



DOI:10.22144/ctu.jvn.2020.127

ẢNH HƯỞNG CỦA TẦN SUẤT XỬ LÝ OZONE LÊN CHẤT LƯỢNG TRỨNG CUA BIỂN (*Scylla paramamosain*)

Nguyễn Việt Bắc^{1,2*} và Vũ Ngọc Út¹

¹Khoa Thủy Sản, Trường Đại học Cần Thơ

²Bộ môn thủy sản, Trường Cao đẳng Cộng đồng Cà Mau

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

ABSTRACT

This study aimed to determine the appropriate application frequency of ozone for disinfection of incubated eggs of mud crab. The experiment was designed with four treatments and triplicated including (i) control (iodine disinfection), (ii) ozone daily disinfection, (iii) ozone disinfection every 2 days, and (iv) ozone disinfection every 3 days disinfection. Ozone was applied to the rearing tanks through a venturi pump for 60 seconds at a concentration of 0.1 ppm. The results showed the hatching rate and number of larvae in the treatment with daily ozone disinfection were 57.4% and 4.52×10^3 ind. which were not significantly lower than those from the control (62.3% and 5.51×10^3 ind., respectively). Fungus and parasite infection ratios were statistically lower in the treatment exposed to daily ozone disinfection. Total bacteria and *Vibrio* counts on the incubated eggs in treatments with ozone disinfection were significantly lower than those of the control. The results suggested that ozone disinfection could be applied daily in the mud crab hatchery practices.

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định tần suất xử lý ozone thích hợp cho giai đoạn trứng của biển nhằm nâng cao tỷ lệ nở của trứng và tỷ lệ sống của ấu trùng. Bốn nghiệm thức thí nghiệm với tần suất xử lý ozon khác nhau gồm: (i) đối chứng (xử lý iodine), (ii) xử lý ozone 1 ngày/lần, (iii) xử lý ozone 2 ngày/lần và (iv) xử lý ozone 3 ngày/lần. Ozone được sục vào bể ương thông qua máy venturi với nồng độ ozone 0,1 mg/L trong thời gian 60 giây. Kết quả thí nghiệm cho thấy tỷ lệ nở và tổng số ấu trùng thu được ở nghiệm thức sử dụng ozone tần suất 1 ngày/lần là 57,4% và $4,25 \times 10^3$ ấu trùng/g của mẹ thấp hơn không có ý nghĩa ($p > 0,05$) so với nghiệm thức đối chứng lần lượt 62,3% và $5,51 \times 10^3$ ấu trùng/g của mẹ. Nhưng tỷ lệ nhiễm nấm, ký sinh trùng, mật độ vi khuẩn tổng và vi khuẩn vibrio trên trứng của ở nghiệm thức sử dụng ozone 1 ngày/lần thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại. Kết quả nghiên cứu cho thấy, xử lý ozon với tần suất 1 ngày/lần giúp kiểm soát tốt bệnh nấm, vi khuẩn và kí sinh mà không ảnh hưởng đến chất lượng trứng và ấu trùng của biển.

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 29/05/2020

Ngày nhận bài sửa: 12/08/2020

Ngày duyệt đăng: 28/10/2020

Title:

Effects of different application frequencies of ozone disinfection on quality of incubated eggs of mud crab (*Scylla paramamosain*)

Từ khóa:

Ozone, trứng cua biển, xử lý bệnh

Keywords:

Incubated eggs, mud crab, ozone disinfection, *Scylla paramamosain*

Trích dẫn: Nguyễn Việt Bắc và Vũ Ngọc Út, 2020. Ảnh hưởng của tần suất xử lý ozone lên chất lượng trứng của biển (*Scylla paramamosain*). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 56(5B): 176-183.

1 GIỚI THIỆU

Cua biển (*Scylla paramamosain*) là đối tượng thủy sản có giá trị kinh tế cao, phân bố ở vùng ven biển thuộc các nước châu Á, trong đó có Việt Nam (Walton et al., 2006). Trong những năm gần đây, diện tích nuôi cua biển ngày càng tăng dẫn đến nguồn cua giống tự nhiên giảm mạnh vì hoạt động khai thác con giống phục vụ cho nghề nuôi thương phẩm (Nyqvist, 2011). Nhằm giảm phụ thuộc vào nguồn giống tự nhiên và phát triển nghề nuôi cua biển bền vững, các giải pháp cải tiến kỹ thuật để xây dựng quy trình sản xuất giống đã được tập trung nghiên cứu (De Pedro et al., 2007; Nghĩa et al., 2007). Tuy nhiên, tỷ lệ sống của ấu trùng ở các trại giống còn khá thấp do nhiều nguyên nhân như nhiễm nấm trong quá trình ấp trứng (Cholik, 1999), nhiễm nguyên sinh động vật (Cholik, 1999; Dat, 1999), nhiễm vi khuẩn từ cua mẹ và môi trường (Talpur et al., 2011; Wu et al., 2016) và chất lượng nước (Li et al., 2012).

