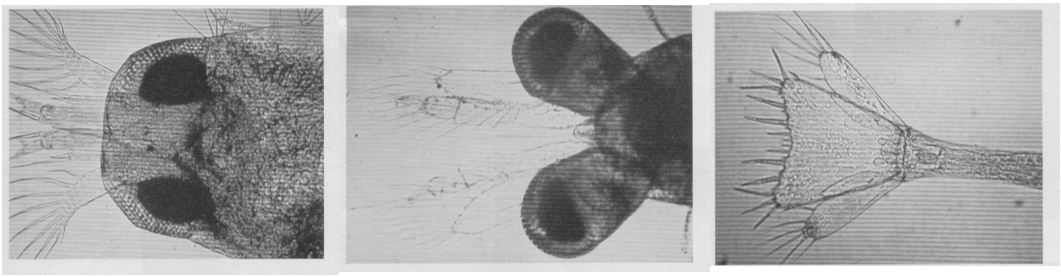
2.1.2 Phân bố

Ở Việt Nam chúng phân bố tự nhiên vùng nước ngọt và lợ (độ mặn 6 – 20‰) phía Nam từ Nha Trang trở vào tới Đồng Bằng Nam Bộ; Trên thế giới, chúng phân bố tự nhiên vùng Ấn Độ, Tây Thái Bình Dương và từ Ấn Độ đến Đông Dương, Philippine, New Guinea, Bắc Autralia (Đặng Ngọc Thanh *và csv*, 2001).

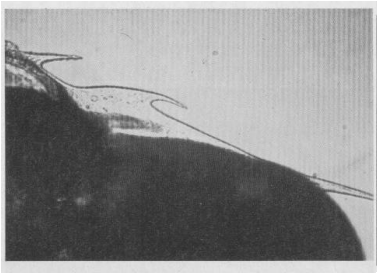
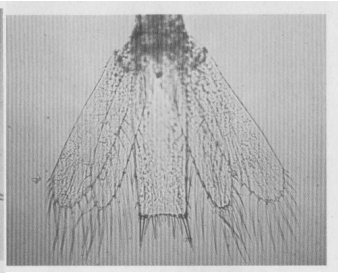
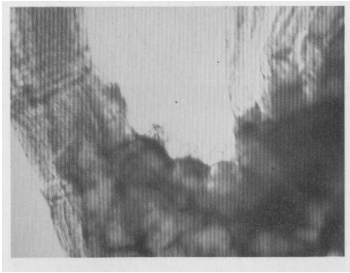
2.1.3 Vòng đời tôm càng xanh

Vòng đời tôm càng xanh có 4 giai đoạn bao gồm trứng, ấu trùng, hậu ấu trùng và tôm trưởng thành (Nguyễn Thanh Phương *và csv*, 2003; Nandlal *và csv*, 2005). Thời gian và tốc độ tăng trưởng ở mỗi giai đoạn chịu ảnh hưởng bởi môi trường, đặc biệt là nhiệt độ nước và thức ăn (Nandlal *et. al*, 2005). Tôm càng xanh trưởng thành sống chủ yếu ở nước ngọt. Khi thành thục tôm bắt cặp, để trứng dính vào các chân bụng của tôm mẹ, tôm mẹ ôm trứng di cư ra vùng cửa sông nước lợ (6 – 18‰) để nở. Theo Nandlal *et. al* (2005). Ấu trùng nở ra sống phù du và trải qua 11 lần biến thái để trở thành hậu ấu trùng (postlarvae), (xem hình 1 và bảng 1). Postlarvae có xu hướng tiến vào vùng nước ngọt như sông rạch, ruộng, ao hồ…, ở đó chúng sống và lớn lên, khi trưởng thành chúng lại di cư ra vùng nước lợ nơi có độ mặn thích hợp để sinh sản và vòng đời tiếp tục (Nguyễn Thanh Phương *và csv*, 2003).

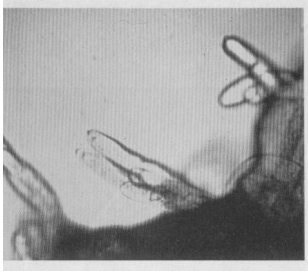
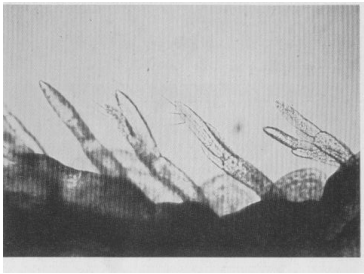
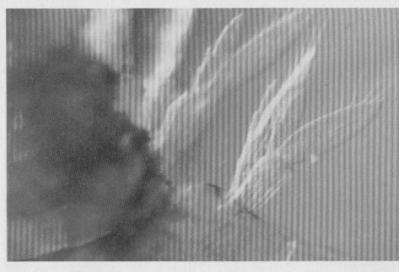
Hình 2.1: Các giai đoạn phát triển của ấu trùng tôm càng xanh (Nguồn: Takuji Fujimura, trích bởi Nandlal *et. al* 2005)



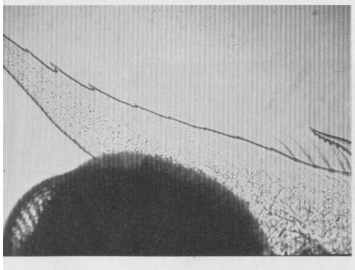
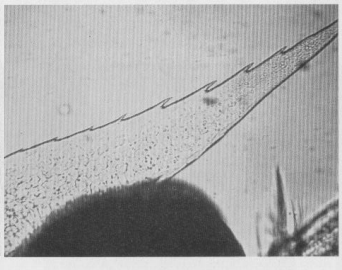
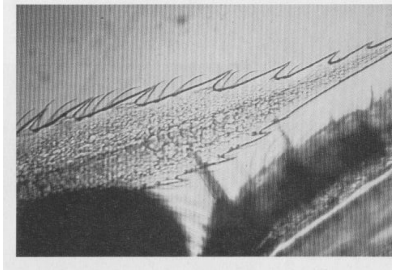
Giai đoạn 1 Giai đoạn 2 Giai đoạn 3

Giai đoạn 4 Giai đoạn 5 Giai đoạn 6

Giai đoạn 7 Giai đoạn 8 Giai đoạn 9

Giai đoạn 10 Giai đoạn 11 Tôm bột (Postlarvae)

Bảng 2.1: Đặc điểm các giai đoạn ấu trùng của tôm càng xanh (Uno và Soo, 1969, trích dẫn bởi Nguyễn Thanh Phương *và csv*, 2003).

Giai đoạn ấu trùng	**Ngày tuổi**	**Đặc điểm nhận dạng**
I	1	Không có cuống mắt
II	2	Có cuống mắt
III	3 – 4	Có sự hiện diện của Uropods
IV	4 – 6	Có 2 gai ở lưng

V	5 – 8	Các telson hẹp và có hình thon dài
VI	7 – 10	Có sự hiện diện của các núm chân bụng
VII	11 – 17	Các chân bụng chẻ đôi
VIII	13 – 20	Các chân bụng có các tơ cứng
IX	15 – 22	Nhánh chân trong của chân bụng xuất hiện
X	17 – 23	Có 3 – 4 răng trên chủy
XI	23 – 35	Xuất hiện răng dưới chủy
PL	23 – 35	Có tập tính giống tôm trưởng thành

2.1.4 Sức sinh sản tôm càng xanh

Tôm càng xanh thành thục lần đầu từ 15 – 35g trong vòng 4 – 6 tháng. Khi thành thục, tôm bắt cặp, đẻ trứng và trứng dính vào 4 cặp chân bụng đầu của tôm mẹ. Tôm mẹ ôm trứng di cư ra vùng cửa sông nước lợ (6-18‰) để trứng nở (Nguyễn Thanh Phương *và csv*, 2003).

Theo Nguyễn Thanh Phương *và csv*, (2003) sau khi giao vỹ và đẻ trứng, phải mất 17 – 23 ngày trứng tôm mới phát triển đầy đủ, trứng phát triển tốt ở nhiệt độ nước 28 – 30°C. Trong thời gian này, các chân bơi của tôm mẹ hoạt động liên tục. Những quả trứng ban đầu có dạng elip và màu cam tươi sáng, sau đó chuyển sang màu nâu sậm và vài ngày sau thì trứng nở. Lượng trứng trên tôm mẹ phụ thuộc vào kích cỡ và dao động từ 3.000 đến 80.000 trứng/tôm mẹ.

2.1.5 Đặc điểm sinh trưởng và yêu cầu môi trường sống.

2.1.5.1 Đặc điểm sinh trưởng

Trong quá trình lớn lên, tôm trải qua nhiều lần lột xác. Chu kỳ lột xác của tôm tùy thuộc vào nhiều yếu tố như kích cỡ của tôm, nhiệt độ, thức ăn, giới tính và điều kiện sinh lý của chúng. Tôm nhỏ có tốc độ tăng trưởng nhanh hơn tôm lớn và tôm đực lớn nhanh hơn tôm cái. (Nguyễn Thanh Phương *và csv*, 2003).

2.1.5.2 Nhu cầu dinh dưỡng

TCX ăn tạp thiên về động vật như nguyên sinh động vật, giun nhiều tơ, giáp xác côn trùng, nhuyễn thể, các mảnh cá vụn...

Nhu cầu chất đạm: tôm giống khoảng 27 – 35% và tôm bố mẹ khoảng 40 – 45%.

Nhu cầu chất béo : hàm lượng lipid thích hợp cho tôm khoảng 6 – 7,5%

Nhu cầu chất bột đường: khoảng 40%

Nhu cầu vitamin và khoáng: Vitamin C khoảng 200 – 500 mg/kg thức ăn. Các chất khoáng cần thiết như Canxi, Phosphorus... (Nguyễn Thanh Phương *và csv*, 2003).

2.1.5.3 Yêu cầu môi trường sống

Bảng 2.2: Điều kiện môi trường thích hợp cho sự phát triển ấu trùng tôm càng xanh (Boyd *et. al* 2000).

