

Nghiên cứu chất lượng nước và bệnh trong nuôi tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vannamei*) áp dụng công nghệ Nanobubble

Nguyễn Hữu Nghĩa*, Nguyễn Đức Bình, Phạm Thái Giang, Nguyễn Thị Minh Nguyệt, Nguyễn Thị Nguyễn, Nguyễn Thị Hạnh, Phan Trọng Bình, Vũ Thị Kiều Loan, Phan Thị Vân

Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản 1, phường Đình Bảng, TP Từ Sơn, tỉnh Bắc Ninh, Việt Nam

Ngày nhận bài 7/2/2022; ngày chuyển phân biện 10/2/2022; ngày nhận phân biện 11/3/2022; ngày chấp nhận đăng 17/3/2022

Tóm tắt:

Nghiên cứu đánh giá sự biến động các chỉ tiêu chất lượng nước, vi sinh, biến đổi mô mang và tăng trưởng của tôm trong mô hình nuôi tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vannamei*) áp dụng công nghệ Nanobubble. Thí nghiệm được thực hiện trong 9 bể nuôi thương phẩm có thể tích 25-35 m³ với 3 nghiệm thức Nanobubble oxy (O₂-NB), Nanobubble ozone (O₃-NB) và đối chứng (ĐC) được lặp lại 3 lần. O₂-NB và O₃-NB được cung cấp cho các bể nuôi 1 giờ/ngày trong suốt thời gian nuôi từ khi thả giống đến khi thu hoạch. Tôm được thả với mật độ 300 con/m³, được áp dụng chế độ chăm sóc và quản lý môi trường như cho ăn, thay nước, sục khí, siphon và xử lý vi sinh giống nhau. Kết quả cho thấy, các chỉ tiêu pH, oxy hòa tan (DO), thế oxy hóa khử (ORP) chịu tác động của các nghiệm thức O₂-NB và O₃-NB. Mật độ *Vibrio* tổng số trong nước trung bình của nhóm O₂-NB cao gấp 1,41 lần so với nhóm ĐC và cao gấp 1,51 lần so với nhóm O₃-NB. Mô mang tôm bị biến đổi ở nhiều cấp độ khác nhau, tuy nhiên không làm giảm tỷ lệ sống của tôm ở các nghiệm thức. Trọng lượng tôm lúc thu hoạch của các nghiệm thức ĐC, O₂-NB và O₃-NB lần lượt là 11,50±2,29, 11,48±2,66 và 13,87±1,65 g/con. Kết quả nghiên cứu cho thấy, O₃-NB có tác dụng làm tăng DO, giảm mật độ *Vibrio* tổng số trong nước và tăng tốc độ sinh trưởng của tôm so với ĐC và O₂-NB. Thời lượng chạy máy có thể giảm để hạn chế mức độ ảnh hưởng đến mang tôm.

Từ khóa: chất lượng nước, mô mang tôm, Nanobubble, tôm thẻ, *Vibrio* tổng số.

Chỉ số phân loại: 4.5

1. Đặt vấn đề

Công nghệ Nanobubble đã được áp dụng trong nuôi trồng thủy sản nhằm nâng cao hàm lượng DO trong nước. Nanobubble là những bóng khí nhỏ với đường kính nhỏ hơn 200 nm [1, 2] có thể tồn tại trong cột nước hàng tuần [3, 4]. Các nghiên cứu cho rằng, hiện tượng Nanobubble tồn tại lâu trong nước gắn liền với tính chất vật lý của những bóng khí nhỏ có giá trị zeta (điện thế bề mặt của bóng khí) cao, giữ cho các bóng khí nhỏ không nhập vào nhau để tạo thành bóng khí to hơn [5-7]. Mặc dù đã có những hiểu biết nhất định về tính chất lý hóa của Nanobubble nhưng các giải thích về tính chất tồn tại lâu trong nước của Nanobubble chưa thực sự rõ ràng [8].

Những nghiên cứu trước đây cho thấy, công nghệ Nanobubble ứng dụng trong nuôi trồng thủy sản đã làm tăng tốc độ sinh trưởng của các loài nuôi như cá thơm (*Plecoglossus altivelis*), hồi vân (*Oncorhynchus mykiss*), koi (*Cyprinus carpio*) và tráp đỏ (*Pagrus major*) [9-11]. O₂-NB cũng được cho là tối ưu quá trình hấp thụ DO của tôm thẻ chân trắng [12].

DO trong nước đóng vai trò quan trọng trong chuyển hóa nitrite và amoni thành nitrate, phân hủy nitrogen, carbon dioxide, hydrogen sulfide (H₂S) [13, 14]. Hàm lượng oxy cao làm tăng tốc độ trao đổi chất, tôm ăn nhiều hơn và phát triển nhanh hơn [9]. Khác với oxy, ozone có đặc tính oxy hóa mạnh hơn nhiều, ozone thu hút các phần

từ mang điện tích âm và tạo ra các gốc oxy tự do làm phá vỡ tính thấm thấu của màng tế bào vi khuẩn [15-17]. Trong nước, ozone được chuyển thành oxy và do đó nó vừa làm tăng lượng oxy vừa khử trùng nước [18]. Trong các hệ thống nuôi thủy sản tuần hoàn (RAS), ozone hóa ở mức độ vừa phải có thể thúc đẩy quá trình nitrate hóa sinh học. Điều này có thể được thực hiện qua trung gian của sự gia tăng oxy thúc đẩy các quần thể vi khuẩn chuyển hóa nitơ. Yếu tố hạn chế đối với việc sử dụng ozone trong nước mặn là độc tính đối với cá [19]. Mức độ hiệu quả xử lý nước nuôi bằng liệu pháp ozone phụ thuộc vào nồng độ, thời gian tiếp xúc, số lượng mầm bệnh và hàm lượng chất hữu cơ. Nồng độ ozone càng cao, nguy cơ gây ảnh hưởng đến với các loài nuôi càng cao [20].