Để hạn chế thiệt hại do bệnh gây ra cho ấu trùng, các trại sản xuất giống sử dụng nhiều loại kháng sinh (De Pedro et al., 2007; Azam and Narayan, 2013), dẫn đến hình thành các dòng vi khuẩn kháng thuốc gây ảnh hưởng lớn ngành nuôi trồng thủy sản và các vấn đề về môi trường (Zhang et al., 2011; Mezhoud et al., 2016). Gần đây, ozone được sử dụng nhiều trong nuôi trồng thủy sản vì hiệu quả sát trùng cao đối với các sinh vật gây bệnh như vi khuẩn, virus, nấm và nguyên sinh động vật (Liltved et al., 2006), phân hủy nhanh và ít để lại tồn lưu cho môi trường (Summerfelt and Hochheimer, 1997; Von Gunten, 2003; Tạ Văn Phương, 2006). Ozone được báo cáo với hiệu quả vượt trội trong việc khử trùng bề mặt vỏ trứng và giúp cải thiện tỷ lệ nở của trứng cá hồi (Liltved et al., 2006; Summerfelt et al. 2009), cá *Argyrosomus japonicus* (Ballagh et al., 2011), tôm he (Sellars et al., 2005; Coman and Sellars, 2007). Hiện nay, có rất ít thông tin về việc ứng dụng ozone trong sản xuất giống cua biển (Nghĩa et al., 2007), trong khi việc xử lý bằng iodine hiện nay hiệu quả không cao, nhất là hiện tượng ấu trùng hao hụt lớn ở 3 ngày đầu sau khi nở. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá hiệu quả của việc xử lý ozone lên chất lượng trứng của biển *S. paramamosain* nhằm tăng hiệu quả ấp trứng, tỷ lệ nở và chất lượng của ấu trùng cua.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên trong bể nhựa 50 L với 4 nghiệm thức và được lặp

lại 3 lần cho mỗi nghiệm thức, trong đó mỗi con cua mang trứng được riêng trong bể nhựa 50 L và được xử lý ozone với các tần suất khác nhau bao gồm (i) không xử lý ozone nhưng sử dụng iodine (đối chứng), (ii) xử lý ozone 1 ngày/lần, (iii) xử lý ozone 2 ngày/lần và (iv) xử lý ozone 3 ngày/lần.

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 bông gòn 1 µm, sau đó đi qua hệ thống đèn UVC (254 nm) và xử lý EDTA (10 g/m³). Độ kiềm được duy trì ở mức 100 – 120 mg CaCO₃/L bằng NaHCO₃.

Cua ôm trứng dùng cho thí nghiệm là cua được nuôi vỗ tại trại thực nghiệm – Trường Cao đẳng Cộng đồng Cà Mau từ nguồn cua cái thành thực (đây gạch, còn nguyên phụ bộ) lựa chọn từ các đầm nuôi tôm quảng canh ở huyện Đầm Dơi - Cà Mau. Cua được cắt mắt và nuôi trong bể 500 L có hệ thống lọc sinh học và được cho ăn sò huyết trong suốt quá trình nuôi vỗ. Sò huyết trước khi cho ăn được tách một bên vỏ rửa sạch và cho ăn theo nhu cầu của cua nuôi vỗ.

Nồng độ ozone và thời gian xử lý trứng của thí nghiệm này được lựa chọn từ kết quả khảo sát của thí nghiệm ảnh hưởng của nồng độ ozon và thời gian xử lý đến tỷ lệ sống trứng cua biển *Scylla paramamosain*. Thí nghiệm này có 16 nghiệm thức gồm 5 nồng độ ozone 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 và 0,5 mg/L với 3 thời gian tiếp xúc là 30; 60 và 120 giây, và một nghiệm thức đối chứng không xử lý ozone. Kết quả thí nghiệm khảo sát cho thấy trứng có tỷ lệ sống cao nhất 100% khi được xử lý bằng ozone với nồng độ 0,1 mg/L trong thời gian 60 giây.

Sau khi đẻ, cua trứng được nuôi riêng từng con trong bể nhựa 50 L và tắm định kỳ theo từng nghiệm thức với nồng độ ozone được lựa chọn từ kết quả khảo sát. Xô dùng để tắm cua mang trứng có 50 L nước được sục khí ozone bằng hình thức sục khí venturi với máy tạo ozone có công suất 4 g/giờ của Ozone Max (OMZ-4) đến nồng độ 0,1 mg/L và được xác định bằng máy đo ozone (DOZ-30). Cua trứng sau khi tắm ozone được chuyển sang bể nhựa 50 L với 100% nước mới để tiếp tục ấp đến khi nở. Riêng nghiệm thức đối chứng thì sử dụng iodine 1 mL/m³ sau mỗi lần thay nước và duy trì nồng độ đó đến khi thay 100% nước mới vào ngày hôm sau.

2.2 Phương pháp thu và tính toán một số chỉ tiêu môi trường và sinh học

Nhiệt độ và pH được đo bằng máy DYS-DMT 50, Oxy hòa tan được đo bằng máy 987A2-PD MIC (Đài Loan) lúc 7 giờ và 14 giờ mỗi ngày.

Mật độ vi khuẩn tổng và vi khuẩn *Vibrio* sp. trên trứng của được xác định hàng ngày trước và sau khi xử lý ozone hoặc iodine (đối chứng). Trứng của biền được thu khoảng 100 – 200 trứng và cho vào ống eppendorf 5 mL sau đó cho 1 mL nước muối sinh lý, dùng pipet đảo đều nước và trứng trong ống eppendorf, sau đó mẫu nước và trứng được thu và cấy trực tiếp lên đĩa hoặc pha loãng rồi cấy trên đĩa. Mẫu nước và trứng được cấy vào đĩa môi trường TCBS đối với vi khuẩn *Vibrio* và môi trường NA đối với vi khuẩn tổng, sau đó được tán đều bởi que tán đến khi đĩa thạch bắt đầu khô. Đĩa thạch được ủ trong tủ áp ở nhiệt độ 28°C và kiểm tra khuẩn lạc trên bề mặt đĩa sau 24 giờ. Số khuẩn lạc tổng cộng được đếm và được tính bằng đơn vị hình thành khuẩn lạc CFU/mL theo công thức:

$$\text{Số tế bào/mL (CFU/mL)} = \text{Số khuẩn lạc} \times \text{độ pha loãng} \times 10$$