Các chỉ tiêu môi trường	Phạm vi thích hợp	Phạm vi gây chết (L) hoặc gây sốc (S) cho ấu trùng
Nhiệt độ (^oC)	28 – 31	< 12 (L) < 19 (S) > 35 (L)
pH	7,0 – 8,5	> 9,5 (S)
DO (ppm)	3 – 7	2 (S) 1 (L)
Độ mặn (‰)	< 12	-
Độ trong (cm)	25 – 40	-
Độ kiềm (ppm)	20 – 60	-
Độ cứng tổng cộng (ppm)	30 – 150	-
NH_3 – N (ppm)	< 0,3	> 0,5 ở pH 9,5 (S) > 1,0 ở pH 9,0 (S) > 2,0 ở pH 8,5 (S)
NO_2 – N (ppm)	< 2,0	-
NO_3 – N (ppm)	< 10	-

2.2 Tình hình sản xuất giống tôm càng xanh trong và ngoài nước

Tôm càng xanh là đối tượng nuôi quan trọng của nhiều nước trên thế giới với nhiều hình thức nuôi khác nhau. Tuy nhiên, hình thức nuôi thâm canh khá phổ biến, năng suất trung bình từ 900 – 4.500 kg/ha/năm (New, 1995)

Bảng 2.3: Năm nước dẫn đầu về sản lượng tôm nước ngọt năm 2001, (Fao, 2003)

STT	Quốc gia	Sản lượng (Tấn)	Ghi chú
1	Trung Quốc	128.338	
2	Việt Nam	28.000	Chủ yếu là tôm càng xanh
3	Ấn Độ	24.230	
4	Thái Lan	12.067	
5	Bangladesh	7.000	

Lịch sử nghề nuôi được bắt đầu từ năm 1962 khi Ling lần đầu tiên thành công trong ương nuôi và mô tả các giai đoạn phát triển của ấu trùng TCX. Từ đó tình hình tôm càng xanh phát triển và đã có 4 qui trình được áp dụng rộng rãi: nước trong hở do Ling (1969), và Aquacop (1977) đề xuất. Nước trong kín được Sandifer (1977), Menasveta (1980) và Singholka (1982) nghiên cứu thành công. Nước xanh bắt đầu nghiên cứu bởi Fujimura (1966), nước xanh cải tiến được Ang đề xuất từ năm 1986. (Trích dẫn bởi Cù Văn Thành, 2009).

Theo Nguyễn Việt Thắng (1993), khi thí nghiệm trên 3 qui trình, quy trình nước xanh, nước trong hở, nước trong kín, kết quả tỉ lệ sống ấu trùng lần lượt đạt như sau, 40%, 35% và 38,8% (trích dẫn bởi Trần Thị Thanh Hiền, 2003).

Theo Singholka (1982), trước đây quy trình "nước xanh" được sử dụng phổ biến ở Thái Lan để ương ấu trùng tôm càng xanh, nhưng đến những năm đầu thập niên 80, các trại sản xuất giống đã chuyển sang sử dụng quy trình "nước trong" và nâng tổng sản lượng cả nước là 85,8 triệu Postlarvae vào năm 1982.

Nuôi TCX là nghề nuôi truyền thống ở Việt Nam, đặc biệt là vùng ĐBSCL. Việc nghiên cứu sản xuất giống bắt đầu trừ những năm đầu thập niên 80 với qui trình nước trong hở và tuần hoàn (Nguyễn Thanh Phương và Trần Ngọc Hải, 2004). Trại sản xuất giống đầu tiên tại Vũng Tàu do Tổ chức Nông Lương Quốc tế (FAO) đầu tư xây dựng nhưng chưa hoàn thành. Năm 1987 Chính phủ Úc thông qua Ủy ban Quốc tế sông Mê-Kông đã tài trợ khôi phục đã hoàn thành trại tôm Vũng Tàu (trích dẫn bởi Trần Thị Cẩm Hồng, 2008). Năm 1998 Viện Hải Sản – Khoa Nông Nghiện - Trường Đại Học Cần Thơ đã tiến hành các nghiên cứu ương ấu trùng TCX ứng dụng mô hình "nước xanh cải tiến" bước đầu cho kết quả tốt và triển khai ở một số tỉnh ĐBSCL (Nguyễn Thanh Phương và Trần Ngọc Hải, 2004).

Thực tế cho thấy sự phát triển về số lượng trại giống và sản lượng tôm càng xanh giống ở ĐBSCL trong thời gian gần đây chủ yếu từ qui trình nước xanh cải tiến. Năm 2002, cả nước có 54 cơ sở sinh sản nhân tạo TCX với sản lượng 115 triệu tôm giống, trong đó các tỉnh ĐBSCL có 49 cơ sở, sản xuất 76 triệu tôm giống. Đến năm 2003, ĐBSCL đã có 70 trại sản xuất giống TCX và sản xuất khoảng 92 triệu TCX giống. Tỉnh Cần Thơ (cũ), sản xuất được 40 triệu con, An Giang sản xuất được 13 triệu con giống, Hải Phòng 15 triệu con, Ninh Bình 7 triệu con (Bộ thủy sản, 2003). Theo Lê Xuân Sinh (2006), khi khảo sát 31 trại sản xuất giống ở ĐBSCL tập trung ở các tỉnh Cần Thơ, Đồng Tháp, Hậu Giang, An Giang, Bến Tre, Trà Vinh, Vĩnh Long trong sản xuất giống tôm càng xanh ở ĐBSCL, có 21 trại sản xuất với qui trình nước xanh cải tiến (67,7%) và 10 trại sản xuất với các quy trình khác như nước trong, nước trong hở (32,3%). Tuy nhiên, do tỉ suất lợi nhuận mang lại từ qui trình nước xanh cải tiến thấp (0,6) so với các quy trình khác là (1,2), nên để nâng cao lợi nhuận, nhiều trại sản xuất đang chuyển sang áp dụng qui trình nước trong hở hay các quy trình kết hợp khác (Lê Xuân Sinh, 2008).

2.3 Một số vấn đề liên quan đến ứng dụng vi sinh trong nuôi trồng thủy sản

2.3.1 Sơ lược về chế phẩm sinh học

Chế phẩm sinh học là sản phẩm có nguồn gốc sinh vật, kể cả vi sinh vật, các thực liệu lấy từ nấm, vi khuẩn, virus và các nguyên sinh động vật, các độc tố có nguồn gốc động vật hoặc thực vật, với mục đích để chẩn đoán, phòng bệnh, chữa bệnh, tăng sức đề kháng và tình trạng sức khỏe cho vật nuôi thủy sản, hoặc cải thiện chất lượng nước nuôi trồng thủy sản (Bộ Thủy sản, 2002).

Sử dụng chế phẩm sinh học trong qui trình nuôi thủy sản được xem là một tiến bộ khoa học - kỹ thuật, có ý nghĩa sâu xa là tạo ra sự an toàn về môi trường cũng như trong thực phẩm cho người tiêu dùng, nhằm giúp cho nghề nuôi tôm, cá phát triển ổn định và bền vững. Do đó việc cải thiện chất lượng nước bằng CPSH để phòng bệnh cho tôm cá là một việc làm thiết thực cần được khuyến cáo để áp dụng trong thời gian

tới nhằm giúp cho các sản phẩm thủy sản đạt tiêu chuẩn an toàn vệ sinh thực phẩm theo mục tiêu của ngành thủy sản đã đề ra (TT NCKH nông vận, 09/01/2009).

Các lợi ích mang lại khi sử dụng chế phẩm sinh học gồm nhiều điểm sau đây: làm ổn định chất lượng nước, nâng cao sức khoẻ và sức đề kháng của tôm. Giảm thiểu ô nhiễm môi trường, nâng cao hiệu quả sử dụng thức ăn. Làm tăng hiệu quả sử dụng thức ăn, tôm mau lớn, rút ngắn thời gian ương, tăng tỉ lệ sống, giảm chi phí thay nước, giảm chi phí sử dụng thuốc kháng sinh và hóa chất trong việc điều trị bệnh (Nguyễn Thành Phước, 2007).

Theo FAO (2000) đã xác nhận việc sử dụng vi sinh vật hữu ích là một trong những phương pháp chính để cải thiện chất lượng nuôi trồng thủy sản (Trích dẫn bởi Nguyễn Hoàng trong 2009).

Cải thiện chất lượng nước là một trong những vai trò quan trọng của vi sinh vật hữu ích trong nuôi trồng thủy sản. Vì thế, Verschuere (2000), đã nghiên cứu và công bố vi khuẩn *Bacillus* sp đóng vai trò quan trọng trong việc cải tiến chất lượng nước, do vi khuẩn *Bacillus* sp đạt hiệu quả cao trong việc chuyển đổi vật chất hữu cơ và các chất hòa tan. Những lợi ích của các chất bổ sung gồm việc cải thiện dinh dưỡng thức ăn, bổ sung enzym tiêu hóa, ức chế vi sinh vật gây bệnh, hoạt hóa chất gây đột biến, các yếu tố kích thích tăng trưởng, và tăng cường đáp ứng miễn dịch (Trích dẫn bởi Cù Văn Thành, 2009).

Về hình thức, men vi sinh có 2 dạng, dạng nước và dạng bột (hay dạng viên). Thông thường, dạng bột có mật số vi khuẩn có lợi cao hơn so với dạng nước. Về chủng loại, men vi sinh có 2 loại, loại dùng để xử lý môi trường (loài vi khuẩn chủ yếu là *Bacillus* sp) và loại trộn vào thức ăn cho tôm cá (loài vi khuẩn chủ yếu là *Lactobacillus*).

2.3.2 Cơ chế tác động của vi sinh vật trong môi trường nước và trong đường ruột.

Sử dụng probiotic trong nuôi trồng thủy sản sẽ hạn chế sử dụng một lượng lớn chất kháng sinh, vì vi sinh vật cạnh tranh mạnh mẽ chất dinh dưỡng, năng lượng và nơi bám với các loài vi khuẩn có hại và tảo độc. Chuyển hóa các chất hữu cơ như thức ăn dư thừa, xác tảo, cặn bã thành CO_2 và nước; chuyển các chất độc hại như NH_3, NO_2^- thành các chất không độc như NO_3^-, NH_4^+. Hạn chế vi khuẩn có hại trong đường ruột và giúp chuyển hóa hiệu quả thức ăn. Tiết ra một số chất kháng sinh, enzyme hay hóa chất để kìm hãm hay tiêu diệt mầm bệnh và tảo độc (TT NCKH nông vận, 2009).