Mặc dù oxy rất quan trọng đối với động vật thủy sản, nhưng khi hàm lượng DO vượt quá mức bão hòa thì có thể bị ảnh hưởng tiêu cực. C.E. Boyd và cs (1992) [21] cho rằng, hiện tượng tôm/cá chết tăng khi hàm lượng oxy vượt 20 mg/l và/hoặc tỷ lệ hòa tan vượt 300%. D.E. Weitkamp và cs (1980) [22] ghi nhận các bóng khí được quan sát thấy trong mang của cá sắp chết cũng như giữa các tia vây và dưới vây khi nồng độ DO trên 300%. Nhiều loài cá biển chết khi nồng độ DO trên 250% ở vịnh Galveston [22]. Cá chép đá khi còn nhỏ thích sống trong nước siêu bão hòa dưới 115%, tuy nhiên chúng thể hiện phản ứng tránh khi độ bão hòa khí trong nước vượt

*Tác giả liên hệ: Email: nghia@ria1.org

Investigating water quality and disease in white leg shrimp (*Penaeus vannamei*) culture applying Nanobubble technology

Huu Nghia Nguyen*, Duc Binh Nguyen,
Thai Giang Pham, Thi Minh Nguyet Nguyen,
Thi Nguyen Nguyen, Thi Hanh Nguyen,
Trong Binh Phan, Thi Kieu Loan Vu, Thi Van Phan

Research Institute for Aquaculture No. 1,
Dinh Bang Ward, Tu Son City, Bac Ninh Province, Vietnam

Received 7 February 2022; revised 11 March 2022; accepted 17 March 2022

Abstract:

This study evaluates the variation of water quality, microbiology, gill morphology and shrimp growth of the intensive white leg shrimp (*Penaeus vannamei*) applying Nanobubble technology. The experiment consisted of 9 commercial concrete tanks with a volume of 25-35 m³ divided into 3 treatments of oxygen Nanobubble (O₂-NB), ozone Nanobubble (O₃-NB), and control (CTRL), 3 tanks for each treatment. O₂-NB and O₃-NB were provided to the tanks for 1 hour/day during the culture period from stocking to harvest. Shrimps were stocked at a density of 300 shrimp/m³ and applied with the same care and environmental management protocol such as feeding, water change, aeration, siphon, and microbiological treatment. The results showed that the pH, DO, and ORP parameters are affected by the O₂-NB and O₃-NB treatments. The average concentration of total *Vibrio* in the water of the O₂-NB group was 1.41 times higher than that of the control group, and 1.51 times higher than that of the O₃-NB group. The gill tissue of the shrimp was affected and changed to different degrees but did not reduce the survival rate of the shrimp in the experimental treatments. The harvest weight of shrimp of the control, O₂-NB, and O₃-NB treatments were 11.50±2.29, 11.48±2.66, and 13.87±1.65 g/shrimp, respectively. Research results exhibited that O₃-NB treatment increased DO, reduced total *Vibrio* in water and increased growth rate compare to the control and O₂-NB treatments. Reducing Nanobubble generator running time should be considered to minimise the impact on shrimp gills.

Keywords: Nanobubble, shrimp gill morphology, total *Vibrio*, water quality, white leg shrimp.

Classification number: 4.5

quá 135% [23]. Mặc dù vậy, J. Colt (1986) [24] cho rằng, siêu bão hòa của một khí đơn lẻ như oxy có thể không tạo ra chấn thương bóng khí. Chấn thương bóng khí gây ra tắc mạch máu, ngăn cản sự di chuyển của máu có oxy và có thể dẫn đến động vật thủy sản bị chết [25, 26].

Sử dụng công nghệ Nanobubble trong nuôi trồng thủy sản có thể làm tăng nguy cơ siêu bão hòa và bệnh bóng khí ở cá và giáp xác. Nghiên cứu gần đây cho rằng, không có thay đổi hình thái tế bào mang rõ rệt và không có tỷ lệ tử vong ở cá rô phi giống khi tiếp xúc với O₃-NB trong 10 phút sau 2 ngày xử lý [27]. Tuy nhiên, 2 hoặc 3 lần xử lý liên tiếp trong cùng một ngày đã dẫn đến một số tổn thương đối với các sợi mang [27]. Những tổn thương này cũng có thể là do tác động của khí ozone chứ không phải do nồng độ oxy cao trong các bể chứa, nhưng các tác giả chưa tách biệt rõ giữa 2 nguyên nhân tiềm ẩn gây tổn thương. Theo chúng tôi, ảnh hưởng của các mức DO khác nhau đến hình thái mang tôm vẫn chưa được hiểu rõ và cần được làm rõ [27-30].

Nghiên cứu này đánh giá sự biến động của các chỉ tiêu môi trường nước, mật độ vi khuẩn trong nước, thành phần vi khuẩn trong tôm, biến đổi mô mang và sinh trưởng tôm tại mô hình nuôi tôm thẻ chân trắng áp dụng O₂-NB và O₃-NB.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Cơ sở vật chất, thiết bị thực hiện thí nghiệm

Thí nghiệm được triển khai tại cơ sở nuôi tôm thương phẩm của ông Hoàng Văn Tin, xã Quỳnh Bảng, huyện Quỳnh Lưu, tỉnh Nghệ An từ tháng 9 đến tháng 12/2020. Chín bể nuôi tôm thương phẩm với thể tích 25-35 m³ đã được lựa chọn để thực hiện nghiên cứu. Thí nghiệm sử dụng máy tạo Nanobubble model aQua+ 190M. Máy có công suất 2,5 hp (1,9 KW) với lượng nước bơm ra là 4.000 l/giờ và tạo ra Nanobubble với kích thước trung bình 168,9±73,8 nm, mật độ 1,04x10⁹±2,6x10⁸ hạt/ml [31]. Máy sử dụng khí đầu vào là oxy để tạo O₂-NB và ozone để tạo O₃-NB. Để tạo được oxy cung cấp đầu vào cho máy Nanobubble, chúng tôi sử dụng máy tạo oxy model Yuwell 7F-10 (Yuwell, Trung Quốc) công suất 5 lít/phút. Máy tạo oxy cũng được sử dụng để cung cấp oxy đầu vào cho máy tạo ozone. Để tạo ozone, chúng tôi sử dụng máy tạo ozone model OMZ-20S (OzoneMaxx, Việt Nam) công suất 20 g ozone/giờ.

2.2. Thiết kế thí nghiệm

Thí nghiệm được thiết kế với 3 nghiệm thức: O₂-NB, O₃-NB và ĐC, mỗi nghiệm thức bao gồm 3 bể, trong đó các bể O₂-NB và O₃-NB có thể tích 25 m³, các bể ĐC có thể tích 35 m³. Tôm được thả với mật độ trung bình 300 con/m³, cỡ tôm giống thả giai đoạn P30 với trọng lượng trung bình 0,69±0,23 mg/con. Thời gian chạy máy cung cấp O₂-NB và O₃-NB cho các bể thuộc nghiệm thức O₂-NB và O₃-NB được thực hiện 1 tiếng/ngày/bể. Ngoài ra, tất cả các bể đều được sục khí 24/24. Độ mặn trung bình của các bể trong thời gian nuôi duy trì ở mức 20‰. Chế độ chăm sóc, cho ăn, sục khí, siphon, bón vi sinh, thay nước được thực hiện giống nhau giữa các nghiệm thức.

