

compared with the other treatments. The survival rate was not statistically significant ($p < 0.05$) between treatments. The highest yield was obtained in the treatment of 1,200 prawn/m². Therefore, the density of 1,200 prawn/m² can be considered as the most effective per production area unit.

Keywords: Giant freshwater prawn, nursing, density, biofloc

Ngày nhận bài: 26/8/2022

Người phản biện: TS. Huỳnh Kim Hương

Ngày phản biện: 07/9/2022

Ngày duyệt đăng: 28/9/2022

XÁC ĐỊNH SỰ HIỆN DIỆN CỦA VI BÀO TỬ TRÙNG *Enterocytozoon heparopenaei* TRÊN TÔM THẺ CHÂN TRẮNG

Nguyễn Tuyền Mụi¹, Nguyễn Thị Thu Hằng^{2*}

TÓM TẮT

Nghiên cứu ảnh hưởng của *Enterocytozoon heparopenaei* (EHP) được tiến hành thông qua tỷ lệ nhiễm và cấu trúc mô bệnh học tôm thẻ chân trắng. Thu mẫu thực hiện ở 18 ao nuôi tôm (thâm canh và siêu thâm canh) từ 10/2021 đến 03/2022 ở Cà Mau. Kết quả soi tươi thấy các bào tử EHP có dạng quả lê hoặc hình trứng, hơi thon nhỏ ở một đầu. Các bào tử thường nằm trong bào nang hoặc ở dạng nội bào và dạng tự do bên ngoài tế bào. Mô hình siêu thâm canh có tỷ lệ nhiễm EHP (37,5%) thấp hơn mô hình thâm canh (67,0%). Kết quả mô bệnh học ghi nhận hình dạng khối hợp bào, hình dạng của bào tử và cấu trúc mô gan tụy khi bị nhiễm bào tử EHP. Bào tử EHP tồn tại ở dạng bào tử tự do trong lòng ống gan tụy hoặc dạng khối hợp bào. Các mẫu mô học tôm nhiễm EHP ở 3 mức độ mô học G1, G2 và G3, không ghi nhận độ mô học G4. Tần suất xuất hiện độ mô học G3 cao nhất là 71,4% ở cả 2 mô hình thâm canh và siêu thâm canh.

Từ khóa: Tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*), bào tử trùng *Enterocytozoon heparopenaei*, mô bệnh học

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cà Mau là một trong những tỉnh có trữ lượng và đa dạng các nguồn hải sản với giá trị kinh tế cao. Trong đó, tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) được nuôi đa dạng ở các mô hình quảng canh, bán thâm canh, thâm canh và siêu thâm canh. Sự phát triển nhanh diện tích nuôi tôm công nghiệp, đặc biệt diện tích nuôi tôm siêu thâm canh trong thời gian ngắn làm cho công tác quản lý môi trường, dịch bệnh gặp nhiều khó khăn. Bệnh do vi bào tử trùng trên gan tụy (HPM) đã được báo cáo lần đầu tiên trên tôm sú (*P. monodon*) nuôi tại Thái Lan vào năm 2003 (Chayaburakul *et al.*, 2004). Những năm sau đó, vi bào tử trùng được xác định là loài *Enterocytozoon heparopenaei* (EHP) được phân lập trên tôm sú (Tourtip *et al.*, 2009) và trên tôm thẻ chân trắng (Tangprasittipap *et al.*, 2013). Hiện nay, EHP đã được ghi nhận nhiễm trên tôm

