



DOI:10.22144/ctu.jvn.2020.163

ẢNH HƯỞNG CỦA TẦN SUẤT SỬ DỤNG OZONE ĐẾN TỶ LỆ SỐNG VÀ BIẾN THÁI CỦA ẤU TRÙNG CUA BIỂN (*Scylla paramamosain*)

Nguyễn Việt Bắc^{1,2*} và Vũ Ngọc Út¹

¹Khoa Thủy Sản, Trường Đại học Cần Thơ

²Trường Cao đẳng Cộng đồng Cà Mau

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Nguyễn Việt Bắc (email: nvbac87@gmail.com)

ABSTRACT

Effects of different application frequencies of ozone disinfection on metamorphosis and survival rate of mud crab larvae (*Scylla paramamosain*) were carried out to improve the production and survival rate of mud crab larviculture. The experiment was conducted with four treatments in triplicates including (1) control (using iodine) and ozone disinfection at (2) every day; (3) every 2 days, and (4) every 3 days. The larvae were stocked in 50 L tanks at a density of 200 larvae/L. The ozone generator (4g/h) supplied ozone for the tanks through 3 vinyl pipes connected with air stones. The results showed that total bacteria count, *Vibrio* count and parasitic prevalence in ozone disinfected treatment were 2.2×10^3 cfu/mL, 0.20×10^3 cfu/mL and 4,86%, respectively; and were the highest compared to others ($p < 0.05$). The metamorphosis and total length of all larval stages in the treatments applying ozone were significantly higher than the control treatment ($p < 0.05$). Survival rate of Crab-1 in every 2 days ozone disinfected treatment was the highest (10,5 %) and significantly higher than that of other treatments ($p < 0.05$). The results suggested that ozone disinfection could be applied every 2 days in mud crab larviculture to control bacteria and parasitic infection without compromising on the larval survival.

TÓM TẮT

Nghiên cứu ảnh hưởng của tần suất xử lý ozone đến tỷ lệ sống và biến thái của ấu trùng cua biển (*Scylla paramamosain*) được thực hiện nhằm nâng cao năng suất và tỷ lệ sống trong ương ấu trùng cua biển. Thí nghiệm gồm 4 nghiệm thức với tần suất xử lý ozone khác nhau gồm (1) đối chứng, (2) xử lý ozone 1 ngày/lần, (3) xử lý ozone 2 ngày/lần và (4) xử lý ozone 3 ngày/lần. Mật độ ấu trùng bố trí trong thí nghiệm là 200 con/L. Máy ozone có công suất 4 g/h, lắp với 3 vòi sục có gắn đá bọt. Kết quả thí nghiệm cho thấy, mật độ vi khuẩn tổng, *Vibrio* và tỷ lệ nhiễm ký sinh trùng trên ấu trùng sau khi xử lý ozone thấp nhất ở nghiệm thức tần suất 1 ngày/lần, lần lượt là $2,2 \times 10^3$ cfu/mL, $0,20 \times 10^3$ cfu/mL và 4,86% khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) với các nghiệm thức còn lại. Chỉ số biến thái, tăng trưởng về chiều dài của ấu trùng qua các giai đoạn ở các nghiệm thức có xử lý ozone cao hơn ($p < 0,05$) so với nghiệm thức đối chứng. Tỷ lệ sống đến Cua 1 cao nhất ở nghiệm thức xử lý ozone với tần suất 2 ngày/lần (10,5%) khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) với các nghiệm thức còn lại. Kết quả nghiên cứu cho thấy, xử lý ozone với tần suất 2 ngày/lần giúp kiểm soát tốt vi khuẩn và ký sinh mà không ảnh hưởng đến tỷ lệ sống của ấu trùng cua biển.

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 12/07/2020

Ngày nhận bài sửa: 10/09/2020

Ngày duyệt đăng: 28/12/2020

Title:

Effects of different application frequencies of ozone disinfection on metamorphosis and survival rate of mud crab larvae (*Scylla paramamosain*)

Từ khóa:

Ấu trùng, cua biển, ozone, *Scylla paramamosain*

Keywords:

Mud crab, larvae, ozone, *Scylla paramamosain*

Trích dẫn: Nguyễn Việt Bắc và Vũ Ngọc Út, 2020. Ảnh hưởng của tần suất sử dụng ozone đến tỷ lệ sống và biến thái của ấu trùng cua biển (*Scylla paramamosain*). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 56(6B): 237-245.

1 GIỚI THIỆU

Cua biển (*Scylla paramamosain*) là đối tượng thủy sản có giá trị kinh tế cao và được nuôi nhiều nơi trên thế giới, trong đó có Việt Nam. Trong những năm gần đây, diện tích nuôi cua ngày càng mở rộng đã tạo áp lực về nhu cầu nguồn cua giống cho nuôi thương phẩm (De Pedro *et al.*, 2007). Nhằm đảm bảo nguồn cung ứng cua giống cho nhu cầu nuôi thương phẩm, giảm phụ thuộc vào nguồn giống tự nhiên, các giải pháp cải tiến kỹ thuật để xây dựng quy trình sản xuất giống đã được áp dụng (De Pedro *et al.*, 2007). Tuy nhiên, tỷ lệ sống của ấu trùng ở các trại giống còn thấp khoảng 5 – 11% (Trần Ngọc Hải và Nguyễn Thanh Phương, 2009) do trong quá trình ương, ấu trùng bị nhiễm nấm (Lavilla and Peña, 2004), nguyên sinh động vật (Dat, 1999), nhiễm bệnh *Vibrio harveyi* từ cua mẹ mang trứng hoặc từ nguồn nước ương ấu trùng (Lavilla-Pitogo *et al.*, 2000). Bên cạnh đó, việc lạm dụng thuốc kháng sinh và thuốc diệt khuẩn trong các trại sản xuất giống để kiểm soát mầm bệnh trên đối tượng nuôi đã hình thành nên các chủng vi khuẩn kháng thuốc (Talpur *et al.*, 2011), đã gây ảnh hưởng lớn đến nghề nuôi trồng thủy sản (Mezhoud *et al.*, 2016). Trong khi đó, ozone đã được báo cáo là có hiệu quả cao trong khử trùng mầm bệnh trên cá tôm như vi khuẩn, nấm, virus và nguyên sinh động vật (Von Gunten, 2003; Tạ Văn Phương, 2006), phân hủy nhanh và ít để lại tồn lưu cho môi trường (Von Gunten, 2003). Các nghiên cứu gần đây cho thấy, xử lý ozone trong các hệ thống ương, nuôi đã cải thiện được tỷ lệ sống và tăng trưởng của loài cá hồi *Oncorhynchus mykiss* (Good *et al.*, 2011) và tôm sú *Penaeus monodon* (Meunpol *et al.*, 2003; Trần Thị Kiều Trang và *ctv.*, 2006) nhưng có rất ít thông tin về ứng dụng ozone trong ương ấu trùng cua biển (Nghia *et al.*, 2007). Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá hiệu quả của việc xử lý ozone lên tỷ lệ sống và biến thái của ấu trùng cua biển *S. paramamosain* nhằm tăng tỷ lệ sống và năng suất của ấu trùng cua biển.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Bảng 1: Chế độ cho ăn (Nghia *et al.*, 2007)

