

BIẾN ĐỘNG MẬT ĐỘ VI KHUẨN TRONG AO NUÔI TÔM SÚ (*Penaeus monodon*) GHÉP VỚI CÁ RÔ PHI ĐỎ Ở SÓC TRĂNG

Phạm Thị Tuyết Ngân¹, Trần Thị Kiều Trang¹ và Trương Quốc Phú¹

ABSTRACT

To serve as a background for future research on methodology to control phytoplankton, improve water quality to reduce the risk of intensive shrimp culture was studied in integrated system of tiger shrimp and tilapia in Soc Trang province. Density of total bacteria, Vibrio and luminous bacteria were determined during the culture period. However, application of probiotic on the pond culture interfered final results. The results in this practice shown that the variation of total bacteria correlated with beneficial bacteria (probiotics), which added in to the pond during the culture. The density of harmful Vibrios (green colonies) was lower than limited permission (10^3 CFU/mL) Luminous bacteria presented in the pond in the beginning of running and quite absent at the middle of season. Integrated system of tiger shrimp and tilapia in this practice had found no effect to microbial community in pond culture.

Key word: total bacteria, Vibrio, luminous bacteria, *Peaneus monodon*, tilapia

Title: variation of bacteria density on model culture shrimp together with Tilapia on Soc Trang province

TÓM TẮT

Hình thức nuôi tôm kết hợp với cá rô phi nhằm làm cơ sở nghiên cứu biện pháp khống chế sự phát triển của phytoplankton, cải thiện chất lượng nước, góp phần làm giảm rủi ro do dịch bệnh cho nghề nuôi tôm thâm canh đã được thực hiện tại tỉnh Sóc Trăng. Mật độ tổng vi khuẩn, Vibrio và vi khuẩn phát quang đã được xác định trong suốt chu kỳ nuôi. Tuy nhiên, với kỹ thuật sử dụng chế phẩm vi sinh định kỳ để tăng mật số vi khuẩn chuyển hoá đạm trong quá trình, phần nào đã ảnh hưởng đến kết quả nghiên cứu của chúng tôi. Qua số liệu phân tích cho thấy mật độ tổng vi khuẩn biến động có liên quan với việc sử dụng chế phẩm sinh học. Mật độ vi khuẩn Vibrio có hại (khuẩn lạc xanh) có mật độ thấp hơn giới hạn cho phép (10^3 CFU/mL) Vi khuẩn phát sáng thường xuất hiện vào đầu vụ nuôi và không tìm thấy vào giữa vụ nuôi. Việc nuôi ghép cá rô phi trong ao nuôi tôm không có vai trò làm thay đổi quần thể vi sinh vật trong ao nuôi.

Từ khoá: Tổng vi khuẩn, vibrio, vi khuẩn phát quang, tôm sú nuôi ghép cá rô phi

1 GIỚI THIỆU

Tôm sú (*Penaeus monodon*) là đối tượng thủy sản có giá trị thương phẩm cao và cũng là đối tượng nuôi quan trọng của một số nước đang phát triển ở Châu Á như Trung Quốc, Ấn Độ, Thái Lan, Philippines, Việt Nam và Ecuador (Nam Mỹ). Nghề nuôi tôm không chỉ góp phần lớn làm tăng kim ngạch xuất khẩu thủy sản cho các nước nêu trên mà còn có tác động tích cực đến quá trình phát triển kinh tế xã hội, cải thiện đời sống cho người nuôi thủy sản. Hiện nay, nghề nuôi tôm nước lợ ở nhiều nước trên thế giới đã và đang chịu ảnh hưởng nghiêm trọng do môi trường nuôi ô nhiễm và dịch bệnh phát sinh, đặc biệt là mô hình nuôi tôm sú thâm canh. Hậu quả là có nhiều vùng nuôi tôm bị thất bại liên tục đã bị bỏ hoang, gây nên những tác động nghiêm trọng về kinh tế xã hội. Để hạn chế sự xâm nhập của mầm bệnh vào ao nuôi, các nhà khoa học đã nghiên cứu đề xuất mô hình nuôi tôm ít thay nước, mô hình này đang được áp dụng phổ biến hiện nay (Yang Yi & Fitzsimmons, 2002). Tuy nhiên, do ít thay nước nên chất lượng nước giảm rất nhanh, vật

¹ Bộ môn Thủy sinh học ứng dụng, Khoa Thủy sản, Đại học Cần Thơ

chất dinh dưỡng tích lũy về cuối vụ nuôi dẫn đến hiện tượng tảo nở hoa của các loài tảo lam, tảo giáp (Trương Quốc Phú *et al.*, 1997).