2.3. Đánh giá chỉ tiêu môi trường nước

Những chỉ tiêu chất lượng nước được theo dõi bao gồm: nhiệt độ, pH, DO, thế ORP, độ kiềm, nitrite NO_2 , H_2S , NH_3 , nhu cầu oxy hóa học (COD), nhu cầu oxy sinh hóa (BOD_5), ozone. Trong đó, 4 thông số đầu được đo hàng ngày trước và sau khi chạy máy. Những chỉ tiêu còn lại được đo hàng tuần. Các chỉ tiêu nhiệt độ, oxy, pH, ORP được đo bằng máy Pro1020 Dissolved Oxygen và pH/ORP Instrument (YSI, Mỹ). Các chỉ tiêu độ kiềm, NO_2 , H_2S , NH_3 , COD, BOD_5 , ozone được thu mẫu và phân tích trong phòng thí nghiệm của Trung tâm Quan trắc Môi trường và Bệnh thủy sản miền Bắc, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản 1 theo các phương pháp tương ứng SMEWW 2302B:2011, SMEWW 4500- NO_2 B:2011, SMEWW 4500- S_2 -D:2011, SMEWW 4500- NH_3 F:2011, SMEWW 5220-COD, SMEWW 5210-BOD, SMEWW 4500- O_3 [32].

2.4. Định lượng Vibrio tổng số trong nước

Vibrio tổng số trong mẫu nước của các bể thí nghiệm được định lượng theo N.B. Buller (2004) [33].

2.5. Xác định thành phần vi khuẩn trong tôm

Phân lập, định danh vi khuẩn trong tôm được xác định bằng phương pháp nuôi cấy trên đĩa thạch và test Kit API-20E.

2.6. Đánh giá biến đổi mô

Các mẫu mang tôm được chuẩn bị theo phương pháp của D.V. Lightner (1996) [34]. Mang được phân loại theo 5 mức độ biến đổi chính: 1) Tế bào tơ mang bình thường; 2) Tế bào tơ mang kết dính; 3) Nhân tế bào tơ mang kết đặc lại; 4) Cung mang teo nhỏ; và 5) Cung mang hoại tử. Mỗi mức độ biến đổi chính lại được phân loại thành 3 mức độ phụ: nhiều, trung bình, ít. Do mỗi mẫu tôm có thể xuất hiện cùng lúc nhiều dấu hiệu biến đổi, trong mỗi dấu hiệu biến đổi lại có các mức độ khác nhau, vì thế để đánh giá được mức độ biến đổi của từng mẫu chúng tôi nhân số điểm mức độ biến đổi chính (1-5) với mức độ biến đổi phụ (1-3) sau đó cộng để có tổng điểm của từng mẫu tôm theo công thức:

$$\text{Tổng điểm} = \sum xy$$

trong đó x là mức độ biến đổi chính có giá trị 1-5; y là mức độ biến đổi phụ có giá trị 1-3.

Phân tích hồi quy sẽ được áp dụng đối với tổng điểm của từng mẫu tôm để so sánh sự khác biệt về mức độ biến đổi giữa các nghiệm thức. Ngoài ra, dựa vào tổng điểm chúng tôi chia thành 5 mức độ biến đổi: bình thường, nhẹ, trung bình, nặng, rất nặng với số mẫu xấp xỉ như nhau.

2.7. Tăng trưởng

Tôm giống được lấy mẫu và cân từng con bằng cân phân tích (PA214, Ohaus, Mỹ) sau khi loại bỏ nước trên thân tôm bằng giấy thấm. Tôm thu hoạch cũng được lấy mẫu và cân như mô tả ở trên. Trọng lượng trung bình của tôm trong mỗi bể khi kết thúc nghiên cứu được so sánh giữa các nghiệm thức.

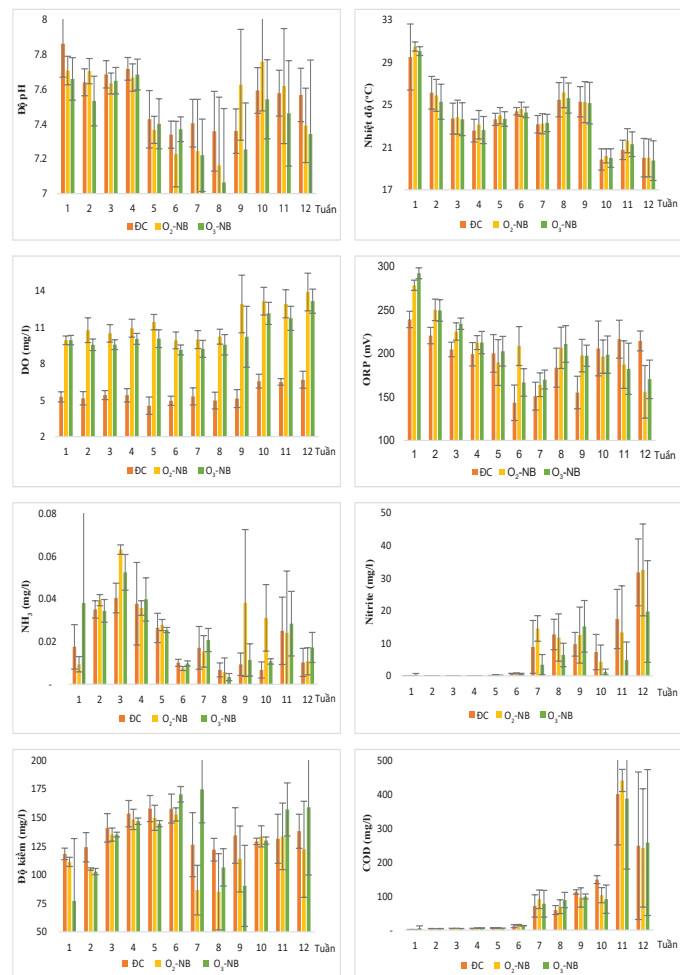
2.8. ử lý số liệu và phân tích thống kê

Số liệu về chỉ tiêu môi trường nước, mật độ vi khuẩn trong nước, thành phần vi khuẩn trong tôm, mức độ biến đổi mô, tăng trưởng và năng suất được phân tích và so sánh giữa các nhóm bằng mô hình hồi quy. Biểu diễn trực quan và phân tích mối tương quan giữa các biến bằng phân tích thành phần chính (PCA). Dữ liệu được xử lý, phân tích bằng phần mềm Excel (Microsoft Office 365) và XLSTAT (Addinsoft, 2020). Giá trị $p < 0,05$ được coi là có ý nghĩa.

