

Nghiên cứu sự nhiễm vi rút đốm trắng (WSSV) ở tôm càng (*Macrobrachium nipponense*) và khả năng lan truyền bệnh sang tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*)

Trương Thị Mỹ Hạnh^{1*}, Phạm Thế Việt¹, Phan Trọng Bình¹, Huỳnh Thị Mỹ Lệ², Phan Thị Vân¹

¹Viện Nghiên cứu nuôi trồng thủy sản I

²Học viện Nông nghiệp Việt Nam

Ngày nhận bài 26/5/2017; ngày chuyển phản biện 31/5/2017; ngày nhận phản biện 3/7/2017; ngày chấp nhận đăng 10/7/2017

Tóm tắt:

Vi rút đốm trắng (WSSV) là tác nhân gây bệnh ảnh hưởng nghiêm trọng đến sản lượng tôm nuôi. Mục đích chính của nghiên cứu nhằm xác định tôm càng (*Macrobrachium nipponense*) có phải là vector lan truyền bệnh đốm trắng ở tôm hay không. Kết quả nghiên cứu cho thấy, tôm càng (*M. nipponense*) thu được trong ao nuôi tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) bị bệnh đốm trắng có kết quả dương tính với WSSV khi xác định bằng phương pháp phân tích PCR. Trong thí nghiệm sử dụng phương pháp ngâm tôm càng trong môi trường nuôi chứa WSSV khoảng 120 phút, tôm đã bị nhiễm WSSV. WSSV lan truyền từ tôm càng sang tôm thẻ chân trắng sau 5 ngày khi chúng được nuôi nhốt trong cùng điều kiện môi trường. Điều này cho thấy, tôm càng là vector mang WSSV và là nguồn lây nhiễm WSSV lên tôm nuôi trong ao.

Từ khóa: *Macrobrachium nipponense*, tôm càng, WSSV.

Chỉ số phân loại: 4.5

Mở đầu

Vi rút đốm trắng (white spot syndrome virus - WSSV) là tác nhân gây bệnh đốm trắng ở tôm. Tại Việt Nam, WSSV lần đầu tiên gây ra tình trạng tôm nuôi chết hàng loạt ở Bà Rịa - Vũng Tàu (1993), tiếp đó là ở Phú Yên, Khánh Hòa (1994) và các tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long (1993-1994) [1-3]. Đặc biệt, năm 2015 bệnh đốm trắng đã xảy ra trên diện rộng, trải dài từ Quảng Ninh đến Cà Mau (tại 254 xã, 78 huyện thuộc 23 tỉnh, thành phố trong cả nước) với tổng diện tích nuôi tôm bị bệnh là hơn 5.200 ha (Cục Thú y, 2015). Trên thế giới, WSSV cũng đã mở rộng phạm vi ảnh hưởng từ Đài Loan (năm 1992) [4], Nhật Bản, Hàn Quốc (năm 1993) [5, 6], Malaysia và Ấn Độ (năm 1994) [7, 8], Indonesia (năm 1995) và Philippin (năm 1999) - một đất nước nằm cách xa các nước đã xảy ra dịch bệnh vùng Đông và Đông Nam Á [9]. Không chỉ xuất hiện ở châu Á, bệnh đốm trắng còn được phát hiện tại Taxes, Bắc Mỹ vào tháng 11/1995 [10], phía nam Carolina năm 1996 [11]. Gần đây nhất, bệnh xuất hiện ở hộ nuôi tôm thuộc Saudi Arabia, Mozambique và Madagascar vào năm 2011 [12].

Hình thức lây nhiễm của WSSV lên tôm nuôi theo cả chiều ngang (thông qua môi trường nước, thức ăn...) và chiều dọc (từ tôm bố mẹ truyền sang tôm con) [13, 14].

Hơn nữa, vi rút có phổ ký chủ rộng, từ các loài thuộc giáp xác (cua, Artemia, Copepod...), chân chèo đến các động vật chân đốt khác [15]. Theo thống kê có đến 151 loài sinh vật thuộc 6 nhóm (giáp xác, nhuyễn thể, sinh vật phù du, giun nhiều tơ, côn trùng và gia cầm) mang WSSV, trong đó nhiều nhất phải kể đến tôm (65 loài) [16], tuy nhiên khả năng gây bệnh của vi rút này trên tôm có sự khác biệt theo loài (WSSV nhiễm lên tôm càng xanh (*M. rosenbergii*) nhưng không làm chết tôm [17, 18], tuy nhiên lại gây chết với tỷ lệ cao ở tôm sú, tôm he và tôm thẻ chân trắng [4, 12]). Tại Việt Nam, những nghiên cứu về các loài sinh vật mang WSSV có thể lây truyền sang tôm nuôi còn nhiều hạn chế; việc nghiên cứu bổ sung thêm loài sinh vật mang WSSV là rất quan trọng và đặc biệt cần thiết.