2.3.3 Tình hình sử dụng chế phẩm sinh học trong nuôi trồng thủy sản

Ở nước ta, việc ứng dụng vi sinh còn khá mới mẻ nhưng xu hướng phát triển ngày càng nhanh với nhiều loại chế phẩm sinh học ra đời có nguồn gốc trong và ngoài nước. Tính đến tháng 6/2005, hiện có trên 200 thương hiệu chế phẩm sinh học và vitamin đang bán trên thị trường nước ta (Tăng Thị Chính *và csv*, 2005). Hiện nay, các mô hình nuôi tôm ứng dụng chế phẩm sinh học phát triển khá phổ biến ở ĐBSCL. Nguyễn Thị Đẹp (2001), kết hợp tảo và CPSH cho hiệu quả cao đến 94% trong sản xuất giống TCX. Ở Đồng Tháp, việc sử dụng men Eco-tab trong sản xuất giống TCX mô hình nước trong đang được ứng dụng và tỉ lệ sống trên 30% (Trần Thị Cẩm Hồng, 2008). Đặng Thị Hoàng Oanh và *csv*, (2000), đã tìm hiểu tác dụng của men vi sinh Bio-Dream lên các yếu tố vô sinh và hữu sinh trong ương ấu trùng TCX. Theo nghiên

cứu của Dương Thị Diệu Hiền (2000), dùng chế phẩm sinh học CP. Bio-Dream để đánh giá tỷ lệ chết của ấu trùng, với tỷ lệ chết 4% trong 5 ngày còn các nghiệm thức khác không sử dụng CPSH chết đến 40%. Mới đây nhất là đề tài nghiên cứu sử dụng men Eco-tab trong ương ấu trùng TCX qui trình nước trong, đạt tỷ lệ sống trên 39% (Trần Thị Cẩm Hồng, 2008).

CHƯƠNG 3 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

3.1 Địa điểm – thời gian

3.1.1 Địa điểm

Trại sản xuất giống $60^N/3$ khu vực II - P.An khánh - Q.Ninh kiều - Thành phố cần thơ

3.1.2 Thời gian

Từ ngày 12 tháng 03 năm 2009 đến ngày 31 tháng 07 năm 2010

3.2 Vật liệu nghiên cứu

- Hệ thống bể: Bể ương 500L, gồm 12 bể, bể chứa nước ót, bể cho tôm nở, bể ấp Artemia
- Ống dẫn khí, van, đá bọt, túi lọc vải 1µm
- Máy đo độ mặn (khúc xạ kế), nhiệt kế, kính hiển vi, lame, lamel
- Cân, nồi, bếp gas, vợt, ống nhỏ giọt, cốc thủy tinh 50 ml
- Bộ test kit đo NO_2^-, NO_3^-, NH_3 /NH_4^+, pH của Đức
- Hóa chất: Chlorine 70% , formaline 38%, Thiosulphatnatri, môi trường NA^+, TCBS kiểm tra vi khuẩn tổng và *Vibrio*
- Chế phẩm sinh học :
    - **Chế phẩm A: Deocare®A** dạng bột, thành phần chất chiết xuất từ cây *Yucca schidigera,* Vi khuẩn *Bacillus subtilis* $9x10^7$ CFU/g, vi khuẩn *Bacillus licheniformis* $2.5x10^9$ CFU/g. (Công ty Bayer)
    - **Chế phẩm B: Zimovac** dạng viên, thành phần gồm Vi khuẩn *Lactobacillus* spp $2,8x10^{12}$ CFU/g, *Bacillus* spp $4,9x10^{12}$ CFU/g, *Nitrosomonas* $1,3x10^{10}$ CFU/g, *Nitrobacter* $1,0x10^{10}$ CFU/g. (Công ty Vemedim)
    - **Chế phẩm sinh học C: EP – 01** dạng nước, thành phần gồm vi khuẩn *Bacillus mensentericus, Bacillus subtillis, Bacillus liceneformis, Lactobacillus acidophilus, Nitrosomonas sp, Nitrobacter sp, Aspergilus oryzae, Sacharomyces cerevisiae* và khoáng đa vi lượng ($9x10^8$ CFU/mL). (Công ty Minh Thuận)
- Một số dụng cụ và trang thiết bị phân tích vi khuẩn tổng cộng và vi khuẩn *Vibrio trong* phòng thí nghiệm Thủy sản – Hóa sinh – Đại học Tây Đô

3.3 Phương pháp nghiên cứu

Thí nghiệm ương nuôi ấu trùng TCX có bổ sung chế phẩm sinh học được tiến hành trong thực nghiệm.

3.3.1 Chuẩn bị thí nghiệm

Vệ sinh bể: trước khi bố trí thí nghiệm bể được rửa bằng nước sạch và khử trùng bằng chlorine 200ppm.

Nguồn nước: nước ót có độ mặn từ 80‰ – 100‰ được lấy từ ruộng muối, huyện Vĩnh Châu, tỉnh Sóc Trăng, được lọc qua túi lọc vải 1µm và xử lý bằng Chlorine 60ppm (tính trên chlorine nguyên chất), sục khí cho hết chlorine trước khi sử dụng. Nước lợ 12‰ được pha từ nước ót, với nước máy thành phố.

Tôm mẹ và cho nở: tôm trứng được chọn từ những vựa thu tôm tự nhiên, chọn những con khỏe mạnh, không thương tích, không có dấu hiệu bệnh, có trong lượng từ 30 – 80g/con và trứng có màu nâu sậm được xử lý bằng formol 20ppm trong 30 phút sau đó đưa vào bể nở 12 ‰ mật độ 10con/100L

Thu và định lượng ấu trùng: ấu trùng được thu bằng cách dùng tấm vải đen che kín bể lại chừa một chỗ sáng cho ấu trùng tập trung và siphon thu lấy ấu trùng. Ấu trùng sau khi thu xong được tắm qua formol 200ppm trong 30 giây và tiến hành định lượng. Ấu trùng được thu ngẫu nhiên 3 lần, mỗi lần 20mL bằng cốc thủy tinh, đếm 3 lần để lấy trung bình. Sau khi định lượng, ấu trùng được bố trí vào bể ương với mật độ 60con/L.

Gây nuôi tảo: chọn cá rô phi có kích cỡ trung bình 30 – 50g /con được thả nuôi trong bể với mật độ 2kg/m^3. Nước có độ mặn ban đầu 5 - 6‰, sau đó tăng lên 10 - 12‰. Bể được đặt trong trại với mái che nhựa phải đảm bảo ánh sáng. Cá được cho ăn hàng ngày bằng thức ăn viên với tỷ lệ 5% trọng lượng thân, Sau thời gian 7 – 10 ngày, nước bể có màu xanh tảo lục mà đa số (90%) là tảo *Chlorella.* Mật độ tảo có thể đạt 5 triệu tế bào/mL, lúc này có thể dùng tảo để cấy vào bể ương

3.3.2 Bố trí thí nghiệm

Ấu trùng được bố trí vào bể có thể tích 500L với mật độ 60 con/L.

Thí nghiệm gồm 4 nghiệm thức được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặ lại, mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần.

Bảng 3.1: Cách bố trí thí nghiệm

Nghiệm thức	Liều lượng	Ghi chú
1	Không dùng	Đối chứng
2	10g/m^3	Chế phẩm sinh học Deocare®A
3	2 g/m^3	Chế phẩm sinh học Zimovac
4	10mL/m^3	Chế phẩm sinh học EP-01

3.3.3 Chăm sóc – cho ăn

Bảng 3.2: Công thức thức ăn chế biến cho ấu trùng tôm càng xanh

Thành phần	Lượng
Trứng gà	1 trứng
Sữa bột giàu canxi	10 g
Dầu mực	3 % (trọng lượng thức ăn)

Lecithin	1,5 % (trọng lượng thức ăn)
Vitamin C	100 – 500 mg/kg

Nguồn: Nguyễn Thanh Phương và csv. (2003)

Thức ăn chế biến được cho ăn thật kỹ, cho ăn theo nhu cầu của ấu trùng

Bảng 3.3: Chế độ chăm sóc và cho ấu trùng tôm càng xanh ăn

Giai đoạn ấu trùng	**Loại thức ăn**	**Lượng thức ăn**	**Số lần cho ăn**
Ngày thứ nhất	không	không	không
Giai đoạn 2 – 4	Ấu trùng *Artemia*	1 – 2 ấu trùng *Artemia*/ml nước ương	2 lần/ngày (sáng 6h, tối 18h)
Giai đoạn 4 – 5	Thức ăn chế biến kích cỡ 400 µm	Theo nhu cầu của ấu trùng	3 lần/ngày (8h, 12h, 15h)
	Ấu trùng *Artemia*	2 – 4 ấu trùng *Artemia*/ml nước ương	1 lần/ngày (17 h)
Giai đoạn 6 – 8	Thức ăn chế biến kích cỡ 600 µm	Theo nhu cầu của ấu trùng	3 lần/ngày (8h, 12h, 15h)
	Ấu trùng *Artemia*	2 – 4 ấu trùng *Artemia*/ml nước ương	1 lần/ngày (17h)
Giai đoạn 9 – 11	Thức ăn chế biến kích cỡ 800 µm	Theo nhu cầu của ấu trùng	3 lần/ngày (8h, 12h, 15h)
	Ấu trùng *Artemia*	2 – 4 ấu trùng *Artemia*/ml nước ương	1 lần/ngày (17h)

3.3.4 Theo dõi các yếu tố môi trường

Chu kỳ bổ sung chế phẩm sinh học: trước khi bố trí, ngày ương thứ 5, ngày ương thứ 8 và từ ngày ương thứ 8 trở đi sử dụng 3 ngày/lần.