Ký sinh trùng và nấm trên trứng của được kiểm tra mỗi ngày bằng cách thu một lượng trứng (khoảng 100 – 200 trứng/cua trứng) từ nhóm trứng đang được ấp dưới bụng của mẹ. Việc kiểm tra và quan sát ký sinh trùng và nấm dưới kính hiển vi (Novex B Serries) với độ phóng đại 400 lần được thực hiện sau khi xử lý ozone hoặc iodine (đối chứng). Mức độ nhiễm ký sinh trùng và nấm được xác định theo công thức:

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

Sức sinh sản tương đối được tính sau khi của nở bằng công thức sau:

$$\text{Tỷ lệ trứng thụ tinh (\%)} = \frac{\text{Số trứng thụ tinh}}{\text{Tổng số trứng đếm được}} \times 100\%$$

Số lượng trứng bị đào thải được xác định hàng ngày trước khi thay hoàn toàn nước trong bể bằng cách siphon và đem cân trọng lượng trứng. Sau đó, lượng trứng đếm từ 0,1 g trứng thải được sử dụng để tính tổng lượng trứng thải. Sau đó, tính tỷ lệ trứng thải theo công thức sau:

$$\text{Tỷ lệ trứng thải} = \frac{\text{Số lượng trứng rơi (trứng/g cua trứng)}}{\text{Sức sinh sản tương đối}} \times 100\%$$

Sau khi nở, ấu trùng được quan sát dưới kính hiển vi ở độ phóng đại 100 lần để xác định tỷ lệ dị hình. Ấu trùng dị hình thường có hiện tượng phần thân bị lõm ở đốt chân bụng thứ nhất, nơi tiếp giáp với giáp đầu ngực của ấu trùng. Ở mỗi nghiệm thức 30 ấu trùng được kiểm tra ngẫu nhiên dưới kính hiển vi và tỷ lệ dị hình được tính theo công thức:

$$\text{Tỷ lệ dị hình (\%)} = \frac{\text{Số ấu trùng dị hình}}{\text{Tổng số ấu trùng quan sát}} \times 100\%$$

Tỷ lệ nở là số ấu trùng zoea 1 được nở ra từ trứng thụ tinh sau thời gian ấp và được xác định theo công thức:

$$\text{Tỷ lệ nở (\%)} = \frac{\text{Số lượng ấu trùng mới nở}}{\text{Số lượng trứng thụ tinh}} \times 100\%$$

Trong đó: số lượng trứng thụ tinh được xác định bằng phương pháp lấy tỷ lệ trứng thụ tinh nhân với sức sinh sản tương đối của cua mẹ.

Chất lượng ấu trùng sau khi nở được đánh giá qua phương pháp gây sốc bằng formalin 100 mL/L trong 30 phút và băng giảm 50% độ mặn trong 2 giờ (Châu Tài Tảo và *ctv.*, 2012). Ấu trùng của được bố trí trong cốc nhựa 1 L với mật độ 100 con/L được lặp lại 3 lần cho mỗi phương pháp gây sốc. Chất lượng ấu trùng được đánh giá dựa trên tỷ lệ số cá thể còn sống sau khi sốc formalin và độ mặn. Nếu tỷ lệ nằm trong khoảng 0 – 50% thì ấu trùng có chất lượng xấu; trong khoảng 50 – 80%: ấu trùng có chất lượng trung bình; từ 80 – 100%: ấu trùng có chất lượng tốt.

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 Biến động các yếu tố môi trường

Nhiệt độ dao động trong buổi sáng và chiều lần lượt là 26,6 – 26,9 °C và 27,9 – 28,4°C, không khác biệt giữa các bể. Trứng và phôi của phát triển chịu ảnh hưởng lớn của nhiệt độ, có thể thích nghi từ 20 – 30°C nhưng thích hợp nhất trong khoảng 26 – 30°C (Li *et al.*, 1999; Mann *et al.*, 1999; Quintino *et al.*, 2001; Hamasaki, 2002). Tương tự, pH ổn định ở mức 8,13 ± 0,02 vào buổi sáng và dao động từ 8,14 – 8,15 vào buổi chiều (Bảng 1), nằm trong khoảng thích hợp 7,5 – 8,0 theo Boyd (1990) và Dat (1999).

Hàm lượng oxy hòa tan ở các nghiệm thức dao động trong khoảng 5,07 – 5,46 mg/L (Bảng 1). Theo Naylor *et al* (1999), nhu cầu oxy của trứng sẽ tăng theo quá trình phát triển. Hàm lượng oxy trong nước thấp sẽ ảnh hưởng đến thời gian ấp, khả năng phát triển và nở đồng loạt của trứng, do đó trong suốt quá trình ấp trứng hàm lượng oxy hòa tan nên duy trì trên 5 mg/L (Dat, 1999; Samuel and Soundarapandian, 2010). Nhìn chung, biến động các yếu tố môi trường giữa các nghiệm thức trong suốt thời gian thí nghiệm đều nằm trong khoảng thích hợp cho quá trình phát triển của trứng.

