



## ẢNH HƯỞNG CỦA PH LÊN MỘT SỐ CHỈ TIÊU SINH LÝ VÀ TĂNG TRƯỞNG TÔM CÀNG XANH (*Macrobrachium rosenbergii*)

Đỗ Thị Thanh Hương<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Kim Hà<sup>1</sup>, Bùi Văn Mướp<sup>2</sup> và Nguyễn Thanh Phương<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup> Trường Đại học Tiền Giang

### Thông tin chung:

Ngày nhận: 10/6/2014

Ngày chấp nhận: 04/8/2014

### Title:

Effects of pH on physiological parameters and growth performance of the giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*)

### Từ khóa:

Tôm càng xanh, pH, glucose, áp suất thẩm thấu

### Keywords:

*Macrobrachium rosenbergii*, pH, glucose, osmolality

### ABSTRACT

In Vietnam, the giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) is reared mainly in the Mekong Delta, especially in ponds, garden canals and paddy fields including low pH areas; and is potential species of the freshwater aquaculture. The effects of pH on the giant freshwater prawn was carried out to determine the upper and lower pH threshold of this species. In addition, hemolymph osmolality and glucose concentration; molting cycle, growth and survival rate of the prawns were also investigated at different pH water levels. The results of the studies showed that the upper and lower pH threshold of this species in three hours of exposure were 3 and 11; the hemolymph osmolality fluctuated from 370 mOsm/kg to 430 mOsm/kg; while the glucose concentrations peaked at pH=5.5 (12.1-31.6 mg/mL) and pH=6.0 (8.43-29.1 mg/mL). After 70 days of rearing, the growth of prawns was fastest at pH=8.0 (15.2±0.05g), the daily weight gain was 0.08±0.00 mg/day; the molting cycle at pH=7.0 and 8.0 was 12 days; and the survival rate was 100% at pH=8.0. The results of this experiment indicated that the giant freshwater prawn grows well in the water environment with a range of pH from 7.0 to 9.0; if the pH out of this range the physiology and growth are affected.

### TÓM TẮT

Ở Việt Nam, tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*) được nuôi phổ biến ở Đồng bằng sông Cửu Long mà nhiều nhất là nuôi trong ao, ruộng lúa, vườn ruộng kể cả ở vùng bị nhiễm phèn nhẹ; và là đối tượng tiềm năng của nghề nuôi trồng thủy sản nước ngọt. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm tìm ra khả năng chịu đựng pH cao và pH thấp của tôm, sự thay đổi áp suất thẩm thấu (ASTT) và hàm lượng glucose trong máu, chu kỳ lột xác, tăng trưởng và tỷ lệ sống của tôm ở giá trị pH khác nhau. Kết quả nghiên cứu cho thấy khả năng chịu đựng pH cao của tôm là 11 và pH thấp là 3. Các chỉ tiêu sinh lý như ASTT trong khoảng 373 mOsm/kg đến 430 mOsm/kg; hàm lượng glucose trong máu tăng cao nhất ở nghiệm thức pH=5,5 (12,1-31,6 mg/100 mL) và pH=6,0 (8,43-29,1 mg/100 mL). Tăng trưởng khối lượng sau 70 ngày nuôi cao nhất ở pH=8,0 là 15,2±0,05 g/con, tăng trưởng theo ngày (DWG) là 0,08±0,00 mg/ngày. Chu kỳ lột xác của tôm sau 70 ngày nuôi ổn định ở pH=7,0 và 8,0 là 12 ngày. Tỷ lệ sống của tôm ở pH=8,0 là 100%. Kết quả nghiên cứu khẳng định khoảng pH thích hợp trong nuôi tôm càng xanh là từ 7,0-9,0 và tối ưu nhất là pH=8,0. Các giá trị pH nằm ngoài giới hạn này có ảnh hưởng đến tăng trưởng của tôm càng xanh.

## 1 GIỚI THIỆU

Tôm càng xanh *Macrobrachium rosenbergii* là loài có kích thước lớn nhất trong số các loài tôm nước ngọt. Tôm phân bố chủ yếu ở sông, rạch, cửa sông vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới, Ấn Độ - Thái Bình Dương. Ở Việt Nam, tôm càng xanh phân bố chủ yếu ở các tỉnh Nam Bộ, đặc biệt là ở vùng Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) (Nguyễn Thanh Phương và ctv. 2003) và hiện đang được nuôi phổ biến trong ao, ruộng, vườn, đặc biệt là trên ruộng lúa ở vùng ngập lũ thuộc các tỉnh Đồng Tháp, An Giang và Cần Thơ. Theo New (1995) thì tôm càng xanh sinh trưởng và phát triển tốt trong điều kiện nhiệt độ là 29–31°C và pH là 7,0–8,5; vì thế vùng nuôi tôm càng xanh thường là những vùng có điều kiện môi trường thuận lợi, đặc biệt là pH. Tuy nhiên, ở ĐBSCL có nhiều vùng bị nhiễm phèn, pH đất và nước thấp,... đang được khai thác cho các hoạt động nông nghiệp như trồng lúa mùa, nuôi cá đồng,... và được cải tạo để pH đạt mức nhất cho phát triển nuôi các loài khác có giá trị kinh tế cao, trong đó có tôm càng xanh. Tuy nhiên, giáp xác là loài rất nhạy cảm với môi trường, đặc biệt là môi trường có pH thấp. Theo Allan and Maguire (1992) thì pH nước thấp làm chậm sự sinh trưởng của tôm sú (*Penaeus monodon*). pH nước thấp cũng làm chậm chu kỳ lột xác và giảm sinh trưởng ở tôm càng xanh (*M. rosenbergii*) và giá trị LC<sub>50</sub>-96 giờ của pH trên tôm càng xanh là 4,08 (Cheng et al., 2003; Chen and Chen 2003). pH không thuận lợi làm rối loạn quá trình điều hòa ion ở tôm *Procambarus clarkii* và tôm sú (*Penaeus monodon*) (Morgan and McMahon, 1982; Allan and Maguire, 1992). Giá trị pH thấp hoặc cao đều ảnh hưởng xấu đến sự phát triển của phôi và tỷ lệ nở của tôm càng xanh trong các trại ương (Law et al, 2002). Các nghiên cứu sâu về thay đổi sinh lý, lột xác và tăng trưởng của tôm càng xanh nuôi trong điều kiện pH khác nhau cần được tiếp tục nghiên cứu để cung cấp cơ sở khoa học cho phát triển các giải pháp nuôi tôm càng xanh trong điều kiện pH thấp.