3. Kết quả

3.1. Chỉ tiêu môi trường nước

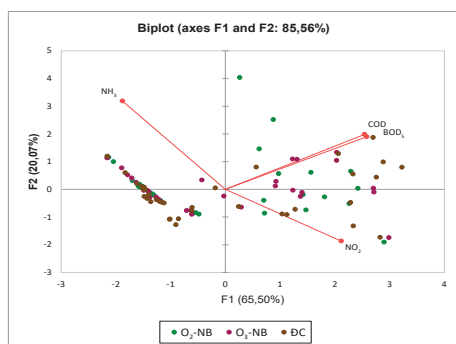
Nhiệt độ trung bình của nhóm ĐC, O_2 -NB, O_3 -NB lần lượt là $24,12 \pm 0,19$, $23,83 \pm 0,19$ và $23,80 \pm 0,19^\circ\text{C}$. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về nhiệt độ giữa các nhóm ($p=0,41$). Độ pH của các nghiệm thức nằm trong khoảng 7,05-7,86 và cùng có xu hướng giảm từ tuần thứ 5 đến thứ 8, sau đó cùng tăng lên từ tuần thứ 9. DO trung bình trước khi chạy máy của nhóm ĐC, O_2 -NB, O_3 -NB lần lượt là $5,46 \pm 0,85$, $5,67 \pm 0,84$ và $5,27 \pm 0,76$ mg/l. Có sự khác biệt về giá trị DO giữa nghiệm thức ĐC với O_3 -NB ($p=0,01$), ĐC với O_2 -NB ($p=0,005$), O_2 -NB với O_3 -NB ($p<0,0001$). Giá trị DO của



Hình 1. Biến động các chỉ tiêu môi trường nước pH, nhiệt độ, DO, ORP, NH_3 , NO_2 , độ kiềm và COD của các nghiệm thức ĐC, O_2 -NB và O_3 -NB.

nhóm O₂-NB và O₃-NB sau khi chạy máy lần lượt là 11,29±1,71 và 10,27±1,50 mg/l. Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về giá trị DO giữa nhóm ĐC với nhóm O₂-NB và O₃-NB sau khi chạy máy (p<0,001). ORP của nhóm ĐC và O₂-NB, O₃-NB trước khi chạy máy lần lượt là 193,26±34,67, 180,48±36,00 và 184,45±33,56 mV. Có sự khác biệt về giá trị ORP của nhóm ĐC với O₂-NB (p<0,0001) và ĐC với O₃-NB (p=0,006). Sau khi chạy máy, giá trị ORP của nhóm O₂-NB và O₃-NB lần lượt là 203,29±38,65 và 207,77±38,73 mV. Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa giá trị ORP của nhóm ĐC với O₂-NB (p=0,004) và giữa ĐC với O₃-NB (p<0,001). Giá trị ORP của các nhóm có xu hướng biến động giống nhau, cao nhất ở thời điểm mới thả tôm, sau đó giảm dần, thấp nhất ở tuần thứ 6 và 7. Độ kiềm trung bình của nhóm ĐC, O₂-NB, O₃-NB lần lượt là 134,83±19,96, 124,77±32,76 và 139,52±39,00 mg/l. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về độ kiềm giữa các nhóm (p=0,136). Độ kiềm có xu hướng tăng dần từ tuần thứ 1 đến thứ 6, giảm nhiều ở tuần thứ 8 và 9 (O₂-NB và O₃-NB), sau đó tăng dần ở các tuần cuối (hình 1).

NH₃ trung bình của nhóm ĐC, O₂-NB, O₃-NB lần lượt là 0,019±0,015, 0,026±0,022, 0,023±0,015 mg/l. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về giá trị NH₃ giữa các nhóm (p=0,214). Giá trị NH₃ ở các nhóm có xu hướng biến động giống nhau, tăng cao ở tuần thứ 3, giảm xuống thấp nhất ở tuần thứ 8, sau đó tăng nhẹ ở các tuần tiếp theo. NO₂ trung bình của nhóm ĐC, O₂-NB, O₃-NB lần lượt là 8,59±12,23, 9,35±13,17 và 5,94±10,28 mg/l. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về giá trị NO₂ giữa các nhóm (p=0,457). Giá trị NO₂ biến động lớn, thấp ở 6 tuần đầu, sau đó tăng nhanh từ tuần thứ 7 và cao nhất ở tuần 12 (32,48±14,09 mg/l ở nghiệm thức O₂-NB). COD trung bình của nhóm ĐC, O₂-NB, O₃-NB lần lượt là 94,25±151,10, 110,96±149,93 và 107,39±161,89 mg/l. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về giá trị COD giữa các nhóm (p=0,883). Giá trị COD biến động lớn, tăng mạnh từ tuần thứ 7 và cao nhất ở tuần 11 (408,89±72,70 mg/l) (hình 1). Kết quả phân tích PCA cho thấy có mối tương quan cao giữa COD và BOD₅ (r=0,924), COD và NO₂ (r=0,462), COD và NH₃ (r=-0,402), NO₂ và NH₃ (r=-0,483), NO₂ và BOD₅ (r=0,523) (hình 2).

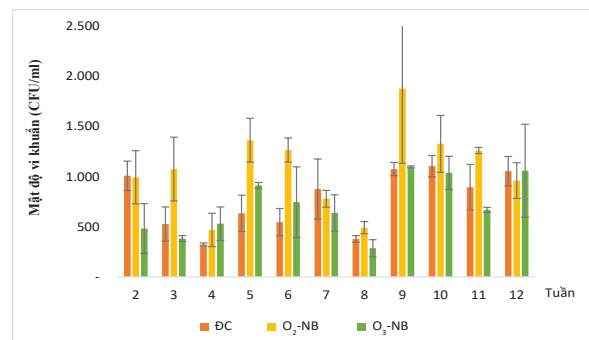


Hình 2. Thành phần chính 1 và 2 các biến NH₃, NO₂, COD và BOD₅ của các nghiệm thức ĐC, O₂-NB và O₃-NB.

Nhu cầu BOD₅ trung bình của nhóm ĐC, O₂-NB, O₃-NB lần lượt là 18,19±20,90, 19,65±17,37, 19,58±17,90 mg/l. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về giá trị BOD₅ giữa các nhóm (p=0,940). H₂S trung bình của nhóm ĐC, O₂-NB, O₃-NB lần lượt là 0,007±0,007, 0,007±0,006 và 0,005±0,004 mg/l. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về giá trị H₂S giữa các nhóm (p=0,175). Ozone trung bình sau khi chạy máy của nhóm O₃-NB là 0,13±0,08 mg/l (không thể hiện trên đồ thị).

3.2. Mật độ *Vibrio* tổng số trong nước

Mật độ vi khuẩn *Vibrio* tổng số trung bình của nhóm ĐC là 765±139, O₂-NB 1,077±225 và O₃-NB là 712±160 CFU/ml. Mật độ *Vibrio* tổng số trung bình của nhóm O₂-NB cao gấp 1,41 lần so với nhóm ĐC (p=0,035) và 1,51 lần so với nhóm O₃-NB (p=0,032). Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm ĐC và O₃-NB (hình 3).