nuôi tại các nước như: Ấn Độ, Indonesia, Malaysia, Trung Quốc, Thái Lan, Việt Nam (Nguyễn Thị Hà và *ctv.*, 2011; Caro *et al.*, 2021), cùng với một số quốc gia khác như Australia, Hàn Quốc, Venezuela và Châu Mỹ Latin (Aranguren *et al.*, 2019; Kim *et al.*, 2021). Đây là bệnh mới xuất hiện, gây ảnh hưởng lớn trên tôm thẻ chân trắng nuôi ở Việt Nam. Năm 2010, EHP được ghi nhận xuất hiện trên tôm sú nuôi bị hội chứng phân trắng (White feces syndrome - WFS) ở Việt Nam. Theo đó, EHP lần đầu tiên được ghi nhận thông qua phương pháp nhuộm Giemsa và mô bệnh học vào năm 2010 bởi Nguyễn Thị Hà và cộng tác viên (2011) trên các mẫu tôm bệnh phân trắng thu ở các tỉnh Nghệ An, Thừa Thiên Huế, Bạc Liêu, Cà Mau từ năm 2009 đến 2010 với tỷ lệ nhiễm từ 78,33% đến 85,48%. Cho đến nay, bệnh do EHP đang là bệnh khá phổ biến và đã được phát hiện trên nhiều tỉnh/thành

¹ Bộ môn Bệnh học Thủy sản, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

² Bộ môn Bệnh học Thủy sản - Khoa Thủy sản - Trường Đại học Cần Thơ

* Tác giả liên hệ, e-mail: ntthang@ctu.edu.vn

nuôi tôm nước lợ tại nước ta. Khảo sát của Lê Hồng Phước và Nguyễn Hồng Lộc (2019) trên 800 mẫu tôm giống thu tại các tỉnh Ninh Thuận, Bình Thuận, Vũng Tàu và Đồng bằng sông Cửu Long, 170 mẫu tôm nuôi nước lợ được thu tại các tỉnh Bạc Liêu, Bến Tre, Sóc Trăng, Trà Vinh và Cà Mau từ tháng 1-10 năm 2019, cho thấy tỷ lệ nhiễm của EHP ghi nhận là 6,4%, trong đó tỉ lệ nhiễm EHP trên tôm giống ở mùa khô và mùa mưa lần lượt là 6% và 9,33%. Trên tôm thương phẩm, EHP được phát hiện với tỷ lệ cao hơn với 25% vào mùa khô và 33,02% vào mùa mưa. Trong 3 tháng cuối năm 2019, trên các mẫu tôm giống với tỷ lệ nhiễm 7% và trên tôm nuôi tại các tỉnh Sóc Trăng, Bạc Liêu, Cà Mau với tỷ lệ nhiễm lần lượt là 48,4%, 34,1% và 40,4%, tương ứng với từng tỉnh (Lê Hồng Phước và *ctv.*, 2020). Tỷ lệ nhiễm EHP trong kết quả tầm soát EHP theo báo cáo của Cục Thú y (2021) tăng lên 15% vào năm 2020 sau đó giảm nhẹ vào năm 2021 (11,8%), tuy nhiên diện tích nuôi tôm bị thiệt hại do EHP trong năm 2021 gia tăng đáng kể, gấp 2 lần so với năm 2020.

Hiện nay, tình hình nhiễm vi bào tử trùng EHP trên tôm nước lợ ở một số vùng nuôi như Sóc Trăng, Cà Mau, Bến Tre, Long An, Quảng Ninh, Phú Yên đang có chiều hướng gia tăng. Bệnh không gây chết hàng loạt như bệnh đốm trắng, hoại tử gan tụy cấp nhưng có ảnh hưởng rất lớn về kinh tế đối với nghề nuôi tôm vì mức độ chậm lớn và tiêu tốn nhiều thức ăn. Chính vì thế việc tìm hiểu rõ về sự hiện diện của vi bào tử trùng *Enterocytozoon heparopenaei* (EHP) trên tôm thẻ chân trắng nuôi thương phẩm là rất cần thiết, nhằm cung cấp cơ sở cho việc phòng và điều trị bệnh cho tôm nuôi có hiệu quả.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu tôm thẻ chân trắng giai đoạn nuôi thương phẩm nghi nhiễm vi bào tử trùng (EHP) có dấu hiệu tăng trưởng chậm, giảm hệ số chuyển đổi thức ăn (FCR). Tôm được thu mẫu gan tụy để xác định sự hiện diện của EHP.