## 2 PHƯƠNGPHÁP NGHIÊN CỨU

Tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*) chọn nghiên cứu là tôm sinh sản nhân tạo có khối lượng 8-10 g/con được mua tại các trại sản xuất giống tôm ở thành phố Cần Thơ. Tôm được thuần dưỡng trong bể composite 2 m<sup>3</sup> có sục khí liên tục và được cho ăn thức ăn cá tươi kết hợp thức ăn công nghiệp trong hai tuần để tôm quen với điều kiện môi trường bể nuôi trước khi thí nghiệm. Tôm

chọn thí nghiệm có kích cỡ đồng đều, khỏe mạnh và không có dấu hiệu bệnh lý.

### 2.1 Thí nghiệm xác định giới hạn chịu đựng pH của tôm

Giới hạn chịu đựng pH của tôm được xác định qua hai thí nghiệm. Thí nghiệm thứ nhất xác định giới hạn chịu đựng dưới của tôm được thực hiện qua chọn ngẫu nhiên 60 tôm từ bể thuần dưỡng để bố trí vào 3 bể 200 L (chứa 150 L nước), 20 con/bể (3 lần lặp lại). Nước bể thí nghiệm được chuẩn bị trước có pH bằng 7 và sục khí liên tục, sau đó mỗi 3 giờ giảm 0,5 đơn vị pH và theo dõi tôm khi thấy >50% tôm trong bể chết thì ghi nhận giá trị pH và thời gian tôm chết. Thí nghiệm thứ hai xác định ngưỡng trên được thực hiện tương tự như thí nghiệm thứ nhất nhưng mỗi 3 giờ tăng 0,5 đơn vị pH và theo dõi khi >50% tôm trong bể chết thì ghi nhận giá trị pH và thời gian tôm chết. Trong thời gian thí nghiệm thì nhiệt độ nước giữ ổn định 28±0,2°C.

Điều chỉnh tăng pH bằng dung dịch NaOH 1N pha loãng và điều chỉnh giảm pH bằng dung dịch HCl 1N pha loãng. Dung dịch NaOH hay HCl được pha loãng với nước thí nghiệm và cho vào bể từ từ kết hợp với sục khí mạnh để hóa chất hòa tan nhanh vào nước nuôi tôm mà không gây tăng hay giảm đột biến pH làm ảnh hưởng tôm. Sử dụng máy đo pH (máy 556 YSI) để kiểm tra giá trị pH theo từng nghiệm thức.

### 2.2 Khảo sát sự thay đổi áp suất thẩm thấu và hàm lượng glucose trong máu tôm nuôi ở các giá trị pH khác nhau

Thí nghiệm được tiến hành ở các giá trị pH gồm 5,5; 6,0; 7,0; 8,0; 8,5; 9,0 và 2 giá trị pH thấp nhất (pH=3,0) và cao nhất (pH=11,0). Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên trong bể composite 200 L, mỗi bể chứa 150 L nước. Mỗi giá trị pH được lặp lại 3 bể, mỗi bể gồm 6 tôm được nuôi trong từng ô lưới riêng. Thí nghiệm kéo dài 29 ngày và bể được sục khí liên tục trong thời gian thí nghiệm. Nước trong bể được thay 30% mỗi 7 ngày và bể cũng được hút cặn hàng ngày vào buổi sáng. Tôm được cho ăn mỗi ngày 2 lần bằng thức ăn viên công nghiệp (Tomboy 40% đạm), cá tươi hoặc trùn chỉ; cho tôm ăn thức ăn viên vào buổi sáng và thức ăn tươi vào buổi chiều. Giá trị pH được kiểm tra ngày 2 lần (8 giờ sáng và 16 giờ chiều) để điều chỉnh nhằm đảm bảo đạt giá trị pH như thiết kế của nghiệm thức.

Máu tôm được thu bằng kim tiêm ở tim hoặc gốc chân ngực số 2 vào các thời điểm gồm 3 giờ, 7

ngày, 14 ngày, 21 ngày và 28 ngày. Mỗi nghiệm thức thu 9 tôm (3 con/bể) và thu luân phiên; tôm thu mẫu máu xong thả lại nuôi tiếp. Máu tôm được lấy khoảng 40–50  $\mu$ L cho vào tuýp eppendorf 0,5 mL, trữ ở nhiệt độ  $-80^{\circ}\text{C}$  dùng tủ âm sâu (NUAIRE, USA) khoảng 20-30 ngày để đo áp suất thẩm thấu (sử dụng máy Osmometer Fiske One-Ten của USA) và hàm lượng glucose (phương pháp Hugget and Nixon, 1957). Trong thời gian thí nghiệm xác định nhiệt độ và oxy hòa tan được đo 2 lần/ngày sử dụng máy đo (HANNA Hi 9146, Rumani). Các chỉ tiêu được đo 1 lần/tuần bao gồm TAN đo theo phương pháp Indolphenol Blue (APHA *et al*, 1995);  $\text{NO}_2^-$  theo phương pháp Diazonium (APHA *et al*, 1995); và  $\text{NO}_3^-$  theo phương pháp khử Salicylate (APHA *et al*, 1995).

