

CẢM NHIỄM TÔM HÙM BÔNG (*Panulirus ornatus*) GIAI ĐOẠN CON NON VỚI VI KHUẨN *Vibrio owensii* DY05

EXPERIMENTAL INFECTION OF ORNATE SPINY LOBSTER (*Panulirus ornatus*)
JUVENILE WITH *Vibrio owensii* DY05

Nguyễn Thị Thanh Xuân*, Phạm Thu Thủy, Lone Hoj, Nguyễn Văn Duy
Khoa Nuôi trồng thủy sản, Trường Đại học Nha Trang,
E-mail: thanhxuan48ntu@gmail.com

ABSTRACT

Several bacterial species of *Vibrio* genus are usually pathogens to marine cultured animals. *Vibrio owensii* strain DY05 has just recently been demonstrated as an agent of disease causing rapid and high mortality in phyllosoma larva of ornate spiny lobster (*Panulirus ornatus*) cultured in Australia. This study aims to determine the infection effect of *V. owensii* DY05 on the mortality rate of spiny lobster juveniles cultured at the lab scale in Vietnam. Lobster juveniles were cultured in 6 tanks with 10 individuals (12-15 g each) per tank. Lobsters were exposed to DY05 at 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 and 10^7 CFU.ml⁻¹ dosages (Tank A, B, C, D, and E, respectively) using direct immersion. Tank F without bacterial infection was used as control. After 20 infection days, mortality rates in tanks A, B, C, D, E and F were 0, 20, 25, 55, 85 and 0 (%), respectively. Specific death signs were observed including no eating 2 - 3 days before the death, slow movement, red tail and abdomen. *V. owensii* DY05 was virulent to lobster juvenile at LD₅₀ $10^{5.833}$ CFU.ml⁻¹. The cell counts of total *Vibrio* reisolated from dead lobsters were 3.5×10^3 to 7.1×10^3 (CFU.g⁻¹). Histopathological examination on dead lobsters showed necrotic hepatopancreas tubules and broken thoracic musculature bond. The results suggest that *V. owensii* DY05 may be a pathogen in ornate spiny lobster juvenile in the condition of this study. This is the first report on experimental infection of *V. owensii* DY05 on postlarval spiny lobsters.

Keywords: spiny lobster juvenile, *Panulirus ornatus*, pathogen, *Vibrio owensii*

ĐẶT VẤN ĐỀ

Với lợi thế hơn 3260 km đường bờ biển, nhiều vịnh, đầm, phá chống sóng và gió, Việt Nam có tiềm năng lớn cho nghề nuôi lồng trên biển. Nghề nuôi tôm hùm lồng ở Việt Nam được bắt đầu từ năm 1992, và phát triển nhanh đến năm 2000 với đối tượng nuôi chính quan trọng là tôm hùm bông (*Panulirus ornatus*) (Lai Van Hung and Le Anh Tuan, 2009). Tuy nhiên, nghề nuôi tôm hùm lồng đã chịu tổn thất kinh tế nặng nề khi dịch bệnh xuất hiện và có xu hướng giảm sút cả về năng suất và sản lượng trong những năm gần đây. Năm 2007, số lượng lồng nuôi tôm hùm của các tỉnh miền Trung tăng (49.725 lồng) so với năm 2006 (48.736 lồng) song sản lượng thu được lại giảm (1.340 tấn) so với năm 2006 (1.917 tấn) (Nguyễn Bá Thiên An, 2011).

Các nghiên cứu về bệnh trên giáp xác nói chung và trên tôm hùm nói riêng, cho thấy một trong những tác nhân gây bệnh chính và nguy hiểm nhất là vi khuẩn *Vibrio* bao gồm *V. parahaemolyticus*, *V. harveyi*, *V. anguillarum*, *V. alginolyticus*,... (De la Pena *et al.*, 1993; Diggles *et al.*, 2000; Tall *et al.*, 2003; Bourne *et al.*, 2004; Webste *et al.*, 2006; Ansari and Raissy, 2010; Raissy *et al.*, 2011). Chúng là những tác nhân gây bệnh cơ hội, có thể gây chết từ rải rác đến hàng loạt (Shields, 2011). Chúng vi khuẩn *Vibrio owensii* DY05 mới đây đã được phân lập từ một số động vật giáp xác (Cano-Gómez *et al.*, 2010) và được chứng minh là tác nhân gây bệnh nguy hiểm trên tôm hùm bông (*Panulirus ornatus*) giai đoạn ấu trùng nuôi tại Australia (Goulden *et al.*, 2012).