Bảng 3.4: Các yếu tố môi trường được theo dõi như sau:

Chỉ tiêu	**Nhịp thu mẫu**	**Thời gian thu mẫu**	**Phương pháp phân tích**
Độ mặn:	12‰	Được duy trì suốt chu kỳ ương	Khúc xạ kế
Nhiệt	Đo 2 lần	Mỗi ngày 7 giờ và 14 giờ	Nhiệt kế

độ:			
pH:	Đo 2 lần	Mỗi ngày 7 giờ và 14 giờ	Test - Sera
Vi sinh	Trước khi bố trí thí nghiệm	Trước khi bổ sung CPSH (7 giờ 30)	Phân tích PTN
	Ngày thứ 9	Sau khi bổ sung CPSH 24 giờ (7 giờ 30)	Phân tích PTN
	Từ ngày thứ 9 trở đi thu định kì 7 ngày/lần	Sau khi bổ sung CPSH 24 giờ (7 giờ 30)	Phân tích PTN
TAN	Trước khi bố trí thí nghiệm	- Trước khi bổ sung CPSH (7 giờ 30) - Sau khi bổ sung CPSH 24 giờ (7 giờ 30)	Test - Sera
	Ngày thứ 9	- Trước khi bổ sung CPSH (7 giờ 30) - Sau khi bổ sung CPSH 24 giờ (7 giờ 30)	Test - Sera
	Từ ngày thứ 9 trở đi thu định kì 7 ngày/2lần	- Trước khi bổ sung CPSH (7 giờ 30) - Sau khi bổ sung CPSH 24 giờ (7 giờ 30)	Test - Sera
$N\text{-}NO_2^-$	Trước khi bố trí thí nghiệm	- Trước khi bổ sung CPSH (7 giờ 30) - Sau khi bổ sung CPSH 24 giờ (7 giờ 30)	Test - Sera
	Ngày thứ 9	- Trước khi bổ sung CPSH (7 giờ 30) - Sau khi bổ sung CPSH 24 giờ (7 giờ 30)	Test - Sera
	Từ ngày thứ 9 trở đi thu định kì 7 ngày/2lần	- Trước khi bổ sung CPSH (7 giờ 30) - Sau khi bổ sung CPSH 24 giờ (7 giờ 30)	Test - Sera

3.3.5 Hàng ngày theo dõi hoạt động của ấu trùng như sau

- Quan sát sự biến thái (LSI) của ấu trùng 3 ngày/lần. Số lượng mẫu là 30 con

$$LSI = \Sigma(A_i)/i$$

Trong đó :

LSI : Là chỉ số biến thái (% giai đoạn ấu trùng tồn tại ở thời điểm thu mẫu quan sát)

A_i : Giai đoạn của ấu trùng thứ i

- Đo chiều dài của ấu trùng 3 ngày/lần. Số lượng mẫu là 30 con

$$L = \Sigma(L_i)/i$$

Trong đó :

L : Là chiều dài của ấu trùng (mm)

L_i : Là chiều dài của ấu trùng thứ i (từ mút chủy đến mút đốt đuôi)

3.3.6 Thu và phân tích mẫu vi khuẩn

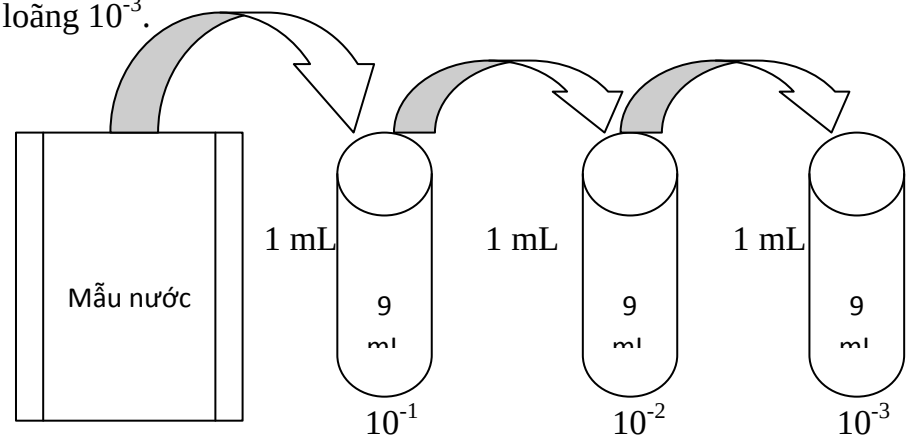
3.3.6.1 Phương pháp thu mẫu

Mẫu nước được thu bằng ống nghiệm được tuyệt trùng, cách mặt nước 20 – 30cm. Sau khi sử dụng CPSH 24 giờ. Dùng phương pháp pha loãng và cấy trên môi trường agar NA^+ và TCBS để xác định mật độ vi khuẩn tổng cộng và vi khuẩn *Vibrio* spp

3.3.6.2 Phương pháp xác định mật độ vi khuẩn

Chuẩn bị các ống nghiệm chứa 9mL nước muối sinh lý (0,85%) tiệt trùng (121^0C trong 15 – 20 phút) để pha loãng mẫu.

Dùng pipet hút 1 mL mẫu nước cho vào ống nghiệm 1 chứa 9 mL nước muối sinh lý đã tiệt trùng, trộn đề bằng máy. Sau đó được mẫu có độ pha loãng 10^{-1}. Từ mẫu này dùng pipet hút 1 mL dung dịch cho vào ống nghiệm thứ 2 chứa 9 mL nước muối sinh lý tiệt trùng, ta được độ pha loãng 10^{-2}. Tiếp tục từ mẫu này dùng pipet hút 1 mL dung dịch cho vào ống nghiệm thứ 3 chứa 9 mL nước muối sinh lý tiệt trùng, ta được độ pha loãng 10^{-3}.



Sau đó dùng micropipet hút 0,1 mL dung dịch từ mẫu nước ban đầu cho vào đĩa môi trường NA^+ và TCBS dùng que thủy tinh tán đều đến khi mẫu khô và đánh dấu. Làm lại tương tự đối với các mẫu nước pha loãng. Mẫu được ủ trong tủ ấm 24 giờ và đem ra đọc kết quả. "các thao tác được thực hiện trong điều kiện vô trùng"

Những đĩa có số khuẩn lạc từ 25 – 250 được chọn để tính kết quả theo công thức

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

(CFU : Colony Forming Unit), (Berygey, 2000).

3.3.7 Thu hoạch

Khi ấu trùng chuyển sang postlarvae trên 80% thì tiến hành thay nước hạ độ mặn, mỗi lần từ 2 – 3‰. Đếm số lượng post larvae /bể, tính tỉ lệ chuyển postlarvae, tỉ lệ sống và năng suất ương

$$\text{Tỉ lệ chuyển postlarvae(\%)} = \frac{\text{Số lượng postlarvae}}{\text{Tổng số ấu trùng ban đầu}} \times 100$$

$$\text{Tỉ lệ sống(\%)} = \frac{\text{Số lượng postlarvae + số ấu trùng còn lại}}{\text{Tổng số ấu trùng ban đầu}} \times 100$$

$$\text{Năng suất ương} = \frac{\text{Số lượng postlarvae thu được}}{\text{Thể tích bể ương}}$$

3.3.8 Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng chương trình Excell và chương trình thống kê Anova 1 nhân tố (phép thử Duncan SPSS)

CHƯƠNG 4 KẾT QUẢ THẢO LUẬN

4.1 Các yếu tố môi trường

4.1.1 Nhiệt độ

Nhiệt độ nước là yếu tố quan trọng trong sản xuất giống tôm càng xanh (New and Valenti, 2000). Nhiệt độ ảnh hưởng đến quá trình trao đổi chất, trong khoảng cho phép khi nhiệt độ càng tăng thì trao đổi chất càng tăng. Nhiệt độ còn ảnh hưởng đến dinh dưỡng và hô hấp của thủy sinh vật, khi nhiệt độ tăng thì các hoạt tính của các enzyme tiêu hóa và cường độ hô hấp tăng (Đỗ Thị Thanh Hương, 2006). Nhiệt độ có liên quan rất lớn đến sự lột xác và phát triển của ấu trùng tôm càng xanh (Nguyễn Thanh Phương *và csv*, 2003). Trong khoảng thích hợp, nhiệt độ càng cao thì sự biến thái và tốc độ tăng trưởng của ấu trùng tôm càng xanh càng nhanh, phạm vi tối hảo cho sự phát triển của ấu trùng tôm càng xanh là 26-31°C. Từ 24-26°C ấu trùng tôm càng xanh phát triển kém, thời gian biến thái dài, trên 33°C ấu trùng tôm càng xanh sẽ chết. Sự thay đổi nhiệt độ có thể gây nguy hiểm cho ấu trùng tôm càng xanh, nhiệt độ thay đổi đột ngột dù chỉ 1°C cũng gây ra tình trạng bất ổn (New and Singholka, 1985).

Bảng 4.1: Biến động nhiệt độ (^{o}C) trong thí nghiệm.

Nghiệm thức	Sáng	Chiều
NT1 (ĐC)	30,5 ± 0,2	32,5 ± 0,2
NT2 (Deocare®A)	30,5 ± 0,0	32,5 ± 0,2
NT3 (Zimovac)	30,5 ± 0,0	32,5 ± 0,2
NT4 (EP-01)	30,4 ± 0,1	32,5 ± 0,2

Bảng 4.1 cho thấy nhiệt độ trung bình của các nghiệm thức rất ổn định, buổi sáng dao động từ 30,4^{o}C-30,5^{o}C và buổi chiều ổn định ở 32,5^{o}C, giữa các nghiệm thức không có sự biến động lớn về nhiệt độ trong suốt thời gian ương. Chứng tỏ thí nghiệm được bố trí tương đối đồng nhất. Nhiệt độ nước của các nghiệm thức giữa buổi sáng và buổi chiều chênh lệch từ 2,0-2,1^{o}C do thời gian bố trí thí nghiệm vào tháng 3 nắng nóng, cùng với sự biến đổi khí hậu toàn cầu nên nhiệt độ nước của các nghiệm thức tương đối cao, tuy nhiên nhiệt độ còn trong khoảng thích hợp. Theo Nguyễn Thanh Phương *và csv*, 2003), qui trình nước xanh cải tiến thường có nhiệt độ ổn định ở mức cao hơn 1-2°C so với qui trình khác trong cùng điều kiện trại ương. Điều này do trong môi trường nước của hệ thống này có nhiều tảo và vỏ *Artemia* giúp hấp thu nhiệt và giữ nhiệt tốt hơn so với các hệ thống khác. Như vậy, yếu tố nhiệt độ trong suốt thời gian ương tương đối thuận lợi cho sự phát triển của ấu trùng tôm càng xanh.

4.1.2 pH

pH là chỉ số đo đặc trưng về độ axit (chua) hoặc độ kiềm (chát) của nước. Trong vùng pH rất cao hoặc rất thấp các loài thủy động vật không sống được, tác động của pH lên đời sống động vật thủy sinh có tính chất gián tiếp chứ không theo phương thức trực tiếp (Lê Văn Cát *và csv*, 2006). Theo Trương Quốc Phú (2006), pH quá cao hay quá thấp đều ảnh hưởng đến quá trình thẩm thấu của tế bào, làm rối loạn quá trình trao đổi

muối - nước giữa cơ thể sinh vật với môi trường nước (trích dẫn bởi Trần Thị Cẩm Hồng 2008).