Theo Schulze *et al.*, (2006), quần thể vi sinh vật trong các thủy vực nuôi thủy sản nước mặn rất đa dạng, bao gồm một số loài gây bệnh, một số loài không gây bệnh và một số loài có lợi cho vật nuôi, khả năng duy trì sự cân bằng thích hợp của hệ vi sinh này là chìa khoá thành công trong việc quản lý môi trường nuôi thủy sản. Chúng ta cũng biết rằng môi trường ao nuôi là nơi lý tưởng cho vi khuẩn sinh trưởng và phát triển, do chất hữu cơ và nguồn carbon dồi dào. Tùy thuộc vào thời gian nuôi, mật độ vi khuẩn trong hệ thống nuôi có thể đạt đến mật độ 10^4-10^7 CFU/ml (Rombaut *et al.*, 2001). Theo Boyd và Tucker (1998), trong tổng số vi khuẩn có mặt trong môi trường, một số đóng vai trò quan trọng trong nuôi trồng thủy sản, đặc biệt là liên quan đến sức sản xuất sơ cấp, phân hủy chất hữu cơ, cải thiện chất lượng nước trong ao, ngoài ra vi khuẩn còn giữ vai trò quan trọng trong việc chuyển hoá các chất độc như ammonia và các hợp chất nitơ. Ngoài ra một số khác có thể gây hại cho vật nuôi, nhất là nhóm *Vibrio* đã được xem như một trong những nguyên nhân làm tôm chết hàng loạt (Moriarty, 1998). Baticados *et al.* (1990) đã cảnh báo vi khuẩn phát sáng *Vibrio harveyi* gây thiệt hại nghiêm trọng cho tôm sú. Để giải quyết vấn đề này các chủ trại nuôi thường sử dụng các chất hoá học và kháng sinh (Gräslund và Bengtsson, 2001; Gomez-Gil *et al.*, 2000). Sự lạm dụng thuốc kháng sinh có thể dẫn đến sự kháng thuốc của những dòng vi khuẩn này (Weston, 1996).

Biện pháp được xem là có hiệu quả làm giảm chất thải và duy trì màu nước đó là biện pháp sinh học (nuôi kết hợp tôm với cá rô phi). Biện pháp này được áp dụng trong vài năm gần đây ở các nước Philippines, Thái Lan, Ecuador với các hình thức kết hợp khác nhau như: thả trực tiếp cá rô phi vào ao tôm với mật độ khoảng 0,1 con/m²; nuôi cá rô phi trong lồng đặt giữa ao tôm với mật độ thả 10 con/m² lồng; nuôi cá rô phi trong ao lắng tuần hoàn nước với ao tôm (Fitzsimmon, 2001).

Ở Đồng Bằng Sông Cửu Long (ĐBSCL) nghề nuôi tôm sú thâm canh phát triển mạnh ở một số địa phương như: Sóc Trăng, Bạc Liêu, Bến Tre, Tiền Giang, Kiên Giang... Mô hình nuôi được áp dụng phổ biến là mô hình nuôi ít thay nước, hình thức nuôi tôm kết hợp với cá rô phi cũng bắt đầu được áp dụng. Cũng tương tự như nghề nuôi tôm thâm canh trên thế giới, việc làm giảm vật chất dinh dưỡng và khống chế sự phát triển của tảo cũng là mối quan tâm hàng đầu đối với người nuôi tôm ở Việt Nam nói chung và ở ĐBSCL nói riêng. Chính vì thế, nghiên cứu này tập trung khảo sát ảnh hưởng của việc nuôi ghép cá rô phi có bổ sung chế phẩm sinh học lên chất lượng nước, chất thải trong ao nuôi và biến động tổng vi khuẩn, tổng *Vibrio* và vi khuẩn phát quang đã được thực hiện.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Địa điểm và thời gian thực hiện

Nghiên cứu được tiến hành vào hai vụ: vụ 1 vào đầu mùa mưa 2004 (từ tháng 5-9/2004) tại xã Tham Đôn, huyện Mỹ Xuyên và vụ 2 vào cuối mùa khô năm 2005 (Tháng 4-8/2005) tại xã Vĩnh Phước, huyện Vĩnh Châu, tỉnh Sóc Trăng.