Mục tiêu của nghiên cứu này là xác định hiệu quả gây chết của chủng vi khuẩn *V. owensii* DY05 khi cảm nhiễm trên tôm hùm bông giai đoạn con non nuôi trong điều kiện phòng thí nghiệm tại Việt Nam. Đây là thông báo đầu tiên về thử nghiệm cảm nhiễm vi khuẩn này trên tôm hùm sau giai đoạn ấu trùng.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Tôm hùm bông

Tôm hùm bông *Panulirus ornatus* (Fabricius, 1798) giai đoạn con con (khối lượng 12 – 15 g/con) được thu mua từ các hộ ngư dân đánh bắt tôm tự nhiên tại vùng biển Khánh Hòa, từ tháng 8/2012 đến tháng 12/2012. Thí nghiệm nuôi và cảm nhiễm tôm cùng với các phân tích vi sinh được tiến hành tại Viện Công nghệ sinh học và Môi trường, Trường Đại học Nha Trang.

Tôm hùm được nuôi trong các bể bê tông với thể tích nước 30 L/bể. Nước nuôi là nước biển tự nhiên đã lọc qua tấm lưới lọc và xử lý bằng chlorine. Nhiệt độ được duy trì trong khoảng 26-28°C, độ mặn 33-34 ‰, pH 7,9 – 8,2. Chế độ thay nước hàng ngày 130-150%, có điều chỉnh theo chất lượng nước. Duy trì chế độ sục khí 24/24 giờ. Tôm được cho ăn 2 lần/ngày, ăn theo nhu cầu; sử dụng thức ăn tươi là tôm và cua cỡ nhỏ.

Chủng vi khuẩn

Chủng vi khuẩn *Vibrio owensii* DY05 (Hoj DY05^T, JCM 16517^T, LMG 25443^T) được cung cấp bởi Viện Hải dương học Australia (AIMS), nuôi và bảo quản trên môi trường TCBS (Thiosulfate Citrate Bile Salt) (HiMedia, Ấn Độ), bổ sung 1,5% NaCl, ở 28°C.

Xác định mật độ tế bào vi khuẩn

Tổng số tế bào vi khuẩn *Vibrio* được xác định theo phương pháp đổ đĩa, bao gồm pha loãng mẫu và đếm khuẩn lạc trên môi trường chọn lọc TCBS theo mô tả của Trần Linh Thuộc (2007).

Chuẩn bị dịch nuôi vi khuẩn cho thí nghiệm cảm nhiễm

Chủng vi khuẩn *V. owensii* DY05 được nuôi tăng sinh trong môi trường TSB (Tryptone Soya Broth) (HiMedia, Ấn Độ), bổ sung 2% NaCl, ở nhiệt độ phòng, với tốc độ lắc 180 vòng/phút, trong thời gian 7 giờ. Sau đó, dịch nuôi được ly tâm với tốc độ 3500 vòng/phút trong 45 phút trên máy ly tâm thể tích lớn MF 600 (Labentech, Hàn Quốc), rửa trong nước muối sinh lý 0,9% (m/v) và tạo huyền dịch. Mật độ tế bào vi khuẩn trong huyền dịch được đo bằng máy quang phổ UV/VIS (CARY 100 Bio, Varian, Mỹ) ở bước sóng 540 nm và bằng phương pháp đổ đĩa trên môi trường TCBS như mô tả ở trên. Huyền dịch nuôi vi khuẩn có mật độ tế bào là $1,45.10^9$ CFU.ml⁻¹ tương ứng với mật độ quang OD_{540 nm} = 3,2 sẽ được sử dụng làm dung dịch gốc cho thí nghiệm cảm nhiễm tôm hùm với các mật độ vi khuẩn khác nhau.

Bố trí thí nghiệm cảm nhiễm tôm hùm

Tôm thí nghiệm được nuôi giữ ổn định trong thời gian 15 ngày, sau đó các nhóm tôm thí nghiệm (10 con/nhóm) được bố trí vào 6 bể (kích thước 55x39x35 cm) (Bảng 1). Khối lượng tôm thí nghiệm dao động 12 – 15 g/con, coi như không có sự sai khác về kích thước giữa các nhóm tôm. Điều kiện chăm sóc quản lý tôm trong các bể là như nhau trong thời gian thí nghiệm. Các nhóm tôm trong 5 bể (A, B, C, D, E) đã được phơi nhiễm với *V. owensii* DY05 ở các mật độ tương ứng từ 10³ đến 10⁷ CFU.ml⁻¹ bằng phương pháp ngâm; nhóm tôm còn lại (bể F) được dùng làm đối chứng. Thời gian cảm nhiễm kéo dài trong 24 giờ, sau đó thay 50% nước trong tất cả các bể thí nghiệm. Chế độ thay nước được duy trì trở lại bình thường từ ngày thứ 3 sau khi cảm nhiễm. Theo dõi và ghi lại số tôm chết trong thời gian thí nghiệm (20 ngày) cho đến sau 7 ngày từ ngày có tôm chết cuối cùng.