Bảng 1. Thông tin về mẫu tôm ở các điểm thu mẫu

Địa điểm	Số mẫu tôm		Chiều dài (cm)	Trọng lượng (g)
	Siêu thâm canh	Thâm canh		
Cái Nước	40	50	10,3 ± 1,5	9,2 ± 3,8
Đầm Dơi	40	50	10,3 ± 1,6	9,6 ± 4,1
Tổng chung	80	100	10,3 ± 1,6	9,4 ± 3,9

Vật liệu nghiên cứu: lame, lamên, khay nhựa, kính hiển vi, dung dịch Giemsa, cồn tuyệt đối, cồn các loại, chlorine, dung dịch formol 10%, xylen, paraffin, sáp ong, keo dán mô và dung dịch Hematoxyline và eosine, PBS.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp soi tươi và phết kính nhuộm Giemsa

Phân tích theo phương pháp của Vavra và Maddox (1976). Tách phần giáp đầu ngực tôm, lấy khối gan tụy đặt lên lam kính vô trùng. Dùng kim mũi giáo tán nhỏ khối gan tụy, dàn mỏng trên lam kính, nhỏ 1 giọt nước muối sinh lý 0,85%, đặt lamên lên rồi quan sát dưới kính hiển vi ở vật kính 100x. Tương tự, ép tiêu bản ruột tôm và soi ở vật kính 100x. Đối với mẫu nhuộm Giemsa, phết tiêu bản (smear), để khô mẫu ở nhiệt độ phòng. Cố định lame mẫu trong ethanol tuyệt đối 10 phút, sau

đó rửa lame mẫu bằng nước cất. Nhỏ dung dịch Giemsa ngập tiêu bản, để 20 - 30 phút; Rửa nhanh bằng nước cất và để mẫu khô; Nhỏ một giọt dầu soi kính lên tiêu bản và quan sát dưới kính hiển vi ở 100x. Đọc kết quả: Mẫu dương tính nếu quan sát thấy sự xuất hiện của các vi bào tử trùng đứng riêng lẻ hoặc từng cụm/đám.

2.2.2. Phương pháp phân tích mô học

Phân tích đặc điểm mô bệnh học của tôm thẻ chân trắng theo phương pháp của Lightner (1996). Mẫu mô gan tụy và ruột được thu và cố định trong dung dịch Davidson's AFA. Mẫu được xử lý qua các giai đoạn: Loại nước, làm trong mẫu và tẩm paraffin. Sau đó đúc khối, cắt mẫu (dày 4 - 6 mm) và nhuộm Haematoxylin & Eosin. Tiêu bản được quan sát ở vật kính 10 - 40x. Nhân tế bào sẽ bắt màu tím xanh của Haematoxylin phần còn lại bắt màu hồng của Eosin.

Độ mô học trong trường hợp nhiễm EHP trên tôm thường được chia thành 4 cấp độ, ký hiệu là: G0 < G1 < G2 < G3 < G4. Theo đó, G0 đại diện cho giai đoạn không có dấu hiệu nhiễm trùng, ở giai đoạn 1 (G1) của nhiễm trùng EHP, các mẫu mô xuất hiện một vài vùng tập trung trong ống gan tụy. Giai đoạn 2 (G2) có thể quan sát thấy sự hiện diện tập trung của bào tử EHP ở một số tế bào biểu mô ống gan tụy bị ảnh hưởng. Cả hai giai đoạn phát triển là meront và bào tử đều xuất hiện. Giai đoạn 3 (G3) cho thấy tổn thương đa ổ trong tế bào biểu mô ống gan tụy, sự hiện diện của cả plasmodium đa nhân không đều và các bào tử trong tế bào chất. Giai đoạn 4 (G4) cho thấy các ống đa tiêu điểm chứa các tế bào gan tụy bị nhiễm bệnh. Mẫu mô xuất hiện cả plasmodium đa nhân và các bào tử trong tế bào chất của các tế bào bị ảnh hưởng cũng như các bào tử trong lớp vỏ của các ống gan tụy (Caro *et al.*, 2021).