Mục đích của nghiên cứu này nhằm xác định tôm càng (*M. nipponense*), một loài tôm xuất hiện phổ biến ở cửa sông và quanh khu vực nguồn cấp nước vào ao lắng của các hộ nuôi tôm tập trung tại Nam Định nói riêng, các tỉnh phía Bắc nói chung có phải là vector lan truyền bệnh đốm trắng ở tôm hay không. Nghiên cứu có ý nghĩa quan trọng trong việc xác định, nhận biết thêm loài mang WSSV và là cơ sở để kiểm soát mối nguy sinh học tiềm ẩn gây bệnh cho tôm nuôi qua phương thức lây truyền bệnh theo chiều ngang.

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

A study on white spot syndrome virus (WSSV) infection on crayfish (*Macrobrachium nipponense*) and possibility of WSSV transmission to white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

Thi My Hanh Truong^{1*}, The Viet Pham¹,
Trong Binh Phan¹, Thi My Le Huynh², Thi Van Phan¹

¹Research Institute for Aquaculture No 1

²Vietnam National University of Agriculture

Received 26 May 2017; accepted 10 July 2017

Abstract:

The white spot syndrome virus (WSSV), the causative agent creates severe damages to the production of shrimp, can multiply in many crustaceans, especially shrimps. The objective of this study is to identify if the crayfish (*Macrobrachium nipponense*) is a transmission vector of white spot disease among shrimps. The results showed that *M. nipponense* obtained in white leg shrimp ponds which was infected with the white spot disease was positive for WSSV by PCR analysis. In the experiment, *M. nipponense* was immersed in a culture medium containing the WSSV in 120 minutes so that the *M. nipponense* would be infected with the WSSV. The WSSV spread from *M. nipponense* to white leg shrimp after 5 days while cultured under the same environmental conditions. This proved that *M. nipponense* was a transmission vector of WSSV and an infection source of WSSV to white leg shrimp cultured in ponds.

Keywords: Crayfish, *Macrobrachium nipponense*, WSSV.

Classification number: 4.5

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Tôm càng (*M. nipponense*)

M. nipponense được thu trong ao nuôi tôm thẻ chân trắng thâm canh tại Nam Định, mật độ thả tôm thẻ chân trắng là 70-80 con/m². Tôm thẻ chân trắng thả nuôi bắt đầu từ tháng 4/2016, sau 1,5 tháng thả nuôi, tôm thẻ chân trắng có biểu hiện chết rải rác và đến cuối tháng nuôi thứ 2 (nuôi được 60 ngày tuổi) tôm chết với tỷ lệ cao. Nguyên nhân tôm thẻ chân trắng chết được xác định là do nhiễm WSSV. *M. nipponense* dễ dàng thu được bằng sàng cho tôm ăn, thức ăn của tôm thẻ chân trắng được thả vào sàng, sau 30 phút nhấc sàng lên và thu mẫu *M. nipponense* khi chúng vào sàng ăn thức ăn của tôm thẻ chân trắng. *M. nipponense* được thu ở thời điểm cuối tháng nuôi thứ 2 của chu kỳ nuôi tôm thẻ chân trắng. Mẫu thu được rửa sạch 3 lần bằng dung dịch PBS (pH = 7,4), sau đó giữ ở nhiệt độ -20°C cho đến khi phân tích. Tổng số 8 mẫu được phân tích ngẫu nhiên trong tổng số 11 mẫu thu được ở ao tôm thẻ chân trắng thâm canh bị bệnh đốm trắng.

Chuẩn bị mẫu ADN cho phân tích PCR

Đối với mẫu *M. nipponense* thu ở tự nhiên, một phần mang (khoảng 25 mg) của *M. nipponense* được cắt bằng kéo và cho vào ống eppendorf vô trùng. Bổ sung Proteinase K (20 µl) và 180 µl dung dịch đệm ATL vào ống eppendorf chứa mẫu và trộn đều bằng máy Vortex trước khi ủ mẫu ở 55°C trong 2 h. Sử dụng máy Vortex để trộn mẫu trước khi thêm 200 µl dung dịch đệm AL (ủ trong 10 phút ở 70°C). Sau đó, cồn 96% (200 µl) được bổ sung vào và trộn mẫu bằng máy Vortex rồi chuyển vào ống Dneasy. Các bước thực hiện tiếp của tách chiết ADN được thực hiện theo chỉ dẫn của bộ kit Qiagen-DNA.