### 2.3 Xác định chu kỳ lột xác, tăng trưởng và tỷ lệ sống của tôm nuôi ở các pH khác nhau

Thí nghiệm được tiến hành ở các giá trị pH 5,5; 6,0; 7,0; 8,0; 8,5 và 9,0; và được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên trong bể composite 200 L (mỗi bể chứa 150 L nước). Mỗi giá trị pH được lặp lại 3 bể, mỗi bể 6 tôm nuôi riêng trong các ô lưới. Thí nghiệm thực hiện trong 70 ngày và bể được sục khí liên tục trong thời gian thí nghiệm. Quản lý bể thí nghiệm được thực hiện như thí nghiệm khảo sát thay đổi áp suất thẩm thấu và hàm lượng glucose trong máu tôm nuôi ở các giá trị pH khác nhau (mục 2b). Khối lượng của tất cả tôm được xác định mỗi 2 tuần sử dụng cân có độ chính xác 0,01 g; ghi nhận số tôm chết và tôm lột xác hàng ngày. Khi kết thúc thí nghiệm đếm số tôm còn lại để xác định tỷ lệ sống ( $100 \times \text{số tôm còn lại} / \text{số tôm thả}$ ). Thời gian lột xác là số ngày giữa 2 lần lột xác liên tiếp nhau. Tăng trưởng tuyệt đối khối lượng (daily weight gain - DWG) (khối lượng gia tăng/thời gian thí nghiệm).

Các số liệu thu thập được tính toán giá trị trung bình và độ lệch chuẩn bằng chương trình Excel. Phân tích thống kê (phân tích ANOVA một nhân tố và phép thử DUCAN) bằng phần mềm SPSS 16.0 ở mức ý nghĩa  $\alpha=0,05$ .

## 3 KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 3.1 Giới hạn chịu đựng pH của tôm càng xanh

Kết quả nghiên cứu cho thấy khi pH tăng đến 11 và giảm đến 3 thì tôm bắt đầu chết sau 3 giờ. Ở giá trị pH thấp là 3,0 thì tỷ lệ chết trung bình của tôm là 8,33% sau 3 giờ; 51,6% sau 5 giờ và đến 5 giờ 30 phút thì tôm chết 100%. Ngược lại, ở giá trị pH cao là 11 thì tỉ lệ tôm chết trung bình là 10% sau 3 giờ, 58,3% sau 5 giờ và sau 7 giờ thì tôm

chết 100%. Ở các giá trị pH này tôm hoạt động rất yếu và một số lớn nằm bất động, mang tôm bị tổn thương nặng (phồng rộp, biến màu). Như vậy, giới hạn chịu đựng pH của tôm càng xanh trong thí nghiệm này là từ 3,0 đến 11 trong khoảng thời gian từ 5-7 giờ hay trong thời gian tiếp xúc ngắn (3 giờ) thì tôm càng xanh chịu đựng được pH trong giới hạn rất rộng. Tuy nhiên, khi tăng hoặc giảm pH thì tôm có biểu hiện bị sốc, màu sắc tôm thay đổi từ trong sang đục dần, tôm hoạt động mạnh sau đó giảm dần. Ở các giá trị pH gần ngưỡng thì sự quan mang tôm bị tổn thương gây giảm khả năng trao đổi khí giữa cơ thể với môi trường nên tôm chết do thiếu oxy. Bên cạnh, Chenget *al* (2003) và Chen and Chen (2003) có báo cáo giá trị  $\text{LC}_{50-96}$  giờ của pH trên tôm càng xanh là 4,08.

### 3.2 Áp suất thẩm thấu và hàm lượng glucose trong máu tôm nuôi ở các giá trị pH khác nhau

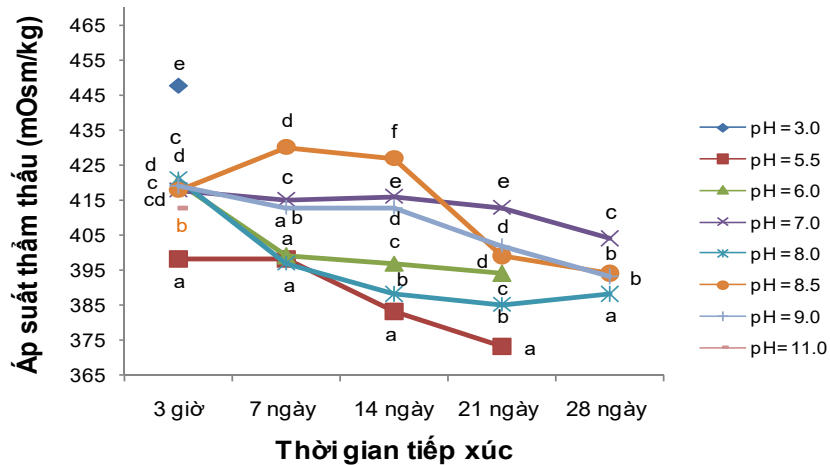
Các yếu tố môi trường bể thí nghiệm trong thời gian thí nghiệm khá ổn định và dao động thấp do hệ thống thí nghiệm được kiểm soát chặt chẽ. Nhiệt độ trung bình của các nghiệm thức dao động từ  $26,6 \pm 0,23^{\circ}\text{C}$  (sáng) đến  $27,9 \pm 0,23^{\circ}\text{C}$  (chiều). Oxy trung bình khá cao từ  $6,6 \pm 0,28$  mg/L đến  $7,1 \pm 0,36$  mg/L. Các yếu tố đạm như tổng đạm (TAN) thấp nhất ở nghiệm thức pH=3,0 ( $0,31 \pm 0,05$  mg/L) và pH=11,0 ( $0,49 \pm 0,01$  mg/L) nhưng các nghiệm thức khác từ  $1,52 \pm 0,16$  mg/L đến  $1,69 \pm 0,16$  mg/L; nitrite ( $\text{N-NO}_2^-$ ) trung bình của các nghiệm thức từ  $0,16 \pm 0,01$  mg/L đến  $0,27 \pm 0,02$  mg/L;  $\text{N-NO}_3^-$  trung bình từ  $1,90 \pm 0,25$  mg/L đến  $2,61 \pm 0,22$  mg/L; và  $\text{NH}_3$  cao nhất là 0,6 mg/L ở nghiệm thức pH=9,0.