2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Xác định tỷ lệ nhiễm ký sinh trùng theo Margolis và cộng tác viên (1982).

$$\text{Tỷ lệ nhiễm (\%)} = \frac{\text{Tổng số mẫu nhiễm ký sinh trùng}}{\text{Tổng số mẫu kiểm tra}} \times 100$$

Các số liệu được trình bày và xử lý thống kê bằng phần mềm Microsoft Excel.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

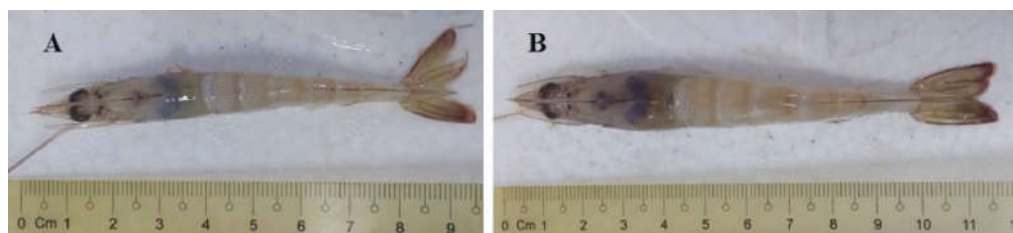
Mẫu được thu ngẫu nhiên từ tháng 10/2021 đến tháng 3/2022 trên các ao nuôi tôm giai đoạn nuôi thương phẩm có biểu hiện tăng trưởng chậm và phân cỡ nhiều. Chọn các hộ nuôi tôm nước lợ trên địa bàn tỉnh Cà Mau: Mô hình siêu thâm canh (ao

lót bạt) thu 4 ao ở Cái Nước và 4 ao ở Đầm Dơi; mô hình thâm canh (ao đất) thu 5 ao ở Cái Nước và 5 ao ở Đầm Dơi. Thu mẫu ở sà ần và 4 gốc ao vào buổi sáng sớm, lúc cho tôm ăn. Mỗi ao thu 10 mẫu tôm. Thu mẫu 4 - 5 đợt, mỗi đợt thu 2 - 3 ao. Mẫu soi tươi và nhuộm Giemsa được thực hiện tại Phòng xét nghiệm bệnh tôm (Chi cục Chăn nuôi và thú y Cà Mau). Mẫu mô bệnh học được phân tích tại phòng thí nghiệm Bệnh học Thủy sản, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thông tin chung về mẫu tôm thẻ chân trắng

Tổng cộng có 180 mẫu tôm thẻ chân trắng được thu tại 2 huyện Cái Nước và Đầm Dơi. Kết quả thu mẫu phát hiện tôm nuôi từ 80 - 87 ngày tuổi ở mô hình siêu thâm canh và tôm nuôi từ 77 - 89 ngày tuổi ở mô hình thâm canh nhiễm vi bào tử trùng EHP. Hầu hết các mẫu tôm không có dấu hiệu bệnh lý, nhưng kích cỡ tôm nhiễm EHP nhỏ hơn tôm không nhiễm EHP. Tuy nhiên, một số mẫu tôm nhiễm nặng vẫn có vài dấu hiệu bệnh lý đặc trưng như: Giảm ăn, màu sắc nhợt nhạt, vỏ sần sùi, nhám, ruột tôm không chặt, ngắt quãng hoặc trống rỗng, phân lỏng, có biểu hiện phân trắng. Dấu hiệu bệnh lý mà nghiên cứu này ghi nhận được khá tương đồng với nhiều nghiên cứu trước đây. Biểu hiện chung nhất là tình trạng tôm chậm phát triển, tăng trưởng không đồng đều, bị còi cọc, suy giảm sức khỏe. Tôm nhiễm bệnh nặng có thể có biểu hiện phân trắng và mất màu ở gan tụy (Rajendran *et al.*, 2016; Singh and Singh, 2018; Kim *et al.*, 2021).