Tỷ lệ tôm hùm chết (%) được xác định theo công thức: $MR = \frac{N}{N_s} * 100 \%$

Trong đó: MR%: tỷ lệ tôm chết sau khi kết thúc thí nghiệm

N: Số tôm chết trong thí nghiệm

Ns: Số tôm được nuôi khi bắt đầu thí nghiệm

Bảng 1. Bố trí thí nghiệm cảm nhiễm tôm hùm với vi khuẩn *V. owensii* DY05

Bể thí nghiệm	Nồng độ vi khuẩn cảm nhiễm (CFU.ml ⁻¹)	Phương pháp cảm nhiễm	Số lượng tôm thí nghiệm
A	10 ³	Ngâm	10
B	10 ⁴	Ngâm	10
C	10 ⁵	Ngâm	10
D	10 ⁶	Ngâm	10
E	10 ⁷	Ngâm	10
F	0	Đối chứng	10

Liều gây chết 50% được xác định theo công thức: $\text{Log}_a \text{LD}_{50} = L - \frac{L\% - 50}{L\% - H\%}$

Trong đó, a: Hệ số pha loãng (a = 10)

L: Mức pha loãng mà ở đó tỷ lệ chết cao hơn 50% là thấp nhất

L%: Tỷ lệ tôm chết trên 50% thấp nhất

H%: Tỷ lệ tôm chết dưới 50% cao nhất

Thu và xử lý mẫu tôm hùm chết

Trong thời gian thí nghiệm, các cá thể tôm đã chết hoặc rất yếu được ghi nhận và thu để dùng cho phân tích. Mẫu được xử lý bằng cách sát trùng bề mặt tôm bằng cồn 70% trong 10 giây, loại bỏ cồn dư bằng cách hơ trên ngọn lửa. Mẫu tôm đã sát trùng được dùng cho phân tích vi sinh hoặc tiếp tục giải phẫu thu một số cơ quan (mang, tuyến gan tụy, cơ và ruột) làm mẫu tiêu bản mô học. Các dụng cụ được khử trùng trước khi sử dụng.

Phương pháp làm tiêu bản mô học

Mẫu mô tôm hùm được cố định trong dung dịch Davison trong 24 giờ, làm mất nước và mềm, sau đó thấm parafin và đúc mẫu, rồi cắt lát mẫu (độ dày 3-7 μm), nhuộm mẫu với thuốc nhuộm Hematoxylin và Eosin. Sau khi nhuộm, mẫu được gắn lên tiêu bản bằng bom-Canada và được soi bằng kính hiển vi quang học.

Xử lý thống kê

Số liệu được xử lý thống kê trên các phần mềm Microsoft Office Excel 2007 và SPSS 16.0. Sai khác được đánh giá có ý nghĩa ở mức P = 0,05 và P = 0,01.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Xác định liều gây chết LD₅₀ của vi khuẩn *V. owensii* DY05 trên tôm hùm con

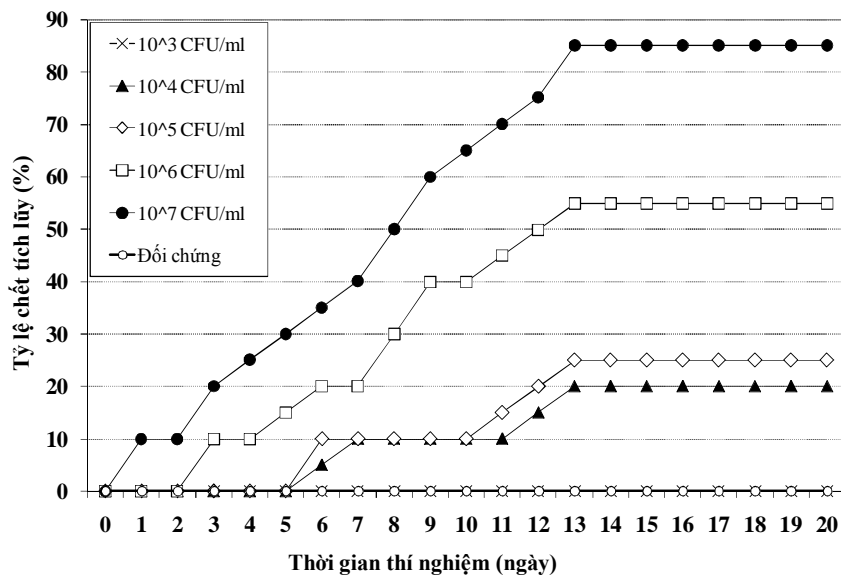
Kết quả thí nghiệm cảm nhiễm cho thấy tôm thí nghiệm chết đầu tiên được ghi nhận ở bể E sau 1 ngày cảm nhiễm, ở bể D sau 3 ngày, ở bể C và B sau 6 ngày. Không ghi nhận được tôm chết trong hai bể A (ở mật độ cảm nhiễm 10³ CFU.ml⁻¹) và F (không cảm nhiễm). Tỷ lệ chết tích lũy của tôm thí nghiệm trong các bể được trình bày trong Bảng 2 và diễn biến tình trạng chết của tôm thí nghiệm được trình bày trên Hình 1.