Hình 3. Mật độ *Vibrio* tổng số trong nước của các nghiệm thức ĐC, O₂-NB và O₃-NB.

3.3. Thành phần vi khuẩn trong tôm

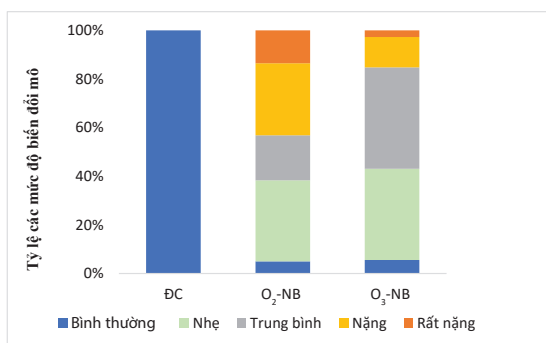
Nghiệm thức ĐC ghi nhận sự xuất hiện của 4 loài vi khuẩn trong tôm với tỷ lệ nhiễm là 11/45 mẫu. Nghiệm thức O₂-NB phát hiện 6 loài vi khuẩn với tỷ lệ nhiễm là 16/45 mẫu. Nghiệm thức O₃-NB phát hiện 7 loài vi khuẩn với tỷ lệ nhiễm là 12/45 mẫu. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ nhiễm vi khuẩn trong tôm giữa các nghiệm thức (p=0,64) (bảng 1).

Bảng 1. Thành phần và tỷ lệ nhiễm vi khuẩn trong tôm của các nghiệm thức ĐC, O₂-NB và O₃-NB trong 3 đợt thu mẫu tháng 10, 11 và 12/2020.

Vi khuẩn	ĐC			O ₂ -NB			O ₃ -NB		
	T10	T11	T12	T10	T11	T12	T10	T11	T12
<i>V. alginolyticus</i>	1	2		4		1	1		
<i>V. diabolis</i>									1
<i>V. fluvialis</i>	1	2		1	1		2		
<i>V. mimicus</i>				2		1		2	
<i>V. mytili</i>	3	1		3			2	1	
<i>V. splendidus</i>	1						2		
<i>V. parahaemolyticus</i>				2					
<i>V. vulnificus</i>					1		1		
Tổng	11/45 mẫu			16/45 mẫu			12/45 mẫu		

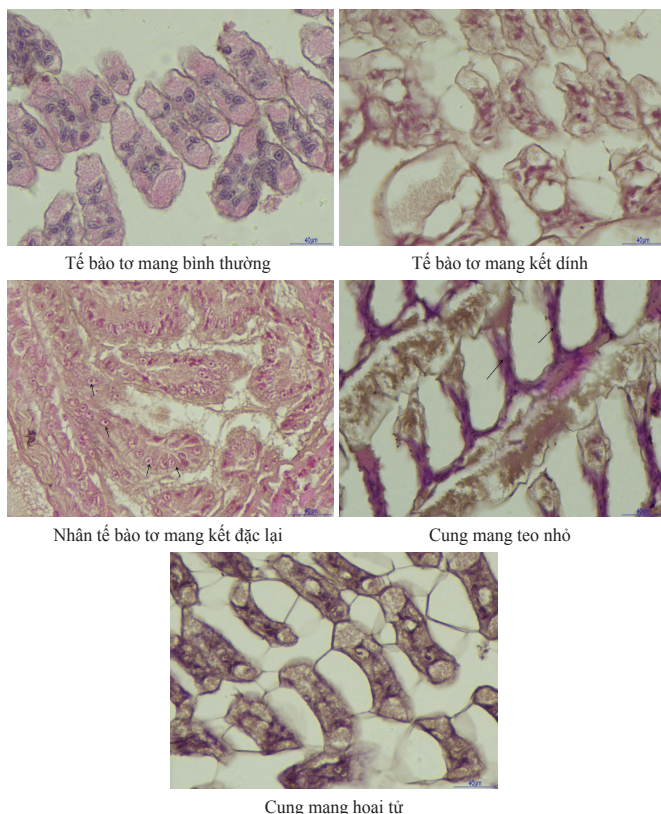
3.4. Biến đổi mô mang tôm

Không có biến đổi mô mang tôm ở nghiệm thức ĐC. Điểm số biến đổi mô mang tôm ở mức độ “rất nặng” được ghi nhận 14% ở nghiệm thức O₂-NB nhưng chỉ ghi nhận 3% ở O₃-NB. Mức độ biến đổi “nặng” được ghi nhận 30% ở nghiệm thức O₂-NB và 13% ở O₃-NB (hình 4). Tổng số điểm dựa trên sự xuất hiện tương đối về mức độ biến đổi mô khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa ĐC với O₂-NB và O₃-NB và giữa O₂-NB với O₃-NB ($p < 0,0001$).



Hình 4. Tỷ lệ các mức độ biến đổi mô của các nghiệm thức ĐC, O₂-NB và O₃-NB.

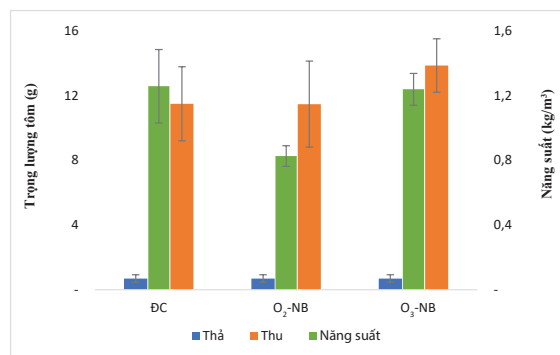
Các mức độ biến đổi chính mô mang tôm gồm: 1) Tế bào tơ mang bình thường, 2) Tế bào tơ mang kết dính, 3) Nhân tế bào tơ mang kết đặc lại, 4) Cung mang teo nhỏ, và 5) Cung mang hoại tử (hình 5).



Hình 5. Các mức độ biến đổi mang tôm.

3.5. Tăng trưởng

Trọng lượng trung bình của tôm lúc thả ở cả 3 nghiệm thức là $0,69 \pm 0,23$ g/con. Trọng lượng trung bình của tôm lúc thu hoạch ở nghiệm thức ĐC, O₂-NB, O₃-NB lần lượt là $11,50 \pm 2,29$, $11,48 \pm 2,66$ và $13,87 \pm 1,65$ g/con. Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về trọng lượng tôm thu hoạch giữa nghiệm thức ĐC, O₂-NB đối với nghiệm thức O₃-NB ($p = 0,008$). Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nghiệm thức ĐC và O₂-NB ($p = 0,983$) (hình 6).



Hình 6. Trọng lượng lúc thả giống, thu hoạch và năng suất của các nghiệm thức ĐC, O₂-NB và O₃-NB.