Thức ăn	Giai đoạn ấu trùng					Mega	Liều lượng
	Z1	Z2	Z3	Z4	Z5		
Rotifer (luân trùng) giàu hóa	■	■	■	■	■	■	10 – 20 con/mL
Artemia bung dù (Vinh Châu)	■	■	■	■	■	■	0,9 con/ml
Artemia giàu hóa	■	■	■	■	■	■	1,5 – 3 con/mL
Frippak 150	■	■	■	■	■	■	3 g/m ³ /lần

2.1 Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên trong hệ thống xô nhựa 50 L, ấu trùng cua sau khi nở có tính hướng quang tốt được chọn để bố trí thí nghiệm với mật độ 200 con/L và được xử lý ozone với các tần suất khác nhau theo 4 nghiệm thức với 3 lần lặp lại bao gồm (1) đối chứng (xử lý kháng sinh Neomycin 2 ppm/ngày trong 3 ngày liên tiếp của đầu giai đoạn Zoea 1, Megalop và iodine 1 ppm/lần/3 ngày – đối chứng); (2) xử lý ozone 1 ngày/lần; (3) xử lý ozone 2 ngày/lần; và (4) xử lý ozone 3 ngày/lần. Máy ozone có công suất 4 g/h (Ozone Max, OMZ-4), lắp với 3 vòi sục khí. Mỗi vòi sục khí được gắn với một viên đá bọt và được đặt trực tiếp vào mỗi 3 xô nhựa 50 lít/lần. Hàm lượng ozone trong bể được đo liên tục bằng máy đo ozone (DOZ-30) đến khi bể ương đạt nồng độ 0,05 ppm thì ngừng sục khí ozone vào bể.

Nước sử dụng trong thí nghiệm có độ mặn 30 ‰, được pha từ nguồn nước máy và nước ót có độ mặn 75 – 100 ‰. Nước sau khi pha 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, bể ương được sục khí liên tục và thay nước 3 ngày/lần với tỷ lệ 25%. Thí nghiệm được kết thúc sau khi ấu trùng chuyển sang giai đoạn Cua 1 hoàn toàn.

Ấu trùng cua được cho ăn luân trùng và 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. DHA (Protein Selco của INVE Bi, thành phần gồm protein: min 27%; lipid: min 29%; n-3 HUFA min 80 mg/g khối lượng khô, DHA/EPA = 2) và vitamin C được dùng để giàu hóa luân trùng trong thời gian từ 6 – 8 giờ, với liều lượng 0,6 g DHA/500.000 luân trùng/lít nước và 1 g Vitamin C/lít nước có độ mặn 30 ‰. Ấu trùng artemia intar II được giàu hóa từ 8 – 12 giờ, với liều lượng 0,6 g DHA/200.000 artemia/L và 1 g Vitamin C/L.

2.2 Theo dõi và thu mẫu các chỉ tiêu

Nhiệt độ và pH được đo hàng ngày bằng máy DYS-DMT 50, DO được đo bằng máy 987A2-PD MIC (Đài Loan) lúc 7h và 14h. TAN và NO₂⁻ được xác định mỗi 3 ngày/lần bằng phương pháp indophenol blue và dianozium (APHA, 1995).

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

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

Ký sinh trùng trên ấu trùng cua biển cũng được theo dõi định kỳ 3 ngày/lần bằng cách thu 100 ấu trùng cua/bể và quan sát trực tiếp trên kính hiển vi (Novex B Serris) với độ phóng đại 400 lần. Mức độ nhiễm ký sinh trùng và nấm được xác định theo công thức:

$$\text{Mức độ nhiễm (\%)} = \frac{\text{Số ấu trùng bị nhiễm}}{\text{Tổng số ấu trùng quan sát}} \times 100\%$$

Chiều dài tổng của ấu trùng Zoea 1, Zoea 2, Zoea 3, Zoea 4, Zoea 5, Megalop được xác định bằng kính hiển vi quang học có thước đo trực vi thị kính. Đối với giai đoạn cua con thì chiều rộng mai (CW) được xác định. Số lượng ấu trùng và cua được xác định trong mỗi nghiệm thức là 30 con.

Chỉ số biến thái của ấu trùng được xác định cách mỗi 2 ngày/lần bằng cách dùng cốc thủy tinh 250 mL thu đầy nước trong bể (được sục khí đều), mỗi bể được thu 3 lần, với số lượng ấu trùng trong cốc dao động khoảng 40 đến 60 con/cốc/lần. Chỉ số biến thái của ấu trùng cua biển được xác định bằng phương pháp thu toàn bộ số ấu trùng có trong cốc và quan sát trực tiếp trên kính lúp có độ phóng đại 20x – 40x (Optika – Italia). Chỉ số biến thái được tính theo công thức.

$$\text{LSI} = \frac{N_1 \times n_1 + N_2 \times n_2 + \dots + N_i \times n_i}{n_1 + n_2 + \dots + n_i}$$

Trong đó, 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 các giai đoạn Zoea được xác định cách mỗi 3 ngày/lần bằng cách dùng cốc thủy tinh 250 mL thu đầy nước trong bể (được sục khí đều), mỗi bể được thu 3 lần và đếm toàn bộ số ấu trùng có trong cốc, riêng tỷ lệ sống ở giai đoạn

Megalopa và Cua 1 được xác định bằng cách đếm toàn bộ số lượng của mỗi giai đoạn có trong bể. Tỷ lệ sống được tính bằng công thức:

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

Số liệu thu được tính giá trị trung bình và độ lệch chuẩn bằng phần mềm Excel và phân tích thống kê ANOVA một nhân tố sử dụng phép thử Duncan bằng chương trình SPSS 16.0 ở mức ý nghĩa thống kê (p<0,05).