2.2 Chuẩn bị ao

2.2.1 Hệ thống ao thí nghiệm

- Vụ nuôi 1

Hệ thống ao thí nghiệm được xây dựng ở vùng trũng triều, có diện tích 3.000m² và sâu 2m. Hai ao còn lại có diện tích 3.400m²; sâu 2,5m. Các ao có hệ thống cấp và thoát nước riêng biệt, nguồn nước cấp từ sông Dừa Tho, nước từ biển chảy vào sông Dừa Tho qua cửa biển

Mỹ Thanh. Hệ thống quạt nước được lắp đặt theo hệ thống trục dài, lắp theo phương pháp đảo nhị. Hệ thống sục khí được lắp đặt hệ thống bao gồm máy nén khí công suất 2HP, máy nén khí hoạt động sẽ thổi khí vào ống nhựa PVC. Ao được cải tạo và xử lý nước như sau: phơi ráo đất, bón 400kg vôi $\text{Ca}(\text{OH})_2$, kết hợp bón 400kg rải xung quang bờ ao. Bom nước vào đến thang đo 1,2 m. Kiểm tra pH và độ mặn nước. Nâng dần pH nước lên trong vòng 7 ngày bằng super canxi, dolomite và pH Fixer. Dùng Fos 500 EC ở liều lượng 2 mg/L để diệt giáp xác. Sử dụng saponin ở liều lượng 10 mg/L để diệt cá. Diệt khuẩn bằng KMnO_4 ở nồng độ 10 mg/L.

- Vụ nuôi 2

Hệ thống thí nghiệm gồm 05 ao, có dạng hình chữ nhật với diện tích 200m^2 , độ sâu ao 1,5m; 01 ao lắng xử lý nước diện tích 400m^2 , độ sâu 2m; có hệ thống cấp và thoát nước riêng biệt. Do các ao thí nghiệm có diện tích nhỏ nên không sử dụng hệ thống quạt nước mà chỉ sử dụng hệ thống sục khí. Ao được cải tạo như sau: bón vôi $\text{Ca}(\text{OH})_2$ liều lượng $15\text{kg}/100\text{m}^2$, phơi khô đáy ao, lấy nước vào ao lắng. Xử lý nước bằng chlorine nồng độ 30 mg/L, bổ sung silic, pond fish (CP) với nồng độ 2 mg/L. Khi nước có màu xanh nhạt tiến hành thả giống. Giống tôm sú P_{15} khỏe mạnh, kích cỡ đồng đều. Cá rô phi (2g/cá) được thả sau khi thả tôm 3 ngày.

2.2.2 Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được thực hiện theo kiểu bố trí khối hoàn toàn ngẫu nhiên với 4 nghiệm thức và 2 lần lặp lại. Các nghiệm thức thí nghiệm bao gồm: nghiệm thức 1, (tôm-cá chung): Nuôi cá rô phi chung với tôm sú, mật độ cá thả $0,1\text{con}/\text{m}^2$, số lượng cá thả là 300 con. Nghiệm thức 2 (tôm-cá lồng): Nuôi cá rô phi trong lồng lưới đặt giữa ao tôm, mật độ cá thả $10\text{con}/\text{m}^2$. Diện tích lồng 64m^2 , số lượng cá thả vào lồng là 640 con. Nghiệm thức 3 (đối chứng): nuôi tôm đơn. Nghiệm thức 4 (tuần hoàn): cá rô phi được nuôi trong ao lắng nước tuần hoàn, mật độ $4,5\text{con}/\text{m}^2$, diện tích ao lắng 1.000m^2 . Tôm giống được xét nghiệm vi-rut gây bệnh đốm trắng, đầu vàng trước khi thả, sau đó tiếp tục kiểm tra PCR định kỳ hàng tháng trong quá trình nuôi.

2.3 Chế độ chăm sóc

2.3.1 Vụ nuôi 1

Trong 1,5 tháng đầu, sử dụng Super VS 1 (CP) tuần/lần với liều 3 mg/L, để duy trì hệ vi khuẩn Bacillus. Mỗi ngày cho ăn 4 lần. Sử dụng thức ăn CP. Tôm dưới 1 tháng tuổi: quạt nước 1 lần/ngày vào buổi trưa (tránh phân tầng nhiệt). Tôm trên 1 tháng tuổi: quạt nước 2 lần/ ngày. Tôm từ 3 tháng tuổi trở lên: quạt nước liên tục, chỉ tắt quạt trước khi cho ăn khoảng 30 phút, sau khi cho ăn khoảng 60 phút thì cho quạt tiếp.

2.3.2 Vụ nuôi 2

Định kỳ 15 ngày sử dụng Zeolite 20 mg/L (Sao Á), tạt đều ao nuôi liều lượng 1 mg/L. Trong quá trình nuôi, tùy theo tình huống biến động chỉ tiêu môi trường nước, mức độ ảnh hưởng mà có biện pháp xử lý cụ thể: thí dụ Kill algae, BKC (Vemedim) với liều lượng 1 mg/L được xử lý khi tảo sắp tàn và mật độ tảo cao, dolomite được bón trước và sau khi mưa nhằm ổn định môi trường nước. Sử dụng thức ăn Grobest cho tôm trong suốt quá trình nuôi theo qui cách và chỉ dẫn của nhà sản xuất. Thức ăn được điều chỉnh hàng ngày tùy theo biểu hiện của tôm, lượng thức ăn còn lại trên sàng ăn. Chế độ sục khí được vận hành theo nhu cầu oxy của tôm nuôi, đảm bảo không có sự phân tầng về nhiệt độ, oxy, độ mặn trong môi trường nước ao nuôi.