Theo Nguyễn Thanh Phương *và csv* (2003) pH có ảnh hưởng rất lớn đến đời sống ấu trùng tôm càng xanh. Theo William và Robert (1997) pH thích hợp cho các loài tôm, cá là 6,5-9,0. New (1982) cho biết pH thích hợp cho ấu trùng tôm cang xanh là 7,0-8,5, tác giả cũng cho rằng pH<5 ấu trùng hoạt động yếu, nổi đầu hay trôi dạt vào thành bể và chết sau 6 giờ, pH>9,0 sẽ ảnh hưởng trực tiếp và gián tiếp đến ấu trùng tôm càng xanh do khí ammonia tăng (trích dẫn bởi Trần Thị Cẩm Hồng 2008). Khi pH càng cao thì tính độc của NH_3 càng nhiều do tăng tính hòa tan vào nước. pH thấp làm mềm vỏ gây tổn thương đến mang tôm và gây trở ngại cho việc lột xác (Nguyễn Việt Thắng, 1995). Điều quan trọng là trong một ngày, pH dao động không quá 1 đơn vị (Nguyễn Thanh Phương *và csv*, 2003).

Bảng 4.2: Biến động trung bình pH trong thí nghiệm.

Nghiệm thức	Sáng	Chiều
NT1 (ĐC)	8,0 ± 0,0	8,5 ± 0,0
NT2 (Deocare®A)	8,0 ± 0,0	8,5 ± 0,0
NT3 (Zimovac)	8,0 ± 0,0	8,5 ± 0,0
NT4 (EP-01)	8,0 ± 0,0	8,5 ± 0,0

Trong thời gian thí nghiệm thì giá trị pH giữa các nghiệm thức có sự dao động, buổi sáng từ 7,5-8,0 và buổi chiều từ 8,0-8,5. Kết quả ghi nhận (Bảng 4.2) cho thấy pH nằm trong khoảng thích hợp và pH biến động trong ngày không quá 1 đơn vị, là điều kiện thuận lợi cho sự phát triển của ấu trùng tôm cang xanh.

4.1.3 Các yếu tố đạm

a. Đạm tổng số (TAN)

Theo Nguyễn Việt Thắng (1993) lượng ammonia trong bể ương hình thành và tăng lên do sự phân hủy của protein trong thức ăn dư thừa, sản phẩm thải của *Artemia*, ấu trùng tôm. Trong nước, ammonia được phân chia thành 2 dạng: NH_3 và NH_4^+, chỉ có dạng NH_3 là gây độc. Sự phân chia trên phụ thuộc vào sự biến động của pH. Nếu tăng 1 đơn vị pH thì sẽ tăng 10 lần tỉ lệ của NH_3. Theo ý kiến của New và Singholka (1982), mức độ gây độc của NH_3 là 1,8 mg/L và mức độ ảnh hưởng là 0,1 mg/L. (Trích dẫn bởi Dương Thị Diệu Hiền, 2000).

Đối với qui trình không thay nước thì các yếu tố đạm rất khó kiểm soát và có ảnh hưởng rất lớn đến tỉ lệ sống của ấu trùng tôm càng xanh đó là TAN và $N\text{-}NO_2^-$

Bảng 4.3: Hàm lượng đạm tổng số (TAN) và Nitrite trong thí nghiệm

Nghiệm thức	TAN (mg/L)	$N\text{-}NO_2^-$ (mg/L)
NT1 (ĐC)	1,04-2,08	0,7-1,13

NT2 (Deocare®A)	0,83-1,42	0,33-0,49
NT3 (Zimovac)	0,5-1,0	0,15-0,33
NT4 (EP-01)	0,75-1,25	0,24-0,58

Hàm lượng TAN trung bình ở các nghiệm thức dao động từ 0,5 đến 2,08 mg/L. Việc bổ sung chế phẩm sinh học vào bể ương ấu trùng tôm càng xanh có ảnh hưởng đến hàm lượng TAN. Hàm lượng đạm tổng số ở các nghiệm thức 2, 3, 4 (bổ sung chế phẩm sinh học) dao động từ (0,15 đến 1,42mg/) thấp hơn nhiều so với nghiệm thức 1 (1,04 đến 2,08mg/), (không bổ sung chế phẩm sinh học). Kết quả trên đã cho thấy lợi ích của việc bổ sung chế phẩm sinh học. TAN thấp ở nghiệm thức 3 (Zimovac 2g/m^3) và cao nhất là nghiệm thức 1 (không bổ sung chế phẩm sinh học). Trong 3 loại chế phẩm sinh học trên thì Zimovac chứa thành phần vi khuẩn chủ yếu là *Bacillus* spp (phân giải vật chất hữu cơ) và *Nitrosomonas*, *Nitrobacter* (chuyển hóa đạm), nên hàm lượng đạm tổng số thấp nhất, đối với Deocare®A và EP-01 thì có hàm lượng đạm tương đối bằng nhau, vì Deocare®A chứa thành phần chủ yếu chiết xuất từ cây *yuca shidigera* (hấp thụ NH_3) và EP-01 chứa nhiều loại vi khuẩn, trong đó có vi khuẩn hỗ trợ đường ruột, và vi khuẩn chuyển hóa đạm với mật độ thấp hơn so với Zimovac.

b. Nitrite (N-NO_2^-)

Theo Trương Quốc Phú (2006) Nitrite là khí độc đối với thủy sinh vật, NO_2^- được sinh ra từ NH_4^+ dưới tác dụng của vi khuẩn *Nitrosomonas* và được chuyển hóa thành NO_3^- dưới tác dụng của vi khuẩn *Nitrobacter*, (được trích dẫn bởi Cù Văn Thành, 2009).

Hàm lượng N-NO_2^- có khuynh hướng tăng dần về cuối thí nghiệm, hàm lượng trung bình giữa các nghiệm thức dao động từ 0,15 đến 1,13mg/L. Nghiệm thức không bổ sung chế phẩm sinh học có hàm lượng N-NO_2^- cao hơn so với các nghiệm thức còn lại. Trong quá trình thí nghiệm theo qui trình nước xanh cải tiến, việc bổ sung các loại chế phẩm sinh học khác nhau nhằm góp phần kiểm soát hàm lượng N-NO_2^- dưới tác dụng của *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*, chất chiết xuất từ cây *yuca shidigera* (hấp thụ NH_3) và các loại vi khuẩn hỗ trợ đường ruột như *Lactobacillus* spp, *Bacillus* spp. Nhìn chung, các yếu tố môi trường của các nghiệm thức có sử dụng chế phẩm sinh học ổn định và tốt hơn so với nghiệm thức không sử dụng chế phẩm sinh học. Kết quả cũng phù hợp với nghiêm cứu của, Trần Thị Cẩm Hồng, (2008) dao động từ 0,059 đến 0,429mg/L và Cù Văn Thành, (2009) dao động từ 0,16 đến 0,47mg/L.

4.2 Kết quả phân tích vi sinh

Kiểm tra số lượng vi khuẩn trong môi trường nước ương, góp phần trong việc tìm hiểu khả năng chịu đựng và các nguyên nhân ảnh hưởng tỉ lệ sống của ấu trùng (Nguyễn Lê Hoàng Yến, 1999).

Theo Phạm Thị Tuyết Ngân (2007) hoạt động có lợi của vi khuẩn thông qua một số cơ chế: cạnh tranh dinh dưỡng – năng lượng – nơi cưu trú, chuyển hóa vật chất hữu cơ thành chất vô cơ, hạn chế vi khuẩn có lợi và tiết ra một số chất kháng thể hay enzyme (được trích dẫn bởi Cù Văn Thành, 2009).

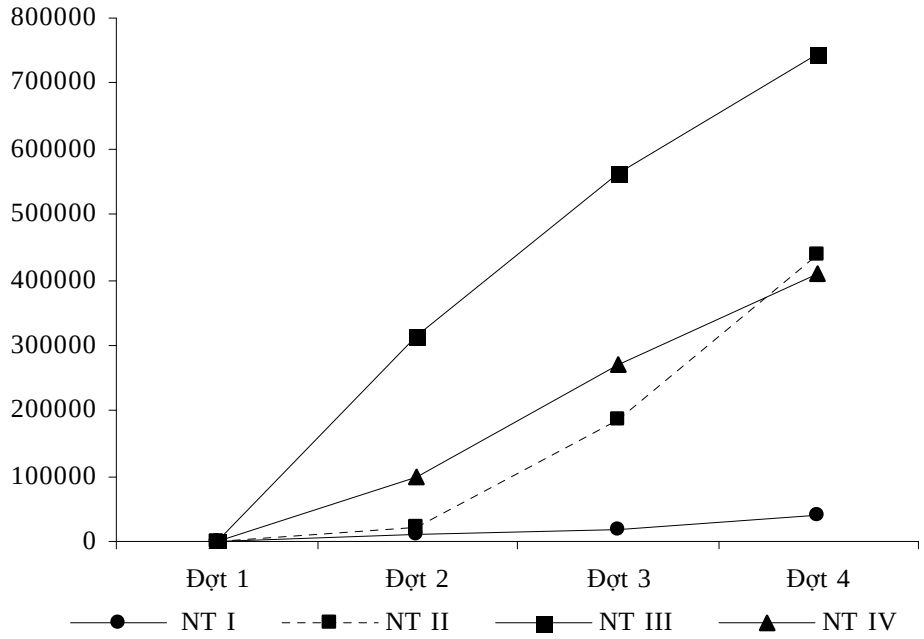
Theo khuyến cáo từ Bộ Thủy sản (2000) mật độ vi khuẩn tổng cộng trong môi trường nuôi thủy sản được chấp nhận ở mức mật độ 10^6 CFU/mL nhằm hạn chế sự lây nhiễm vào động vật thủy sản trong quá trình ương nuôi.

Bảng 4.4: Mật độ vi khuẩn trong môi trường nước ương.

