

NGHIÊN CỨU SẢN XUẤT CHẾ PHẨM SINH HỌC NITROBACT ỨNG DỤNG TRONG XỬ LÝ NƯỚC NUÔI TÔM TẠI THỪA THIÊN - HUẾ

Lại Thúy Hiền¹, Nguyễn Bá Tú¹, Đỗ Thu Phương¹, Phạm Thị Hằng¹, Nguyễn Thị Yên¹, Vương Thị Nga¹, Võ Mai Hương², Phạm Ngọc Lan², Nguyễn Thu Thủy², Bùi Lê Thanh Nhân²

¹Viện Công nghệ sinh học

²Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

TÓM TẮT

Thời gian gần đây, việc ứng dụng chế phẩm sinh học trong nuôi trồng thủy sản đang nhận được những sự quan tâm lớn vì chúng vừa an toàn với vật nuôi vừa thân thiện với môi trường. Tuy nhiên, chi phí cho việc ứng dụng các chế phẩm sinh học còn khá cao, khoảng 6 triệu VNĐ/ha/vụ. Trong các hồ nuôi tôm, sử dụng chế phẩm sinh học được sản xuất từ vi khuẩn hữu ích bản địa không chỉ có ưu điểm giá thành thấp mà còn giúp duy trì khu hệ vi sinh và bảo vệ môi trường. Từ các mẫu nước và bùn lấy ở các ao nuôi tôm và các mẫu nước biển, chúng tôi đã lựa chọn được một số chủng vi khuẩn hữu ích có khả năng ức chế vi khuẩn gây bệnh *Vibrio*, oxy hóa ammonia, nitrite và khử nitrate để tạo hai chế phẩm xử lý nước nuôi tôm Nitrobact-1 và Nitrobact-2. Chúng tôi thử nghiệm so sánh hai chế phẩm này với các chế phẩm Microzyme và Bio-bacter có thành phần tương tự như chế phẩm của chúng tôi, trên diện tích 2,5 ha tại thị trấn Sịa, huyện Quảng Điền, tỉnh Thừa Thiên - Huế. Ứng dụng các chế phẩm mới này giúp giảm chi phí ít hơn một nửa và cho năng suất thu hoạch cao hơn so với chế phẩm khác.

Từ khóa: Chế phẩm sinh học, nuôi trồng thủy sản, nước nuôi tôm, vi sinh vật hữu ích bản địa, vi khuẩn probiotic, Nitrobact

MỞ ĐẦU

Trong những năm gần đây, Thừa Thiên - Huế với lợi thế có hệ đầm phá Tam Giang - Cầu Hai đã phát triển nhiều loại hình và quy mô nuôi trồng thủy sản, nhất là nghề nuôi tôm. Tính đến hết năm 2006, toàn tỉnh có trên 10 ngàn hộ nuôi trồng thủy sản với diện tích lên tới 5402,8 ha, đạt 107,82 tấn thủy sản các loại, đóng góp khoảng 5552,84 tỉ đồng vào giá trị kim ngạch xuất khẩu thủy sản của tỉnh. Tuy nhiên, việc mở rộng quy mô, diện tích nuôi trồng thủy hải sản tăng nhanh, kéo theo việc lạm dụng thức ăn dễ nâng cao năng suất đã làm cho môi trường đầm phá, đặc biệt vùng nuôi trồng thủy sản bán thâm canh, quảng canh cải tiến bị ô nhiễm ngày càng nghiêm trọng và dịch bệnh phát triển nhanh. Hiện trạng ô nhiễm môi trường do nước nuôi tôm trở thành vấn đề rất bức xúc, đòi hỏi cần phải có phương án giải quyết kịp thời (Nguyễn Chu Hồi, 2003). Hiện nay, xu thế sử dụng các chế phẩm sinh học đang được chú ý nhiều hơn cả. Vì xử lý bằng các chế phẩm sinh học có định hướng vừa triệt để, vừa có hiệu quả kinh tế lại không gây ô nhiễm môi trường (Verschuere *et al.*, 2000). Tuy nhiên, trên thị trường nước ta hiện nay đang xuất hiện hàng loạt chế phẩm

có nguồn gốc khác nhau từ nhập ngoại, liên doanh đến sản xuất trong nước và giá thành cũng rất khác nhau. Nhưng không phải tất cả các chế phẩm có hiệu quả ở nước ngoài đều có tác dụng ở Việt Nam. Một số chất tuy có hiệu quả xử lý nước nuôi tôm nhưng giá thành cao và việc duy trì hiệu lực của các chế phẩm này là điều nan giải. Trong khuôn khổ bài báo này, chúng tôi tiến hành nghiên cứu sản xuất và ứng dụng chế phẩm Nitrobact từ vi khuẩn hữu ích bản địa để xử lý nước tại khu nuôi tôm thị trấn Sịa, huyện Quảng Điền, tỉnh Thừa Thiên - Huế.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

- Các mẫu nước và bùn đáy trong các hồ thử nghiệm tại khu nuôi tôm thị trấn Sịa, huyện Quảng Điền, tỉnh Thừa Thiên - Huế.