2.4 Phương pháp thu và phân tích mẫu (Huy, 2002)

- Cách pha loãng nồng độ

1mL nước ao nuôi cho vào ống nghiệm có chứa 9mL nước muối sinh lí (0,85%) tiết trùng, được nồng độ pha loãng là 10^{-1} . Sau đó lắc đều và lấy 1mL ở ống nghiệm có nồng độ pha loãng 10^{-1} cho vào ống nghiệm có chứa 9mL nước muối sinh lí được nồng độ pha loãng là 10^{-2} . Lần lượt như thế cho các nồng độ pha loãng kế tiếp

- Cách cấy mẫu nước vào môi trường thạch

Lấy 100 μ L mẫu đã được pha loãng ở trên cho vào đĩa petri có chứa môi trường thạch đã được chuẩn bị sẵn (NA (28gram NA+1L nước cất), TCBS (88gram TCBS + 1 lít nước cất), PQ (NA: 28 gram; NaCl: 1%; KCl: 0,2%; MgCl: 0,4% + 1 L nước cất). Sau đó dùng que trang đều trên môi trường cho đến khi khô hoàn toàn. Các đĩa này được cho vào tủ ẩm ủ trong 24h, ở nhiệt độ 28°C.

Kết quả được tính theo công thức sau:

$$X = A * K/V$$

Trong đó, X: số khuẩn lạc trong 1 mL mẫu nước (CFU/mL).

A: số khuẩn lạc trung bình mọc trong một đĩa.

K: hệ số pha loãng

V: thể tích mẫu nước dùng để cấy (mL).

2.5 Xử lý số liệu

Số liệu thí nghiệm được thống kê theo từng lô và từng đợt lấy mẫu. Sự biến động của các yếu tố được biểu diễn bằng các biểu đồ thể hiện quy luật biến động bằng phần mềm Excel. Sự khác biệt giữa hai nghiệm thức được phân tích theo phương pháp ANOVA (Analysis of Variances) bằng phần mềm SPSS.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

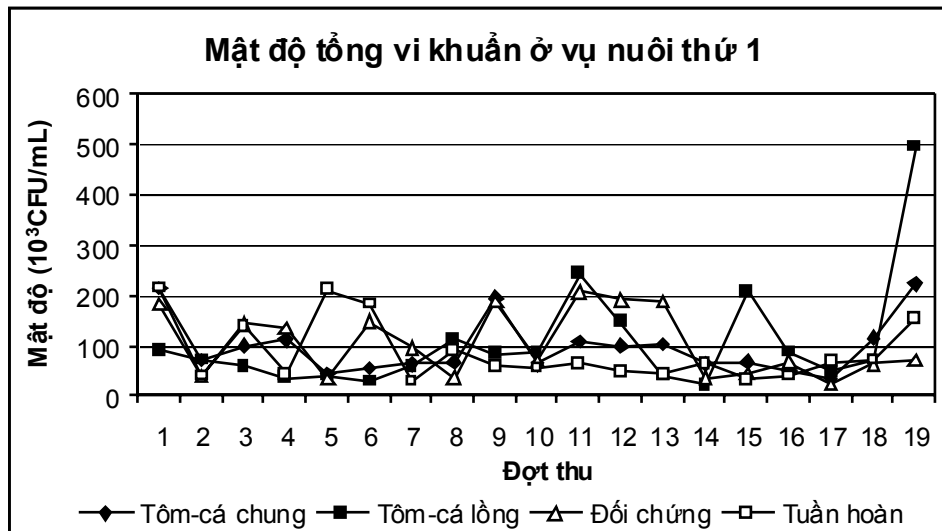
3.1 Tổng vi khuẩn

Kết quả nghiên cứu về vi sinh vật ở vụ nuôi thứ 1 cho thấy, mật độ tổng vi khuẩn trung bình của các nghiệm thức dao động từ 87,3-106,5.10³ CFU/mL nhưng sự biến động thì khá lớn (19,5-495.10³ CFU/mL). Sự biến động này có liên quan nhiều đến việc sử dụng các chế phẩm sinh học trong quá trình nuôi.