Nghiệm thức	Trung bình	
	Vk Tổng Cộng (CFU/mL)	Vk *Vibrio* spp (CFU/mL)
NT1 (ĐC)	$0,2 \times 10^{5a}$	$9,4 \times 10^3$
NT2 (Deocare®A)	$1,6 \times 10^{5b}$	$0,73 \times 10^3$
NT3 (Zimovac)	$4,1 \times 10^{5c}$	$0,20 \times 10^3$
NT4 (EP-01)	$1,9 \times 10^{5b}$	$0,63 \times 10^3$

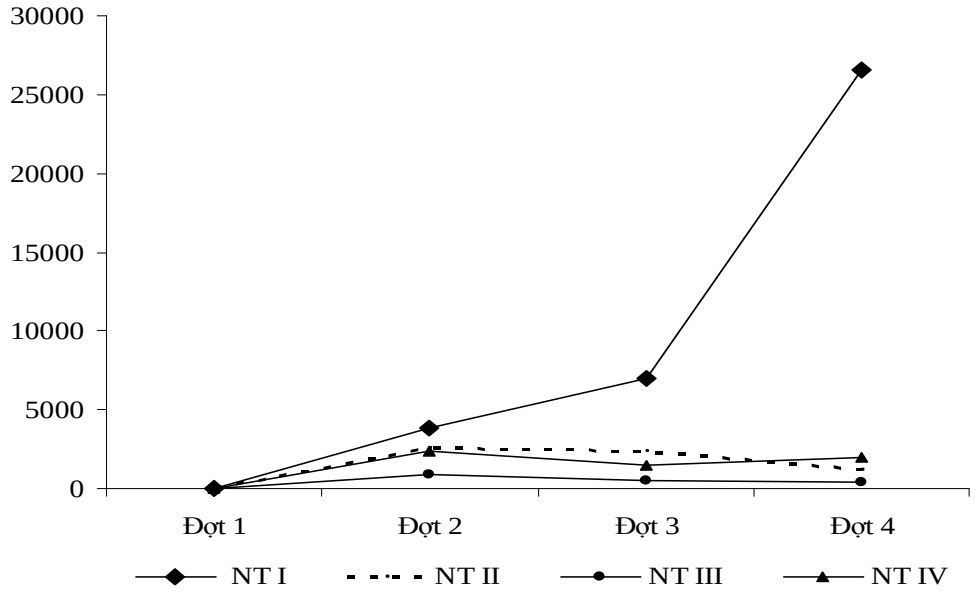
Mật độ vi khuẩn tổng cộng của các nghiệm thức được thể hiện qua Bảng (4.4). Kết quả phân tích mẫu nước ương ấu trùng tôm càng xanh cho thấy mật độ vi khuẩn tổng cộng cao nhất ở nghiệm thức 3 (bổ sung Zimovac) và thấp nhất ở nghiệm thức 1 (không sử dụng chế phẩm sinh học).

Mật số vi khuẩn tổng cộng ở các nghiệm thức bổ sung chế phẩm sinh học có số lượng tăng cao và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$) với nghiệm thức đối chứng. Điều này cho thấy việc bổ sung chế phẩm sinh học trong môi trường ương ấu trùng tôm càng xanh làm tăng mật số vi khuẩn tổng cộng và giảm mật độ *Vibrio*.



Hình 4.1: Mật độ vi khuẩn tổng cộng trong môi trường nước ương

Nghiệm thức 2, 3 và 4 (có bổ sung chế phẩm sinh học) có mật số vi khuẩn tổng cộng trung bình cao hơn nghiệm thức 1 (không sử dụng chế phẩm sinh học). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Nguyễn Thanh Phương (2007), là mật số vi khuẩn tổng cộng trong bể ương ấu trùng tôm càng xanh có thể đến 500.000 CFU/mL (Hình 4.1).



Hình 4.2: Mật độ vi khuẩn *Vibrio* trong môi trường nước ương

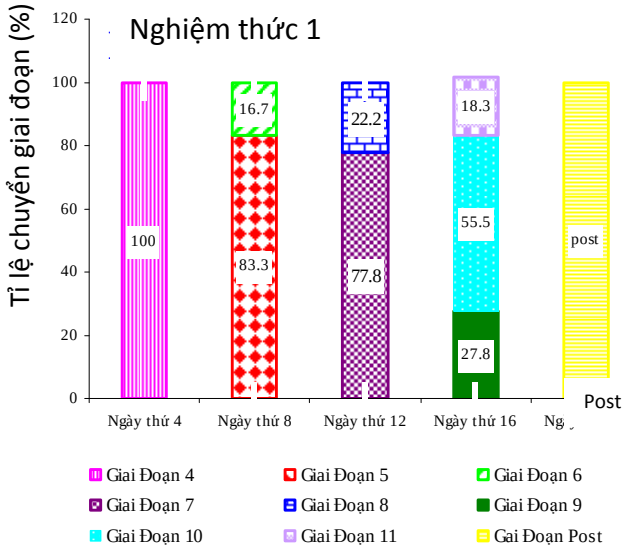
Mật độ vi khuẩn *Vibrio* ở nghiệm thức 1 (không bổ sung chế phẩm sinh học) cao hơn rất nhiều so với các nghiệm thức còn lại và tăng nhanh vào cuối chu kỳ ương. Khi đó ở các nghiệm thức có bổ sung chế phẩm sinh học thì số lượng vi khuẩn *Vibrio* spp giảm dần theo thời gian ương nhất là ở nghiệm thức 3 (bổ sung Zimovac, 2g/m^3) (Hình 4.2). Mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp trong bể ương ấu trùng tôm càng xanh theo qui định của Bộ Thủy sản (2000), không được lớn hơn 500 CFU/mL nhằm hạn chế khã năng gây hại của vi khuẩn, nhưng theo Trần Thị Tuyết Hoa và *csv* (2004) thì mật độ 10^5-10^7 CFU/mL ở một số chủng vi khuẩn này mới có khã năng gây độc đối với ấu trùng tôm càng xanh.

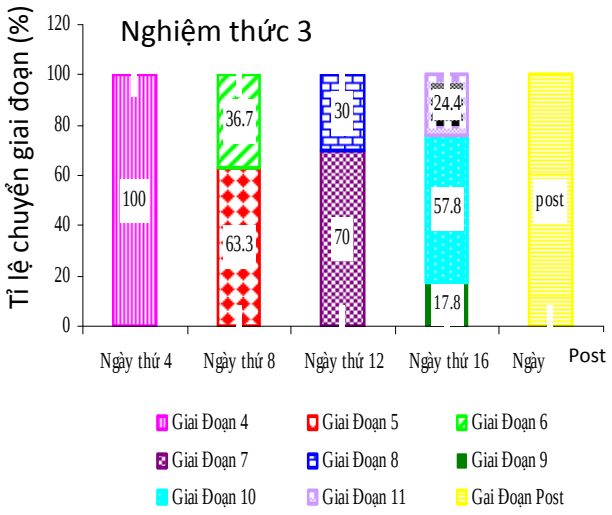
4.3 Chỉ tiêu theo dõi ấu trùng

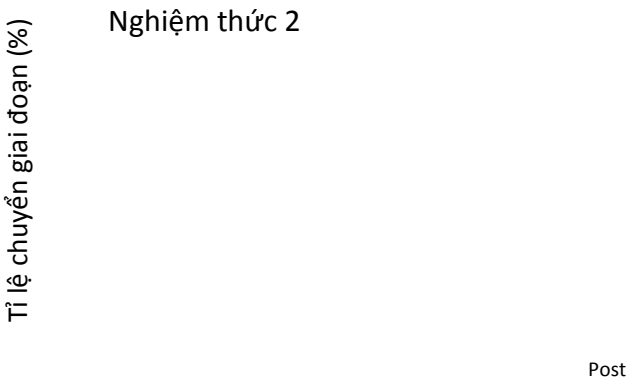
4.3.1 Sự phân đàn và chu kì lột xác của ấu trùng tôm càng xanh

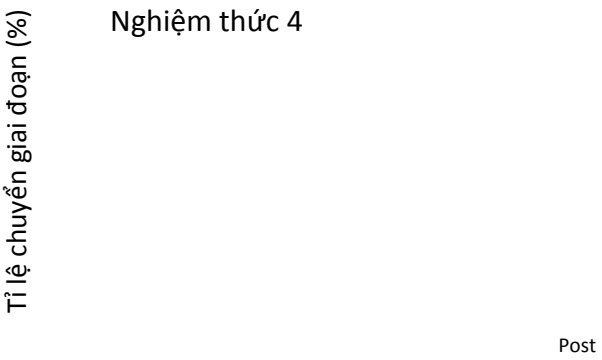
Chỉ số LSI thể hiện sự biến thái và mức độ đồng đều của ấu trùng tôm càng xanh trong bể ương. Sự phát triển của ấu trùng tôm càng xanh được quan sát thông qua chu kì lột xác và biến thái. Ấu trùng trải qua 11 lần lột xác và biến thái để hình thành hậu âu trùng (Nguyễn Thanh Phương, 2003). Tuy nhiên thời gian lột xác mỗi giai đoạn tùy thuộc vào điều kiện môi trường, dinh dưỡng, giới tính, mật độ ương và điều kiện sinh lý của chúng… Sự phân đàn của ấu trùng tôm càng xanh được thể hiện qua (Hình 4.3)

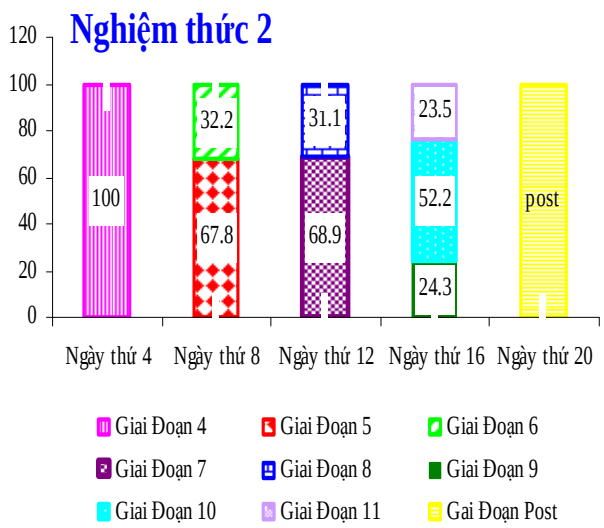
Theo New (1982) nếu duy trì nhiệt độ thích hợp, cung cấp dinh dưỡng đầy đủ, đảm bảo sức khỏe ấu trùng và quản lý môi trường nước tốt không bị ô nhiễm thì ngày xuất hiện tôm bột đầu tiên từ ngày 16-18 (trích dẫn bởi Trần Thị Cẩm Hồng 2008). Ngày xuất hiện tôm bột đầu tiên ở nghiệm thức 2, 3 và 4 (có bổ sung chế phẩm sinh học) là ngày thứ 18 và kế tiếp là ngày thứ 19 ở nghiệm thức 1 (không bổ sung chế phẩm sinh học). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Dương Thị Diệu Hiền 2000, Trần Thị Cẩm Hồng 2008) có bổ sung chế phẩm sinh học ngày xuất hiện postlarva là ngày thứ 18. Thời điểm thu hoạch tôm bột là ngày thứ 6 từ khi xuất hiện tôm bột.