- Đếm số lượng vi sinh vật, phân lập vi khuẩn hữu ích và gây hại trên các môi trường chọn lọc: hiệu khí tổng số (API RP 38); MRS; Postgate B cải tiến; Basruda; Giltai và TCBS agar (Đỗ Thu Phương *et al.*, 2005; Lại Thúy Hiền *et al.*, 2007; Vương Thị Nga *et al.*, 2005).

- Quan sát hình thái tế bào dưới kính hiển vi quang học Laboval 4 (Đức).

- Phân loại vi sinh vật bằng phương pháp phân tích trình tự gen 16S rRNA và sử dụng các kit chuẩn sinh hóa API của hãng Biomereux (20 E, 20 NE, 50 CHB, 50 CHL).

- Xác định hàm lượng NH_4^+ bằng indophenol blue; NO_2^- bằng tạo màu với thuốc thử Griss.

- Các loại chế phẩm sử dụng thử nghiệm: Chế phẩm Nitrobact 1 và 2 của Viện Công nghệ sinh học, gồm các vi khuẩn: *Nitrosomonas* sp., *Nitrobacter* sp., *Bacillus* sp., *Lactobacillus* sp., *Oceanimonas denitrificans*, *Lactococcus* sp. Chế phẩm Microzyme của công ty TNHH Unilongs gồm các vi khuẩn: *Bacillus*, *Streptococcus*... Chế phẩm Bio-bacter của công ty liên doanh Bio-pharmachemie bao gồm các vi khuẩn như *Bacillus*, *Streptococcus*, *Nitrosomonas* và *Nitrobacter*.

- Bố trí thử nghiệm: 5 hồ nuôi tôm tại thị trấn Sịa (0,5 ha/hồ), trong đó 4 hồ sử dụng chế phẩm và 1 hồ đối chứng không sử dụng bất cứ chế phẩm nào.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

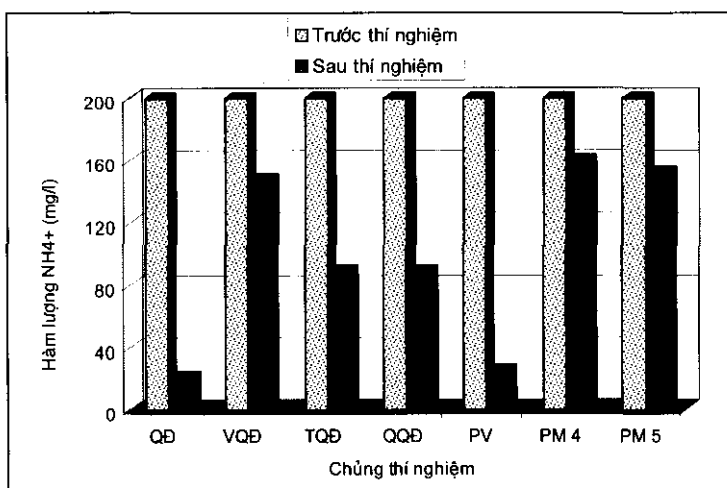
Tạo chế phẩm Nitrobact từ vi sinh vật bản địa

Sau khi khảo sát, thu thập các mẫu nước và bùn tại các hồ nuôi tôm trên địa bàn Thừa Thiên - Huế, chúng tôi đã phân lập được một số chủng vi khuẩn hữu ích bản địa. Sau khi đánh giá hoạt tính của các chủng vi khuẩn lựa chọn (khả năng chuyển hóa hợp

chất nitrogen, kháng vi khuẩn gây bệnh *Vibrio*...), chúng tôi đã xây dựng quy trình sản xuất chế phẩm sinh học. Từ đó, ứng dụng các chế phẩm này trở lại địa điểm bị ô nhiễm để xử lý nước nuôi tôm, góp phần phát triển bền vững và bảo vệ môi trường sinh thái.

Hoạt tính của vi khuẩn oxy hóa amonium

Chúng tôi đã phân lập được 7 chủng vi khuẩn *Nitrosomonas* sp. có khả năng chuyển hóa ammonium, 4 chủng tại thị trấn Sịa (QĐ, VQĐ, TQĐ và QQĐ) và 3 chủng tại xã Phú Mỹ (PV, PM 4 và PM 5). Để có thể lựa chọn chủng có hoạt tính cao nhất, chúng tôi tiến hành đánh giá khả năng chuyển hóa nitrogen của các chủng vi khuẩn trên môi trường có nguồn nitrogen duy nhất $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Khả năng oxy hóa ammonium của các chủng này đã được đánh giá trong phòng thí nghiệm sau 20 ngày nuôi lắc trên môi trường dịch thể, tốc độ 180 vòng/phút. Kết quả cho thấy, hàm lượng ammonium được chuyển hóa cao nhất bởi 2 chủng QĐ và PV, đạt lần lượt là 89 và 87% (tương đương giảm 177 và 173 mg/l). Tiếp đến là chủng QQĐ và TQĐ, 2 chủng này có khả năng sử dụng 55% amonium, chủng VQĐ giảm 26% lượng amonium. Hai chủng phân lập từ Phú Mỹ có khả năng chuyển hóa amonium thấp nhất, PM4 giảm 24% và PM5 chỉ giảm 20% (Hình 1). Như vậy, tất cả các chủng phân lập được từ các hồ nuôi tôm đều có khả năng chuyển hóa NH_4 , nhưng 2 chủng QĐ và PV có khả năng chuyển hóa ammonium cao nhất, vì thế chúng tôi lựa chọn 2 chủng này để ứng dụng tạo chế phẩm Nitrobact.