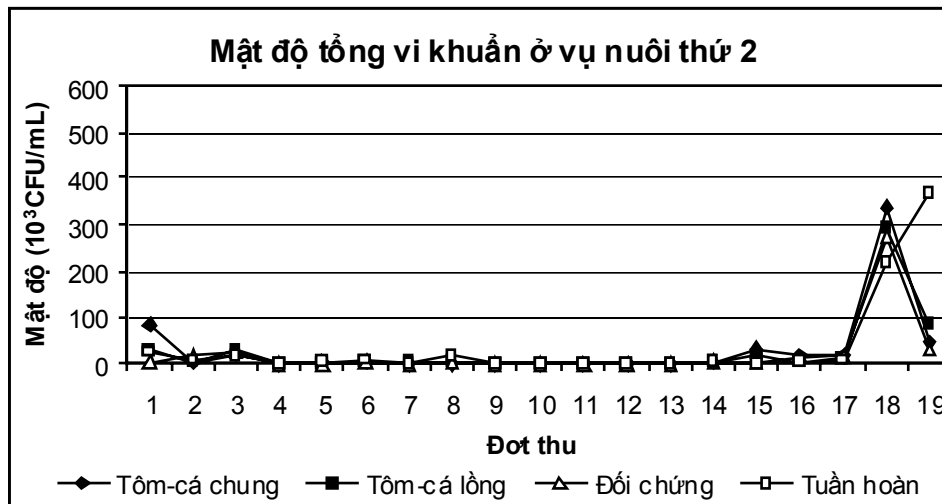
Khi so sánh mật độ tổng vi khuẩn giữa các nghiệm thức thì nghiệm thức tôm-cá lồng và nghiệm thức đối chứng có mật độ tổng vi khuẩn trung bình gần bằng nhau nhưng cao hơn so với nghiệm thức tôm-cá chung và nghiệm thức tuần hoàn. Tuy nhiên, do sự biến động về mật độ tổng vi khuẩn trong từng nghiệm thức rất lớn nên rất khó xác định sự khác biệt giữa các nghiệm thức. Ở vụ nuôi thứ 2, mật độ tổng vi khuẩn trung bình đạt 21,6-36,8.10³ CFU/mL, sự biến động về mật độ tổng vi khuẩn cũng rất lớn (0,2-369,5.10³ CFU/mL). Tương tự như ở vụ nuôi thứ 1, do có sự biến động rất lớn về mật độ tổng vi khuẩn trong từng nghiệm thức nên không tìm thấy sự khác biệt giữa các nghiệm thức.

Như vậy, sự biến động của mật độ tổng vi khuẩn hầu như không có liên quan đến cá rô phi nuôi ghép trong ao tôm mà có liên quan nhiều đến việc sử dụng chế phẩm sinh học. Thường thì sau khi sử dụng chế phẩm sinh học thì mật độ tổng vi khuẩn tăng nhanh dẫn đến sự biến động mật độ tổng vi khuẩn. Ở vụ nuôi thứ 1, do có sử dụng nhiều chế phẩm sinh học nên có mật độ vi khuẩn cao hơn so với ở vụ nuôi thứ 2 (Hình 1, 2). Theo Anderson (1993) trong nước sạch thì mật độ tổng vi khuẩn nhỏ hơn 10³ CFU/mL, nếu mật độ tổng vi khuẩn vượt 10⁷ sẽ có hại cho tôm cá nuôi và môi trường nuôi trở nên bẩn. Mật độ tổng vi khuẩn trung bình ở vụ nuôi thứ 1 đạt khoảng 10⁵ CFU/mL, thấp hơn giới

hạn cho phép. Tuy nhiên, giá trị cao nhất của mật độ tổng vi khuẩn gần đạt giá trị 10^6 CFU/mL chứng tỏ môi trường nước ao nuôi đang tiến gần đến giới hạn cho phép.



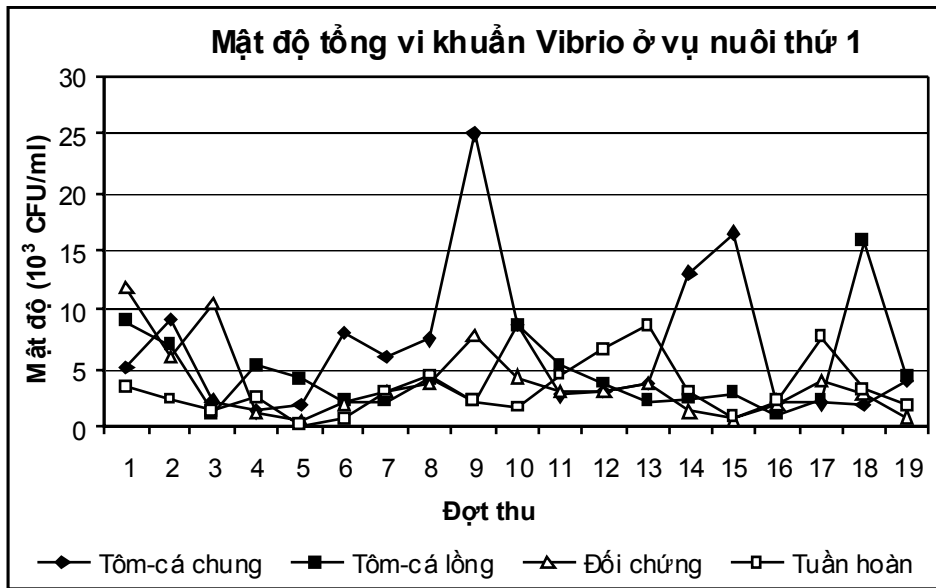
Hình 1: Biến động mật độ tổng vi khuẩn của các nghiệm thức ở vụ nuôi thứ 1