*Áp suất thẩm thấu trong máu tôm:* sau 3 giờ tiếp xúc với môi trường có pH khác nhau, áp suất thẩm thấu của máu tôm ở nghiệm thức pH=3,0 là 448 mOsm/kg cao hơn có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) so với các nghiệm thức còn lại, thấp nhất là 398 mOsm/kg ở nghiệm thức pH=5,5 mOsm/kg. Ở nghiệm thức pH=7,0 (pH trung tính) thì áp suất thẩm thấu là 418 mOsm/kg khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ) so với nghiệm thức pH=8,5 và pH=9,0 Hình 1.

Sau 7 ngày thì áp suất thẩm thấu (ASTT) của tôm ở các nghiệm thức pH là 5,5; 6,0 và 8,0 khác nhau không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ) trung bình là 398 mOsm/kg. ASTT tôm cao nhất ở nghiệm thức pH=8,5 (430 mOsm/kg) và khác có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) so với các nghiệm thức còn lại. Sau 14 ngày, tất cả các nghiệm thức đều khác nhau có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) như

nghiệm thức pH=8,5 có ASTT cao nhất (427 mOsm/kg) và thấp nhất ở nghiệm thức pH=5,5 (383 mOsm/kg). Khi 21 ngày thì nghiệm thức pH=7,0 có ASTT khác có ý nghĩa thống kê ( $p<0,05$ ) so với ASTT của các nghiệm thức khác và ASTT cao nhất 413 mOsm/kg; các nghiệm thức còn lại ASTT nằm trong khoảng 373-402 mOsm/kg. Sau 28 ngày nuôi áp suất thẩm thấu giữa các nghiệm thức dao động trong khoảng 388-404 mOsm/kg. Tôm nuôi ở pH 8,5 và 9,0 khác nhau không có ý nghĩa thống kê ( $p>0,05$ ) nhưng khác có ý nghĩa thống kê ( $p<0,05$ ) so với nghiệm thức pH là 7,0 và 8,0.

Nghiệm thức pH là 5,5 thì ASTT của tôm thấp nhất và giảm dần qua các lần thu mẫu từ 398 mOsm/kg (sau 3 giờ, sau 7 ngày) xuống 373 mOsm/kg (21 ngày); tương tự nghiệm thức pH là 6,0 là 420 mOsm/kg (3 giờ) xuống 394 mOsm/kg (21 ngày). Ngày thứ 28 thì tôm của 2 nghiệm thức pH là 5,5 và 6,0 chết, có dấu hiệu mang bị tổn thương, hoạt động chậm và bắt mồi kém. Như vậy, trong môi trường pH thấp ( $pH<6,0$ ) sự tổn thương mang đã làm giảm khả năng điều hòa ASTT của tôm; ASTT của tôm ở nghiệm thức pH là 7,0 cao và tương đối ổn định 404-418 mOsm/kg.



Hình 1: Áp suất thẩm thấu trong máu tôm theo thời gian nuôi ở các giá trị pH khác nhau

**Hàm lượng glucose:** hàm lượng glucose trong huyết tương của máu tôm càng xanh ở các giá trị pH khác nhau dao động trong khoảng từ 1,18 mg/100 mL đến 33,5 mg/100 mL (Hình 2). Sau 3 giờ tiếp xúc thì hàm lượng glucose khác nhau có ý nghĩa thống kê ( $p<0,05$ ) giữa các nghiệm thức; hàm lượng glucose trong huyết tương cao nhất là  $33,5\pm 1,64$  mg/100 mL ở nghiệm thức pH=3,0 và  $31,0\pm 0,72$  mg/100 mL ở nghiệm thức pH=11 và tại các giá trị pH này tôm chết sau lần thu mẫu đầu tiên (sau hơn 5 giờ tiếp xúc).

Sau 7 ngày nuôi thì hàm lượng glucose trong huyết tương ở hầu hết các nghiệm thức đều tăng, cao nhất  $17,4\pm 0,78$  mg/100 mL (pH=6,0) và khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p<0,05$ ) so với các nghiệm thức còn lại. Ngoại trừ nghiệm thức pH=8,0 hàm lượng glucose trong huyết tương giảm và có giá trị thấp nhất ( $7,22\pm 0,67$  mg/100 mL). Tương tự ở 21 ngày nuôi thì hàm lượng glucose trong huyết tương của máu tôm ở hầu hết các nghiệm thức đều tăng, cao nhất là ở nghiệm thức

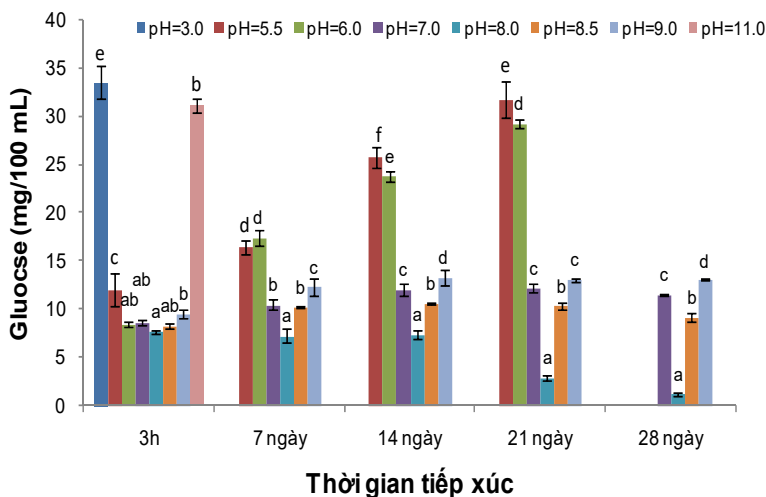
pH=5,5 ( $25,6\pm 10,3$  mg/100 mL) khác có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức khác và so với các lần lấy mẫu trước đó. Giá trị glucose thấp nhất là ở nghiệm thức pH=8,0 ( $7,33\pm 0,36$  mg/100 mL).