Bảng 1: Biến động một số các yếu tố môi trường trong hệ thống sau 11 ngày thí nghiệm

Nghiệm thức	Thời gian	Nhiệt độ (°C)	pH	DO (mg/L)
Đôi chứng (Iodine)	Sáng	26,9±0,5	8,13±0,02	5,32±0,06
	Chiều	28,4±0,8	8,15±0,01	5,46±0,11
Xử lý ozone 1 ngày/lần	Sáng	26,8±0,5	8,13±0,02	5,34±0,05
	Chiều	28,4±0,9	8,14±0,01	5,38±0,08
Xử lý ozone 2 ngày/lần	Sáng	26,6±0,4	8,13±0,02	5,33±0,06
	Chiều	28,0±0,8	8,15±0,02	5,37±0,07
Xử lý ozone 3 ngày/lần	Sáng	26,6±0,5	8,13±0,02	5,07±0,10
	Chiều	27,9±0,7	8,15±0,01	5,40±0,08

3.2 Các chỉ tiêu sinh sản

Bảng 2 cho thấy sức sinh sản tương đối của cua khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) giữa các nghiệm thức và dao động trong khoảng $7,62 \times 10^3 - 10,50 \times 10^3$ trứng/g cua mẹ. Sức sinh sản tương đối của cua biến dao động từ 5.787 – 6.000 trứng/g cua mẹ (Nguyễn Cơ Thạch, 1998; Trần Ngọc Hải, 2002).

Tỷ lệ thụ tinh dao động từ 94,2 – 97,0% (Bảng 2) và khác biệt không có ý nghĩa ($p > 0,05$) giữa các nghiệm thức. Theo Phạm Văn Quyết và Trương Trọng Nghĩa (2010), tỷ lệ thụ tinh của cua biến dao động trong khoảng 79 – 95%. Như vậy, kết quả tỷ lệ thụ tinh của nghiên cứu này cũng không khác biệt với các nghiên cứu trước đây.

Bảng 2: Các chỉ tiêu sinh sản của cua mẹ

Nghiệm thức	Sức sinh sản tương đối (10^3 trứng/g cua mẹ)	Tỷ lệ thụ tinh (%)	Tỷ lệ trứng thái (%)	Tỷ lệ nở (%)	Tổng Zoea 1 ($\times 10^3$ ấu trùng/g cua mẹ)
Xử lý iodine	9,53±1,80 ^a	94,2±6,4 ^a	21,6±3,3 ^a	62,3±6,9 ^b	5,51±0,59 ^b
Xử lý ozone 1 ngày/lần	7,62±1,06 ^a	97,0±2,6 ^a	26,0±2,0 ^{ab}	57,4±2,6 ^b	4,25±0,66 ^b
Xử lý ozone 2 ngày/lần	10,50±3,22 ^a	95,3±3,2 ^a	27,4±3,4 ^{ab}	32,2±15,5 ^a	3,44±2,08 ^b
Xử lý ozone 3 ngày/lần	8,23±1,03 ^a	94,0±2,0 ^a	31,7±4,8 ^b	15,5±9,3 ^a	1,20±0,76 ^a

Với mỗi chỉ tiêu, giá trị cùng 1 cột với số mũ khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Tỷ lệ trứng của thái ít nhất (21,6%) ở nghiệm thức không sử dụng ozone và khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) so với các nghiệm thức có sử dụng ozone. Vào thời điểm kết thúc thí nghiệm, tỷ lệ trứng của biến thái ra cao nhất (31,7%) ở nghiệm thức xử lý ozone với tần suất 3 ngày/lần khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) với các nghiệm thức còn lại. Sự khác biệt này là do trứng bị nhiễm ký sinh trùng và nấm, nhất là ở các nghiệm thức có tần suất xử lý ozone thưa hơn (Bảng 3), nên trứng bị đào thải dần trong suốt quá trình ấp (Millamena and Qunitio, 2000).

Tỷ lệ nở ở nghiệm thức xử lý iodine (62,3%) khác biệt không có ý nghĩa ($p > 0,05$) so với nghiệm thức xử lý ozone 1 ngày/lần (57,4%) nhưng khác biệt có ý nghĩa với nghiệm thức 2 ngày/lần (32,2%) và 3 ngày/lần (15,5%). Bảng 2 cho thấy tỷ lệ nở của trứng càng thấp khi tần suất xử lý ozone càng thưa. Nguyên nhân có thể là do tần suất xử lý ozone càng thưa thì số lượng nấm và ký sinh trùng càng tăng dẫn đến tỷ lệ nở của trứng thấp (Kvingedal *et al.*, 2006). Tổng số lượng ấu trùng Zoea 1 ở nghiệm thức xử lý iodine ($5,51 \times 10^3$ ấu trùng/g cua mẹ) khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) so với nghiệm