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Các yếu tố môi trường

Biến động các yếu tố môi trường của các bể trong suốt quá trình ương ấu trùng cua biển được trình bày trong (Bảng 2), nhìn chung các yếu tố môi trường đều nằm trong phạm vi thích hợp. Nhiệt độ giữa các nghiệm thức dao động trong khoảng 27,5 – 29,4 °C. Nhiệt độ là yếu tố quan trọng trong sản xuất giống giáp xác, có liên quan rất lớn đến sự lột xác và phát triển của ấu trùng cua biển (Li *et al.*, 1999). Nhiệt độ trong khoảng 29 – 30°C sẽ rút ngắn thời gian lột xác và biến thái của ấu trùng (Dat, 1999; Quintio *et al.*, 2001). pH trong suốt thời gian thí nghiệm dao động rất thấp giữa buổi sáng và buổi chiều, trong khoảng 8,04 – 8,08. Theo Nguyễn Cơ Thạch (1998), pH tối ưu cho sự phát triển và biến thái của ấu trùng cua là 7,5 – 8,5. Hàm lượng oxy hòa tan dao động rất ít giữa các nghiệm thức, chỉ dao động trong khoảng 5,39 đến 5,41 mg/L vào buổi sáng và từ 6,15 đến 6,18 vào buổi chiều. Theo Trần Ngọc Hải và Trương Trọng Nghĩa (2004), ấu trùng cua biển phát triển tốt khi hàm lượng oxy dao động từ 6,4-7,2 mg/L.

Hàm lượng TAN và nitrit trung bình ở các nghiệm thức dao động lần lượt trong khoảng 0,75 – 1,98 mg/L và 0,15 – 0,25 mg/L. Trong đó, hàm lượng TAN và nitrit ở các nghiệm thức xử lý ozone thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa (p<0,05) so với các nghiệm thức đối chứng. Trong môi trường nước, ozone phản ứng trực tiếp hoặc gián tiếp với ammoniac và nitrit tạo thành N₂ (đối với ammoniac) và nitrat đối với NO₂ (Tanaka and Matsumura, 2003), nên hàm lượng ammonia và nitrit ở các nghiệm thức có xử lý ozone luôn ở mức thấp. Theo Seneriches – abiera (2007), nồng độ NO₂⁻ an toàn cho tất cả các giai đoạn ấu trùng cua biển không vượt quá 2,99 mg/L. Theo Nghĩa *et al* (2007), TAN trong bể ương ấu trùng cua không nên vượt quá 1 mg/L. Như vậy, các nghiệm thức xử lý ozone có hàm lượng TAN khá thấp và trong khoảng thích hợp cho sự phát triển của ấu trùng cua biển.

Bảng 2: Biến động môi trường nước ương trong thời gian thí nghiệm

Nghiệm thức	Thời gian	Nhiệt độ (°C)	pH	DO (mg/L)	TAN (mg/L)	NO ₂ (mg/L)
Đôi chứng	Sáng	27,5 ± 0,2	8,05 ± 0,04	5,39 ± 0,06	1,98 ± 1,17 ^d	0,25 ± 0,22 ^c
	Chiều	29,2 ± 0,5	8,08 ± 0,05	6,15 ± 0,06		
Xử lý ozone 1 ngày/lần	Sáng	27,6 ± 0,2	8,05 ± 0,13	5,41 ± 0,04	0,75 ± 0,54 ^a	0,15 ± 0,11 ^a
	Chiều	29,2 ± 0,4	8,06 ± 0,04	6,18 ± 0,04		
Xử lý ozone 2 ngày/lần	Sáng	27,6 ± 0,2	8,05 ± 0,09	5,40 ± 0,14	0,96 ± 0,57 ^b	0,19 ± 0,16 ^b
	Chiều	29,3 ± 0,5	8,06 ± 0,04	6,16 ± 0,10		
Xử lý ozone 3 ngày/lần	Sáng	27,6 ± 0,3	8,04 ± 0,09	5,39 ± 0,12	1,26 ± 0,84 ^c	0,19 ± 0,18 ^b
	Chiều	29,4 ± 0,5	8,07 ± 0,04	6,16 ± 0,09		

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

3.2 Biến động mật độ vi khuẩn tổng và *Vibrio* spp. trong nước ương ấu trùng

Bảng 3 cho thấy mật độ vi khuẩn tổng trước khi xử lý và sau khi xử lý cao nhất ở nghiệm thức đôi chứng lần lượt là $46,7 \times 10^3$ cfu/mL và $43,2 \times 10^3$ cfu/mL cao hơn đáng kể so với các nghiệm thức xử lý ozone ($p < 0,05$). Mật độ vi khuẩn tổng trước và sau khi xử lý ozone dao động trong khoảng $11,6 \times 10^3$ đến $21,4 \times 10^3$ cfu/mL và $2,2 \times 10^3$ đến $14,8 \times 10^3$ cfu/mL. Hiệu quả diệt vi khuẩn tổng thấp nhất ở nghiệm thức đôi chứng (17,2%) thấp hơn rất nhiều so với các nghiệm thức được xử lý bằng ozone ($p < 0,05$) (dao động trong khoảng 74,8 – 76%). Nguyên nhân do thời gian thu mẫu sớm (khoảng 10 phút sau khi xử lý kháng sinh hoặc iodine) dẫn đến hiệu quả diệt vi khuẩn tổng ở nghiệm thức đôi chứng thấp. Theo Tạ Văn Phương (2006), ozone có khả năng diệt đến 91,7% tổng vi khuẩn sau 5 phút xử lý ozone ở nồng độ 0,045 ppm (CT=0,225). Tuy nhiên,