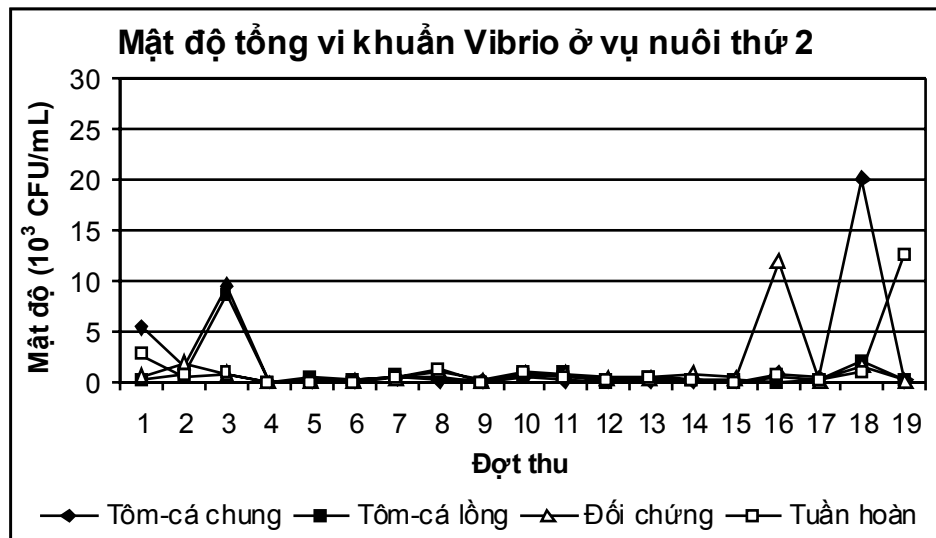
Hình 2: Biến động mật độ tổng vi khuẩn của các nghiệm thức ở vụ nuôi thứ 1

3.2 Tổng vi khuẩn Vibrio

Mật độ tổng vi khuẩn Vibrio trung bình của các nghiệm thức ở vụ nuôi thứ 1 là $3,2-6,5.10^3$ CFU/mL và ở vụ nuôi thứ 2 là $0,8-2,1.10^3$ CFU/mL. Sự biến động mật độ tổng vi khuẩn Vibrio theo quy luật tương tự như mật độ tổng vi khuẩn nhưng thấp hơn 20-30 lần. Mật độ vi khuẩn Vibrio có hại ở vụ nuôi thứ 1 (khuẩn lạc màu xanh) là 290-749 CFU/mL (chiếm 9,2-16,0% của tổng Vibrio) và ở vụ nuôi thứ 2 là 277-978 CFU/mL (chiếm 33-48% của tổng Vibrio). Sự khác biệt giữa các nghiệm thức không có ý nghĩa thống kê ($P>0,05$). Theo Moriarty (1999) mật độ Vibrio có hại, đặc biệt là vi khuẩn phát sáng vượt quá 10^3 thì gây tác hại đến tôm. Với kết quả trên, mặc dù mật độ vi khuẩn Vibrio có hại trung bình chưa vượt mức cho phép nhưng vào thời điểm mật độ vi khuẩn Vibrio có hại phát triển mạnh đã xấp xỉ đạt tới giới hạn trên (Hình 4, 5).



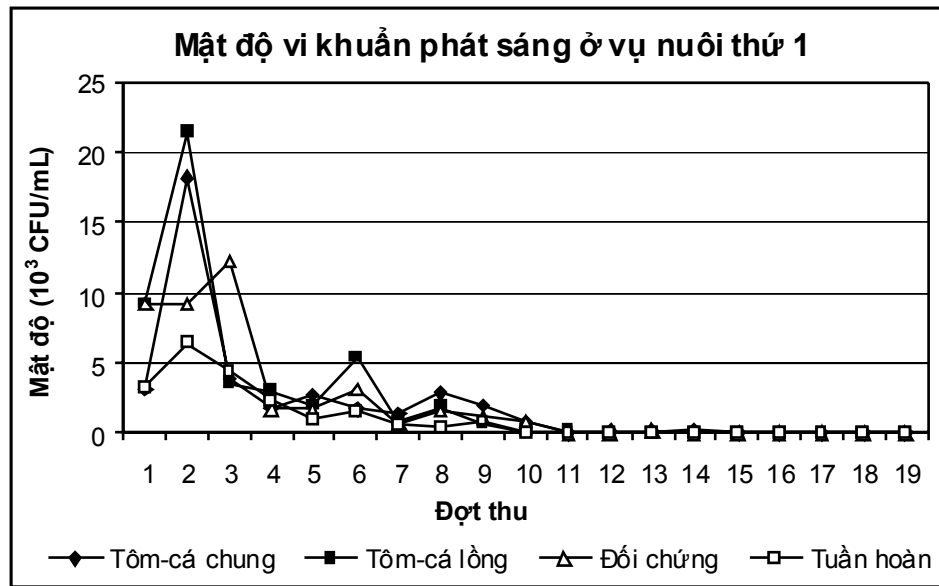
Hình 3: Biến động mật độ tổng vi khuẩn Vibrio của các nghiệm thức ở vụ nuôi thứ 1