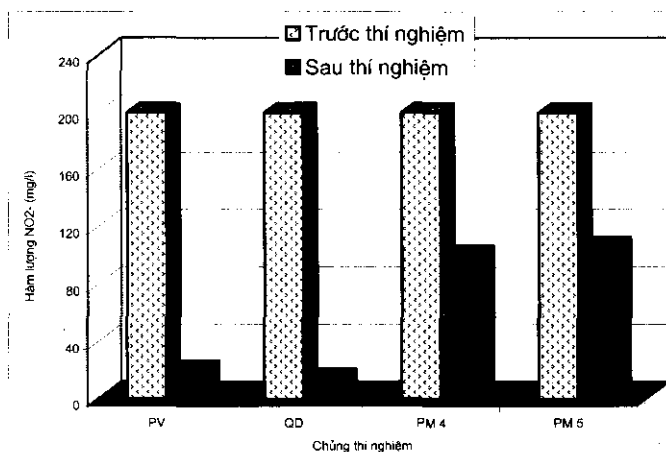


Hình 1. Khả năng chuyển hóa NH_4^+ của vi khuẩn oxy hóa ammonium.

Khả năng chuyển hóa NO_2^- của vi khuẩn oxy hóa nitrit

Quá trình này được thực hiện bởi các vi khuẩn thuộc chi *Nitrobacter*, chúng tôi đã tiến hành thử nghiệm ở quy mô phòng thí nghiệm 4 chủng vi khuẩn (PV, QĐ, PM4 và PM5), sau 22 ngày nuôi lắc

trên môi trường khoáng có bổ sung NaNO_2 như nguồn nitrogen duy nhất, hai chủng *Nitrobacter* sp. PV và QĐ chuyển hóa được 180 và 186 mg/l NO_2^- (đạt 90 và 93%). Hai chủng PM4 và PM5 đã chuyển hóa được 100 và 106 mg/l NO_2^- (50 - 53%). Các chủng này đều phát triển và có hoạt tính tốt ở nhiệt độ 28 - 30°C, pH 7 - 8, độ mặn 0 - 3 % (Hình 2).



Hình 2. Khả năng chuyển hóa NO_2^- của vi khuẩn oxy hóa nitrite.

Khả năng chuyển hoá NO_3^- của vi khuẩn khử nitrate

Cũng từ các hồ nuôi tôm, chúng tôi đã phân lập được một số chủng có khả năng chuyển hóa nitrate thành nitrogen phân tử. Kết quả thí nghiệm với 3 chủng *Oceanimonas denitrificans* TĐ3, *Bacillus subtilis* KK và *Bacillus* sp. KK cho thấy, chủng *Oceanimonas denitrificans* có khả năng chuyển hóa NO_3^- cao nhất. Sau 60 h nuôi cấy, chủng này đã chuyển hóa được 1270 mg/l NO_3^- (99,53%). Hai chủng còn lại tuy chuyển hóa chậm hơn nhưng bên cạnh hoạt tính khử nitrate còn có khả năng ức chế vi khuẩn gây bệnh *Vibrio* rất mạnh, các kết quả được trình bày ở phần tiếp theo. Nhiệt độ, pH và độ mặn thích hợp cho sự phát triển và hoạt tính cao của các chủng này là 20 - 37°C, pH 7 - 8 và độ mặn 0 - 3%.

Khả năng kháng *Vibrio* của các chủng lựa chọn

Các chủng vi khuẩn có khả năng kháng *Vibrio* lựa chọn bao gồm *Bacillus* sp. KK, *Bacillus subtilis* KK, *Lactobacillus buchneri* DC4 và *Lactococcus lactis* CC4K. Hai chủng *Bacillus* sp. KK và *Bacillus subtilis* KK phát triển tốt ở 28 - 35°C, pH 7,2 - 7,5; độ muối 0,5 - 1,5% (Nguyễn Liều Ba et al., 2003; Torsten,

2005). Hai chủng *Lactobacillus buchneri* DC4 và *Lactococcus lactis* CC4K phát triển tốt ở 28-30°C, pH 6,5 - 7,0; độ muối từ 0,5 - 1,5%. Khả năng kháng vi khuẩn gây bệnh *Vibrio* của 4 chủng lựa chọn được trình bày ở bảng 1, từ đó lựa chọn những chủng có khả năng kháng khuẩn tốt nhất (*Bacillus subtilis* KK và *Lactococcus lactis* CC4K) để định hướng sử dụng các chủng này trong việc sản xuất chế phẩm (Lại Thúy Hiền et al., 2006; Phan Anh, 2000).