hiệu quả diệt vi sinh vật của ozone phụ thuộc vào nồng độ và thời gian mà vi sinh vật tiếp xúc với ozone (Coman *et al.*, 2005). Chính vì vậy, hiệu quả diệt vi khuẩn tổng của ozone trong thí nghiệm này là khá thấp từ 74,8 – 76% là do thời gian nồng độ ozone 0,05 ppm duy trì trong bể ương thấp chỉ khoảng 3 phút (CT=0,15), điều này đã ảnh hưởng đến hiệu quả diệt khuẩn của ozone. Kết quả ở Bảng 3 cũng cho thấy, tần suất xử lý ozone càng thấp thì mật độ vi khuẩn tổng đến cuối thí nghiệm càng cao là do chúng không ngừng gia tăng mật độ giữa những khoảng thời gian không xử lý ozone. Theo Kenedy *et al* (2006), trong điều kiện bình thường (không xuất hiện bệnh do vi khuẩn) thì mật độ vi khuẩn tổng trong bể ương cao hơn 10^5 cfu/mL. Trong thí nghiệm này, mật độ vi khuẩn tổng sau khi xử lý ozone khá thấp và dao động từ $2,2 \times 10^3$ – $14,8 \times 10^3$ cfu/mL. Điều này chứng tỏ hiệu quả của ozone trong việc hạn chế sự phát triển vi khuẩn trong bể ương.

Bảng 3: Biến động mật độ vi khuẩn trước và sau khi xử lý ozone

Nghiệm thức	Đôi chứng	Xử lý ozone 1 ngày/lần	Xử lý ozone 2 ngày/lần	Xử lý ozone 3 ngày/lần
Mật độ vi khuẩn tổng (10^3 cfu/mL)				
Trước khi xử lý ozone	46,7 ± 8,2 ^c	11,6 ± 0,3 ^a	11,2 ± 1,4 ^a	21,4 ± 3,1 ^b
Sau khi xử lý ozone	43,2 ± 7,4 ^c	2,2 ± 0,2 ^a	5,9 ± 0,8 ^a	14,8 ± 2,1 ^b
Hiệu quả diệt khuẩn tổng (%)	17,2 ± 2,1 ^a	76,0 ± 1,8 ^b	74,8 ± 1,0 ^b	75,3 ± 0,9 ^b
Mật độ vi khuẩn <i>Vibrio</i> spp. (10^3 cfu/mL)				
Trước khi xử lý ozone	4,96 ± 0,53 ^c	0,88 ± 0,07 ^a	1,08 ± 0,19 ^a	1,82 ± 0,11 ^b
Sau khi xử lý ozone	4,77 ± 0,52 ^c	0,20 ± 0,02 ^a	0,54 ± 0,0 ^a	1,21 ± 0,06 ^b
Hiệu quả diệt khuẩn <i>Vibrio</i> (%)	8,7 ± 0,9 ^a	76,9 ± 1,2 ^b	77,0 ± 1,7 ^b	78,4 ± 0,6 ^b

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

Tương tự, mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp. trước và sau khi xử lý luôn ở mức cao nhất ở nghiệm thức đôi chứng, lần lượt là $4,96 \times 10^3$ cfu/mL và $4,77 \times 10^3$ cfu/mL cao hơn đáng kể so với các nghiệm thức xử lý ozone ($p < 0,05$) (dao động trong khoảng $0,88 \times 10^3$ đến $1,82 \times 10^3$ cfu/mL và $0,20 \times 10^3$ đến $1,21 \times 10^3$ cfu/mL) (Bảng 3). Hiệu quả diệt vi khuẩn *Vibrio*

spp. trong thí nghiệm này thấp nhất ở nghiệm thức đôi chứng (8,7%) so với các nghiệm thức xử lý ozone ($p < 0,05$). Các nghiệm thức xử lý ozone diệt được 76,9 – 78,4% *Vibrio* spp., tuy nhiên, khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) giữa các nghiệm thức xử lý ozone. Liltved *et al.*, (1995) cho rằng việc xử lý ozone với nồng độ 0,15 – 0,2 ppm trong thời

gian 60 giây có thể diệt được đến 99% vi khuẩn *Vibrio* trong nước. Tương tự, Tạ Văn Phương (2006) cũng báo cáo rằng mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp. được loại bỏ hoàn toàn, khi nồng độ ozone trong bể ương tôm đạt 0,255 ppm. Trong thí nghiệm này, nồng độ ozone xử lý trong bể ương ấu trùng là 0,05 ppm thấp hơn rất nhiều so với các báo cáo trước đây nên hiệu quả diệt *Vibrio* spp. cũng thấp hơn kết quả của các báo cáo trước đây. Điều này dẫn đến mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp. có xu hướng càng tăng cao ở các nghiệm thức có tần suất xử lý ozone thưa là do vi khuẩn còn sống sẽ tiếp tục gia tăng mật số với 2 đơn vị log/ngày (Quinitio *et al.*, 2001). Theo Radjasa *et al.*, (2001) thì vi khuẩn *Vibrio* phân bố chủ yếu trong môi trường nước mặn. Chúng thường xâm nhập và gây bệnh trên mang, gan tụy, ruột và máu của các loài giáp xác (Kannapiran *et al.*, 2009). Tuy nhiên, chỉ có những chủng vi khuẩn *Vibrio* có độc lực cao mới có khả năng gây bệnh trên các đối tượng thủy sản (Lighter, 1993). Theo Trần Thế Mưu và Vũ Văn Sáng (2016) thì ấu trùng cua biển rất mẫn cảm với *Vibrio harveyi* và chúng sẽ phát bệnh sau 48h tiếp xúc với vi khuẩn *V. harveyi* ở mật độ $6,0 \times 10^3$ cfu/mL. Do đó, mật độ vi khuẩn *V. harveyi* trong bể ương ấu trùng cua biển không được lớn hơn 10^2 cfu/mL (Lavilla-Pitogo *et al.*, 2000) nhằm hạn chế khả năng gây hại của vi khuẩn. Theo Trần Thị Tuyết Hoa và *ctv.* (2004), khả năng gây bệnh của *Vibrio* tùy thuộc vào từng chủng vi khuẩn *Vibrio* nhưng mật độ vi khuẩn *Vibrio* trong bể ương trong khoảng $10^5 - 10^7$ cfu/mL sẽ gây độc cho hầu hết ấu trùng thủy sản. Kết quả thí nghiệm này cho thấy, mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp. sau khi xử lý ozone trong các bể thí nghiệm khá cao ($0,20 \times 10^3 - 1,21 \times 10^3$ cfu/mL) nhưng chưa ảnh hưởng bất lợi đến ấu trùng.