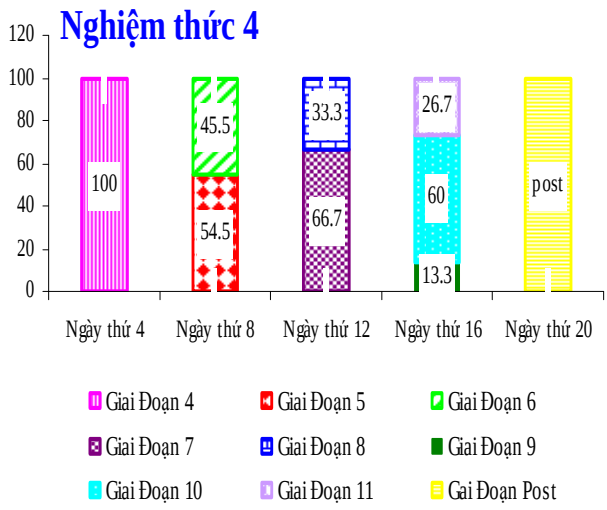












Hình 4.3: Sự phân đàn và chu kì lột xác của ấu trùng tôm càng xanh

Qua kết quả cho thấy, lần thu mẫu thứ nhất giai đoạn phát triển của ấu trùng tôm càng xanh hoàn toàn giống nhau giữa các nghiệm thức và phân đàn ở các lần thu mẫu tiếp theo, kết quả phù hợp nghiên cứu của Nguyễn Lê Hoàng Yến (1999), Trần Ngọc Tuyền, (2000) và Nguyễn Thị Đẹp (2001). Ở nghiệm thức 1 (không bổ sung chế phẩm sinh học) trong những lần thu mẫu tiếp theo có sự biến thái chậm hơn và khác biệt so với các nghiệm thức có bổ sung chế phẩm sinh hoc và đến ngày thứ 16 nghiệm thức 1 chiếm 18,3% giai đoạn 11 thấp hơn so với nghiệm thức 4 (bổ sung EP-01, 10mL/m^3) chiếm 26,7%. Riêng nghiệm thức 3 ấu trùng có sự biến thái đồng đều hơn các nghiệm thức còn lại. Nhìn chung sự biến thái của ấu trùng tôm càng xanh có liên quan đến việc bổ sung chế phẩm sinh học, giúp ổn định môi trường và sự biến thái xảy ra hoàn toàn hơn.

4.3.2 Chiều dài của ấu trùng tôm càng xanh

Theo Uno và Soo (1969), ấu trùng giai đoạn đầu tiên dài không quá 2mm (từ mút chỉ đến mút đốt đuôi) trong khi ở giai đoạn 11 chúng đạt chiều dài hơn 7mm (trích dẫn bởi Nguyễn Lê Hoàng Yến 1999). Không giống như các loài cá chiều dài của ấu trùng tôm càng xanh tăng theo hình bậc thang, tôm nhỏ có tốc độ tăng trưởng nhanh hơn tôm lớn, tôm đực lớn nhanh hơn tôm cái, đặc biệt là về giai đoạn sau (Nguyễn Thanh Phương, 2003).

Bảng 4.6: Chiều dài ấu trùng tôm càng xanh (mm)

Nghiệm thức	Giai đoạn 4	Giai đoạn 5	Giai đoạn 6	Giai đoạn 7	Giai đoạn 8	Giai đoạn 9	Giai đoạn 10	Giai đoạn 11	Giai đoạn post
NT I	2,68	2,74	4,20	5,12	5,75	6,45	6,69	6,82	$7,0 \pm 0,1^a$
NT II	2,74	2,76	4,25	5,15	5,76	6,55	6,72	7,05	$7,0 \pm 0,1^a$

NT III	2,75	2,76	4,23	5,35	5,85	6,50	6,70	7,03	7, 1 ± 0,1[a]
NT IV	2,75	2,78	4,26	5,43	5,95	6,65	6,75	7,10	7, 3 ± 0,2[b]

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

Chiều dài ấu trùng tôm càng xanh (mm) ở các giai đoạn phát triển được ghi nhận ở (Bảng 4.6). Đến giai đoạn poslarva thì nghiệm thức 4 có chiều dài ấu trùng tôm càng xanh có sự tăng trưởng lớn nhất (7,3 mm) và khác biết có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại, postlarva của nghiệm thức 1, 2 và 3 có chiều dài tương đương nhau, và khác không có ý nghĩa thống kê (p<0,05). Nhìn chung nghiệm thức 1 (không bổ sung chế phẩm sinh học) có sự tăng trưởng chiều dài trung bình thấp nhất (7,0 mm) so với các nghiệm thức 4 (có bổ sung chế phẩm sinh học EP-01).

4.4 Tỉ lệ sống của ấu trùng tôm càng xanh

Tỉ lệ sống của hậu ấu trùng lúc thu hoạch là chỉ tiêu để đánh giá hiệu quả kinh tế của qui trình ương. Cùng với chế độ dinh dưỡng thì môi trường là yếu tố ảnh hưởng rất lớn đến tỉ lệ sống. Môi trường ương xấu, bất ổn là nguyên nhân dẫn đến tỉ lệ sống thấp (Nguyễn Việt Thắng, 1993).

Bảng 4.7 Tỉ lệ sống (%) của ấu trùng tôm càng xanh

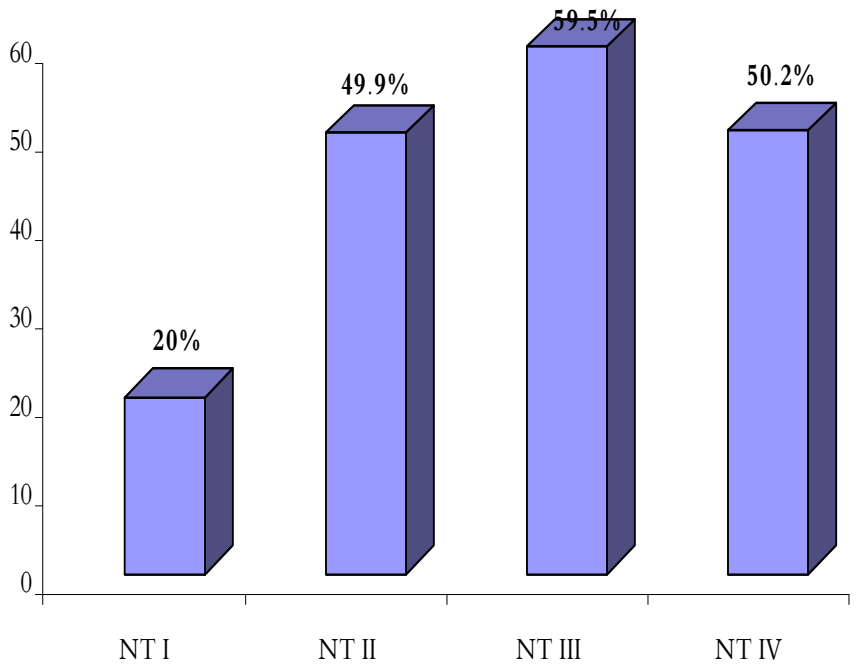
Nghiệm thức	Tỷ lệ sống (%)	Ngày xuất hiện post	Chu kỳ ương
NT1 (ĐC)	20,0 ±2,0[a]	19	24
NT2 (Deocare®A)	49,9 ± 5,2[b]	18	24
NT3 (Zimovac)	59,5 ± 4,0[c]	18	24
NT4 (EP-01)	50,2 ± 5,9[b]	18	24

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

Tỉ lệ sống của ấu trùng trong thí nghiệm dao động từ 18,1 đến 63,6% và giá trị trung bình được thể hiện ở (Bảng 4.7). Tỉ lệ sống thấp nhất ở nghiệm thức 1 (20,0%) (không bổ sung chế phẩm sinh học) và khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,05) so với các nghiệm thức còn lại. Tỉ lệ sống ở nghiệm thức 3 (bổ sung Zimovac) đạt cao nhất (59,5%) và khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,05) so với các nghiệm thức còn lại. Bên cạnh đó nghiệm thức 2 và 4 có tỉ lệ sống tương đương nhau (49,9-50,2%) và khác biệt không có ý nghã thống kê (p>0,05). Điều này phù hợp với các nghiên cứu trước đây, ương ấu trùng tôm càng xanh với mật độ 50 con/lít và đạt tỉ lệ sống 41,67% (Trần Ngọc Tuyền, 2000). Ương ấu trùng với mật độ 60 con/lít đạt tỉ lệ sống 28,8% (Nguyễn Chí Cường, 2000) và thí nghiệm của Trần Sử Đạt (2006), với mật độ 50 con/lít và không bổ sung chế phẩm sinh học tỉ lệ sống đạt 49,43%. So sánh với nghiên cứu của Dương Thị Diệu Hiền, (2000) có bổ sung chế phẩm sinh học 1 lần/ngày đạt tỉ

lệ sống 54,8%, thì trong thí nghiệm này tỉ lệ sống 59,5% (mật độ 60 con/lít có bổ sung chế phẩm sinh học) là chấp nhận được.

Qua kết quả trên cho thấy việc bổ sung chế phẩm sinh học vào môi trường ương nuôi ấu trùng tôm càng xanh thông qua việc cải thiện môi trường nuôi có ảnh hưởng lên năng suất ương ấu trùng tôm càng xanh.



Hình 4.4: Tỉ lệ sống của ấu trùng tôm càng xanh

CHƯƠNG 5 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

5.1 Kết luận

Các yếu tố môi trường như: nhiệt độ, pH, TAN và Nitite, trong thí nghiệm đều nằm trong khoảng cho phép và ổn đinh.

Mật số vi khuẩn tổng cộng ở các nghiệm thức có bổ sung chế phẩm sinh học cao hơn ($4,1x10^5$ CFU/mL) và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$) so với nghiệm thức 1 ($0,2x10^5$ CFU/mL không bổ sung chế phẩm sinh học).

Tuy nhiên mật độ vi khuẩn *Vibro* giảm thấp vào cuối chu kì ương ($0,2x10^3$ CFU/mL) nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$) so với các nghiệm thức có bổ sung chế phẩm sinh học.