Thành phần các vi khuẩn sử dụng trong chế phẩm

Sau khi đã đánh giá được một tập hợp các chủng vi khuẩn có hoạt tính cao và ổn định, chúng tôi vẫn liên tục kiểm tra hoạt tính và nhân nhanh số lượng các nhóm vi khuẩn này để tạo ra các loại chế phẩm phù hợp, có thể sử dụng tốt tại chính nơi phân lập ra các chủng vi khuẩn hữu ích này. Chế phẩm của chúng tôi bao gồm 2 loại: Nitrobact 1 và Nitrobact 2 với số lượng các loại vi khuẩn đạt 10^8 - 10^9 CFU/gr chế phẩm.

* Thành phần các chủng vi khuẩn sử dụng trong chế phẩm Nitrobact 1: *Nitrosomonas* sp. QĐ, *Nitrobacter* sp. QĐ, *Oceanimonas denitrificans* TĐ3, *Bacillus subtilis* KK

* Thành phần các chủng vi khuẩn sử dụng trong chế phẩm Nitrobact 2: *Nitrosomonas* sp. PV, *Nitrobacter* sp. PV, *Oceanimonas denitrificans* TD3, *Bacillus* sp. KK

Bảng 1. Khả năng kháng *Vibrio* trong hồ nuôi tôm của các chủng nghiên cứu.

<i>Vibrio</i> gây bệnh	Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)			
	<i>Bacillus</i> sp. KK	<i>Bacillus subtilis</i> KK	<i>Lactobacillus buchneri</i> DC4	<i>Lactococcus lactis</i> CC4K
<i>V. parahaemolyticus</i> HH1	20	25	14	20
<i>V. harvey</i> NC5-1	-	21	-	13
<i>V. vulnificus</i> HH2	-	32	-	12
<i>V. furnisii</i> VT14-1	20	28	15	13

Kết quả thử nghiệm chế phẩm tại thị trấn Sịa

Trên cơ sở điều tra các loại chế phẩm đã được sử dụng nhiều trong thời gian qua tại địa bàn tỉnh Thừa Thiên - Huế, chúng tôi lựa chọn 4 loại chế phẩm: Nitrobact 1 và 2, Microzyme và Bio-bacter để thử nghiệm theo dõi và đánh giá. Vì các hồ nuôi tôm tại thị trấn Sịa có sẵn, chọn các hồ ngẫu nhiên với quy mô vừa phải để thí nghiệm (Viện đã được các chủ hộ nuôi đồng ý cho thử nghiệm tại 5 hồ nuôi với diện tích 0,5 ha/hồ). Về nguyên tắc thử nghiệm: tạo điều kiện nuôi tôm đồng đều trong các hồ, yếu tố khác nhau duy nhất là sử dụng các chế phẩm sinh học khác nhau. Trong đó, có 4 hồ sử dụng chế phẩm và 1 hồ đối chứng không sử dụng bất cứ một chế phẩm nào.

Kết quả phân tích các chỉ số hóa lý trong các hồ nuôi tôm

Chúng tôi tiến hành phân tích các chỉ số hóa lý trong các hồ nuôi tôm. Kết quả được trình bày ở bảng 2.

Các hồ nuôi sau 3 tháng thả tôm có pH khá ổn định, tuy có tăng nhưng vẫn nằm trong giới hạn cho phép, riêng hồ QĐ 05 có pH cao nhất là 8,35. Nếu để giá trị pH tăng quá cao sẽ là điều kiện thuận lợi cho tảo phát triển mạnh, gây ngạt cho tôm nuôi. Độ mặn ở các hồ cũng thay đổi theo chiều hướng tăng cao hơn nhưng vẫn ở trong khoảng điều kiện tốt cho tôm phát triển. Độ điện hóa giảm nhưng vẫn duy trì ở giá trị dương là điều kiện thuận lợi cho vi khuẩn chuyển hóa hợp chất chứa nitrogen phát triển. Kết quả Eh này cũng hợp lý vì sau 3 tháng nuôi thả, hàm lượng oxy trong nước đã giảm đi đáng kể. Như vậy, sau một thời gian nuôi thả các chỉ số hóa lý không có nhiều thay đổi, tạo sự ổn định trong suốt quá trình

nuôi thả tôm.