3.3 Tỷ lệ nhiễm protozoa trên ấu trùng

Bảng 4 cho thấy tỷ lệ nhiễm protozoa cao nhất ở nghiệm thức đối chứng (16,40 %) khác biệt có ý

nghĩa ($p < 0,05$) với các nghiệm thức có xử lý ozone. Tỷ lệ nhiễm bệnh protozoa thấp nhất ở nghiệm thức xử lý ozone với tần suất 1 ngày/lần (4,86 %) khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) với nghiệm thức xử lý ozone với tần suất 2 ngày/lần (5,36 %), nhưng khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) với nghiệm thức xử lý ozone với tần suất 3 ngày/lần. Kết quả đã cho thấy tỷ lệ nhiễm bệnh trên ấu trùng cua biển có sự khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) (Bảng 4). Tuy nhiên, khi quan sát ấu trùng trên kính hiển vi cho thấy, ấu trùng chỉ nhiễm *Zoothamnium* sp. với số lượng từ 1 đến 3 cá thể protozoa/ấu trùng. Vì vậy cường độ nhiễm bệnh protozoa trên ấu trùng luôn ở mức thấp ở tất cả các nghiệm thức (Bảng 4). Theo Lavilla-Pitogo *et al.* (2000), các sinh vật đơn bào thuộc các chi như: *Vorticella*, *Epistylis*, *Zoothamnium* phân bố rộng rãi và gây bệnh trên nhiều đối tượng giáp xác. Wu and Feng (2004) đã báo cáo rằng ấu trùng cua *Eriocheir sinensis* có tỷ lệ chết rất cao khi nhiễm bệnh *Zoothamnium* sp. Hoạt động bơi lội và tỷ lệ sống của ấu trùng tôm sú *Penaeus monodon* cũng bị ảnh hưởng lớn khi nhiễm *Zoothamnium* sp. (Babu, 2013). Jithendran *et al.* (2010) đã báo cáo rằng các loài nguyên sinh động vật như: *Epistylis* sp., *Zoothamnium* sp., *Acineta* sp. và *Vorticella* sp. thường xuất hiện và gây bệnh cho ấu trùng cua biển trong quá trình sản xuất giống. Chúng thường ký sinh trên các phụ bộ của ấu trùng gây cản trở quá trình bơi lội, bắt mồi, gây trở ngại cho quá trình lột xác và ấu trùng chết hàng loạt (Lavilla-Pitogo *et al.*, 2000; Dat, 1999; Jithendran *et al.*, 2010). Tuy nhiên, chúng chỉ thường xuất hiện và gây bệnh trên ấu trùng cua biển khi chất lượng nước bể ương giàu hữu cơ và vật chất dinh dưỡng (Jithendran *et al.*, 2010). Kết quả trình bày ở Bảng 1 cho thấy hàm lượng TAN và NO_2^- cao nhất ở nghiệm thức đối chứng có thể là nguyên nhân dẫn đến tỷ lệ nhiễm protozoa trên ấu trùng cua biển ở nghiệm thức này cao nhất.

Bảng 4: Tỷ lệ nhiễm protozoa trên ấu trùng cua

Nghiệm thức	Tỷ lệ nhiễm (%)	Cường độ nhiễm bệnh
Đối chứng	16,40±0,94 ^c	+
Xử lý ozone 1 ngày/lần	4,86±0,42 ^a	+
Xử lý ozone 2 ngày/lần	5,36±0,91 ^a	+
Xử lý ozone 3 ngày/lần	8,50±1,37 ^b	+

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

3.4 Chỉ số biến thái của ấu trùng cua biển

Bảng 5 cho thấy chỉ số biến thái của ấu trùng ở các nghiệm thức xử lý ozone thường cao hơn và

khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) so với nghiệm thức đối chứng.

Bảng 5: Chỉ số biến thái của ấu trùng cua biển

Ngày	Đối chứng	Xử lý ozone 1 ngày/lần	Xử lý ozone 2 ngày/lần	Xử lý ozone 3 ngày/lần
1	1,00 ± 0,00 ^a	1,00 ± 0,00 ^a	1,00 ± 0,00 ^a	1,00 ± 0,00 ^a
3	1,05 ± 0,01 ^a	1,26 ± 0,06 ^b	1,35 ± 0,07 ^b	1,28 ± 0,04 ^b
5	1,76 ± 0,04 ^a	1,84 ± 0,07 ^{ab}	1,97 ± 0,10 ^b	1,90 ± 0,04 ^b
7	2,46 ± 0,05 ^a	2,50 ± 0,07 ^a	2,85 ± 0,06 ^c	2,70 ± 0,03 ^b
9	2,95 ± 0,02 ^a	2,95 ± 0,05 ^a	2,98 ± 0,03 ^a	2,99 ± 0,02 ^a
11	3,53 ± 0,04 ^a	3,82 ± 0,06 ^b	3,95 ± 0,02 ^c	3,86 ± 0,01 ^b
13	4,54 ± 0,05 ^b	4,32 ± 0,04 ^a	4,83 ± 0,04 ^c	4,60 ± 0,04 ^b
15	4,93 ± 0,04 ^a	4,92 ± 0,04 ^a	4,97 ± 0,02 ^a	4,94 ± 0,03 ^a
17	5,12 ± 0,05 ^a	5,35 ± 0,07 ^b	5,79 ± 0,02 ^c	5,74 ± 0,02 ^c
19	6,00 ± 0,00 ^a	6,00 ± 0,00 ^a	6,00 ± 0,00 ^a	6,00 ± 0,00 ^a
21	6,00 ± 0,00 ^a	6,00 ± 0,00 ^a	6,00 ± 0,00 ^a	6,00 ± 0,00 ^a
23	6,07 ± 0,04 ^a	6,22 ± 0,03 ^b	6,28 ± 0,06 ^b	6,24 ± 0,03 ^b
25	6,67 ± 0,05 ^a	6,72 ± 0,11 ^a	6,87 ± 0,03 ^b	6,72 ± 0,02 ^a
27	7,00 ± 0,00 ^a	7,00 ± 0,00 ^a	7,00 ± 0,00 ^a	7,00 ± 0,00 ^a