Bảng 2. Tỷ lệ chết tích lũy của tôm hùm sau khi kết thúc thí nghiệm (Mean ± SE)

Bể thí nghiệm	F (đối chứng)	A	B	C	D	E
Mật độ vi khuẩn cảm nhiễm (CFU.ml ⁻¹)	0	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷
Tỷ lệ chết tích lũy (%)	0 ^a	0 ^a	20 ^b ± 0	25 ^b ± 5.0	55 ^c ± 5.0	85 ^d ± 5.0

(^{a, b, c, d} Trong cùng một hàng các kí hiệu khác nhau thì sai khác có ý nghĩa (P<0,05))

Kết quả từ Bảng 2 cho thấy vi khuẩn *V. owensii* DY05 không gây chết cho tôm hùm con ở mật độ cảm nhiễm 10^3 CFU.ml⁻¹, gây chết thấp nhất ở mật độ cảm nhiễm 10^4 CFU.ml⁻¹ (20%) và ở mật độ 10^5 CFU.ml⁻¹ (25%), gây chết cao hơn ở mật độ 10^6 CFU.ml⁻¹ (55%) và gây chết cao nhất (85%) ở mật độ cảm nhiễm 10^7 CFU.ml⁻¹. Xét về mặt thống kê, tỷ lệ chết của tôm hùm ở hai mật độ cảm nhiễm 10^4 và 10^5 CFU.ml⁻¹ khác nhau không có ý nghĩa ($P < 0,05$). Liều gây chết 50% (LD₅₀) của vi khuẩn *V. owensii* DY05 trên tôm thí nghiệm được xác định là $10^{5,833}$ CFU.ml⁻¹ trong thời gian 20 ngày. Tổng số vi khuẩn *Vibrio* được phân lập lại từ tôm hùm chết có mật độ dao động từ $3,5 \cdot 10^3$ CFU.g⁻¹ đến $7,1 \cdot 10^3$ CFU.g⁻¹. Vi khuẩn *Vibrio* là tác nhân gây bệnh cơ hội, thường tấn công trước nhất vào các cá thể đã bị thương, hoặc tình trạng sức khỏe yếu hơn. Với tỷ lệ chết tích lũy 85%, *V. owensii* DY05 gây chết khá nhanh cho tôm hùm con trong thời gian ngắn 13 ngày, tỷ lệ chết tích lũy có tương quan rất mạnh với nồng độ vi khuẩn cảm nhiễm ($R=0,946$) ($P < 0,01$). Kết quả nghiên cứu về quần xã vi sinh vật trong hệ thống nuôi tôm hùm bông cho thấy sự thay đổi định tính và định lượng thành phần vi khuẩn trong hệ vi sinh có liên quan đến tỷ lệ chết của tôm, mật độ vi khuẩn xâm nhiễm vào cơ thể tôm gia tăng theo thời gian nhưng lại không có sự liên quan với tỷ lệ chết (Bourne *et al.*, 2004).



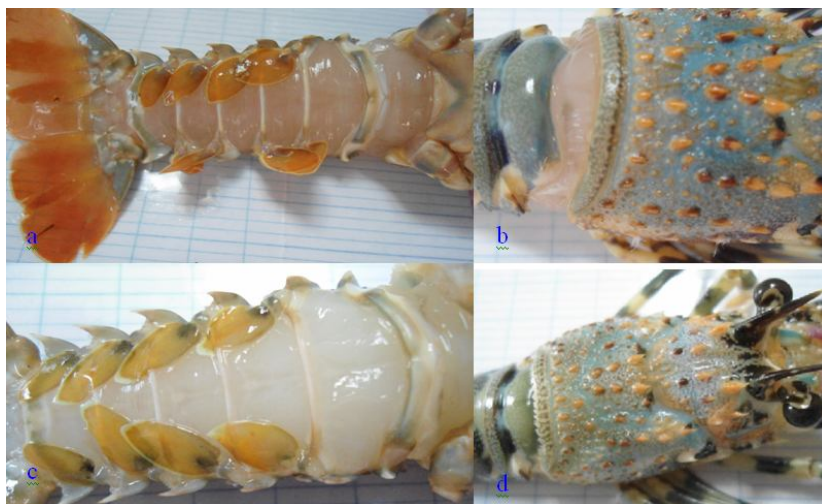
Hình 1. Tỷ lệ chết tích lũy ở các nhóm tôm hùm được cảm nhiễm với các mật độ khác nhau của *V. owensii* DY05