Đối với mẫu *M. nipponense* thu trong thí nghiệm cảm nhiễm, thực hiện cADN từ mRNA của WSSV (First Strand cADN Synthesis, Fermentas, Đức). Cụ thể, tách chiết ARN mẫu *M. nipponense* bằng bộ kit IQ2000, tổng thể tích tổng hợp cADN là 20 µl được chạy với 4 giai đoạn tương ứng với nhiệt độ và thời gian: Ủ ở 25°C (5 phút), tiến hành phản ứng ở 37°C (60 phút), kết thúc phản ứng ở 70°C (5 phút) và bảo quản mẫu ở 4°C.

Chạy PCR

Phương pháp xác định mẫu nhiễm WSSV thu trong điều kiện tự nhiên được áp dụng theo Siti Khadijah và cs (2003) [19] với cặp mồi 336 có kích thước 160 bp: 366-F: 5'-GAG ACG TCG CTC ATC AAA GAT GGG GAA G-3', 366-R: 5'-GAA ACC TGG ACC ATA TTG AAT ACG GCC AG-3'. Chu trình nhiệt tương ứng trong quy trình 94°C (7 phút), [94°C (30 giây), 53°C (30 giây), 72°C

(40 giây) - lặp lại 35 chu kỳ], 72°C (10 phút) và 4°C (∞). Đối với mẫu cảm nhiễm, sản phẩm của phản ứng cADN được PCR với tổng thể tích là 50 μ l với cặp mồi 336 trong chu trình nhiệt cho phản ứng là 94°C (5 phút), [94°C (30 giây), 53°C (30 giây), 72°C (40 giây) - lặp lại 30 chu kỳ], 72°C (5 phút) và kết thúc chu kỳ cuối 4°C (giữ mẫu).

Phương pháp định danh loài *M. nipponense* được áp dụng theo Folmer (1994) với cặp mồi COI [LCO-1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') và [HCO-2198 (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3')]. Chu trình nhiệt tương ứng trong quy trình 95°C (3 phút), [95°C (30 giây), 56°C (30 giây), 72°C (40 giây) - lặp lại 30 chu kỳ], 72°C (5 phút) và 4°C (∞). Sản phẩm PCR được tinh sạch theo Qiagen-kit, giải trình tự gen tại Lab first base - Malaysia (No7-3, Jalan SP 2/7 Taman Serdang Perdana Seksyen 2, Seri Kembangan 43300, Selangor, Malaysia) và sản phẩm giải trình tự được blast trên Ngân hàng gen (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE_TYPE=BlastSearch).

Thí nghiệm gây nhiễm nhân tạo xác định khả năng tôm thẻ chân trắng nhiễm WSSV từ *M. nipponense* bằng hình thức ngâm

Tổng số 35 con *M. nipponense* được thu gom ở tự nhiên có khối lượng khoảng 3 g/con, xét nghiệm âm tính với WSSV và 100 con tôm thẻ chân trắng có khối lượng trung bình 3-5 g/con có kết quả âm tính với WSSV và bệnh hoại tử gan tụy cấp (AHPND). Số tôm thẻ chân trắng được chia làm 5 bể, mỗi bể chứa 20 con (3 lô thí nghiệm và 2 lô đối chứng). Toàn bộ tôm được nuôi thuần 5 ngày trước khi thí nghiệm và chúng được nuôi trong điều kiện độ mặn 8‰, có sục khí cung cấp oxy.

Áp dụng phương pháp gây nhiễm bằng hình thức ngâm của Chen và cs (2004) [20] như sau: 1) Bước 1 - Chuẩn bị dịch lọc chứa WSSV: Lấy 1,5 g mẫu tôm được xác định dương tính với WSSV cho vào 30 ml nước có độ mặn 8‰, chúng được nghiền nhỏ và trộn đều bằng Vortex, sau đó ly tâm ở 3.000 vòng/phút trong 10 phút ở 4°C. Thu dịch nổi lọc qua màng lọc 0,45 μ m, bổ sung thêm nước muối 8‰ khử trùng vào phần dung dịch thu được dưới màng lọc để được thể tích cuối cùng đạt 1.050 ml; 2) Bước 2 - Chuyển 21 con *M. nipponense* vào trong 1.050 ml có chứa WSSV và ngâm trong vòng 120 phút. Sau 120 phút, *M. nipponense* được rửa lại 3 lần trong nước muối 8‰ khử trùng. 21 con *M. nipponense* chia đều làm 3 và lần lượt cho vào 3 bể thí nghiệm đang nuôi 20 con tôm thẻ chân trắng/bể. Bể đối chứng được chuẩn bị tương tự, bước 1 sử

dụng 1 g mẫu tôm có kết quả phân tích âm tính với WSSV; bước 2 sử dụng 14 con *M. nipponense* và 2 bể (20 con tôm thẻ chân trắng/bể) còn lại. 3 bể thí nghiệm và 2 bể đối chứng được chăm sóc như nhau và theo dõi, thu mẫu phân tích WSSV ở tôm theo thời gian 5, 10, 15, 20 và 25 ngày.