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

Ngoài ra, Bảng 5 cũng cho thấy ấu trùng Megalop xuất hiện sau 15 ngày ương và biến thái hoàn toàn từ Zoea 5 sang Megalop sau 19 ngày ương; sau 27 ngày ương ấu trùng lột xác hoàn toàn sang Cua 1. Nguyên nhân có thể là do hàm lượng TAN và Nitrit ở nghiệm thức đối chứng cao hơn các nghiệm thức xử lý ozone, nên độc tính của amonia và nitrit đã làm giảm tăng trưởng của ấu trùng (Miranda-Filho *et al.*, 2009). Chỉ số biến thái của ấu trùng trong thí nghiệm này phù hợp với các báo cáo trước đây (Nghia *et al.*, 2007; Phạm Văn Quyết và Trương Trọng Nghĩa, 2010). Scolding *et al* (2012) đã báo cáo rằng tỷ lệ lột xác của ấu trùng tôm hùm được cải thiện đáng kể khi chúng tiếp xúc với nồng độ ozone 15 ppb. Kết quả này đã góp phần quan trọng trong thực tế sản xuất giống cua biển vì ấu trùng càng lột xác đồng loạt ở giai đoạn Megalop và Cua 1 thì càng hạn chế được hiện tượng ăn nhau và hao hụt ở các giai đoạn này.

Bảng 6: Chiều dài (mm) các giai đoạn ấu trùng cua biển

Nghiệm thức	Đối chứng	Xử lý ozone 1 ngày/lần	Xử lý ozone 2 ngày/lần	Xử lý ozone 3 ngày/lần
Zoea 1	1,63±0,00	1,63±0,00	1,63±0,00	1,63±0,00
Zoea 2	2,17±0,01 ^a	2,17±0,02 ^a	2,17±0,01 ^a	2,17±0,01 ^a
Zoea 3	2,69±0,01 ^a	2,71±0,00 ^b	2,71±0,01 ^b	2,68±0,00 ^a
Zoea 4	3,63±0,03 ^a	3,70±0,02 ^b	3,70±0,01 ^b	3,71±0,00 ^b
Zoea 5	4,48±0,04 ^a	4,54±0,01 ^b	4,55±0,00 ^b	4,54±0,02 ^b
Megalop	4,13±0,04 ^a	4,24±0,07 ^b	4,24±0,02 ^b	4,23±0,02 ^b
Cua 1	3,18±0,01 ^a	3,24±0,02 ^b	3,24±0,01 ^b	3,25±0,02 ^b

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

Tương tự, chiều rộng mai (CW) của Cua 1 ở nghiệm thức đối chứng thấp nhất (3,18 mm) và khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) so với các nghiệm thức xử lý ozone. Theo các báo cáo trước đây thì kích cỡ ấu

3.5 Tăng trưởng của ấu trùng cua biển qua các giai đoạn

Chiều dài ấu trùng cua biển khác biệt không có ý nghĩa ($p > 0,05$) ở giai đoạn Zoea 1 và Zoea 2 giữa các nghiệm thức (Bảng 6). Tuy nhiên vào giai đoạn Zoea 3, chiều dài của ấu trùng ở nghiệm thức xử lý ozone 1 ngày/lần và 2 ngày/lần cao nhất (2,71 mm) khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với nghiệm thức còn lại. Vào giai đoạn Zoea 4 đến giai đoạn Megalop, chiều dài ấu trùng ở nghiệm thức đối chứng luôn thấp nhất và khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) so với các nghiệm thức xử lý ozone. Chiều dài ấu trùng từ Zoea 4 đến Megalop có sự chênh lệch giữa các nghiệm thức xử lý ozone, tuy nhiên không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ($p > 0,05$).

trùng của giai đoạn Zoea 5 và Cua 1 thông thường là 3,67 – 4,12 mm và 2,0 – 3,1 mm (Nghia *et al.*, 2007; Phạm Văn Quyết và Trương Trọng Nghĩa, 2010). Kết quả nghiên cứu cho thấy xử lý ozone trong quá

trình ương đã cải thiện tăng trưởng của ấu trùng do ozone đã cải thiện được chất lượng nước ương, hạn chế được ký sinh trùng và vi khuẩn gây bệnh cho ấu trùng, nên ấu trùng bắt mồi và phát triển tốt hơn. Bên cạnh đó, xử lý ozone trong quá trình ương đã cho kích thước Cua 1 tương đối đồng đều (3,24 – 3,25 mm), điều này có ý nghĩa quan trọng trong thực tế sản xuất giống cua vì nó góp phần tăng giá trị Cua 1 khi nuôi và bán ra thị trường.

3.6 Tỷ lệ sống ấu trùng cua biển

Bảng 7 cho thấy tỷ lệ sống của ấu trùng cua ở nghiệm thức đối chứng (1,87%) thấp hơn nhiều so với thực tế trong sản xuất giống cua biển 5 – 11% (Trần Ngọc Hải và Nguyễn Thanh Phương, 2009). Nguyên nhân do trong quá trình ương ấu trùng thì mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp trong bể ương luôn cao hơn các nghiệm thức xử lý ozone. Mặc khác, tỷ lệ nhiễm protozoa trên ấu trùng cũng cao ở nghiệm thức này, có lẽ đây là nguyên nhân làm ấu trùng yếu và ảnh hưởng đến tỷ lệ sống ở các giai đoạn ấu trùng của nghiệm thức. Ngoài ra chỉ số biến thái qua Megalop ở nghiệm thức này thấp, lột xác không đồng loạt dẫn đến tỷ lệ hao hụt cao do ăn nhau. Tỷ lệ sống cao nhất được ghi nhận ở giai đoạn Zoea 5, Megalop và Cua 1 lần lượt là 47,1%, 40,4% và 10,5% ở nghiệm thức xử lý ozone với tần suất 2 ngày/lần, khác biệt có ý nghĩa (p<0,05) so với các nghiệm thức còn lại (Bảng 7). Tỷ lệ sống của ấu