Sau 21 ngày nuôi thì hàm lượng glucose trong huyết tương của máu tôm ở nghiệm thức pH=5,5 và pH=6,0 khác nhau có ý nghĩa thống kê ( $p<0,05$ ) với các nghiệm thức còn lại và tăng dần qua các lần thu mẫu như nghiệm thức pH=5 (sau 3 giờ là 12,1 mg/100 mL, sau 21 ngày là 31,6 mg/100 mL) và pH=6,0 (sau 3 giờ là 8,43 mg/100 mL; và sau 21 ngày là 29,1 mg/100 mL). Mặc dù, tôm sống đến ngày 21 của đợt thu mẫu nhưng giá trị pH của 2 nghiệm thức này nằm ngoài khoảng thích hợp làm mang tôm bị tổn thương, các phụ bộ bị lở loét, ảnh hưởng đến sức khỏe dẫn đến stress ngày càng tăng và hầu hết tôm đã chết sau đợt thu mẫu này (sau 21 ngày).

Hình 2 cho thấy ở nghiệm thức pH=9,0 thì hàm lượng glucose tăng ở giai đoạn đầu nhưng về sau không biến động nhiều là 9,52 mg/100 mL (sau 3

giờ); 12,2 mg/mL (sau 7 ngày); 13,2 mg/100 mL (sau 14 ngày); 13,0 mg/100 mL (sau 21 ngày) và 13,0 mg/mL (sau 28 ngày). Hàm lượng glucose trong huyết tương máu tôm ở các nghiệm thức pH=7,0 và pH=8,5 tăng nhẹ thời gian đầu và giảm dần ở ngày thứ 28. Hàm lượng glucose trong huyết tương máu tôm ở nghiệm thức pH=8,0 ở ngày thứ 28 có giá trị thấp nhất  $1,18 \pm 0,19$  mg/100 mL và khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) so với các nghiệm thức còn lại và so với các lần thu mẫu trước đó. Nghiệm thức pH=8,0 hàm lượng glucose tương đối ổn định và giảm dần ở cuối chu kỳ nuôi chứng tỏ ở giá trị pH này tôm ít bị stress nhất.

Như vậy, sau 28 ngày nuôi trong điều kiện pH khác nhau thì hàm lượng glucose trong huyết tương máu tôm càng xanh thấp nhất ở nghiệm thức pH=8,0 ( $1,18 \pm 0,19$  mg/100 mL) và cao nhất ở nghiệm thức pH=9,0 ( $13,0 \pm 0,07$  mg/100 mL). Hàm lượng glucose trong huyết tương máu tôm càng xanh cao nhất ở nghiệm thức pH=3,0 ( $33,5 \pm 1,64$  mg/100 mL) và pH=11,0 ( $31,0 \pm 0,72$  mg/100 mL) và tôm trong các nghiệm thức này chết sau hơn 3 giờ tiếp xúc. Hàm lượng glucose trong huyết tương ở 21 ngày nuôi cao nhất ở nghiệm thức pH=5,5 ( $31,6$  mg/100 mL) và pH=6,0 ( $29,1$  mg/100 mL); pH tại giá trị này tôm bị stress, không thích nghi được với điều kiện pH và chết.



**Hình 2: Hàm lượng glucose trong máu tôm theo thời gian thí nghiệm**

Các chữ cái a, b, c, ... giống nhau trong cùng một thời điểm khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ )

### 3.3 Chu kỳ lột xác, tăng trưởng và tỷ lệ sống của tôm ở các giá trị pH khác nhau

Trong thời gian thí nghiệm môi trường nước không biến động nhiều do bể được đặt trong phòng và có sục khí. Nhiệt độ trung bình buổi sáng là  $26,8 \pm 0,05$  và buổi chiều là  $27,6 \pm 0,13$ ; hàm lượng oxy hòa tan trung bình các nghiệm thức là  $6,7 \pm 0,1$  mg/L vào buổi sáng, và  $7,1 \pm 0,1$  mg/L buổi chiều; hàm lượng TAN trung bình của các nghiệm thức  $1,77 \pm 0,1$  mg/L (từ  $1,07 \pm 0,08$  mg/L ở pH=5,5 đến  $2,13 \pm 0,07$  mg/L ở pH=8,0);  $\text{NH}_3$  trung bình  $0,22 \pm 0,01$  mg/L; hàm lượng  $\text{N-NO}_2^-$  trung bình  $0,51 \pm 0,003$  mg/l (cao nhất ở pH=9,0 là  $0,64 \pm 0,01$  mg/L và thấp nhất ở nghiệm thức pH=5,5 là  $0,38 \pm 0,02$  mg/L); và  $\text{N-NO}_3^-$  trung bình là  $4,23 \pm 0,06$  mg/l. Nhìn chung, các chỉ tiêu môi trường trong thí nghiệm tương đối ổn định và nằm trong

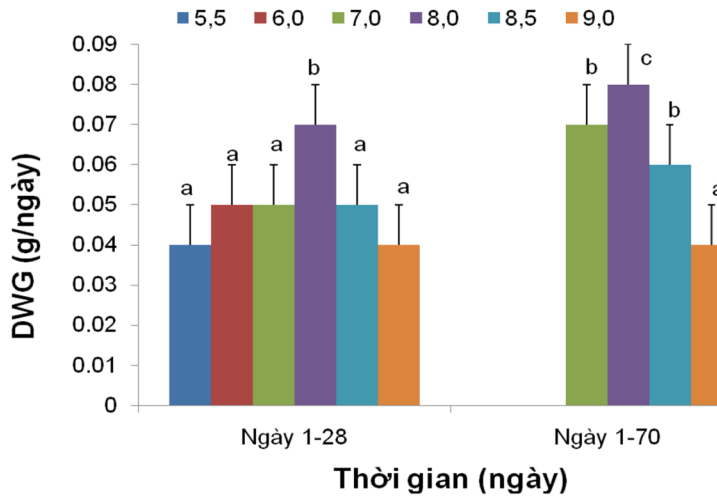
giới hạn thích hợp cho sự phát triển bình thường của tôm càng xanh.