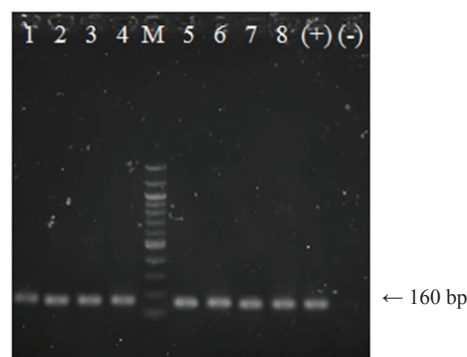
Kết quả nghiên cứu

***M. nipponense* nhiễm WSSV trong điều kiện tự nhiên**

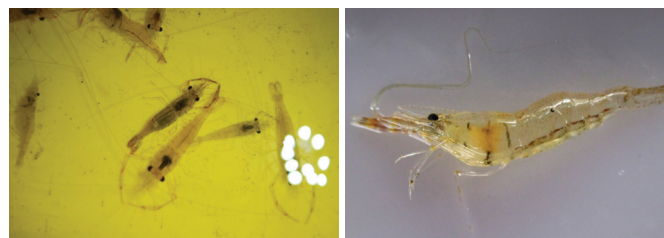
Sử dụng phương pháp PCR đã xác định được cả 8 mẫu *M. nipponense* thu trong ao nuôi tôm thẻ chân trắng đều dương tính với WSSV (tỷ lệ 100%) (bảng 1, hình 1). Mặc dù mang mầm bệnh vi rút nhưng *M. nipponense* không có biểu hiện bất thường, cơ thể sáng màu và phản xạ nhanh (hình 2).

Bảng 1. Tỷ lệ (%) *M. nipponense* nhiễm WSSV trong điều kiện tự nhiên.

Tên loài	Số mẫu phân tích	Tỷ lệ (%) mẫu nhiễm WSSV	Ghi chú
<i>M. nipponense</i>	8	100	Mẫu thu không có biểu hiện bất thường. <i>M. nipponense</i> khỏe, phản xạ nhanh, cơ thể sáng màu.



Hình 1. Kết quả PCR xác định WSSV ở mẫu *M. nipponense* thu trong ao nuôi tôm thẻ chân trắng (M: Marker; 1-8: Số thứ tự 8 mẫu được thu; (+): Đối chứng dương; (-): Đối chứng âm).



Hình 2. Hình thái *M. nipponense* nhiễm WSSV thu được ở ao nuôi tôm thẻ chân trắng tại Nam Định.

Lây nhiễm WSSV từ *M. nipponense* sang tôm thẻ chân trắng

Sau khi xác định *M. nipponense* nhiễm WSSV trong điều kiện tự nhiên, thí nghiệm gây nhiễm trong điều kiện nhân tạo được triển khai nhằm xác định *M. nipponense* nhiễm WSSV có hay không khả năng lan truyền bệnh đốm trắng sang tôm thẻ chân trắng khi chúng được nuôi nhốt trong cùng môi trường nuôi. Kết quả cho thấy, đã có sự lây nhiễm WSSV từ *M. nipponense* sang tôm thẻ chân trắng nuôi ở ngày thứ 5 sau khi gây nhiễm với tỷ lệ 3 mẫu nhiễm trong tổng số 12 mẫu được kiểm tra, trong khi đó mẫu *M. nipponense* có tỷ lệ nhiễm WSSV 100% (2/2). Số mẫu tôm thẻ chân trắng nhiễm WSSV tăng dần tỷ lệ thuận theo thời gian thí nghiệm từ ngày thứ 5, 10, 15 đến ngày thứ 20, 25 lần lượt có tỷ lệ mẫu dương tính với WSSV tương ứng từ 25 (3/12), 66,7 (8/12), 83,3 (10/12) đến 100% (15/15 và 9/9) (bảng 2). Trong khi đó, lô đối chứng các mẫu phân tích tiếp tục có kết quả âm tính đối với WSSV ở cả tôm thẻ chân trắng và *M. nipponense*.

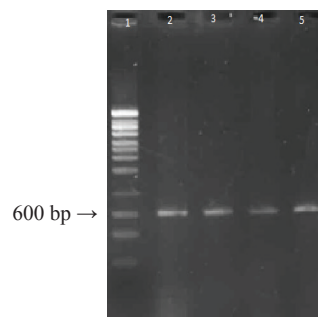
Bảng 2. Kết quả *M. nipponense* nhiễm WSSV trong điều kiện thí nghiệm và khả năng lây bệnh sang tôm thẻ chân trắng.