thức xử lý ozone 1 ngày/lần ($4,25 \times 10^3$ ấu trùng/g cua mẹ) và nghiệm thức xử lý ozone 2 ngày/lần ($3,44 \times 10^3$ ấu trùng/g cua mẹ). Số lượng ấu trùng zoea 1 thấp nhất ($1,20 \times 10^3$ ấu trùng/g cua mẹ) ở nghiệm thức xử lý ozone 3 ngày/lần và khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) so với các nghiệm thức còn lại khi kết thúc thí nghiệm. Như vậy, mặc dù xử lý trứng bằng iodine cho tỷ lệ nở và tổng số zoea 1 cao hơn so với xử lý ozone 1 ngày/lần nhưng khi xử lý cua ôm trứng bằng iodine thì cua ôm trứng phải được ngâm iodine 1 mg/L trong suốt thời gian nuôi. Trong khi đó, thời gian xử lý cua trứng bằng ozone nhanh hơn (chỉ tắm cua trứng trong 60 giây). Mặt khác, Bảng 3 và 4 cũng cho thấy mặc dù được ngâm iodine trong suốt thời gian ấp nhưng tỷ lệ nhiễm ký sinh trùng, nấm và mật độ vi khuẩn trên trứng cao hơn so với xử lý bằng ozone. Ngoài ra, hiện nay khu vực Cà Mau và Bạc Liêu đang gặp khó khăn trong sản xuất cua biển do ấu trùng không thể chuyển sang giai đoạn zoea 2 khi cua trứng được xử lý bằng iodine hoặc sử dụng các dòng kháng sinh như: Ciproloxacin, Cefotaxim, Mycoginax... để phòng và trị bệnh trên cua mang trứng.

3.3 Tỷ lệ nhiễm nấm và ký sinh trùng trên trứng

Sau 11 ngày ấp, tỷ lệ trứng nhiễm ký sinh trùng thấp nhất ở nghiệm thức xử lý ozone với tần suất 1 ngày/lần (8,45%) và khác biệt không có ý nghĩa ($p > 0,05$) với nghiệm thức xử lý iodine (9,05%), nhưng khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) với nghiệm thức xử lý ozone 2 ngày/lần (15,22%) và 3 ngày/lần (16,45%). Tỷ lệ trứng nhiễm nấm cũng cao nhất ở nghiệm thức xử lý ozone 3 ngày/lần (6,67%) khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) với các nghiệm thức còn lại. Tỷ lệ trứng nhiễm nấm thấp nhất ở nghiệm thức xử lý ozone 1 ngày/lần (2,63%) nhưng khác biệt không có ý nghĩa ($p < 0,05$) với nghiệm thức không xử lý ozone (2,79%). Ngoài ra trong quá trình ấp, một số trứng có hiện tượng nhiễm đồng thời giữa nấm và ký sinh trùng (Bảng 3). Tỷ lệ trứng nhiễm đồng thời nấm và ký sinh trùng cũng thấp nhất ở nhóm nghiệm thức xử lý iodine và xử lý ozone 1 ngày/lần, lần lượt là 1,41% và 1,72%, khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) với nhóm xử lý ozone 2 ngày/lần (3,46%) và 3 ngày/lần (3,70%). Theo báo cáo của các nghiên cứu trước đây, trong suốt quá

trình ấp, trứng của biển thường nhiễm nấm *Lagenidium* sp. (Cholik, 1999) và *Zoathamnium* sp. (Cholik, 1999; Dat, 1999) hoặc nhiễm đồng thời giữa ký sinh trùng *Zoathamnium* sp. và nấm *Lagenidium* sp. (Kvingedal *et al.*, 2006). Thông thường để loại bỏ mầm bệnh trên trứng và tăng tỷ lệ nở của trứng, người nuôi thường sử dụng các chất như formalin, H_2O_2 hoặc ozone. Tuy nhiên, việc sử dụng ozone để khử trùng bề mặt vỏ trứng thường được sử dụng và đã đem lại nhiều hiệu quả tích cực (Liltved *et al.*, 2006; Summerfelt *et al.*, 2009). Theo Forneris *et al.* (2003), sử dụng ozone sẽ làm giảm và chậm thời gian phát triển của bệnh, đặc biệt là nấm và protozoa. Tuy nhiên, trứng thụ tinh của các loài khác nhau thì khả năng chịu đựng hàm lượng ozone hòa tan cũng khác nhau. Do đó, cần phải xác định mức độ tiếp xúc với ozone của từng loài cho phù hợp (Grotmol *et al.*, 2003). Như vậy kết quả của nghiên cứu này cho thấy xử lý trứng của trong quá trình ấp bằng ozone với nồng độ 0,1 mg/L trong thời gian 60 giây và tần suất xử lý mỗi ngày (1 ngày/lần) có thể giúp giảm tỷ lệ nhiễm ký sinh trùng và nấm trên trứng đến mức thấp nhất.

Bảng 3: Tỷ lệ nhiễm nấm và ký sinh trùng trên trứng của biển

Nghiệm thức	Tỷ lệ nhiễm ký sinh trùng (%)	Tỷ lệ nhiễm nấm (%)	Tỷ lệ nhiễm đồng thời nấm và ký sinh trùng (%)
Xử lý iodine	9,05±0,77 ^a	2,79±0,13 ^a	1,41±0,10 ^a
Xử lý ozone 1 ngày/lần	8,45±0,55 ^a	2,63±0,05 ^a	1,72±0,26 ^a
Xử lý ozone 2 ngày/lần	15,22±0,31 ^b	5,07±0,41 ^b	3,46±0,21 ^b
Xử lý ozone 3 ngày/lần	16,45±0,77 ^c	6,67±0,51 ^c	3,70±0,91 ^b

Với mỗi chỉ tiêu, giá trị cùng 1 cột với số mũ khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