**Tốc độ tăng trưởng của tôm:** khối lượng trung bình của tôm sau 28 ngày nuôi ( $11,6 \pm 0,18$  g/con) và 56 ngày nuôi ( $13,7 \pm 0,17$  g/con) ở nghiệm thức pH=8,0 đạt cao nhất và khác có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) so với các nghiệm thức còn lại tại cùng thời điểm. Ở nghiệm thức pH=5,5 và pH=6,0 tôm chết sau 28 ngày nuôi và khi chết tôm chết có biểu hiện đục thân và mang bị tổn thương do ảnh hưởng của pH thấp. Sau 70 ngày nuôi thì tăng trưởng khối lượng trung bình của tôm giữa các nghiệm thức đều khác nhau có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ); trong đó, nghiệm thức pH=8,0 tôm có khối lượng cao nhất ( $15,2 \pm 0,05$  g/con), kể đến là nghiệm thức pH=7,0 và pH=8,5. Nghiệm thức pH=9,0 thì tôm có khối lượng thấp nhất ( $12,5 \pm 0,10$  g/con).



Sau 70 ngày nuôi thì tăng trưởng tuyệt đối về khối lượng ở nghiệm thức pH=7,0 (0,07±0,01 g/ngày) và pH=8,5 (0,06±0,00 mg/ngày) khác nhau

không có ý nghĩa thống kê ( $p>0,05$ ), nhưng khác có ý nghĩa ( $p<0,05$ ) với nghiệm thức pH=8,0 (0,08 ± 0,00 mg/ngày); pH=9,0 (0,04 ± 0,00 mg/ngày).



**Hình 3: Tăng trưởng khối lượng theo ngày (DWG)**

**Chu kỳ lột xác của tôm:** tôm ở các nghiệm thức đều lột xác và lớn lên; ở các nghiệm thức pH=5,5 và pH=6,0 thì tôm lột xác 2 lần, nghiệm thức pH=9,0 tôm lột xác đến lần thứ 4; trong khi đó ở 3 nghiệm thức pH=7,0; pH=8,0 và pH=8,5 tôm lột xác năm lần. Chu kỳ lột xác của tôm khác nhau theo pH của môi trường, nghiệm thức pH=9,0 tôm

có chu kỳ lột xác dài nhất (trung bình từ 13,4±2,84 ngày đến 19,0±4,51 ngày) và khác có ý nghĩa thống kê ( $p<0,05$ ) so với các nghiệm thức còn lại. Trong khi đó, các nghiệm thức pH=5,5; 6,0; 7,0; 8,0 và 8,5 chu kỳ lột xác của tôm khác nhau không có ý nghĩa thống kê ( $p>0,05$ ).

**Bảng 1: Chu kỳ lột xác của tôm nuôi ở các giá trị pH khác nhau**

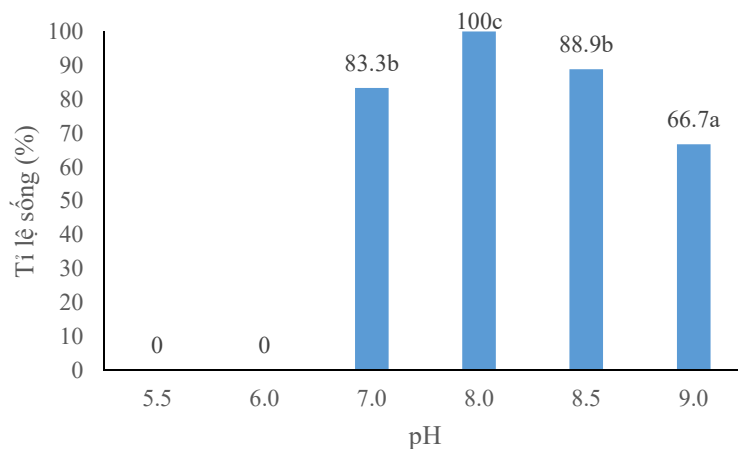
Nghiệm thức	Chu kỳ lột xác (ngày)				
	Lần 1	Lần 2	Lần 3	Lần 4	Lần 5
pH=5,5	9,61±2,90 <sup>a</sup>	13,6±2,73 <sup>a</sup>	Chết	Chết	Chết
pH=6,0	9,00±2,18 <sup>a</sup>	13,7±1,59 <sup>a</sup>	Chết	Chết	Chết
pH=7,0	9,06±2,36 <sup>a</sup>	12,7±1,71 <sup>a</sup>	12,8±1,56 <sup>ab</sup>	13,1±1,53 <sup>a</sup>	12,8±1,26 <sup>a</sup>
pH=8,0	9,28±2,99 <sup>a</sup>	12,8±0,91 <sup>a</sup>	13,0±1,21 <sup>ab</sup>	13,9±1,61 <sup>a</sup>	13,0±1,23 <sup>a</sup>
pH=8,5	10,1±2,77 <sup>a</sup>	14,2±1,76 <sup>a</sup>	14,6±1,80 <sup>b</sup>	15,9±3,49 <sup>b</sup>	16,0±1,41 <sup>b</sup>
pH=9,0	13,4±2,84 <sup>b</sup>	19,0±4,51 <sup>b</sup>	18,3±2,31 <sup>c</sup>	17,50 <sup>c</sup>	-

- Số liệu thể hiện trong bảng là trung bình và độ lệch chuẩn (n = 6)

- Cùng 1 cột, chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p>0,05$ )

**Tỷ lệ sống của tôm:** tỷ lệ sống của tôm ở nghiệm thức pH=8,0 đạt 100% và khác biệt có ý nghĩa ( $p<0,05$ ) với các nghiệm thức còn lại (Hình 4). Nghiệm thức pH=9,0 thì tỷ lệ sống của tôm thấp nhất (66,7%) và khác biệt có ý nghĩa ( $p<0,05$ )

với các nghiệm thức khác. Các nghiệm thức pH=7,0 và 8,5 khác biệt có ý nghĩa so với 2 nghiệm thức còn lại ( $p<0,05$ ). Sau hơn 28 ngày nuôi thì ở nghiệm thức pH=5,5 và pH=6,0 tôm chết hoàn toàn.