Thời gian (ngày ¹)	Số mẫu nhiễm WSSV/số mẫu kiểm tra			
	Lô gây nhiễm WSSV		Lô đối chứng	
	Tôm thẻ chân trắng	<i>M. nipponense</i>	Tôm thẻ chân trắng	<i>M. nipponense</i>
5	3/12	3/3	0/6	0/2
10	8/12	3/3	0/8	0/2
15	10/12	3/3	0/8	0/2
20	15/15	3/3	0/8	0/2
25	9/9	9/9	0/10	0/6
Tỷ lệ tích lũy mẫu nhiễm WSSV (%)	75,0	100	0	0

¹Thời gian thu mẫu sau khi gây nhiễm.

Định danh *M. nipponense* bằng sinh học phân tử

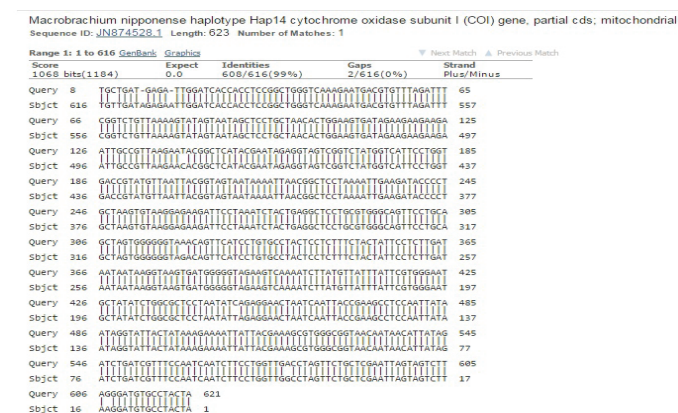
Nghiên cứu đã sử dụng cặp mồi COI trong phản ứng PCR đối với ADN được tách chiết từ mẫu *M. nipponense*. Kết quả phân tích cho thấy, sản phẩm PCR có kích thước khoảng 600 bp (hình 3). Sản phẩm PCR được tinh sạch trước khi giải trình tự gen, kết quả trình tự gen được xác định có độ tương đồng cao (99%) với loài tôm *M. nipponense* (hình 4, 5). Kết quả này cho thấy, bằng phương pháp PCR với cặp mồi COI là giải pháp hoàn toàn có thể định danh loài *M. nipponense* với độ chính xác và tin cậy cao.



Hình 3. Sản phẩm PCR của 3 mẫu *M. nipponense* chạy với cặp mồi COI (1: Marker; 2, 3 và 4 lần lượt là 3 mẫu *M. nipponense* được phân tích).



Hình 4. Giải trình tự và trình tự các gen của loài *M. nipponense*.



Hình 5. Hình ảnh blast gen của trình tự gen có độ tương đồng 99% với *M. nipponense*.

Thảo luận

Nghiên cứu về các loài sinh vật mang WSSV có thể lây truyền trong tôm nuôi ở Việt Nam còn nhiều hạn chế và mang tính gián đoạn. Nghiên cứu được công bố đầu tiên vào năm 1999 với 3 loài tôm (*Penaeus indicus*, *Etapenaeus ensis*, *Metapenaeus lysianassa*) ở rừng ngập mặn tỉnh Cà Mau nhiễm WSSV [21]; sau đó 10 năm, một

báo cáo kỹ thuật xác định ốc mượn hồn, mực và tôm tít sử dụng nuôi vỗ tôm bố mẹ mang WSSV [22]; đến năm 2010, *M. rosenbergii* (tôm càng xanh nước ngọt) nhiễm WSSV [23]. Gần đây nhất, kết quả giun cát (*Perinereis* sp) nhiễm WSSV (32,07%) thu tại Nha Trang, Khánh Hòa [24] và cáy đỏ (*Uca* sp) nhiễm WSSV trong điều kiện gây nhiễm đồng thời WSSV từ cáy đỏ nhiễm lên tôm thẻ chân trắng khi nuôi nhốt trong cùng môi trường nuôi [25]. Như vậy, việc nghiên cứu bổ sung thêm loài sinh vật mang WSSV là rất quan trọng và đặc biệt cần thiết ở Việt Nam. Kết quả nghiên cứu này đã xác định thêm 1 loài tôm càng (tên gọi địa phương) nhiễm WSSV trong điều kiện nhiễm tự nhiên ở Nam Định (bảng 1, hình 1).