Kết quả phân tích số lượng vi sinh vật sau khi thử nghiệm chế phẩm

Sau khi thả tôm, các chế phẩm được đưa vào đồng loạt theo đúng quy trình. Số lượng các nhóm vi sinh vật được theo dõi thường xuyên trong 5 đợt (2 đợt trước khi thả tôm và 3 đợt sau khi thả tôm kết hợp dùng chế phẩm). Trong khuôn khổ bài báo này, chúng tôi trình bày kết quả 3 đợt phân tích, số lượng vi sinh vật sau 3 tháng thả tôm ở các hồ nuôi có nhiều thay đổi so với trước lúc sử dụng chế phẩm: Số lượng vi khuẩn hiếu khí từ 10^6 - 10^8 CFU/ml (tăng từ 10 - 100 lần so với trước lúc thả chế phẩm), riêng hồ đối chứng số lượng vi khuẩn hiếu khí hầu như không thay đổi. Vi khuẩn lên men tuy số lượng không tăng nhiều nhưng vẫn duy trì ở mức cao, các hồ sử dụng chế phẩm sinh học có số lượng vi khuẩn lên men cao hơn so với đối chứng. Số lượng vi khuẩn gây hại khử sulfate trong các hồ QĐ 02, QĐ 03 (sử dụng chế phẩm Nitrobact) giảm 10 lần, các hồ QĐ 04, QĐ 05 số lượng vi khuẩn vẫn giữ nguyên, riêng hồ đối chứng thì số lượng vi khuẩn gây hại này tăng lên 100 lần. Ngoài vi khuẩn gây hại, nhóm vi khuẩn gây bệnh *Vibrio* trong các ao đối chứng QĐ 01 tăng lên từ 10 - 100 lần, các hồ còn lại sử dụng chế phẩm thì số lượng *Vibrio* giảm 10 lần. Như vậy có thể nhận thấy, số lượng các loại vi khuẩn hữu ích tồn tại trong các hồ thí nghiệm khá cao và ít thay đổi so với ban đầu, nhưng ở hồ đối chứng, vi khuẩn hữu ích lại có xu hướng giảm xuống. Vi khuẩn gây hại *Vibrio* ở 2 hồ thử nghiệm chế phẩm Nitrobact của Viện Công nghệ sinh học không tăng, chứng tỏ sự hoạt động tích cực của các vi khuẩn kháng *Vibrio* trong chế phẩm (Bảng 3).

Bảng 2. Phân tích các chỉ số pH, độ mặn, Eh của các mẫu nước nuôi tôm sau khi thả tôm 3 tháng kết hợp với xử lý chế phẩm.

Hồ	Chế phẩm sử dụng	pH			Độ mặn (‰)			Eh (mV)		
		Đợt 1	Đợt 2	Đợt 3	Đợt 1	Đợt 2	Đợt 3	Đợt 1	Đợt 2	Đợt 3
QĐ 01	Đối chứng	7,81	7,90	8,30	5,7	5,0	10,8	110	133	70
QĐ 02	Nitrobact 1	7,69	7,90	8,12	5,4	5,0	9,4	140	134	83
QĐ 03	Nitrobact 2	8,01	8,20	8,28	5,7	3,4	10,2	150	103	80
QĐ 04	Mycrozyme	8,05	8,05	8,15	5,1	6,0	10,6	85	119	73
QĐ 05	Bio - bacter	7,95	8,10	8,35	5,7	5,0	7,8	90	134	64

Đợt 1: 3/07 (trước thử nghiệm), Đợt 2: 06/07, Đợt 3: 07/07 (sau thử nghiệm).

Bảng 3. Thành phần, số lượng vi khuẩn trong các hồ nuôi tôm sau khi thả tôm kết hợp với các chế phẩm sinh học qua các đợt khảo sát.

Hồ	Chế phẩm sử dụng	Hiếu khí			Lên men			Nitrite hóa			Nitrate hóa		
		Đợt 1	Đợt 2	Đợt 3	Đợt 1	Đợt 2	Đợt 3	Đợt 1	Đợt 2	Đợt 3	Đợt 1	Đợt 2	Đợt 3
QĐ 01 a	Đối chứng	5.10 ⁶	5.10 ⁶	5.10 ⁶	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁴	10 ²	10 ²	5.10 ²	5.10 ⁴	10 ⁶
QĐ 02 b		10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁴	10 ³	10 ²	10 ³	5.10 ⁵	5.10 ⁶
QĐ 02 a	Nitrobact 1	5.10 ⁵	10 ⁷	10 ⁸	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁵	10 ³	10 ³	10 ⁴	5.10 ²	10 ⁵	10 ⁶
QĐ 02 b		10 ⁶	10 ⁸	10 ⁸	10 ⁶	10 ⁸	5.10 ⁷	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ³	10 ⁶	10 ⁶
QĐ 03 a	Nitrobact 2	5.10 ⁴	5.10 ⁶	10 ⁶	10 ⁴	5.10 ⁵	10 ⁶	10 ³	10 ³	10 ³	10 ²	10 ⁵	5.10 ⁴
QĐ 03 b		10 ⁷	10 ⁸	5.10 ⁸	10 ⁷	10 ⁸	10 ⁸	10 ⁴	10 ⁴	10 ³	5.10 ²	10 ⁶	5.10 ⁵
QĐ 04 a	Mycrozyme	5.10 ⁵	5.10 ⁵	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁴	5.10 ²	10 ¹	10 ²	10 ²	5.10 ³	10 ⁵
QĐ 04 b		5.10 ⁶	10 ⁸	10 ⁸	10 ⁸	10 ⁸	10 ⁸	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ⁶	10 ⁵
QĐ 05 a	Bio-bacter	5.10 ⁴	5.10 ⁶	5.10 ⁷	5.10 ⁴	10 ⁶	10 ⁵	10 ³	10 ²	10 ²	5.10 ³	10 ⁵	10 ⁵
QĐ 05 b		5.10 ⁶	10 ⁸	10 ⁸	5.10 ⁶	10 ⁸	10 ⁸	10 ⁴	10 ³	10 ³	5.10 ³	10 ⁶	10 ⁶