Hình 4: Tỷ lệ sống của tôm sau 70 ngày nuôi

#### 4 THẢO LUẬN

Tôm ở nghiệm thức pH=3,0 có áp suất thẩm thấu cao nhất là 448 mOsm/kg và ở nghiệm thức pH=3,0 và pH=11,0 hầu hết tôm chết sau 3 giờ; lúc này tôm hoạt động yếu, bơi lội quanh thành bể, mang tôm bị tổn thương. Thí nghiệm trên tôm *Procambarus clarkii* cho thấy khi tiếp xúc với môi trường có giá trị pH thấp thì tôm bị mất  $Cl^-$  và  $Na^+$  từ trong tế bào ra môi trường dịch ngoại bào (Zanotto and Wheatly, 1993). Theo Wurts and Durborow (1992) thì thủy sinh vật thường chết ở ngưỡng pH dưới 4 và trên 11. Ở cá nếu pH thấp thường làm rối loạn hoạt động của kênh  $Na^+$  và  $K^+$  của màng tế bào, ở một số loài cá thì hoạt động của 2 kênh này bị ngừng trong môi trường pH thấp (pH là 3,5–4,0) (Masuo and Val, 2002). ASTT trung bình của máu tôm trong thí nghiệm này dao động trong khoảng 373±0,83 đến 448±0,88 mOsm/kg. Tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*), tôm *Procambarus clarkii* hay các loài tôm thuộc giống *Macrobrachium* có kích thước nhỏ sống ở vùng nước ngọt có ASTT từ 350–450 mosm/kg cao hơn ASTT của môi trường (Huong *et al.*, 2001, 2010). Kết quả thí nghiệm cho thấy khả năng điều hoà ASTT của tôm càng xanh không bị ảnh hưởng nhiều trong môi trường có pH từ 5,5–9,0.

Glucose giữ vai trò quan trọng trong quá trình cung cấp năng lượng sinh học cho động vật (Martinez-Porchas *et al.*, 2009). Theo Wedemeyer and Yasutake (1977) thì cá ở trạng thái stress có hàm lượng glucose dao động khoảng 25–30 mg/100 mL huyết tương. Tuy nhiên, hiện nhóm tác giả của nghiên cứu này chưa tìm được các công bố về hàm lượng glucose trong máu giáp xác nói chung và tôm càng xanh nói riêng ở mức bao nhiêu

là tôm bị stress nhưng nếu so với cá thì hàm lượng glucose đo được ở pH là 3 và 11 là cao và có thể là tôm đã bị stress. Theo Rottland *et al.* (1997) thì nồng độ glucose trong máu tùy thuộc vào loại stress và thời gian thu mẫu (trích dẫn bởi Nguyễn Hương Thủy, 2009). Kết quả thí nghiệm này khá phù hợp với nhận định của Martinez-Porchas *et al.* (2009) đó là hàm lượng glucose là một trong những chỉ thị stress phổ biến trên cá và hàm lượng glucose sẽ tăng trong suốt giai đoạn cá bị stress. Hàm lượng glucose trong huyết tương tăng cao chứng tỏ ở các giá trị pH không thích hợp và tôm đã bị stress. Kuo and Yang (1999) cũng nhận thấy hàm lượng glucos gia tăng khi giảm nhiệt độ môi trường nuôi tôm càng xanh, ở nhiệt độ 28°C thì hàm lượng này dao động trong khoảng 1 mmol/L nhưng khi nhiệt độ giảm xuống 15°C thì hàm lượng glucose gia tăng lên đến 4 mmol/L, điều này khẳng định khi thay đổi môi trường nhiệt độ hay pH tôm bị stress nhiều. Theo Iwama (1998) thì nồng độ glucose và sự tăng trưởng có mối quan hệ tỷ lệ nghịch (trích dẫn bởi Imsland *et al.*, 2007) và thể hiện rõ trong kết quả của nghiên cứu này đó là những nghiệm thức có giá trị glucose tăng cao (pH<7,0 và pH>8,5) thì tôm có tốc độ tăng trưởng chậm nhất. Gabillard *et al.* (2005) tìm thấy mối tương quan nghịch giữa hàm lượng glucose và hormon tăng trưởng (GH–growth hormone), glucose đã kiềm chế hoạt tính của GH do đó đã làm giảm tăng trưởng của cá trong thí nghiệm của ông (trích dẫn của Imsland *et al.*, 2007). Kết quả này khẳng định rằng ở giá trị pH<6,0 không thích hợp cho nuôi tăng trưởng của tôm càng xanh, sự stress và tổn thương mang là một trong những nguyên nhân quan trọng gây chết tôm.

Nhìn chung, pH đã ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển tôm càng xanh, ở pH=8,0 tôm có tốc độ tăng trưởng tốt nhất. Nghiên cứu của Wickins (1984) cho rằng sinh trưởng của tôm sú (*Penaeus monodon*) bị giảm khi pH xuống thấp (pH=6,4). Brogowski *et al* (2005) nghiên cứu ảnh hưởng của pH lên cá *Lepomis macrochirus* có khối lượng trung bình là 52 mg/con thì cho kết quả là cá gần như không tăng trưởng ở pH=5,5.

Cheng *et al.* (2003) có ghi nhận pH của môi trường nước cao hay thấp cũng làm giảm tần số và chu kỳ lột xác của tôm càng xanh; pH giảm thấp hơn 6,8 và kéo dài thì chu kỳ lột xác và tần số lột xác giảm có ý nghĩa so với tôm nuôi trong môi trường pH 7,4 và 8,2. Tôm nuôi trong điều kiện bình thường thì tôm có khối lượng 6-10 g có chu kỳ lột xác là 13,5 ngày còn tôm có khối lượng từ 11-15 g có chu kỳ là 17 ngày (Sandifer and Smith, 1985). Kết quả thí nghiệm cho thấy pH đã ảnh hưởng đến chu kỳ lột xác của tôm càng xanh, ở giá trị pH thấp thì chu kỳ lột xác của tôm ngắn và giá trị pH cao thì chu kỳ lột xác dài; ở pH là 7,0 và 8,0 thì chu kỳ lột xác ổn định (12 ngày) trong suốt thời gian thí nghiệm. Tỷ lệ sống của tôm trong thí nghiệm khá phù hợp với kết quả nghiên cứu của Cheng *et al* (2003) trên tôm càng xanh (2,65±0,06 g) là tỷ lệ sống sau 56 ngày tiếp xúc với pH=8,2 và 7,4 là 100% và 88,9%.