Mẫu giáp xác phân tích nhiễm WSSV trong ao nuôi tôm thẻ chân trắng được xác định có tên khoa học là *M. nipponense* với độ tương đồng 99% khi sử dụng cặp mồi COI (hình 4), kết quả phân tích trùng hợp với nghiên cứu trước đây khi sử dụng cặp mồi COI để định danh phân loại *M. nipponense* [26], ngoài ra khi sử dụng cặp mồi 16S [16S-F-Car (5'-TGC CTG TTT ATC AAA AAC ATG TC-3') và 16S-R-Car (5'-AGA TAG AAA CCA ACC TGG CTC-3')] cũng cho kết quả tương tự [27]. *M. nipponense* là loài tôm sống được trong điều kiện môi trường có biên độ dao động độ mặn lớn (từ nước ngọt đến nước lợ), đồng thời là loài phổ biến có tính thương mại và giá trị kinh tế tại Trung Quốc và Nhật Bản [28]. Ở Việt Nam, loài tôm này đã được xác định có giá trị, tuy nhiên số lượng ít không đáp ứng đủ nhu cầu, do đó năm 2003 đã có nghiên cứu thử nghiệm nhằm tối ưu hóa điều kiện ương nuôi và sinh sản trong điều kiện nước ngọt để có thể cho sản lượng cao đáp ứng đủ nhu cầu thị trường [29]. Kết quả nghiên cứu cũng đã xác định được *M. nipponense* không có biểu hiện bất thường, cơ thể sáng màu và phản xạ nhanh mặc dù có mang WSSV (hình 1, 2), qua đây có thể nhận định *M. nipponense* có khả năng đáp ứng miễn dịch tự nhiên tốt đối với tác nhân gây bệnh WSSV - ưu điểm của loài khi phát triển nuôi thương mại. Kết quả nghiên cứu xác định *M. nipponense* nhiễm WSSV trong điều kiện tự nhiên là nghiên cứu đầu tiên được công bố trên thế giới cũng như ở Việt Nam. Đối với tôm thuộc giống *Macrobrachium* nhiễm WSSV hiện nay đã xác định được 3 loài bao gồm *M. idella*, *M. lamerrae*, *M. rosenbergii* [17, 30].

Thí nghiệm cảm nhiễm nhân tạo cho thấy đã có sự lây nhiễm WSSV theo chiều ngang từ *M. nipponense* sang tôm thẻ chân trắng ở ngày thứ 5 của thí nghiệm, tuy nhiên các biểu hiện bệnh lý chưa xuất hiện ở tôm thẻ chân trắng nhiễm bệnh (bảng 2). Đến ngày thứ 15 trở đi, số mẫu tôm thẻ chân trắng được thu phân tích phần lớn đã có biểu hiện giảm ăn, bơi lơ dờ, một số ít mẫu xuất hiện đốm trắng ở

vỏ giáp đầu ngực. Biểu hiện bất thường của tôm thẻ chân trắng tiếp tục xuất hiện gia tăng, thậm chí một số con đã chết ở các ngày tiếp theo của thí nghiệm (20, 25 ngày). Đồng thời, tỷ lệ mẫu nhiễm WSSV cũng tăng lên so với những ngày đầu thí nghiệm (ngày thứ 5 và 10) (bảng 2). Biểu hiện bệnh lý của tôm thẻ chân trắng hoàn toàn phù hợp với nghiên cứu đã công bố trước đây [10, 31]. Trong khi đó, *M. nipponense* trong lô thí nghiệm không có biểu hiện bất thường dù có kết quả dương tính với WSSV, khác với *M. rosenbergii* thuộc giống *Macrobrachium* dù không chết khi nhiễm WSSV nhưng chúng có biểu hiện yếu, bơi lơ dờ ở ngày thứ 3 sau khi cảm nhiễm, tuy nhiên chúng có khả năng hồi phục tốt và nhanh ở những ngày tiếp theo của thí nghiệm [18]. Số mẫu *M. nipponense* thu được trong ao nuôi tôm nhiễm WSSV nêu trên có kích cỡ khác nhau, từ giai đoạn trưởng thành đến thành thực (ôm trứng), sau 5-6 tháng loài tôm này đã thành thực và sinh sản, vì vậy nếu một mẫu *M. nipponense* ôm trứng nhiễm WSSV xuất hiện trong ao nuôi sẽ có khả năng lan truyền bệnh sang tôm nuôi nhanh và phát tán rộng. Kết quả nghiên cứu đạt được ở đây có ý nghĩa quan trọng trong việc giúp người nuôi nhận biết và kiểm soát *M. nipponense* tốt, ngăn chặn mầm bệnh sinh học có khả năng lan truyền bệnh WSSV lên tôm nuôi.

Kết luận

Tôm càng, tên loài tôm được người dân vùng nuôi tôm tập trung tại Nam Định gọi có ADN được nhận dạng giống tôm *M. nipponense* (99%) với cặp mồi COI. *M. nipponense* nhiễm WSSV trong cả điều kiện tự nhiên và thí nghiệm. Ở điều kiện thí nghiệm, *M. nipponense* nhiễm WSSV khi sử dụng biện pháp ngâm trong môi trường chứa WSSV sau khoảng 120 phút. *M. nipponense* không có biểu hiện bất thường, phản xạ nhanh khi cơ thể nhiễm WSSV trong cả 2 trường hợp nêu trên.