Hồ	Chế phẩm sử dụng	Khử Nitrate			KSF			Vibrio		
		Đợt 1	Đợt 2	Đợt 3	Đợt 1	Đợt 2	Đợt 3	Đợt 1	Đợt 2	Đợt 3
QĐ 01 a	Đối chứng	5.10 ³	10 ³	5.10 ²	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ¹	10 ³	10 ³
QĐ 02 b		5.10 ⁴	10 ⁴	5.10 ³	5.10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸	2.10 ²	10 ⁴	4.10 ⁴
QĐ 02 a	Nitrobact 1	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ³	10 ⁴	10 ⁴	10 ²	10 ²	5.10 ¹
QĐ 02 b		10 ⁴	10 ⁵	10 ⁵	5.10 ⁷	5.10 ⁶	5.10 ⁶	2.10 ²	2.10 ²	3.10 ²
QĐ 03 a	Nitrobact 2	5.10 ³	10 ⁴	10 ⁴	5.10 ³	5.10 ³	10 ⁴	2.10 ¹	10 ³	10 ²
QĐ 03 b		5.10 ⁴	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁵	4.10 ²	10 ³	4.10 ²
QĐ 04 a	Mycrozyme	5.10 ³	10 ²	10 ²	10 ⁴	5.10 ⁴	10 ⁴	2.10 ²	10 ³	10 ²
QĐ 04 b		10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	5.10 ⁶	5.10 ⁶	5.10 ⁶	7.10 ²	10 ⁴	10 ⁴
QĐ 05 a	Bio-bacter	10 ⁴	10 ³	10 ²	5.10 ³	10 ³	10 ⁴	4.10 ²	10 ³	10 ²
QĐ 05 b		5.10 ⁴	10 ⁵	10 ³	10 ⁶	10 ⁶	5.10 ⁵	8.10 ²	2.10 ³	7.10 ³

Ghi chú: a. mẫu nước (CFU/ml), b. mẫu bùn (CFU/g). Đợt 1: 3/07 (trước thử nghiệm), Đợt 2: 6/07, Đợt 3: 7/07 (sau thử nghiệm)

Trong quá trình nuôi thả, ngoài theo dõi sự biến động số lượng của các loại vi sinh vật trong hồ nuôi, chúng tôi cũng quan sát thấy hiện tượng tôm trong hồ đối chứng bị mắc phải một số bệnh như đứt râu, đen mang và đóng rêu. Ngược lại, trong tất cả những ao thử nghiệm chế phẩm sinh học còn lại, không quan sát thấy có biểu hiện bị nhiễm bệnh của tôm.

Kết quả thu hoạch tôm tại khu nuôi tôm thị trấn Sịa - huyện Quảng Điền

Các hồ nuôi ban đầu khá đồng đều nhau về môi trường nước, không có khác biệt gì đáng kể. Sau khi dùng chế phẩm sinh học, các hồ thử nghiệm đều có màu nước sáng, trong xanh tự nhiên, thích hợp cho quá trình nuôi tôm, hồ đối chứng không sử dụng chế phẩm màu nước đục, đen, đóng rêu nhiều, bùn đáy ô nhiễm (Bảng 4). Kết quả thu hoạch tôm cho thấy hiệu quả nổi bật của các hồ có sử dụng chế phẩm sinh học, sản lượng thu hoạch tôm ở các hồ sử dụng chế phẩm đều cao hơn so với hồ đối chứng (hơn từ 30 - 35%). Tôm trong các ao thử nghiệm chế phẩm sinh học phát triển đồng đều, to, có màu sáng bóng,

khỏe mạnh, không bị nhiễm bệnh do virus. Như vậy, tính về lợi ích kinh tế thì 3 hồ có số lượng tôm trung bình cao từ 41-50 con/kg là 3 hồ sử dụng chế phẩm Nitrobact 1, Nitrobact 2 và Bio-bacter.

Kết quả thử nghiệm chế phẩm Nitrobact tại đây tuy không cho kết quả thu hoạch tốt bằng các thử nghiệm trước đó ở Hoàng Hóa và Nông Công, Thanh Hóa (hồ thử nghiệm chế phẩm do Viện Công nghệ sinh học sản xuất đạt 2000 - 3000 kg/ha) (Lai Thủy Hiền *et al.*, 2007). Tuy nhiên, theo số liệu chúng tôi được biết thì mấy năm qua hồ của ông Quốc (QĐ 03) và ông Vọng (QĐ 02) cho sản lượng thu hoạch không cao, vì vậy lợi ích kinh tế thu được chỉ là hòa hoặc lãi ít. Nhưng trong vụ nuôi thả năm nay, do nuôi trồng đúng kỹ thuật và ứng dụng chế phẩm sinh học để xử lý nước nuôi tôm nên năng suất thu hoạch tôm đã tăng và thu lãi cao hơn các năm trước. Vì thế kết quả sử dụng chế phẩm sinh học xử lý nước nuôi tôm tại thị trấn Sịa đã thể hiện nhiều ưu điểm và cho năng suất cao. Do đó, chúng tôi khuyến cáo sử dụng chế phẩm Nitrobact hoặc Bio-bacter để làm sạch nước nuôi tôm, giúp tôm khỏe mạnh, tăng năng suất (Bảng 4).