Vi khuẩn *Vibrio* đã được chứng minh là tác nhân gây bệnh (trực tiếp hay gián tiếp) trên tôm hùm. Trong thí nghiệm nghiên cứu cảm nhiễm vi khuẩn *V. harveyi* lên ấu trùng phyllosoma tôm hùm *Jasus verriaulti* bằng phương pháp tắm, Diggles và ctv (2000) đã kết luận ấu trùng chết 100% sau 3 ngày cảm nhiễm với *V. harveyi* ở mật độ 10^7 CFU.ml⁻¹ và ghi nhận ấu trùng đầu tiên chết ở mật độ cảm nhiễm 10^6 CFU.ml⁻¹ sau 7 ngày. Năm 2006, khi nghiên cứu quá trình lây nhiễm vi khuẩn họ Vibrionaceae trên ấu trùng tôm hùm *P. ornatus*, Webster và ctv (2006) đã phát hiện số vi khuẩn trung bình ở mô ngoài và trong gan tụy của ấu trùng tăng tương ứng 5 và 40 lần ở ngày ương nuôi thứ 18 so với ngày ương nuôi đầu tiên, riêng vi khuẩn họ Vibrionaceae tăng tương ứng 15 và 60 lần. Ngoài ra, Goulden và ctv (2012) khi nghiên cứu cảm nhiễm vi khuẩn *V. owensii* DY05 lên ấu trùng tôm hùm *P. ornatus* bằng phương pháp ngâm đã kết luận trong thời gian 5 ngày sau khi cảm nhiễm, ấu trùng phyllosoma chết 40% và 60% ở mật độ cảm nhiễm tương ứng 10^5 và 10^7 CFU.ml⁻¹. Đối với phương pháp cảm nhiễm qua vector đã được tăng sinh với vi khuẩn cảm nhiễm (mật độ vi khuẩn tăng sinh 10^6 CFU.ml⁻¹), tỷ lệ chết của ấu trùng sau 5 ngày là 89%. Nghiên cứu của các tác giả đều kết luận vi khuẩn *Vibrio* gây chết cho ấu trùng phyllosoma trong thời gian ngắn với tỷ lệ chết tích lũy cao. Trong nghiên cứu này, tỷ lệ chết tích lũy cao trong thời gian dài

hơn do điều kiện thí nghiệm khác với các thí nghiệm trước đây: sức khỏe và giai đoạn sinh trưởng khác nhau của đối tượng thí nghiệm (ấu trùng và tôm con), điều kiện dinh dưỡng, yếu tố môi trường nuôi, ... Vì vậy, có thể mức độ xâm nhiễm và gây độc của vi khuẩn *Vibrio* lên vật nuôi là khác nhau, dẫn đến khả năng gây chết cho đối tượng nuôi là khác nhau.

Dấu hiệu bên ngoài đặc trưng của tôm hùm chết sau khi cảm nhiễm với *V. owensii* DY05

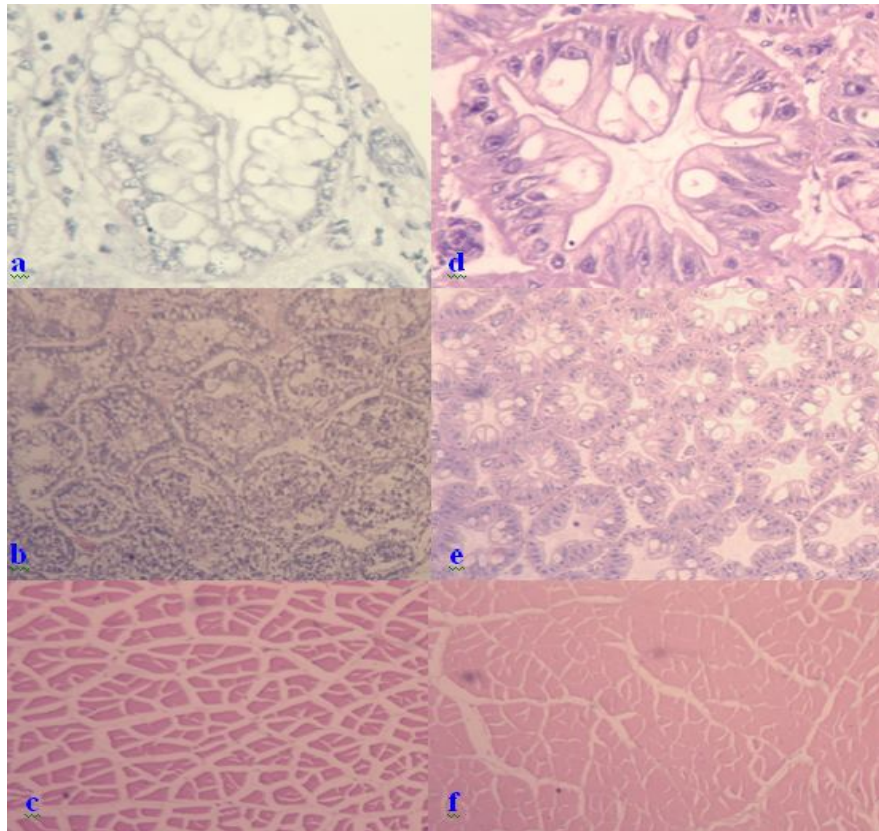
Tôm bỏ ăn trước khi chết 2 đến 3 ngày. Chúng biểu hiện trạng thái lơ đờ, các phần phụ dường như bị tê liệt, hầu như không phản ứng khi bị kích thích cơ học. Vỏ giáp bụng và đuôi của tôm chuyển đỏ từng phần. Tổ chức cơ nối giữa giáp đầu ngực với phần bụng lỏng lẻo, toàn bộ cơ mất màu trắng, trong, sáng và chuyển sang màu hồng. Tôm thí nghiệm chết khi cảm nhiễm với vi khuẩn *V. owensii* DY05 có một số dấu hiệu ngoài giống với đặc điểm chung được mô tả trong nghiên cứu của một số tác giả trước đây trên tôm hùm khi cảm nhiễm với các loài *Vibrio* khác nhau. Diggles và ctv (2000) ghi nhận các dấu hiệu hôn mê, lơ đờ, xuất hiện các chấm đỏ nhỏ dọc suốt thân khi ấu trùng *Jasus verriaulti* chết do cảm nhiễm với vi khuẩn *V. harveyi*. Võ Văn Nha (2004) khi nghiên cứu một số bệnh thường gặp trên tôm hùm bông đã phát hiện trên tôm hùm bị bệnh đỏ thân có mặt của nhiều vi khuẩn thuộc chi *Vibrio* mà trong đó chủ yếu là *V. parahaemolyticus*.