WSSV lan truyền từ *M. nipponense* sang tôm thẻ chân trắng sau 5 ngày khi được nuôi nhốt trong cùng điều kiện môi trường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nguyễn Việt Thắng và cs (1996), *Xác định nguyên nhân gây chết của tôm ở Đồng bằng sông Cửu Long và các biện pháp tổng hợp để phòng trị*, Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật.
- [2] Đỗ Thị Hòa (2002), *Nghiên cứu bệnh WSSV trên tôm sú và đề xuất biện pháp trị bệnh tại Khánh Hòa*, Báo cáo tổng kết đề tài khoa học cấp bộ.
- [3] Nguyễn Văn Hào (2004), *Một số bệnh thường gặp trên tôm sú, các phương pháp chẩn đoán và phòng trị*, Nhà xuất bản Nông nghiệp.
- [4] Chou Hsin-Yiu, Huang Chang-Yi, Wang Chung-Hsiung, Chiang Hsien-Choung, Lo Chu-Fang (1995), "Pathogenicity of a baculovirus infection causing white spot syndrome in cultured penaeid shrimp in Taiwan", *Dis. Aquat. Organ.*, **23**, pp.165-173.

- [5] H. Nakano, H. Hiraoka, M. Sameshima, T. Kimura, K. Momoyama (1998), "Inactivation of penaeid rod-shaped DNA virus (PRDV), the causative agent of penaeid acute viremia (PAV), by some chemical and physical treatments", *Fish Pathol.*, **33**, pp.65-71.
- [6] J.H. Park, Y.S. Lee, S. Lee, Y. Lee (1998), "An infectious viral disease of penaeid shrimp newly found in Korea", *Dis. Aquat. Organ.*, **34**, pp.71-75.
- [7] I. Karunasagar, S.K. Otta, I. Karunasagar (1997), "Histopathological and bacteriological study of white spot syndrome of *Penaeus monodon* along the west coast of India", *Aquaculture*, **153**, pp.9-13.
- [8] C.F. Lo, C.H. Ho, S.E. Peng, C.H. Chen, H.C. Hsu, Y.L. Chiu, C.F. Chang, K.F. Liu, M.S. Su, C.H. Wang, G.H. Kou (1996), "White spot syndrome baculovirus (WSBV) detected in cultured and captured shrimp, crabs and other arthropods", *Dis. Aquat. Organ.*, **27**, pp.215-225.
- [9] F.O. Magbanua, K.T. Natividad, V.P. Migo, C.G. Alfafara, F.O. De La Peña, R.O. Miranda, J.D. Albaladejo, E.C. Nadala, P.C. Loh, L. Mahilum-Tapay (2000), "White spot syndrome virus (WSSV) in cultured *Penaeus monodon* in the Philippines", *Dis. Aquat. Organ.*, **42**, pp.77-82.
- [10] D.V. Lightner (1996), *A handbook of pathology and diagnostic procedures for diseases of penaeid shrimp*, World Aquaculture Society.
- [11] D.V. Lightner, R.M. Redman (1998), "Shrimp diseases and current diagnostic methods", *Aquaculture*, **164**, pp.201-220.
- [12] The World Bank (2014), *Reducing Disease Risk in Aquaculture*, World Bank. Agric. Environ. Serv., 119p.
- [13] S.V. Durand, D.V. Lightner (2002), "Quantitative real time PCR for the measurement of white spot syndrome virus in shrimp", *J. Fish Dis.*, **25**, pp.381-389.
- [14] C.F. Lo, G.H. Kou (1998), "Virus-associated White Spot Syndrome of Shrimp in Taiwan: A review", *Fish Pathol.*, **33**, pp.365-371.
- [15] L.L. Chen, C.F. Lo, Y.L. Chiu, C.F. Chang, G.H. Kou (2000), "Natural and experimental infection of white spot syndrome virus (WSSV) in benthic larvae of mud crab *Scylla serrata*", *Dis. Aquat. Organ.*, **40**, pp.157-161.
- [16] Trương Thị Mỹ Hạnh, Đặng Thị Lua, Lê Thị Mây, Huỳnh Thị Mỹ Lệ, Phan Thị Vân (2016), "Sinh vật mang virus gây bệnh đốm trắng trên tôm", *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, **10**, tr.85-94.
- [17] A.S. Sahul Hameed, M.X. Charles, M. Anilkumar (2000), "Tolerance of *M. rosenbergii* to white spot syndrome virus", *Aquaculture*, **183**, pp.207-213.