Bảng 4. So sánh kết quả thu hoạch tôm trong các hồ thí nghiệm tại thị trấn Sịa.

Hồ	Màu nước hồ	Đặc điểm của tôm	Số lượng trung bình (con/kg)	Sản lượng thu hoạch (kg/ha)
QĐ 01 (Đối chứng)	Nước hồ xanh đen. Hồ đóng rêu nhiều nên tôm có hiện tượng thiếu oxy	Tôm không đều, sẫm màu và có biểu hiện bị bệnh đứt râu	70	800
QĐ 02 (Nitrobact 1)	Nước xanh trong sáng đẹp tự nhiên, đáy hồ sạch	Tôm khỏe, phát triển đều, không bị các bệnh do virus gây ra	41	1200
QĐ 03 (Nitrobact 2)	Nước trong xanh, pH ổn định, môi trường nước ít biến động	Tôm lành lợi, màu sáng bóng	50	1100
QĐ 04 (Mycrozyme)	Giữ được màu nước, đáy hồ không bị ô nhiễm	Tôm có màu xanh đẹp, phát triển đồng đều.	65	1100
QĐ 05 (Bio-bacter)	Nước hồ trong, xanh, màu nước đẹp	Tôm sáng, phát triển đều	50	1100

So sánh giá thành của các chế phẩm sinh học

Chúng tôi tiến hành so sánh giá thành các loại chế phẩm sinh học được thử nghiệm tại thị

trấn Sịa (Bảng 5). Về hoạt lực sử dụng, chế phẩm Nitrobact và Bio-bacter tương tự nhau nhưng về giá thành chế phẩm Bio-bacter đắt hơn hai lần so với chế phẩm Nitrobact. Chế phẩm Mycrozyme

có giá thành trung bình nhưng kết quả thử nghiệm tại vùng nuôi tôm Thừa Thiên - Huế tỏ ra chưa có hiệu quả. Như vậy, chế phẩm Nitrobact của Viện Công nghệ sinh học sản xuất vừa đạt hiệu lực cao vừa có hiệu quả kinh tế so với các chế phẩm khác.

Qua các lần thử nghiệm chế phẩm vi sinh vật hữu ích bản địa ở Thanh Hóa từ năm 2005 và Thừa Thiên - Huế năm 2007 đã khẳng định ưu thế của các chế phẩm này trong xử lý nước nuôi tôm, đồng thời góp phần phát triển sản xuất và giữ gìn môi trường sinh thái bền vững.

Bảng 5. So sánh giá thành các loại chế phẩm sinh học thử nghiệm.

TT	Tên chế phẩm	Số lượng 1 vụ (1 ha)	Đơn giá (VNĐ)	Thành tiền 1 vụ (VNĐ)
1	Nitrobact	30 kg	80.000	2.400.000
2	Bio-bacter	80 kg	70.350	5.628.000
3	Mycrozyme	40 kg	70.000	2.800.000

KẾT LUẬN

Đã phân lập từ các mẫu nước và bùn hồ nuôi tôm Quảng Điền và Phú Vang, Thừa Thiên - Huế được 7 chủng vi khuẩn oxy hóa ammonium, 4 chủng vi khuẩn oxy hóa nitrite, 3 chủng vi khuẩn khử nitrate, 4 chủng vi khuẩn kháng *vibrio*.

Từ các chủng vi khuẩn có hoạt tính cao đã lựa chọn được một số chủng để sản xuất hai chế phẩm Nitrobact 1 và 2. Đã cung cấp 2 chế phẩm tự tạo này cho cơ sở nuôi tôm thị trấn Sịa, huyện Quảng Điền, tỉnh Thừa Thiên - Huế.

Kết quả thử nghiệm so sánh các loại chế phẩm cho thấy, chế phẩm Nitrobact 1 và 2 vừa có hiệu quả trong xử lý ô nhiễm nước nuôi tôm vừa có hiệu quả kinh tế so với các loại chế phẩm cùng loại.