3.4 Mật độ vi khuẩn trên trứng của biển

Mật độ vi khuẩn cao nhất ở nghiệm thức xử lý iodine ($1,35 \times 10^4$ cfu/mL) khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) với các nghiệm thức xử lý ozone 1 ngày/lần ($0,50 \times 10^4$ cfu/mL), 2 ngày/lần ($0,55 \times 10^4$ cfu/mL) và 3 ngày/lần ($0,73 \times 10^4$ cfu/mL) (Bảng 4). Ozone làm bất hoạt vi khuẩn, nấm và nguyên sinh vật gây bệnh trên nhiều đối tượng thủy sản (Liltved *et al.*, 2006; Summerfelt *et al.*, 2009). Kết quả thí nghiệm đã cho thấy hiệu quả diệt vi khuẩn của ozone lên đến 75,3 – 75,6% sau khi xử lý với nồng độ 0,1 mg/L trong 60 giây (CT = 0,1) và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với nghiệm thức xử lý bằng iodine (64,8%). Tạ Văn Phương (2006) đề nghị sử dụng ozone ở nồng độ 0,045 mg/L trong 5 phút (CT = 0,225) cho hiệu quả diệt vi khuẩn lên đến 91,7%. Điều này cho thấy hiệu quả diệt vi khuẩn gây bệnh phụ thuộc nhiều vào thời gian tiếp xúc hơn là nồng độ ozone. Mặc dù, hiệu quả diệt vi khuẩn tổng trong khoảng 75,3 – 75,6% giữa ba nghiệm thức xử

lý trứng bằng ozone. Tuy nhiên, khi tần suất xử lý ozone càng thưa thì mật độ vi khuẩn trước mỗi chu kỳ xử lý ozone luôn có xu hướng cao hơn là do mật độ vi khuẩn giảm tại thời điểm xử lý ozone nhưng số vi khuẩn còn lại vẫn tiếp tục phát triển cho một hoặc hai ngày sau khi xử lý ozone. Do đó, sau 11 ngày nuôi, mật độ vi khuẩn tổng cao nhất ở nghiệm thức xử lý iodine ($0,48 \times 10^4$ cfu/mL), tuy nhiên khác biệt không có ý nghĩa ($p > 0,05$) so với nghiệm thức xử lý ozone với tần suất 3 ngày/lần ($0,49 \times 10^4$ cfu/mL) và khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) với nghiệm thức xử lý ozone 1 ngày/lần ($0,12 \times 10^4$ cfu/mL) và 2 ngày/lần ($0,26 \times 10^4$ cfu/mL) (Bảng 4).

Tương tự, mật độ vi khuẩn *Vibrio* sp. trước khi sục khí ozone ở các nghiệm thức có xử lý ozone thấp hơn có ý nghĩa ($p < 0,05$) với nghiệm thức đối chứng. Bảng 4 cũng cho thấy hiệu quả diệt vi khuẩn *Vibrio* sp. của ozone khá cao lên đến 76,8 – 77,4% sau khi xử lý ozone với nồng độ 0,1 mg/L trong 60 giây, cao

hơn so với xử lý iodine (59,2%). Liltved *et al.* (1995) cho rằng sử dụng ozone với nồng độ 0,15 –

0,2 mg/L trong thời gian 60 giây sẽ diệt đến 99% vi khuẩn *Vibrio sp.* trong nước.

Bảng 4: Mật độ vi khuẩn tổng và vi khuẩn *Vibrio sp.* trên trứng cua biển

Nghiệm thức	Mật độ vi khuẩn tổng (10^4 cfu/mL)			Mật độ vi khuẩn <i>Vibrio sp.</i> (10^3 cfu/mL)		
	Trước xử lý	Sau xử lý	Tỷ lệ giảm (%)	Trước xử lý	Sau xử lý	Tỷ lệ giảm (%)
Xử lý iodine	1,35±0,30 ^b	0,48±0,11 ^b	64,8±0,4 ^a	1,42±0,26 ^c	0,57±0,09 ^b	59,2±0,3 ^a
Xử lý Ozone 1 ngày/lần	0,50±0,01 ^a	0,12±0,00 ^a	75,5±0,2 ^b	0,41±0,02 ^a	0,09±0,00 ^a	76,8±0,5 ^b
Xử lý Ozone 2 ngày/lần	0,55±0,06 ^a	0,26±0,03 ^{ab}	75,6±0,3 ^b	0,47±0,09 ^a	0,23±0,06 ^a	77,3±0,7 ^b
Xử lý Ozone 3 ngày/lần	0,73±0,32 ^a	0,49±0,21 ^b	75,3±0,5 ^a	0,90±0,27 ^b	0,60±0,19 ^b	77,4±0,7 ^b

Với mỗi chỉ tiêu, giá trị cùng 1 cột với số mũ khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

3.5 Chất lượng ấu trùng

Ấu trùng sau khi nở có tỷ lệ dị hình cao nhất ở nghiệm thức xử lý ozone với tần suất 1 ngày/lần (2,10%) so với nghiệm thức xử lý iodine (0,65%), nghiệm thức xử lý ozone 2 ngày/lần (0,83%) và 3 ngày/lần (0,92%) ($p < 0,05$) (Bảng 5). Theo Beguer *et al.* (2008), hiện tượng dị hình của ấu trùng động vật thủy sản có thể được gây ra bởi các tác động của hóa chất. Tỷ lệ dị hình của cá bột tăng khi trứng cá tiếp xúc với nồng độ ozone thấp trong thời gian dài hoặc với nồng độ ozone cao trong thời gian ngắn (Forneris *et al.*, 2003).

Kết quả gây sốc formalin cho thấy tỷ lệ sống của ấu trùng thấp nhất (47%) ở nghiệm thức xử lý ozone 3 ngày/lần, khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) với nghiệm thức đối chứng (68,3%), xử lý ozone 1 ngày/lần (66,2%) và 2 ngày/lần (60,5%).