Hình 2. Dấu hiệu bên ngoài đặc trưng của 2 nhóm tôm hùm thí nghiệm. Tôm hùm cảm nhiễm với *V. owensii* DY05 (a+b) và tôm hùm đối chứng (c+d).

Phân tích tiêu bản mô tôm hùm

Phân tích tiêu bản mô tôm hùm chết cho thấy hiện tượng gan tụy bị hoại tử nặng, tế bào gan tụy bị phá hủy. Kiểm tra tiêu bản mô cơ ngực thấy có sự tách rời và đứt các liên kết mô cơ. Cơ ngực của tôm đối chứng là một khối đặc, mô cơ được liên kết chặt chẽ, trong khi đó mô cơ ngực của tôm chết lại không có sự liên kết này. Kết hợp những biểu hiện ngoài và kết quả mô học của tôm chết, chúng tôi cho rằng chủng vi khuẩn *V. owensii* DY05 có khả năng xâm nhiễm hệ thống trên tôm hùm bông con. Điều này phù hợp với kết luận nghiên cứu của Goulden và ctv (2012) khi cảm nhiễm chủng *V. owensii* DY05 lên ấu trùng phyllosoma tôm hùm bông. Nhóm nghiên cứu đã ghi nhận các tỷ lệ chết song không mô tả dấu hiệu ngoài mà tiến hành phân tích tổ chức mô bệnh học của ấu trùng bị chết và quá trình vi khuẩn xâm nhiễm vào cơ thể ấu trùng. Người ta đã phát hiện sự có mặt của vi khuẩn có roi trong gan tụy ấu trùng sau 6 giờ cảm nhiễm, hiện tượng gan tụy bị hoại tử nặng xảy ra sau 42 giờ cảm nhiễm, và sự xâm nhiễm của chủng vi khuẩn này trên mô cơ ngực và mắt. Kết quả nghiên cứu của Diggles và ctv (2011) cũng kết luận ấu trùng phyllosoma tôm hùm bông bị xâm nhiễm hệ thống bởi vi khuẩn *V. harveyi*. Trong nghiên cứu này, phân tích mô bệnh học cho thấy một lượng lớn vi khuẩn trong ruột và trong ống gan tụy của ấu trùng, đồng thời ống gan tụy bị hoại tử nặng, tế bào gan tụy bị phá hủy.



Hình 3. Tiêu bản mô cắt lát của tôm hùm chết và tôm đối chứng. Mô gan tụy (a+b) và mô cơ (c) của tôm chết khi cảm nhiễm với chủng *V. owensii* DY05, mô gan tụy (d+e) và mô cơ (f) của tôm đối chứng.

Chủng vi khuẩn *V. owensii* DY05 có độc tính rất mạnh (Cano-Gómez *et al.*, 2010) và đã được chứng minh là tác nhân gây chết trên ấu trùng tôm hùm bông (Goulden *et al.*, 2012). Mới đây một chủng khác của loài *V. owensii* (chủng OCN002) đã được công bố là tác nhân gây bệnh hoại tử mô (hay bệnh đốm trắng *Montipora*) trên loài san hô *Montipora capitata* ở Hawaii (Ushijima *et al.*, 2012). Trong điều kiện thí nghiệm này, những kết quả trên chỉ ra rằng *V. owensii* DY05 có thể là tác nhân gây chết trên tôm hùm con. Đây là thông báo đầu tiên về thử nghiệm cảm nhiễm vi khuẩn này trên tôm hùm sau giai đoạn ấu trùng.