4. Bàn luận

4.1. Chỉ tiêu môi trường nước

Độ pH giảm thấp nhất ở giai đoạn từ tuần thứ 5 đến thứ 8 có thể do ảnh hưởng của sự phân giải chất hữu cơ tích tụ trong nước. Nhiệt độ ở các bể O₂-NB và O₃-NB thấp hơn so với ĐC có thể do thể tích nước của bể. Các bể ĐC có thể tích lớn hơn và giữ nhiệt tốt hơn cho mùa đông. Nhiệt độ cao hơn làm tăng kích thước bóng khí [35, 36], do đó làm giảm thời gian tồn tại của chúng trong nước [37, 38]. Giá trị DO sau khi chạy máy tăng cao trong các nghiệm thức O₂-NB và O₃-NB, kết quả tương đồng với công bố của L. Wang và cs (2018) [39], có ảnh hưởng đến hình thái mang tôm như đã mô tả và bàn luận ở trên. Điều quan trọng đối với các trang trại nuôi thương phẩm là phải giữ cho nồng độ DO ở mức thấp hơn ngưỡng bão hòa. ORP tăng khoảng 20 mV (lên trên 200 mV) sau khi chạy máy đối với các nghiệm thức O₂-NB và O₃-NB. Giá trị ORP trong khoảng 150-250 mV có thể thúc đẩy quá trình nitrate hóa, kiểm soát sự phát triển của vi khuẩn [40, 41], trên 350 mV bắt đầu tiêu diệt vi khuẩn [28, 42]. Chúng ta cần lưu ý, hàm lượng ozone tăng cao hơn khi sục khí ozone trực tiếp so với phương pháp Nanobubble, hàm lượng ozone cao có thể có tác động tiêu cực đến các loài nuôi và công nhân vận hành trang trại. Lợi thế của Nanobubble là làm giảm tác động của ozone. Trong nước, các giá trị của ozone và ORP tỷ lệ thuận với nhau [41, 43] nên chúng tôi có thể xác nhận độ chính xác của phép đo bằng cách so sánh các giá trị của chúng tại cùng một thời điểm đã chọn. Giá trị ORP giảm mạnh ở các tuần thứ 5 và 6 phần nhiều do hàm lượng hữu cơ trong

bề tăng cao nhất. Các giá trị NH_3 , NO_2 , COD, BOD_5 đều thể hiện mức độ ô nhiễm hữu cơ trong nước và chúng có mối tương quan chặt chẽ. Mặc dù không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về giá trị của các chỉ tiêu này giữa các nghiệm thức nhưng chúng tôi đánh giá việc xử lý đã có những tác động nhất định đối với tôm nuôi và thành phần vi sinh vật trong nước. Các thông số khác như độ kiềm, H_2S không bị ảnh hưởng nhiều bởi O_2 -NB và O_3 -NB.

4.2. Mật độ *Vibrio* tổng số trong nước

Với thời lượng chạy máy 1 giờ/ngày, có thể O_2 -NB đã tạo ra môi trường thuận lợi hơn cho vi khuẩn *Vibrio* phát triển so với O_3 -NB và ĐC, vì tính oxy hóa của oxy chưa đủ cao để diệt vi khuẩn như ozone. Chúng tôi cũng đã gặp hiện tượng tương tự ở các nghiệm cứu trong phòng thí nghiệm. *Vibrio* là một chi của vi khuẩn gram âm, bệnh vi khuẩn trên tôm chủ yếu là từ nhóm *Vibrio*. Trong môi trường nước ao, các loài vi khuẩn *Vibrio* tồn tại tự do trong nước hoặc trên các hạt lơ lửng. Có ít nhất 14 loài *Vibrio* gây bệnh cho tôm [44]. Theo dõi các thành phần và mật độ vi khuẩn có thể có khả năng ngăn chặn sự bùng phát bệnh do *Vibrio* [45]. Các thử nghiệm gây nhiễm cho thấy, *V. parahaemolyticus* có khả năng gây bệnh cao đối với tôm thẻ chân trắng *P. vannamei* [46]. *Vibrio* rất khó diệt vì chúng thích nghi tốt với các điều kiện môi trường khác nhau và có thể chuyển sang trạng thái không hoạt động khi gặp các điều kiện bất lợi. Những phương pháp để ngăn ngừa và kiểm soát *Vibrio* thân thiện hơn trong nuôi tôm bao gồm an toàn sinh học, thuốc kích hoạt miễn dịch, men vi sinh và chất diệt vi sinh vật. Theo A. Ganesh (2010) [47], mật độ *Vibrio* trong nuôi trồng thủy sản nên ở mức thấp hơn 10^3 CFU/ml.

4.3. Thành phần vi khuẩn trong tôm

Kết quả phân tích số liệu cho thấy, nghiệm thức O_2 -NB có tỷ lệ tôm nhiễm vi khuẩn cao nhất. Tuy nhiên, do sự khác biệt về tỷ lệ nhiễm không có ý nghĩa thống kê vì thế chúng tôi cho rằng cần có nghiên cứu sâu và cụ thể hơn về vấn đề này.

4.4. Biến đổi mô mang tôm

Kết quả nghiên cứu cho thấy, áp dụng Nanobubble liên tục hàng ngày có thể dẫn đến biến đổi mang. Điều này phù hợp với nghiên cứu gần đây của C. Jhunkeaw và cs (2020) [27], đó là không có hiện tượng cá chết và biến đổi hình thái mô ở cá rô phi khi xử lý O_3 -NB sau 48 giờ. Tuy nhiên, nếu tiếp tục xử lý liên tục một số ngày bằng O_3 -NB thì có thể dẫn đến tổn thương mang nhẹ. Mức oxy cao trong giai đoạn chạy máy cũng có thể là nguyên nhân ảnh hưởng xấu đến cấu trúc mang của tôm [21, 22] và cá [48]. Chất lượng nước kém cũng có thể ảnh hưởng đến cấu trúc mang, vì các hợp chất nitơ có thể dẫn đến phù nề biểu mô, thâm nhiễm và hoại tử ở tôm [49]. Mặc dù vậy, tôm ở các bể vẫn sinh trưởng và phát triển (kém hơn ở nghiệm thức O_2 -NB và tốt hơn ở O_3 -NB so với ĐC). Vì thế chúng tôi cho rằng, O_3 -NB mặc dù có gây biến đổi mang tôm, nhưng ít hơn O_2 -NB và vẫn có tác dụng tốt cho tôm phát triển. Theo chúng tôi, thời gian chạy máy nên giảm xuống để giảm tác động đến mang tôm.