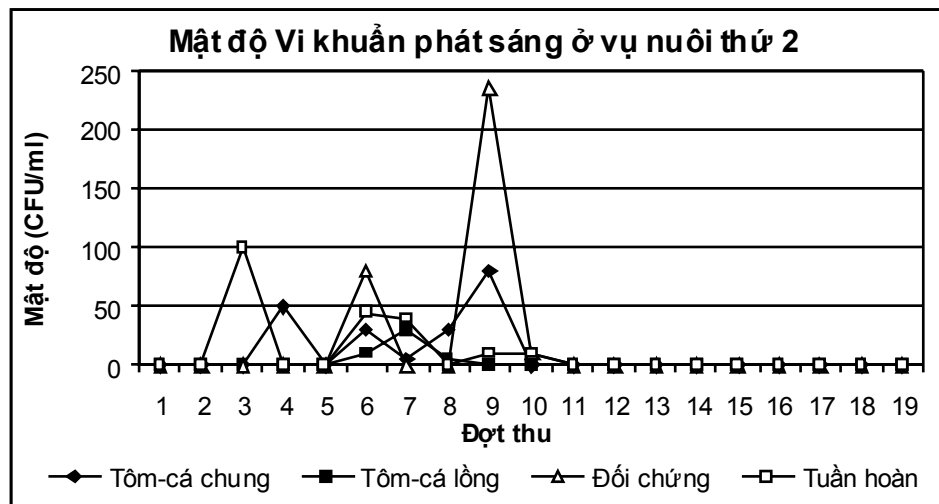
Hình 4: Biến động mật độ tổng vi khuẩn Vibrio của các nghiệm thức ở vụ nuôi thứ 2

3.3 Vi khuẩn phát sáng

Kết quả theo dõi qua 2 vụ nuôi cho thấy, vi khuẩn phát sáng chỉ phát triển ở đầu vụ nuôi sau đó giảm dần, đến đợt thu thứ 11 trở về sau thì vi khuẩn phát sáng không thấy xuất hiện nữa. Theo Moriarty (1999) mật độ vi khuẩn phát sáng tăng lên 10^3 - 10^4 CFU/mL sau khi gây màu nước 2-3 tuần và sau đó giảm dần vào cuối vụ. Ao nuôi có sử dụng chế phẩm sinh học mật độ vi khuẩn phát sáng thấp hoặc không gây bệnh cho tôm ngay cả trường hợp có sự hiện diện của vi khuẩn phát sáng. Kết quả nghiên cứu của Moriarty (1999) hoàn toàn phù hợp với kết quả của nghiên cứu này, trong quá trình thực hiện thí nghiệm, chế phẩm sinh học được sử dụng định kỳ nên đã hạn chế sự phát triển của vi khuẩn phát sáng về cuối vụ nuôi.



Hình 5: Biến động mật độ vi khuẩn phát sáng của các nghiệm thức ở vụ nuôi thứ 1



Hình 6: Biến động mật độ vi khuẩn phát sáng của các nghiệm thức ở vụ nuôi thứ 2

Vụ nuôi thứ 1 vi khuẩn phát sáng phát triển mạnh đạt mật độ trung bình $1,8-5,2 \cdot 10^3$ CFU/mL (cao nhất là $21,5 \cdot 10^3$ CFU/ml), trong khi đó vụ nuôi thứ 2 mật độ vi khuẩn phát sáng rất thấp với mật độ trung bình là $2,4-17,1$ CFU/mL (cao nhất đạt 235 CFU/mL). Khi so sánh giữa các nghiệm thức, ở vụ nuôi thứ 1 mật độ vi khuẩn phát sáng của nghiệm thức tôm-cá chung và tôm-cá lồng cao hơn 2 nghiệm thức còn lại. Ngược lại, mật độ vi khuẩn phát sáng của nghiệm thức đối chứng cao hơn so với nghiệm thức còn lại (Hình 5, 6). Kết quả phân tích thống kê cho thấy sự khác biệt giữa các nghiệm thức là không có ý nghĩa ($P > 0,05$). Với kết quả trên cho thấy mật độ vi khuẩn phát sáng ở vụ nuôi thứ 1 đã vượt quá giới hạn cho phép, trong khi đó mật độ vi khuẩn phát sáng ở vụ nuôi thứ 2 thấp hơn nhiều lần so với giới hạn.