Trong các bệnh do vi khuẩn, bệnh do *Vibrio* được coi là nguyên nhân quan trọng gây sụt giảm sản lượng trong các trang trại nuôi tôm. Chẳng hạn, nhóm vi khuẩn này đã được chứng minh là truyền bệnh từ trại nuôi tôm cho tôm hùm tự nhiên ở miền Nam Iran (Ansari and Raissy, 2010). Bệnh gây ra bởi các loài vi khuẩn *Vibrio* đã được ghi nhận trên nhiều đối tượng nuôi hải sản như cá biển, tôm nước lợ, và cả tôm hùm (De la Pena *et al.*, 1993; Schmidt *et al.*, 2000; Tall *et al.*, 2003). Tall và ctv (2003) đã báo cáo thiệt hại kinh tế khoảng 2,5 triệu đô la do vi khuẩn giống với *Vibrio fluvialis* trên tôm hùm châu Mỹ gây ra. Raissy và ctv (2011) đã phát hiện các loài vi khuẩn *Vibrio* spp. trong máu tôm hùm, trong đó các loài *V. alginolyticus*, *V. vulnificus*, *V. harveyi*, và *V. mimicus* xuất hiện với tần số lớn hơn cả.

Bệnh vibriosis gây ảnh hưởng ngày càng lớn đến phát triển nghề nuôi bèn vũng, gây sụt giảm kinh tế nghiêm trọng cho tất cả các quốc gia có nghề nuôi thủy sản (Shields, 2011). Do không có cơ chế đáp ứng miễn dịch đặc hiệu ở tôm hùm nói riêng và các đối tượng giáp xác nói chung, cho nên việc phòng trị bệnh do vi khuẩn gây ra trở nên khó khăn hơn và hầu như không thể áp dụng vaccine. Trong khi đó, với tình trạng sử dụng thuốc và kháng sinh tràn lan như hiện nay đã làm phát triển một số dòng vi khuẩn kháng thuốc, gia tăng độc tính và khả năng lan truyền, đồng thời tích lũy các gốc kháng sinh trong cơ thể vật nuôi, gây hại cho người tiêu dùng thực phẩm từ các động vật này. Mới đây, Goulden và ctv (2012) đã tuyên

chọn và thử nghiệm thành công hai chủng vi khuẩn probiotic (*Vibrio* sp. PP05 và *Pseudoalteromonas* sp. PP107), khi sử dụng kết hợp có thể tăng tỉ lệ sống của ấu trùng tôm hùm bông sau khi cảm nhiễm với *V. owensii* DY05. Tương tự, những kết quả chưa công bố của nhóm nghiên cứu chúng tôi đã tuyển chọn thành công một số chủng vi khuẩn biển có hoạt tính đối kháng với chủng DY05 trong điều kiện *in vitro*, đồng thời những thử nghiệm *in vivo* của các chủng probiotic tiềm năng này trên tôm hùm con hiện đang được tiến hành. Như vậy hướng nghiên cứu ứng dụng công nghệ probiotic trong trừ dịch bệnh do *Vibrio* gây ra trên tôm hùm bông đang có triển vọng tốt, có thể đóng góp vào sự phát triển bền vững của nghề nuôi tôm hùm nói riêng và nuôi trồng thủy sản nói chung.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Kết luận

Sau 13 ngày cảm nhiễm, vi khuẩn *V. owensii* DY05 ở mật độ 10^7 CFU.ml⁻¹ gây ra tỉ lệ chết tích lũy 85% trên tôm hùm bông (*Panulirus ornatus*) giai đoạn con non, trong khi đó liều gây chết 50% LD₅₀ là $10^{5,833}$ CFU.ml⁻¹ sau 20 ngày. Tôm chết có dấu hiệu bỏ ăn, lơ dờ, vỏ giáp bụng và đuôi của tôm chuyển đỏ từng phần, gan tụy bị hoại tử nặng, liên kết mô cơ ngực bị phá vỡ. Như vậy, chủng vi khuẩn *V. owensii* DY05 có thể là tác nhân gây chết bằng cách xâm nhiễm hệ thống đối với tôm hùm bông giai đoạn con non.