4.5. Tăng trưởng

Kết quả nghiên cứu cho thấy rằng, việc sử dụng O_3 -NB có tác động tích cực đến tăng trưởng. O_3 -NB không chỉ cung cấp oxy cho tôm, tăng cường trao đổi chất, thúc đẩy tăng trưởng [9], chuyển hóa NH_3 , NO_2 [13], mà còn khống chế mật độ vi khuẩn *Vibrio* trong nước. O_3 -NB thể hiện tính hiệu quả kinh tế cao hơn thông qua cỡ tôm thu hoạch lớn hơn và năng suất tương đương. Nghiệm thức này có thể áp dụng vào các trang trại thương mại. Trong trường hợp chưa có thiết bị, muốn sục trực tiếp khí ozone thì phải áp dụng liều thấp và thận trọng. O_2 -NB với liều trình 1 giờ/ngày/bể cho hiệu quả thấp, tạo môi trường thuận lợi cho vi khuẩn *Vibrio* phát triển, vì thế cần được nghiên cứu thêm.

5. Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy, O_2 -NB và O_3 -NB đã cung cấp lượng DO vượt trội so với sục khí bình thường. Tuy nhiên, giá trị DO không duy trì cao trong cả ngày, tại thời điểm trước khi chạy máy, giá trị DO của các bể quay về mức trên 5 mg/l. Do nuôi thâm canh mật độ cao nên từ tuần thứ 5 trở đi, nước ở các bể bắt đầu ô nhiễm hữu cơ, hàm lượng NO_2 , COD, BOD_5 tăng cao. Các nghiệm thức O_2 -NB và O_3 -NB chưa thể hiện rõ tác dụng làm giảm ô nhiễm hữu cơ trong nước. Mật độ *Vibrio* tổng số trung bình của nhóm O_2 -NB cao gấp 1,41 lần so với nhóm ĐC và cao gấp 1,51 lần so với O_3 -NB. Áp dụng Nanobubble liên tục hàng ngày dẫn đến biến đổi mang ở nhiều cấp độ, mức độ biến đổi ở nghiệm thức O_2 -NB nhiều hơn O_3 -NB. Trọng lượng trung bình tôm lúc thu hoạch của các nghiệm thức ĐC, O_2 -NB, O_3 -NB lần lượt là $11,50 \pm 2,29$, $11,48 \pm 2,66$ và $13,87 \pm 1,65$ g/con. O_3 -NB đã cho thấy khả năng tăng cường hàm lượng DO trong nước, khống chế mật độ *Vibrio* tổng số và tăng cường sinh trưởng cho tôm. Thời gian chạy máy có thể giảm để hạn chế các tác động đến mang tôm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] A. Agarwal, W.J. Ng, Y. Liu (2011), "Principle and applications of microbubble and nanobubble technology for water treatment", *Chemosphere*, **84**, pp.1175-1180. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2011.05.054.
- [2] M. Chaplin (2019), "Nanobubbles (ultrafine bubbles)", <http://www1.lsbu.ac.uk/water/nanobubble.html>, accessed 2 March 2020.
- [3] R. Parmar (2013), "Microbubble generation and microbubble-aided transport process intensification - A state-of-the-art report", *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, **64**, pp.79-97, DOI: 10.1016/j.cep.2012.12.002.
- [4] A. Azevedo, R. Etchepare, S. Calgaroto, et al. (2016), "Aqueous dispersions of Nanobubbles: generation, properties and features", *Minerals Engineering*, **94**, pp.29-37, DOI: 10.1016/j.mineng.2016.05.001.
- [5] J. Weijs, D. Lohse (2013), "Why surface Nanobubbles live for hours", *Physical Review Letters*, **110**, DOI: 10.1103/PhysRevLett.110.054501.
- [6] C. Sjogreen, D.A.L. Tellez (2018), "Experimental study of nanobubbles in salt solutions", *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Fisicas y Naturales*, **42**, DOI: 10.18257/raccefy.543.
- [7] B. Kirby (2010), *Micro - And Nanoscale Fluid Mechanics: Transport in Microfluidic Devices*.
- [8] A.J. Atkinson, O.G. Apul, O. Schneider, et al. (2019), "Nanobubble technologies offer opportunities to improve water treatment", *Accounts of Chemical Research*, **52**(5), pp.1196-1205, DOI: 10.1021/acs.accounts.8b00606.