trùng ở các bể xử lý ozone được cải thiện đáng kể so với các bể đối chứng (p<0,05). Điều này phù hợp với các báo cáo trước đây về khả năng cải thiện tỷ lệ sống của ozone khi sử dụng ương ấu trùng giáp xác, nhất là trên tôm sú (Meunpol *et al.*, 2003; Trần Thị Kiều Trang và *ctv.*, 2006; Scolding *et al.*, 2012). Mặc dù tỷ lệ sống của ấu trùng được cải thiện bởi việc xử lý ozone, tần suất xử lý ozone có ảnh hưởng đến tỷ lệ sống của ấu trùng. Tỷ lệ sống đến giai đoạn Cua 1 của nghiệm thức xử lý ozone 1 ngày/lần là 3,38 % thấp hơn (p<0,05) so với xử lý ozone 2 ngày/lần (10,5%) và 3 ngày/lần (6,57%). Nguyên nhân có thể là do trong suốt giai đoạn ương, ấu trùng thường xuyên lột xác, chu kỳ lột xác kéo dài và luôn tồn tại song song 2 giai đoạn ấu trùng (Trần Ngọc Hải và Trương Trọng Nghĩa, 2004) nên khi xử lý ozone thường xuyên hơn thì có thể gây ảnh hưởng trực tiếp đến ấu trùng mới lột xác vẫn còn yếu ớt và có thể gây chết, do đó tỷ lệ sống của ấu trùng trong nghiệm thức này thấp hơn(p<0,05). Tỷ lệ sống Cua 1 ở nghiệm thức xử lý ozone với tần suất 2 ngày/lần là 10,5%. Theo Trần Ngọc Hải và Trương Trọng Nghĩa (2004), tỷ lệ sống của ấu trùng sang Cua 1 tốt nhất đạt 9,11%, khi ấu trùng được ương với mật độ 100 con/L. Cùng với mật độ ương 100 con/L, Phạm Văn Quyết (2008) đã báo cáo tỷ lệ sống từ Zoea 1 đến Cua 1 dao động trong khoảng 9,11% - 9,7%. Như vậy qua kết quả thí nghiệm, việc xử lý ozone đã góp phần cải thiện tỷ lệ sống của ấu trùng.

Bảng 6: Tỷ lệ sống của ấu trùng cua biển qua các giai đoạn

Giai đoạn	Đối chứng	Xử lý ozone 1 lần/ngày	Xử lý ozone 1 lần/2 ngày	Xử lý ozone 1 lần/3 ngày
Zoea 2	62,9 ± 1,6 ^a	76,4 ± 2,3 ^b	85,4 ± 4,5 ^c	79,0 ± 1,5 ^b
Zoea 3	36,9 ± 2,3 ^a	51,3 ± 2,7 ^b	65,3 ± 1,7 ^c	63,3 ± 2,5 ^c
Zoea 4	27,4 ± 0,9 ^a	36,3 ± 1,8 ^b	50,7 ± 3,2 ^c	46,7 ± 2,2 ^c
Zoea 5	22,3 ± 2,3 ^a	33,5 ± 1,2 ^b	47,1 ± 1,5 ^d	43,7 ± 1,4 ^c
Megalop	11,4 ± 3,1 ^a	30,3 ± 1,7 ^b	40,4 ± 2,7 ^c	33,9 ± 1,3 ^b
Cua 1	1,87 ± 0,30 ^a	3,38 ± 0,16 ^a	10,5 ± 1,6 ^c	6,57 ± 0,81 ^b

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

4 KẾT LUẬN

Xử lý ozone giúp giảm hàm lượng TAN, nitrit trong bể ương, làm giảm mật độ vi khuẩn cũng như ký sinh trên ấu trùng cua, qua đó đã góp phần cải thiện chỉ số biến thái và tỷ lệ sống của ấu trùng, đặc biệt hiệu quả cao nhất khi xử lý ozone với tần suất 2 ngày/lần với nồng độ 0,05 ppm. Do đó, có thể ứng dụng xử lý ozone với tần suất 2 ngày/lần trong thực tế sản xuất giống cua biển.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

APHA (American Public Health Association), 1995. Standard method for the examination of water

and wastewater (19th Edition), Washington DC, American Public Health Association (APHA).

Babu, K.R., 2013. Prevalence of epibiont protozoan communities on *Penaeus monodon* (Fabricius) from the hatchery off visakhapatnam, East Coast of Andhra Pradesh, India. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 3(3): 1-5.

Baumann, P., Baumann, L., Bang, S.S., and Woolkalis, M.J., 1980. Reevaluation of the taxonomy of *Vibrio*, *Beneckeia*, and *Photobacterium*: abolition of the genus *Beneckeia*. *Current Microbiology*, 4 (3): 127 – 132.