Kiến nghị

Cần chuẩn hóa điều kiện thí nghiệm cảm nhiễm như sử dụng tôm hùm sạch bệnh, nước nuôi và thức ăn sạch bệnh để nâng cao độ tin cậy của thí nghiệm này. Đồng thời, có thể mở rộng nghiên cứu cảm nhiễm chủng vi khuẩn *V. owensii* DY05 ở các giai đoạn sinh trưởng khác nhau của tôm hùm. Cuối cùng, cần nghiên cứu tuyển chọn các chủng vi khuẩn probiotic đối kháng với chủng DY05 trong điều kiện *in vitro* và *in vivo* có thể dẫn đến việc ứng dụng công nghệ probiotic nhằm nâng cao tỉ lệ sống của tôm hùm phòng khi nhiễm chủng vi khuẩn gây bệnh này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nguyễn Bá Thiên An, 2011. Tình hình sử dụng thức ăn và kỹ thuật cho ăn trong nuôi thương phẩm tôm hùm bông (*Panulirus ornatus* Fabricius, 1798) tại Khánh Hòa và thử nghiệm ương nuôi tôm hùm bông bằng thức ăn viên trong ao đất phủ bạt. Luận văn thạc sĩ, Trường Đại học Nha Trang.
- Võ Văn Nha, 2004. Kết quả bước đầu nghiên cứu một số bệnh thường gặp ở tôm hùm bông (*Panulirus ornatus*) nuôi lồng tại vùng biển Phú Yên, Khánh Hòa. Tuyển tập các công trình nghiên cứu khoa học công nghệ (1984 – 2004). Nhà xuất bản Nông nghiệp thành phố Hồ Chí Minh, trang 487 – 493.
- Trần Linh Thuốc, 2007. *Phương pháp phân tích vi sinh vật trong nước, thực phẩm và môi trường*. Nhà xuất bản Giáo dục, trang 40 – 67.
- Ansari M. Raissy M., 2010. *In vitro* susceptibility of commonly used antibiotics against *Vibrio* spp. isolated from lobster (*Panulirus homarus*). *Afr. J. Microbiol. Res.*, 4(213): 2629 – 2631.
- Bourne D. G., Young N., Webster N., Payne M., Salmon M., Demel S. And Hall M., 2004. Microbial community dynamics in a larval aquaculture system of the tropical rock lobster, *Panulirus ornatus*. *Aquaculture*, 242: 31 – 51.
- Cano-Gómez A., Goulden E. F., Owens L. and Høi L., 2010. *Vibrio owensii* sp. nov., isolated from culture crustaceans. *FEMS Microbiol. Let.*, 302: 175 – 181.
- De la Pena L. D., Tamaki K. T., Momoyama T. N. and Muroga K., (1993). Characteristic of causative bacterium of vibriosis in kuruma prawn *Penaeus japonicus*. *Aquaculture*, 115: 1 – 12.

- Diggles B. K., Moss G. A., Carson J. and Anderson C. D., 2000. Luminous vibriosis in rock lobster *Jasus verreauxi* (Decapoda: Palinuridae) phyllosoma larvae associated with infection by *Vibrio harveyi*. *Dis. Aquat. Org.*, 43: 127 – 137.
- Goulden E. F., Hall M. R., Bourne D. G., Pereg L. L., and Hoj L., 2012. Pathogenicity and infection cycle of *Vibrio owensii* in larviculture of ornate spiny lobster (*Panulirus ornatus*). *Appl. Environ. Microbiol.*, 78(8): 2841-9
- Goulden E. F., Hall M. R., Pereg L. L., Hoj L., 2012. Identification of an antagonistic probiotic combination protecting ornate spiny lobster (*Panulirus ornatus*) larvae against *Vibrio owensii* infection. *PLoS One*, 7(7): e39667. doi: 10.1371/journal.pone.0039667.
- Lai Van Hung and Le Anh Tuan, 2009. *Loyster seacage culture in Vietnam*. In: Williams K.C. (ed.), *Spiny lobster aquaculture in the Asia-Pacific region*. Proceedings of an international symposium held at Nha Trang, Vietnam, 9–10 December 2008. ACIAR Proceedings No. 132. Australian Centre for International Agricultural Research: Canberra. 162 pp.
- Raissy M., Momtaz H., Moumeni M., Ansari M. and Rahimi E., 2011. Molecular detection of *Vibrio* spp. in lobster hemolymph. *Afr. J. Microbiol. Res.*, 5(13): 1697 – 1700.
- Schmidt A. S., Bruun M. S., Dalsgaard I., Pederson K. and Larsen J. L., 2000. Occurrence of antimicrobial resistance in fish pathogen and environmental bacteria associated with four Danish rainbow trout farms. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66: 4908 – 4915.
- Shields J. D., 2011. Diseases of spiny lobsters: a review. *J. Invertebr. Pathol.*, 106(1): 79-91.
- Tall B. D., All S. F., Pereira M. R., Valle M. R., Curtis S. K., Kothary M. H., Chu D. T., Monday S. R., Kornegay L., Donka T., Prince D., Thunberg R. L., Shanggraw K. A., Hanes D. E., Khambaty F. A., Lampel K. A., Bier J. V. and Bayer R. C., 2003. Characterization of *Vibrio fluvialis*-like strains implicated in limp lobster disease. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69: 7435 – 7446.
- Ushijima B., Smith A., Aeby G. S., Callahan S.M., 2012. *Vibrio owensii* induces the tissue loss disease *Montipora* white syndrome in the Hawaiian reef coral *Montipora capitata*. *PLoS One*, 7(10): e46717. doi: 10.1371/journal.pone.0046717.
- Webster N. S., Bourne D. G. and Hall M., 2006. Vibrionaceae infection in phyllosomas of the tropical rock lobster *Panulirus ornatus* as detected by fluorescence in situ hybridization. *Aquaculture*, 255: 173 – 178.