Kết quả theo dõi quần thể vi sinh vật cho thấy, mật độ vi khuẩn giữa các nghiệm thức nuôi tôm kết hợp cá rô phi so với ao nuôi tôm đơn hầu như không có sự khác biệt. Như vậy, kết quả trên cho thấy quần thể vi sinh vật trong các nghiệm thức không chịu tác động của đối tượng nuôi ghép, hay nói cách khác cá rô phi nuôi ghép trong ao tôm không có vai trò làm thay đổi quần thể vi sinh vật.

4 KẾT LUẬN

Mật độ tổng vi khuẩn biến động có liên quan với việc sử dụng chế phẩm sinh học. Mật độ vi khuẩn *Vibrio* có hại (khuẩn lạc xanh) có mật độ thấp hơn giới hạn cho phép (10^3 CFU/mL). Vi khuẩn phát sáng thường xuất hiện vào đầu vụ nuôi và chúng biến mất vào giữa vụ nuôi. Việc nuôi ghép cá rô phi trong ao nuôi tôm không có vai trò làm thay đổi quần thể vi sinh vật trong ao nuôi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Anderson, I. 1993. The veterinary approach to marine prawns. In: *Aquaculture for veterinarians: fish husbandry and medicine* (Editor Brown L.), pp. 271-296.
- Baticados, M.C.L., C.R Lavilla-Pitogo, E.R. Cruz-Lacierda, L.D. de la Peña and N.A. Suñaz. 1990. Studies on the chemical control of luminous bacteria *Vibrio harveyi* and *V. splendidus* isolated from diseased *Penaeus monodon* larvae and rearing water. *Diseases of Aquatic Organisms* 9:133-139.
- Boyd, C.E. and C.S. Tucker. 1998. *Pond Aquaculture Water Quality Management*. Kluwer Academic Publishing, Boston, MA, USA. 700pp.
- Fitzsimmon K. 2001. Polyculture of Tilapia and penaeid shrimp. *Global Aquaculture Advocate*, 4(3): 43-44.
- G. Rombaut, G. Suantika, N. Boon, S. Maertens, P. Dhert, E. Top, P. Sorgeloos and W. Verstraete, 2001. Monitoring of the evolving diversity of the microbial community present in rotifer cultures. In *Aquaculture* 198: 237-252.
- Gomez-Gil, B., a. Roque and J. Turnbull. 2000. The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms. *Aquaculture*. 191:259-270.
- Gräslund, S. and B.E. Bengtsson. 2001. Chemicals and biological products used in south-east Asian shrimp farming, and their potential impact on the environment – a review. *The science of the Total Environment*. 280:93-131.
- Huys, G. 2002. Preservation of bacteria using commercial cryopreservation systems. *Standard Operationg Procedure*, Asiaresist. 2002.
- Moriarty, D. 1998. Control of luminous *Vibrio* species in *penaeid* aquaculture ponds. *Aquaculture* 164:351-358.
- Moriarty, D.J.W. 1999. Disease control in shrimp aquaculture with probiotic bacteria. In: *Microbial Biosystems: New Frontiers. Proceedings of the 8th International Symposium on Microbial Ecology*. Bell CR, Brylinsky M, Johnson-Green P (Eds) Atlantic Canada Society for Microbial Ecology Hali fax Canada
- Schulze Angela D., Abayomi O. Alabi, Adele R. Tattersall-Sheldrake and Kristina M. Miller, 2006. Bacterial diversity in a marine hatchery: Balance between pathogenic and potentially probiotic bacterial strains. In *Aquaculture* 256, 50-73.
- Trương Quốc Phú, Đặng Hữu Tâm và Kim Út, 1997. Thực nghiệm nuôi tôm sú thâm canh trong mô hình ít thay nước ở Duyên Hải, Trà Vinh. Báo cáo Hội nghị Khoa học công nghệ 1993-1997. 158-164.
- Weston, D.P. 1996. Environmental considerations in the use of antibacterial drugs in aquaculture. In: *Aquaculture and water resource management*. Michel, C.M. & Alderman, D.J. (Eds.). Paris, Office International des Epizooties: 494-509.
- Yang Yi. and K. Fitzsimmons. (2002). Survey study of tilapia-shrimp polycultures in Thailand. Tenth work plan, *New Aquaculture systems/New species research 3* (10NSR3A).