Bảng 5: Chất lượng ấu trùng sau khi nở

Nghiệm thức	Tỷ lệ ấu trùng dị hình (%)	Tỷ lệ sống ấu trùng sốc formalin 30 phút (%)	Tỷ lệ sống ấu trùng sốc độ mặn 120 phút (%)
Xử lý iodine	0,65±0,50 ^a	68,3±1,70 ^b	73,5±6,18 ^{ab}
Xử lý ozon 1 ngày/lần	2,10±0,39 ^b	66,2±3,50 ^b	82,5±5,15 ^b
Xử lý ozon 2 ngày/lần	0,83±0,33 ^a	60,5±2,14 ^b	77,1±2,01 ^{ab}
Xử lý ozon 3 ngày/lần	0,92±0,78 ^a	47,0±10,8 ^a	72,3±4,16 ^a

Với mỗi chỉ tiêu, giá trị cùng 1 cột với số mũ khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

4 KẾT LUẬN

Ozon có thể giúp kiểm soát nấm, ký sinh trùng và vi khuẩn gây bệnh trứng cua biển ở tần suất xử lý 1 ngày/lần.

Ở tần suất xử lý 1 ngày/lần, ozon gây tỷ lệ ấu trùng dị hình cao, tuy nhiên không ảnh hưởng đến chất lượng ấu trùng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Azam, K., and Narayan, P., 2013. Safe usage of antibiotic (Oxytetracycline) in larval rearing of mud crab, *Scylla serrata* (Forsskål, 1775) in Fiji.

tương tự cũng ghi nhận được khi gây sốc độ mặn. Tỷ lệ sống của ấu trùng trong nghiệm thức xử lý ozone 3 ngày/lần thấp hơn đáng kể ($p < 0,05$) với các nghiệm thức còn lại. Tỷ lệ sống của ấu trùng thấp khi trứng được xử lý ozone với tần suất thưa hơn rõ ràng là do tỷ lệ nhiễm nấm và ký sinh trùng trên trứng ở nghiệm thức này cao. Nấm và ký sinh trùng đã hấp thu chất dinh dưỡng bên trong trứng, gây tổn thương trứng dẫn đến ấu trùng mới nở suy yếu và dễ chết khi bị tác động (Leano, 2002). Tuy nhiên, theo thang đánh giá thì ấu trùng trong thí nghiệm đều có chất lượng từ trung bình đến tốt. Mặc dù, tỷ lệ ấu trùng dị hình sau khi xử lý ozone 1 ngày/lần trong thí nghiệm này cao nhất 2,10% và khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) với các nghiệm thức còn lại, nhưng kết quả gây sốc cho tỷ lệ sống khá tốt, đặc biệt là sốc độ mặn trong 120 phút (82,5%).

World Journal of Fish and Marine Science. 5(2): 209 – 213

Ballagh, D.A., Pankhurst, P.M., and Fielder, D.S., 2011. Embryonic development of mullet, *Argyrosomus japonicus*, and egg surface disinfection using ozone. *Aquaculture*, 318(3): 475 – 478.

Boyd, C.E., 1990. Water quality in ponds for aquaculture. Auburn University. Alabama Agricultural Experiment station, 482 pp.

Beguer, M., Pasquaud, S., Noel, P., Girardin, M., and Boet, P., 2008. First description of heavy skeletal deformations in Palaemon shrimp populations of European estuaries: the case of the Gironde (France). *Hydrobiologia*. 607(1): 225-229.