## 5 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

Giới hạn chịu đựng pH của tôm càng xanh là từ 3-11 trong thời gian 3-5 giờ; áp suất thẩm thấu của tôm càng xanh trong khoảng 373 mOsm/kg đến 430 mOsm/kg; hàm lượng glucose trong máu tôm tăng cao nhất ở nghiệm thức pH=5,5 (12,1-31,6mg/mL) và pH=6,0 (8,43-29,1 mg/mL). Tăng trưởng của tôm sau 70 ngày nuôi cao nhất là ở nghiệm thức pH=8,0; chu kỳ lột xác sau 70 ngày nuôi ổn định ở nghiệm thức pH=7,0 và 8,0; và tỷ lệ sống sau 70 ngày nuôi cao nhất ở nghiệm thức pH=8,0. Nuôi tôm càng xanh nên duy trì pH trong khoảng từ 7,0-8,5 là quan trọng và cần thiết.

## LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được dự án iAQUA (Project number: DFC 12-014AU) tài trợ.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Allan, G.L., Maguire, G.B., 1992. Effects of pH and salinity on survival, growth and osmoregulation in *Penaeus monodon* Fabricius. *Aquaculture*. 107: 33-47.
2. APHA, 1995. Standard methods for the examination of water and wastewater, 19<sup>th</sup>

- ed. APHA, American Public Health Association; Washington.
3. Brogowski Z., Siewert, H. and Keplinger, D., 2005. Feeding and growth responses of Bluegill fish (*Lepomis macrochirus*) at various pH Levels. *Polish Journal of environmental studies*. Vol 14, No 4: 517-519.
4. Cheng, W., Su-Mei Chen, Feng-I Wang, Pei-I Hsu, Chun-Hung Liu, Jiann-Chu Chen, 2003. Effects of temperature, pH, salinity and ammonia on the phagocytic activity and clearance efficiency of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* to *Lactococcus garvieae*. *Aquaculture* 219 (1-4), p:111-121.
5. Hugget, A. ST. G. and Nixon, D. A., 1957. Use of glucose oxidase, peroxidase, and o-dianisidine in determination of blood and urinary glucose. *Biochem. J.* 66: 12
6. Huong, D.T.T., W-J. Yang, A. Atsuro and M.N. Wilder, 2001. Change in free amino acids in the hemolymph of the gaint freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) exposed to varying salinities: relationship to osmoregulatory ability. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*. 128: 317-326.
7. Huong, D. T. T., Wang T., Bayley M. & Phuong, N.T., 2010. Osmoregulation, growth and moulting cycles of the gaint freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) at different salinities. *Aquaculture Research*: 1-9
8. Imsland. A.K., Arnþór G., Snorri G., Atle F., Jon A., Ingolfur A., Arnar F.J., Heiddis S., and Helgi T., 2008. Effects of reduced salinities on growth, feed conversion efficiency and blood physiology of juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Aquaculture* 274, p:245-259.
9. Law, A.T., Wong, Y.H., Abol-Munafi, A.B., 2002. Effect of hydrogen ion on *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) egg hatchability in brackish water. *Aquaculture* 214: 247-251.
10. Martínez-Porchas, Luis Rafael Martínez-Córdova and Rogelio Ramos-Enriquez, 2009. Cortisol and Glucose: Reliable indicators of fish stress. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences* 4 (2): 158-178.



11. Masuo, A.Y., and Val,A.L., 2002. Low pH and calcium effects on net Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> fluxes two catfish species from the Amazon River (Corydoras: Callichthyidae). Braz. J. Med. Bio. Res., Vol. 35 (3) : 361–367.
12. Morgan, D.O., McMahon, B.R., 1982. Acid tolerance and effects of sublethal acid exposure on ionoregulation and acid– base status in two crayfish *Procambarus clarkii* and *Orconectes rusticus*. J. Exp. Biol. 97: 241–252.
13. New, M.B., 1995. Status of freshwater prawn farming: A reiew. Aquaculture Research. 26: 1–54.
14. Nguyễn Hương Thủy, 2010. Ảnh hưởng của độ mặn khác nhau lên điều hòa áp suất thẩm thấu và tăng trưởng của lươn đồng (*Monopterus albus*) giai đoạn giống. Luận văn tốt nghiệp cao học. Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ.
15. Nguyễn Thanh Phương, Trần Ngọc Hải, Trần Thị Thanh Hiền, Marcy, N. Wilder, 2003. Nguyên lý và kỹ thuật sản xuất giống tôm càng xanh. NXB Nông nghiệp tại Thành phố Hồ Chí Minh. 127 trang.
16. Sandifer, P.A and Smith,T.I.J.,1985. Freshwater prawn. In: Hunner and E. E Brown, Edit. Crustacean and mollusc aquaculture in the United Stats'. Van Nostrand Rienhold, New York: 63–125.
17. Chen, S.M and J.C. Chen, 2003. Effects of pH on survival, growth, molting and feeding of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. Aquaculture 218: 613–623
18. Wedemeyer G.A. and Yasutake,W.T.,1977. Clinical methods for the assessment of the effects of environmental stress on fish health. Washington: U.S. Dept. of the interior. Technical papers / U.S. fish and wildlife service.No. 89.
19. Wickins, J.F., 1984. The effect of hypercapnic sea water on growth and mineralization in penaeid prawns. Aquaculture 41: 37– 48.
20. Wurts, W.A., and Robert M. D., 1992. Interactions of pH, Carbon dioxide, Alkalinity and Hardness in fish ponds. SARC publications. No. 464.
21. Zanotto, E.P.,Wheathy, M., 1993. The effect of ambient pH on electrolyte regulation during the postmoult period in freshwater crayfish *Procambarus clarkii*. J. Exp. Biol. 178: 1–19.
22. Kuo, C.M. and Yang,Y.H.,1999. Hyperglycemic responses to cold shock in the freshwater giant prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. J Comp Physiol B, 169: 49-54