Lời cảm ơn: Tập thể tác giả xin cảm ơn Sở Khoa học và Công nghệ Thừa Thiên - Huế đã cung cấp kinh phí thực hiện đề tài. Đồng thời cảm ơn bà con xã viên, Ủy ban nhân dân thị trấn Sịa, Quảng Điền và Công ty cổ phần Nuôi trồng thủy sản huyện Phú Vang đã giúp đỡ chúng tôi trong suốt quá trình thực nghiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Đỗ Thu Phương, Vương Thị Nga, Nguyễn Thị Yên, Phạm Thị Hằng, Đặng Phương Nga, Lại Thủy Hiền (2005) Nghiên cứu biến động số lượng vi sinh vật và lựa chọn một số vi khuẩn có ích từ nước ao nuôi tôm công nghiệp Hoàng Hóa, Thanh Hóa. *Những vấn đề Nghiên cứu cơ bản trong Khoa học sự sống*: 1014-1018.

Nguyễn Chu Hồi (2003) Một số định hướng phát triển thủy sản bền vững ở Việt Nam. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Biển* 3(3): 1-8.

Nguyễn Liêu Ba, Võ Thị Thứ, La Thị Nga, Trương Bá Hùng, Nguyễn Minh Dương (2003) Đặc điểm sinh học của một số chủng *Bacillus* và *Lactobacillus* có khả năng ứng dụng để xử lý môi trường nuôi tôm, cá. *Hội nghị Công nghệ Sinh học Toàn quốc*: 388-391.

Lại Thủy Hiền, Nguyễn Thị Yên, Đỗ Thu Phương, Nguyễn Bá Tú, Phạm Thị Hằng, Vương Thị Nga, Kiều Quỳnh Hoa, Đặng Phương Nga (2006) Đa dạng *Vibrio* trong nước nuôi tôm công nghiệp Thanh Hoá. *Hội nghị khoa học Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, lần IV, Tiểu ban Liên ngành Công nghệ Môi trường và Phát triển bền vững*: 339-348.

Lai Thuy Hien, Dang Phuong Nga, Do Thu Phuong, Vuong Thi Nga, Pham Thi Hang, Kieu Quynh Hoa, Nguyen Thi Yen, Nguyen Ba Tu, Tran Dinh Man, Nguyen Phuong Thao (2007) Application of indigenous probiotic bacteria for shrimp aquaculture in Thanhhoa province. *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 5(1): 115-121.

Lại Thủy Hiền, Trần Đình Mẫn (2007) Một số kết quả nghiên cứu khu hệ vi sinh vật đầm phá, ven biển miền Trung và sự cần thiết nghiên cứu vi sinh vật tại các đầm phá Thừa Thiên - Huế. *Kỷ yếu hội thảo Quốc gia về đầm phá Thừa Thiên - Huế*: 430-438.

Phan Anh (2000) Nghiên cứu một số bệnh và tác nhân gây bệnh ở tôm sú (*Penaeus monodon* F) nuôi tại đầm phá Thừa Thiên - Huế. *Báo cáo khoa học Hội nghị Sinh học Quốc gia*: 479-483.

Torsten S (2005) *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific function. *Mol Microbiol* 56(4): 845-857.

Verschuere L, Rombaut G, Sorgeloos P, Verstraete W (2000) Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiol Mol Biol Rev* 64(4): 655-571.
Vương Thị Nga, Phạm Thị Hằng, Đặng Phương Nga,

Lại Thúy Hiền (2005) Đặc điểm một số chủng vi khuẩn nitrit hoá và nitrat hoá từ nước nuôi tôm công nghiệp ven biển Thanh Hóa và Khánh Hòa. *Những vấn đề Nghiên cứu cơ bản trong Khoa học sự sống*: 661-665.

STUDY ON NITROBACT PROBIOTIC PRODUCTION APPLYING IN SHRIMP AQUACULTURE IN THUATHIENHUE PROVINCE

Lai Thuy Hien¹*, Nguyen Ba Tu¹, Do Thu Phuong¹, Pham Thi Hang¹, Nguyen Thi Yen¹, Vuong Thi Nga¹, Vo Mai Huong², Pham Ngoc Lan², Nguyen Thu Thuy², Bui Le Thanh Nhan²

¹Institute of Biotechnology, Vietnamese Academy of Science and Technology

²University of Science, Hue University

SUMMARY

Recently, probiotic products have received great interests of aquaculture industry due to its safety for cultured species and environment of farming areas. However, the expenditure for application of probiotic, about 6 millions VND/ha/crop is still rather high to shrimp farmers. Using native probiotic bacteria for aquaculture is not only cost effective but also helps maintaining microbial communities of shrimp farming areas and protecting the environment. We selected several native bacteria from shrimp ponds and marine water in coastal zone, capable of inhibiting pathogenic bacteria *Vibrio*, oxidizing ammonia/nitrite or reducing nitrate to form Nitrobact-1 and Nitrobact-2 probiotics. Comparison of our new probiotics with Microzyme and Bio-bacter probiotics having main components similar to our probiotics, in 2.5 ha shrimp farm in Quangdien district, Thuathienhue province. Applying the new probiotic is half price lower and gives higher productivity in comparison with other probiotics.

Keywords: Aquaculture, probiotics, native probiotic bacteria, useful microorganisms, shrimp farming water, Nitrobact

* Author for correspondence: Tel: 84-4-37562000; Fax: 84-4-37564483; E-mail: hien.pm@ibt.ac.vn