- Coman, G.J., and Sellars, M.J., 2007. Tolerance of *Penaeus monodon* Fabricius embryos to ozonated seawater. *Aquaculture Research*. 38(4): 420 - 428.
- Cholik, F., 1999. Review of mud crab research in Indonesia. In: C.P. Keenan and A.W. Blackshaw (Eds.). 1999. *Mud crab Aquaculture and Biology. ACIAR proceedings* No. 78. Watson Ferguson and company, Brisbane, Australia: 14 - 20.
- Châu Tài Tào, Nguyễn Thanh Phương, Đỗ Thị Thanh Hương và Trần Ngọc Hải, 2012. Đánh giá chất lượng hậu ấu trùng tôm sú *Penaeus monodon* qua các lần sinh sản của tôm mẹ. *Tạp chí khoa học trường Đại học Cần Thơ*. 23: 20 – 30.
- Dat, H.D., 1999. Description of mud crab (*Scylla spp.*) culture methods in Vietnam. In: C.P. Keenan and A.W. Blackshaw (Editors), 1999. *Mud crab Aquaculture and Biology. ACIAR proceedings* No. 78. Watson Ferguson and Company, Brisbane, Australia: 67 - 71.
- De Pedro, J.B., Quintio, E.T., and Parado-Esteva, F.D., 2007. Formalin as an alternative to trifluralin as prophylaxis against fungal infection in mud crab *Scylla serrata* (Forsskål) larvae. *Aquaculture Research*. 38(14): 1554 -1562
- Fornieris, G., Bellardi, S., Palmegianoc, G.B., Saroglia, M., Sicuroa, B., Gascoe, L., and Zoccaratoe, I., 2003. The use of ozone in trout hatchery to reduce saprolegniasis incidence. *Aquaculture*. 221(1-4): 157–166.
- Grotmol, S., Dahl-Paulsen, E., and Totland, G.K., 2003. Hatchability of eggs from Atlantic cod, turbot and Atlantic halibut after disinfection with ozonated seawater. *Aquaculture*. 221(1-4): 245 – 254.
- Hamasaki, K., 2002. Effects of temperature on the survival, spawning and egg incubation period of over wintering mud crab broodstock, *Scylla paramamosain* (Brachyura: Portunidae). *Aquaculture Science*. 50(3): 301 – 308.
- Kvingedal, R., Owens, L., and Jerry, D.R., 2006. A new parasite that infects eggs of the mud crab, *Scylla serrata*, in Australia. *Journal Invertebr Pathol*. 93(1): 54 - 59.
- 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: C.P. Keenan and A.W. Blackshaw (Eds.). 1999. *Mud crab Aquaculture and Biology. ACIAR proceedings* No. 78. Watson Ferguson and Company, Brisbane, Australia: 121 - 124.
- Li, S., Zhang, Z., Li, C., Zhou, L., Liu, W., Li, Y., and Wen, X., 2012. Molecular cloning and expression profiles of nitric oxide synthase (NOS) in mud crab *Scylla paramamosain*. *Fish and Shellfish Immunology*. 32(4): 503–512.
- Liltved, H., Vogelsang, C., Modahl, I., and Dannevig, B.H., 2006. High resistance of fish pathogenic viruses to UV irradiation and ozonated seawater. *Aquacultural Engineering*. 34(2): 72 - 82.
- Leano, E. M., 2002. *Haliphthoros spp.* from spawned eggs of captive mud crab, *Scylla serrata*, broodstocks. *Fungal Diversity*. 9: 93 - 103.
- Mann, D., Asakawa, T., and Blackshaw, A.W., 1999. Performance of mud crab *Scylla serrata* broodstock held at Bribie Island Aquaculture Research Centre. In: C.P. Keenan and A.W. Blackshaw (Eds.). 1999. *Mud crab Aquaculture and Biology. ACIAR proceedings* No. 78. Watson Ferguson and Company, Brisbane, Australia: 101 - 106.
- Mezhoud, H., Chantziaras, I., Iguer-Ouada, M., Moula, N., A. Garmyn., A. Martel., 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.
- Millamena, O.M., and Quintio, E.T., 2000. The effects of diets on the reproductive performance of eyestalk ablated and intact mud crab *Scylla serrata*. *Aquaculture*. 181(1-2): 81-90.
- Naylor, J.K., Taylor, E.W., and Bennett, D.B., 1999. Oxygen uptake of developing eggs of *Cancer pagurus* (Crustacea: Decapoda: Cancridae) and consequent behavior of the ovigerous females. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 79(2): 305-315.
- Nghia, T.T., Wille, M., Binh, T.P., Thanh, H.P., Danh, N.V., and Sorgeloos, P., 2007. Improved techniques for rearing mud crab *Scylla paramamosain* (Estampador 1949) larvae. *Aquaculture Research*. 38(14): 1539 – 1553.
- Nyqvist, D., 2011. Impact of crab-seed collection for aquaculture on juvenile mud-crab (*Scylla serrata*) populations at Mafia Island, Tanzania. University of Gothenburg. University of Gothenburg.
- Phạm Văn Quyết và Trương Trọng Nghĩa, 2010. Đặc điểm sinh sản của cua biển *Scylla paramamosain* tự nhiên và nuôi trong ao. *Tạp chí khoa học trường Đại học Cần Thơ*. 16a: 90 – 96.
- Quintio, E.T., Parado-Esteva, 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.
- Samuel, N.J., and Soundarapandian, P., 2010. Embryology of commercially important portunid crab *Scylla serrata* (Forskål). *Current Research Journal of Biological Sciences*, 2(1): 35-37.
- Summerfelt, S.T., Sharrer, M.J., Tsukuda, S.M., and Gearhart, M., 2009. Process requirements for achieving full-flow disinfection of recirculating water

- using ozonation and UV irradiation. *Aquaculture Engineering*. 40(1): 17 – 27.
- Summerfelt, S.T., and Hochheimer, J.N., 1997. Review of ozone processes and applications as an oxidizing agent in aquaculture. *Progressive Fish-Culturist*. 59(2): 94 - 105.
- Sellars, M.J., Coman, G.J., and Morehead, D.T., 2005. Tolerance of *Penaeus japonicus* embryos to ozone disinfection. *Aquaculture*. 245(1-4): 111 – 119.
- 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 ozon xử lý nước và vi khuẩn *Vibrio* spp. trong bể ương ấu trùng tôm sú. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. (Số đặc biệt): 25 – 33.
- Von Gunten, U., 2003. Ozonation of drinking water: Part I. Oxidation kinetics and product formation. *Water Research*. 37(7): 1443 - 1467.
- Walton, M.E.M., Le Vay, L., Lebata, J.H., and Binas, J., 2006. Seasonal abundance, distribution and recruitment of mud crabs (*Scylla* spp.) in replanted mangroves. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 66(3-4): 493 – 500.
- Wu, Q., Wang, S., You, C., and Li, Y., 2016. Immune response of mud crab, *Scylla Paramamosain*, to Bacterial Lipopolysaccharide. *Journal of the World Aquaculture Society*. 47(6): 843–853.
- Zhang, Y., Li, Y., and Sun, X. L., 2011. Antibiotic resistance of bacteria isolated from shrimp hatcheries and cultural ponds on Donghai Island, China. *Marine Pollution Bulletin*. 62(11): 2299–2307.