- [18] M. Sarathi, A. Nazeer Basha, M. Ravi, C. Venkatesan, B. Senthil Kumar, A.S. Sahul Hameed (2008), "Clearance of white spot syndrome virus (WSSV) and immunological changes in experimentally WSSV-injected *M. rosenbergii*", *Fish Shellfish Immunol.*, **25**, pp.222-230.
- [19] S. Khadijah, S.Y. Neo, M.S. Hossain, L.D. Miller, S. Mathavan, J. Kwang (2003), "Identification of white spot syndrome virus Latency-Related Genes in Specific-Pathogen-Free Shrimps by Use of a Microarray", *J. Virol.*, **77**, pp.10162-10167.
- [20] L.L. Chen, H.L. Hsia, H.C. Hsu, C.F. Chang, S.E. Peng, C.F. Lo, G.H. Kou (2004), "Susceptibility of *Penaeus japonicus*, *P. monodon*, and *P. semisulcatus* to white spot syndrome virus (WSSV)", *J. Fish Soc. Taiwan*, **32**, pp.101-114.
- [21] N.V. Hao, D.T. Thuy, L.T.T. Loan, T.T. Phi, L.H. Phuoc, et al. (1999), "Presence of the two viral pathogens WSSV and MBV in three wild shrimp species (*Penaeus indicus*, *Etapenaeus ensis*, *Metapenaeus lysianassa*) cultured in the mangrove forest of Ca Mau province", *Asian Fish Sci.*, **12**, pp.309-325.
- [22] Cao Chí Thuận (2009), "Virus đốm trắng WSSV trên một số mẫu thức ăn tươi sống dùng trong nuôi vỗ tôm sú bố mẹ ở Cà Mau và Bạc Liêu", *Luận văn đại học*, Trường Đại học Cần Thơ.
- [23] Võ Văn Tuấn, M. Corteel, P. Sorgeloos, H. Nauwynck (2010), "Bệnh đốm trắng trên tôm thẻ chân trắng và tôm nước ngọt", *Tạp chí Khoa học kỹ thuật nông lâm nghiệp*, Trường Đại học nông lâm TP Hồ Chí Minh, **2**, tr.183-189.
- [24] Phan Thị Vân, Phạm Thế Việt, Mai Thị Phương, Huỳnh Thị Mỹ Lệ, Trương Thị Mỹ Hạnh (2017), "Xác định sự có mặt của WSSV trong thức ăn tươi sống dùng nuôi vỗ tôm bố mẹ", *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, **1**, tr.84-88.
- [25] Trương Thị Mỹ Hạnh, Huỳnh Thị Mỹ Lệ, Phạm Thế Việt, Phan Thị Vân (2017), "Đánh giá khả năng lây nhiễm WSSV từ cây cỏ (*Uca* sp.) sang tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*)", *Tạp chí Khoa học nông nghiệp Việt Nam*, **15(2)**, tr.198-204.
- [26] M.Y. Liu, Y.X. Cai, C.S. Tzeng (2007), "Molecular Systematics of the Freshwater Prawn Genus *Macrobrachium* Bate, 1868 (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae) Inferred from mtDNA Sequences, with Emphasis on East Asian Species", *Zool. Stud.*, **46**, pp.272-289.
- [27] S.D. Salman, T.J. Page, M.D. Naser, A.G. Yasser (2006), "The invasion of *M. nipponense* (De Haan, 1849) (Caridea: Palaemonidae) into the Southern Iraqi Marshes", *Aquat. Invasions*, **1**, pp.109-115.
- [28] M.B. New (2005), "Freshwater prawn farming: Global status, recent research and a glance at the future", *Aquaculture Research*, **36**, pp.210-230.
- [29] Nguyen Quoc An, Phan Dinh Phuc, Phan Thi Le Anh, Nguyen Thi Tu, Ly Ngoc Tuyen, Le Phuoc Binh (2003), "Experiments on seed production and commercial culture of the freshwater prawn (*M. nipponense*)", *Proc. 6 th Tech. Symp. Mekong Fish*, Pakse, Lao.
- [30] Đặng Thị Hoàng Oanh, Nguyễn Thanh Phương, Lê Hữu Thôi (2012), "Đáp ứng miễn dịch tự nhiên của tôm càng xanh (*M. rosenbergii*) cảm nhiễm WSSV", *Tạp chí Khoa học*, Trường Đại học Cần Thơ, **21b**, tr.1-9.
- [31] M. Crockford (2008), *White Spot Disease Australia and New Zealand Standard Diagnostic Procedures*, http://www.scahls.org.au/_data/assets/pdf_file/0009/1516518/White_Spot_Syndrome_Virus.pdf.