De Pedro, J.B., Quintino, E.T., and Parado-Estepa, 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
- Dat, H.D., 1999. Preliminary studies on rearing of the larvae of the mudcrab (*Scylla paramamosain*) in South Vietnam. In: Keenan, C.P. and A.W. Blackshaw (Editors), 1999. Mud crab Aquaculture and Biology. Proceedings of an International Scientific Forum held in Darwin, Australia, 21 - 24 April 1997. ACIAR proceedings No. 78. Watson Ferguson and Company, Brisbane, Australia: 147 - 152.
- Jithendran, K.P.M., Poornima. C., Balasubramanian, P., and Kulasekarapandian., 2010. Diseases of mud crabs (*Scylla spp.*): an overview. *Indian Journal Fish*, 57 (3): 55 – 63.
- Kannapiran. E., Ravindran, J., Chandrasekar, R., and Kalaiarasi, A., 2009. Studies on luminous, *Vibrio harveyi* associated with shrimp culture system rearing *Penaeus monodon*. *Journal of Environmental Biology*. 30 (5): 791-795.
- Lavilla-Pitogo, C.R., Lio-Po, G.D., Cruz-Lacierda, E.R., Alapide-Tendencia, E.V., and de la Peña, L.D., 2000. Diseases of Penaeid Shrimps in the Philippines. Second Edition, Aquaculture Extension Manual No. 16. SEAFDEC, Aquaculture Department, Iloilo, Philippines. 83p
- Li, S., Zeng, C., Tang, H., Li, F., Wang, G., Cheng, Y. and Lin, Q., 1999. Investigations into the reproductive and larval culture biology of the mud crab, *Scylla paramamosain*: a research overview. In: Keenan, C.P. and A.W. Blackshaw (Editors), 1999. Mud crab Aquaculture and Biology. Proceedings of an International Scientific Forum held in Darwin, Australia, 21 - 24 April 1997. ACIAR proceedings No. 78. Watson Ferguson and Company, Brisbane, Australia: 121 - 124.
- Liltved, H., Hektoen, H., and Efraimsen, H., 1995. Inactivation of bacterial and viral fish pathogens by ozonation or UV irradiation in water of different salinity. *Aquacultural Engineering*, 14 (2): 107 - 122.
- Meunpol, O., Lopinyosiri, K., and Menasveta, P., 2003. The effects of ozone and probiotics on the survival of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture*, 220 (1-4): 437 - 448.
- Mezhoud, H., Chantziaras, I., Iguer-Ouada, M., Moula, N., Garmyn, A., Martel, A., and Boyen, F., 2016. Presence of antimicrobial resistance in coliform bacteria from hatching broiler eggs with emphasis on ESBL/AmpC-producing bacteria. *Avian Pathology*, 45(4): 493–500.
- Miranda-Filho, K.C., Leaes Pinho, G.L., Wasielesy, W.J., and Bianchini, A., 2009. Long term ammonia toxicity to the pink-shrimp *Farfantepenaeus paulensis*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 150 (3): 377-382.
- Nghia, T.T., Wille, M., Binh, T.C., Thanh, H.T., Danh, N.V., and Sorgeloos, P., 2007. Improved techniques for rearing mud crab *Scylla paramamosain* (Estampador 1949) larvae. *Aquaculture Research*, 38 (14): 1539 – 1553
- Nguyễn Cơ Thạch, 1998. Đặc điểm sinh học sinh sản và quy trình sản xuất của giống loài *Scylla paramamosain* Estampardo 1949. Tuyển tập các công trình nghiên cứu khoa học công nghệ - trung tâm nghiên cứu thủy sản III: 227 – 266.
- Phạm Văn Quyết và Trương Trọng Nghĩa, 2010. Đặc điểm sinh sản của biển *Scylla paramamosain* tự nhiên và nuôi trong ao. *Tạp chí khoa học Đại học Cần Thơ*, 16a:90 – 99.
- Quinitio, E.T., Parado-Estepa, F.D., Millamena, O.M., Rodríguez, E., and Borlongan, E., 2001. Seed production of mud crab *Scylla serrata* juveniles. *Asian Fisheries Science*, 14 (2): 161 - 174.
- Radjasa, O.K., Urakawa, H., Kita-Tsakamoto, K., and Ohwada, K., 2001. Characterization of psychrotrophic bacteria in the surface and deep-sea waters from the Northwestern Pacific Ocean based on 16S ribosomal DNA analysis. *Marine Biotechnology*, 3 (5): 454-462.
- Seneriches-Abiera, M.L., 2007. Acute toxicity of nitrite to mud crab *Scylla serrata* (Forsska^o) larvae. *Aquaculture Research*, 38 (14): 1495 – 1499.
- Scolding, J.W.S., Powell, A., Boothroyd, D.P., and Shields, R.J., 2012. The effect of ozonation on the survival, growth and microbiology of the European lobster (*Homarus gammarus*). *Aquaculture*, 364 – 365: 217- 223.
- Talpur, A.D., Memon, A.J., Khan, M.I., Ikhwanuddin, M., Danish Daniel, M.M., and Abol Munafi, A.B., 2011. Pathogenicity and antibiotic sensitivity of pathogenic flora associated with the gut of blue swimming crab, *Portunus pelagicus* (Linnaeus, 1758). *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10 (16): 2106-2119.
- Tạ Văn Phương, 2006. Ứng dụng ozone xử lý nước và vi khuẩn *Vibrio spp.* trong bể ương ấu trùng tôm sú. *Tạp chí khoa học. Trường Đại học Cần Thơ*. 25 – 33
- Tanaka, J., and Matsumura, M., 2003. Application of ozone treatment for ammonia removal in spent brine. *Advances in Environmental Research*, 7 (4): 835 – 845.
- Trần Thị Kiều Trang, Trần Công Bình và Trương Quốc Phú, 2006. Xác định nồng độ Ozone thích hợp cho từng giai đoạn ấu trùng và hậu ấu trùng tôm sú (*Penaeus monodon*). *Tạp chí khoa học. Trường Đại học Cần Thơ*, 241 – 249
- Trần Ngọc Hải và Trương Trọng Nghĩa, 2004. Ảnh hưởng của mật độ lên sự phát triển và tỷ lệ sống

- của ấu trùng cua biển (*Scylla paramosain*) trong mô hình nước xanh. *Tạp chí Khoa học - Đại học Cần Thơ*, 187 - 192.
- Trần Ngọc Hải và Nguyễn Thanh Phương, 2009. Hiện trạng kỹ thuật và hiệu quả kinh tế của các trại sản xuất giống cua biển ở Đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Khoa học - Đại học Cần Thơ*, 12: 279 - 288
- Trần Thế Mưu và Vũ Văn Sáng, 2016. Nghiên cứu tác nhân gây bệnh phát sáng do vi khuẩn *Vibrio harveyi* trên ấu trùng và giống cua biển (*Scylla serrata*) trong trại sản xuất giống. *Tạp chí khoa học và Công nghệ biển*, 16 (2): 214 – 219.
- Von Gunten, U., 2003. Ozonation of drinking water: Part I. Oxidation kinetics and product formation. *Water Research*, 37 (7): 1443 - 1467.
- Wu, H.X., and Feng, M.G., 2004. Mass mortality of larval *Eriocheir sinensis* (Decapoda: Grapsidae) population bred under facility conditions: Possible role of *Zoothamnium* sp. (Peritrichida: Vorticellidae) Epiphyte. *Journal of Invertebrate Pathology*, 86 (1-2): 59-60.