- [9] K. Ebina, K. Shi, M. Hirao, et al. (2013), "Oxygen and air Nanobubble water solution promote the growth of plants, fishes, and mice", *PLOS ONE*, **8**(6), DOI: 10.1371/5.2022 journal.pone.0065339.
- [10] H.K. Saputra, K. Nirmala, E. Supriyono, et al. (2018), "Micro/nano bubble technology: Characteristics and implications biology performance of Koi Cyprinus carpio in recirculation aquaculture system (RAS)", *Omni-Akuatika*, **14**(2), pp.29-36.
- [11] H. Stander (2018), "Nanobubble technology in aquaculture production systems", <https://agriabout.com/nanobubble-technology-in-aquacultureproduction-systems>, accessed 21 January 2019.
- [12] D.P. Galang, A.K. Ashari, L. Sulmawati, et al. (2019), "The oxygen content and dissolved oxygen consumption level of white shrimp *Litopenaeus vannamei* in the nanobubble cultivation system", *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, **236**, DOI: 10.1088/1755-1315/236/1/012014.
- [13] J.A. Hargreaves (1998), "Nitrogen biogeochemistry of aquaculture ponds 1", *Aquaculture*, **166**, pp.181-212, DOI: 10.1016/S0044-8486(98)00298-1.
- [14] <http://www.leilangkj.com/en/show.asp?id=73>, accessed 2 August 2019.
- [15] D.A. Gurung, O. Dahl, K. Jansson (2016), "The fundamental phenomena of Nanobubbles and their behavior in wastewater treatment technologies", *Geosystem Engineering*, **19**, pp.1-10, DOI: 10.1080/12269328.2016.1153987.
- [16] T. Temesgen, T.T. Bui, M. Han, et al. (2017), "Micro and Nanobubble technologies as a new horizon for water treatment techniques: a review", *Advances in Colloid and Interface Science*, **246**, pp.40-51, DOI: 10.1016/j.cis.2017.06.011.
- [17] K. Ikehata, Y. Li (2018), "Ozone-based processes", *Advanced Oxidation Processes for Waste Water Treatment*, Academic Press, pp.115-134.
- [18] Nanobubble Technoligise (2018), <https://www.nanobubble.com.au/applications/aquaculture/>, accessed 15 June 2019.
- [19] J.P. Schroeder, S.F. Klatt, M. Schlachter, et al. (2015), "Impact of ozonation and residual ozoneproduced oxidants on the nitrification performance of moving-bed biofilters from marine recirculating aquaculture systems", *Aquacultural Engineering*, **65**, pp.27-36, DOI: 10.1016/j.aquaeng.2014.10.008.
- [20] A.A. Gonçalves, G. Gagnon (2011), "Ozone application in recirculating aquaculture system: an overview", *Ozone: Science & Engineering*, **33**, pp.345- 367, DOI: 10.1080/01919512.2011.604595.
- [21] C.E. Boyd, A.W. Fast (1992), *Chapter 23 - Pond Monitoring and Management (Marine Shrimp Culture)*, Elsevier.
- [22] D.E. Weitkamp, M. Katz (1980), "A review of dissolved gas supersaturation literature", *Transactions of The American Fisheries Society*, **109**(6), pp.659-702, DOI: 10.1577/1548-8659(1980)109<659:ARODGS>2.0.CO;2.
- [23] X. Huang, K. Li, J. Du, et al. (2010), "Effects of gas supersaturation on lethality and avoidance responses in juvenile rock carp (*Procypris rabaudi* Tchang)", *Journal of Zhejiang University Science B*, **11**, pp.806-811.
- [24] J. Colt (1986), "Gas supersaturation - Impact on the design and operation of aquatic systems", *Aquacultural Engineering*, **5**(1), pp.49-85.
- [25] D.S. Lutz (1993), *Gas Supersaturation and Gas Bubble Trauma in Fish Downstream from a Moderately-Sized Reservoir (Civil and Construction Engineering Interdepartmental Major: Water Resources)*, Iowa State University.
- [26] British Columbia (2020), *Water Quality Guidelines for Dissolved Gas Supersaturation*, <https://www2.gov.bc.ca/assets/gov/environment/air-land-water/water/waterquality/water-quality-guidelines/approved-wqgs/totalgas-tech.pdf>, accessed 15 February 2021.
- [27] C. Jhunkeaw, N. Khongcharoen, N. Rungrueng, et al. (2020), "Ozone Nanobubble treatment in freshwater effectively reduced pathogenic fish bacteria and is safe for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)", *Aquaculture*, **534**, DOI: 10.1016/j.aquaculture.2020.736286.
- [28] N.H. Nghia, P.T. Van, P.T. Giang, et al. (2021), "Control of *Vibrio parahaemolyticus* (AHPND strain) and improvement of water quality using nanobubble technology", *Aquaculture Research*, **52**, pp.2727-2739, DOI: 10.1111/are.15124.
- [29] K. Imaizumi, S. Tinwongger, H. Kondo (2018), "Disinfection of an EMS/AHPND strain of *Vibrio parahaemolyticus* using ozone nanobubbles", *Journal of Fish Diseases*, **41**(4), pp.725-727, DOI: 10.1111/jfd.12783.
- [30] M. Seki, T. Ishikawa, H. Terada, et al. (2017), "Microbicidal effects of stored aqueous ozone solution generated by nano-bubble technology", *In Vivo (Athens, Greece)*, **31**(4), pp.579-583.
- [31] AquaPro Solutions (2019), *aQua+0.75M Technical Specification*.
- [32] R. Baird, L. Bridgewater (2017), *Standard Methods for The Examination of Water and Wastewater*, American Public Health Association.
- [33] N.B. Buller (2004), *Bacteria from Fish and Other Aquatic Animals: A Practical Identification Manual*, CABI.
- [34] D.V. Lightner (1996), *A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases of Cultured Penaeid Shrimp*, World Aquaculture Society.
- [35] J. Meegoda, S.A. Hewage (2018), "Stability of Nanobubbles", *Environmental Engineering Science*, **35**, DOI: 10.1089/ees.2018.0203.
- [36] M. Thompson, R. Doerner, N. Ohno, et al. (2017), "Measuring temperature effects on nanobubble growth in tungsten with grazing incidence small angle X-ray scattering", *Nuclear Materials and Energy*, **12**, pp.1294-1297, DOI: 10.1016/j.nme.2016.11.025.
- [37] A. Serizawa (2017), *Fundamentals and Applications of Micro/Nano Bubbles*, International Symposium on Application of High voltage, Plasmas & Micro/Nano Bubbles to Agriculture and Aquaculture (ISHPMNB 2017).
- [38] B.M. Smirnov, R.S. Berry (2015), "Growth of bubbles in liquid", *Chemistry Central Journal*, **9**, DOI: 10.1186/s13065-015-0127-y.
- [39] L. Wang, X. Miao, J. Ali, et al. (2018), "Quantification of oxygen nanobubbles in particulate matters and potential applications in remediation of anaerobic environment", *ACS Omega*, **3**(9), pp.10624-10630, DOI: 10.1021/acsomega.8b00784.
- [40] ysi (2018), www.ysi.com, accessed 16 November 2018.
- [41] Cefas (2010), *Ozone - Potential Application in Depuration Systems in The UK*.
- [42] Anses (2012), *Characteristics and Sources of Vibrio Parahaemolyticus Main Microbiological Characteristics*, French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety.
- [43] N.H. Nghia, L.C. Cuong, T.V. Dieu, et al. (2018), "Ozonation process and water disinfection", *Vietnam Journal of Chemistry*, **56**(6), pp.717-720, DOI: 10.1002/vjch.201800076.
- [44] <file:///C:/Users/Admin/Documents/Zalo%20Received%20Files/VibriosisinAquaculture.pdf>.
- [45] Y.R. Alfiansah, C. Hassenrück, A. Kunzmann, et al. (2018), "Bacterial abundance and community composition in pond water from shrimp aquaculture systems with different stocking densities", *Frontiers in Microbiology*, **9**, DOI: 10.3389/fmicb.2018.02457.
- [46] S.A. Mastan, S.K. Begum (2016), "Vibriosis in farm reared white shrimp, *litopenaeus vannamei* in andhra pradesh-natural occurrence and artificial challenge", *International Journal of Applied Sciences and Biotechnology*, **4**, DOI: 10.3126/ijasbt.v4i2.15126.
- [47] A. Ganesh, S. Das, K. Chandrasekar, et al. (2010), "Monitoring of total Heterotrophic bacteria and *Vibrio* spp. in an aquaculture pond", *Current Research Journal of Biological Sciences*, **2**(1), pp.48-52.
- [48] V. Tzaneva, S. Bailey, S.F. Perry (2011), "The interactive effects of hypoxemia, hyperoxia, and temperature on the gill morphology of goldfish (*Carassius auratus*)", *American Journal of Physiology*, **300**, pp.1344-1351, DOI: 10.1152/ajpregu.00530.2010.
- [49] M. Fregoso, M.S.M. Covarrubias, M.A.F. Nava, et al. (2017), "Histological alterations in gills of shrimp *Litopenaeus vannamei* in low-salinity waters under different stocking densities: potential relationship with nitrogen compounds", *Aquaculture Research*, **48**, pp.5854-5863, DOI: 10.1111/are.13408.