Chiều dài của ấu trùng tôm càng xanh lớn nhất (7,2 mm) ở các nghiệm thức sử dụng chế phẩm sinh học(EP-01) và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$) so với nghiệm thức không sử dụng chế phẩm sinh học (7,0 mm).

Ấu trùng có tỉ lệ sống cao nhất (59,5%) ở nghiệm thức 3 (bổ sung chế phẩm sinh học Zimovac với liều lượng $2g/m^3$) và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$) so với nghiệm thức 1 không bổ sung chế phẩm sinh học.

5.2 Đề xuất

Cần có những nghiên cứu sâu hơn về việc kết hợp các loại chế phẩm sinh học để tìm được qui trình hoàn chỉnh trong sản xuất giống tôm càng xanh đưa vào thực tế.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt

Bộ thủy sản, 2000. Quy chế khảo nghiệm giống thủy sản, thức ăn, thuốc, hóa chất, và chế phẩm sinh học dùng trong nuôi trồng thủy sản (ban hành kèm theo quyế định số 18/2002/QĐ-BTS ngày 3/6/2002

Bộ thủy sản, 2002. Quy chế khảo nghiệm giống thủy sản, thức ăn, thuốc, hóa chất và chế phẩm sinh học dùng trong nuôi trồng thủy sản (Ban hành kèm theo QĐ số 18/2002/QĐ-BTS ngày 3/6/2002).

Bộ thủy sản, 2003. Báo cáo kết quả nuôi trồng thủy sản năm 2002 và biện pháp thực hiện năm 2003.

Cù Văn Thành, 2009. Nghiên cứu sử dụng chế phẩm sinh học trong ương nuôi ấu trùng tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*) qui trình nước trong. Luận văn tốt nghiệp đại học - Khoa Thuỷ Sản - Trường Đại học Cần Thơ.

Đặng Ngọc Thanh, Hồ Thanh Hải, 2001. Động vật chí Việt Nam: Giáp xác nước ngọt. NXB Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội. Trang 33 - 34.

Đặng Thi Hoàng Oanh, Trần Thi Tuyết Hoa và Nguyễn Thanh Phương, 2000. The effects of Probiotics on Culture Condition on Freshwater Prawn (*Macrobrachium rosenbergii)* Larval. Proceedings of the 2000 annual workshop of JIRCAS Mekong Delta Project. pp 200 – 206.

Đỗ Thị Thanh Hương, 2006. Nghiên cứu sinh lý học của sự lột xác và điều hòa áp suất thẩm thấu của Tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii)* và Tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei)* - (Physiological studies on molting and osmoregulation in the giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii)* and the whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei).* Luận án Tiến sĩ

Dương Thị Diệu Hiền. 2000. Tìm hiểu tác dụng của chế phẩm sinh học (Probiotics) lên môi trường ương nuôi tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*). Luận văn tốt nghiệp đại học - Khoa Thuỷ Sản - Trường Đại học Cần Thơ.

Lê Đình Duẩn *và ctv*, (2007). Thử nghiệm tôm sú bằng chế phẩm sinh học. Luận văn tốt nghiệp cao học - Khoa Thuỷ Sản - Trường Đại học Cần Thơ.

Lê Văn Cát (chủ biên), Đỗ Thị Hồng Nhung, Ngô Ngọc Cát,. 2006 Nước nuôi thủy sản chất lượng và giải pháp cải thiện chất lượng. Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật Hà Nội.

Lê Xuân Sinh, 2007. Xây dựng mô hình kinh tế - sinh học của trại sản xuất TCX. Chuyên đề báo cáo cấp bộ

Lê Xuân Sinh, Đỗ Minh Chung, Huỳnh Văn Hiến và Trần Văn Bùi. 2006. Hiệu quả kinh tế kỹ thuật của các trại sản xuất giống tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*) ở Đồng bằng sông Cửu Long. Trong: Nguyễn Anh Tuấn, Nguyễn Thanh Phương, Trương Quốc Phú, Trần Thị Thanh Hiền, Dương Nhựt Long, Lê Xuân Sinh, Trần Ngọc Hải. *Tạp chí khoa học số đặc biệt chuyên đề thuỷ sản, tháng 4/2006.* Quyển 2, trang 268 – 279. Đại học Cần Thơ.

Lê Xuân Sinh. 2008. Ứng dụng mô hình Kinh tế - Sinh học để cải thiện kỹ thuất và hiệu quả trại sản xuất giống tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*) ở Đồng bằng sông Cửu Long. Trong: Nguyễn Anh Tuấn, Nguyễn Thanh Phương, Trương Quốc Phú, Trần Thị Thanh Hiền, Trần Ngọc Hải, Đỗ Thị Thanh Hương, Phạm Thanh Liêm, Dương Nhựt Long, Đặng Thị Hoàng Oanh, Lê Xuân Sinh, Ngô Thị Thu Thảo, Vũ Ngọc Út. *Tạp chí khoa học chuyên đề thuỷ sản, năm 2008*. Quyển 2, trang 143 – 156. Đại học Cần Thơ

Nguyễn Chí Cường, 2000. Thực nhiệm ưng dụng ương nuôi ấu trùng tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii de man*, 1879) với các mật độ khác nhau trong mô hình nước xanh cải tiến và nước trong tuần hoàn. Luận văn Đại học - Khoa Thuỷ Sản - Trường Đại học Cần Thơ.

Nguyễn Hoàng Trong, 2009. Ảnh hưởng của chế phẩm sinh học lên khả năng cải thiện chất lượng nước nuôi tôm sú (penaeus monodon). Đề cương tốt nghiệp đại học - Khoa Thuỷ Sản - Trường Đại học Cần Thơ.

Nguyễn Lê Hoàng Yến. 1999. Thực nghiệm ương nuôi ấu trùng tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*, 1879*)* trong mô hình nước xanh cải tiến. Luận văn Đại học học - Khoa Thuỷ Sản - Trường Đại học Cần Thơ.

Nguyễn Thành Phước, 2007. Sử dụng men vi sinh trong nuôi trồng thủy sản http://agriviet.com/nd/742-su-dung-men-vi-sinh-trong-nuoi-trong-thuy-san. Truy cập: 25 /02/2010

Nguyễn Thanh Phương (chủ biên), Trần Ngọc Hải, Trần Thị Thanh Hiền, Marcy N. Wilder. 2003. Nguyên lý sản xuất giống tôm càng xanh *Macrobrachium rosenbergii*. Khoa Thủy sản, Đại học Cần Thơ. 127 trang.

Nguyễn Thanh Phương. 2007. Nghiên cứu nâng cao năng suất ương ấu trùng tôm cang xanh áp dụng qui trình nước xanh cải tiến. Báo cáo khoa học. Sở khoa học và Công nghệ Thành phố cần thơ. Tổng kết đề tài. Đại học Cần Thơ – Sở khoa học thành phố Cần Thơ, 70 trang.

Nguyễn Thị Đẹp. 2001 Ảnh hưởng của các loại tảo và chế phẩm sinh học ttrong ương ấu trùng tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*). Luận văn Đại học

Nguyễn Việt Thắng, 1995. Kỹ thuật nuôi tôm càng xanh, Nhà xuất bản Nông Nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh

Tăng Thị Chính và Đặng Đình Kim, 2005. Sử dụng chế phẩm sinh học trong nuôi tôm cao sản. Báo cáo viện Công nghệ môi trường. Viện KH&CN Việt nam

Trần Ngọc Tuyền. 2000. Ảnh hưởng của mật độ tảo trong ương ấu trùng tôm cang xanh *Macrobrachium rosenbergii* - Khoa Thuỷ Sản - Trường Đại học Cần Thơ.

Trần Sử Đạt 2006, Nghiên cứu các biện pháp nâng cao nâng suất ương ấu trùng tôm càng xanh **(***Macrobrachium rosenbergii de man*, 1879) áp dụng mô hình nước xanh cải tiến. Luận văn Đại học - Khoa Thuỷ Sản - Trường Đại học Cần Thơ.

Trần Thị Cẩm Hồng, 2008. Khảo sát hiệu quả sử dụng men vi sinh trong thực tế sản xuất tôm càng Xanh (*Macrobrachium rosenbergii*). Luận văn tốt nghiệp cao học - Khoa Thuỷ Sản - Trường Đại học Cần Thơ.

Trần Thị Thanh Hiền, 2003. Ảnh hưởng của việc bổ sung một số nguồn Lipit và Vitamin C lên chất lượng tôm mẹ và ấu trùng tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii* DeMan, 1879). Luận án Tiến sĩ

Trần Thị Tuyết Hoa, Nguyễn Thị Thu Hằng, Đặng Thị Hoàng Oanh, và Nguyễn Thanh Phương, 2004. Thành phần loài và khã 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. Trang 153-165

TT NCKH nông vận, 2009. Kỹ thuật nuôi tôm - Kỹ thuật nuôi cá - Kỹ thuật nuôi các loại thủy đặc sản khác - Các chuyên đề kỹ thuật http://www.vietlinh.com.vn/dbase/VLTECHShowContent.asp?ID=507. Truy cập: 25/02/2010

Tiếng Anh

Berg, G., Kurze, S., Buchner, A., Wellington, E.M. and Smalla, K., 2000. Successful strategy for the selection of new strawberry-associated rhizobacteria antagonistic to Verticillum wilt. Can. J. Microbil.

Boyd, C. E. and S. Zimmermann., 2000. Grow – out systems – water quality and soil management. In M. B. New and W. C. Valenti. Freshwater prawn culture: The farming of *Macrobrachium rosenbergii*. Oxford, England, Blackwell science. pp 221 – 238.

FAO, 2003. Freshwater prawn farming: global status, recent research and a glance at the future.

Nandlal, S. and T. Pickering. 2005. Hatchery Operation. Freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* farming in Pacific Island countries. Vol 1. 31 pp.

New, M.B, 1995. Status oj freshwater prawn farming a review. Aquaculture Reearch 26:1-54

New, M.B. and S. Singholka, 1985 Freshwater prawn farming. A manual for the culture of *Macrobrachium rosenbergii*. Fao Fish. Tech.

New, M.B. and W.C Valenti, 2000. Freshwater prawn culture: the farming of *Macrobrachium rosenbergii*. Blackwell Science.

Singholka. S. and Sukapunt, C., 1982. Use of simple recireulation systems for larval culture of *Macrobrachium rosenbergii*. In Giant Prawn Framing. Developments in Aquaculture and Fisheries Science, Vol. 10, (Ed. By M.B. New). Pp.291 – 294