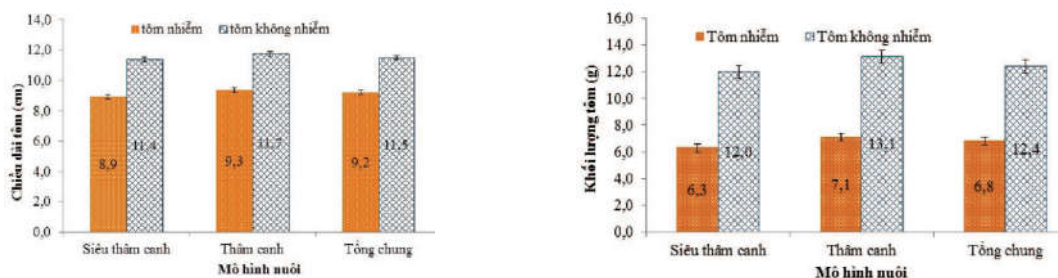


Hình 1. Kích cỡ tôm nhiễm EHP (A) và tôm không nhiễm EHP (B)

Kết quả phân tích 80 mẫu tôm nuôi siêu thâm canh và 100 mẫu tôm nuôi thâm canh, cho thấy chiều dài và khối lượng tôm nhiễm EHP ngắn hơn đáng kể so với tôm không nhiễm EHP, khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Tuy nhiên, báo cáo của Rajendran và cộng tác viên (2016) cho rằng tình trạng nhiễm EHP không

ảnh hưởng lớn đến tăng trưởng của tôm. Mặc khác, nghiên cứu gần đây của Kim và cộng tác viên (2021) ghi nhận nhiều trường hợp tôm chậm phát triển do nhiễm EHP tương tự nhận định của nghiên cứu này. Báo cáo này ghi nhận, những con tôm không nhiễm và nhiễm EHP có chiều dài chênh lệch khá lớn, lần lượt là 8,5 - 9,3 cm và 3,7 - 5,6 cm.



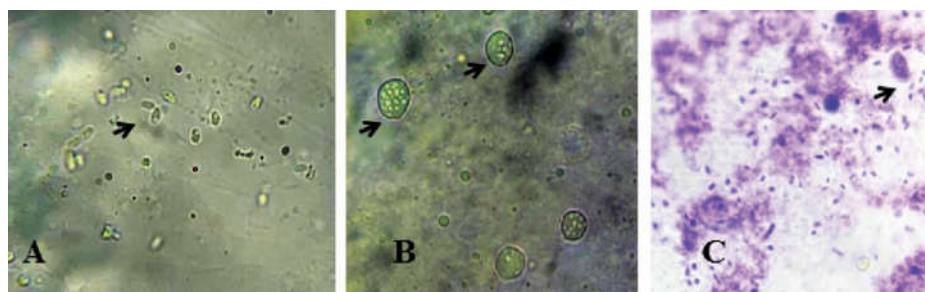
Hình 2. Chiều dài và trọng lượng tôm nhiễm bệnh và không nhiễm bệnh

3.2. Sự hiện diện của vi bào tử trùng EHP trên tôm thẻ chân trắng

Kết quả quan sát 97 tiêu bản soi tươi các mẫu gan tụy tôm nhiễm EHP cho thấy, cấu tạo bên ngoài của các bào tử có dạng hình quả lê hoặc hình trứng, hơi thon nhỏ ở 1 đầu. Các bào tử này có kích thước rất nhỏ. Hầu hết các mẫu bệnh phẩm đều quan sát thấy các bào tử thường nằm trong bào nang hoặc dạng bào tử tự do bên ngoài tế bào gan tụy. Mẫu nhuộm Giemsa cũng nhận thấy các bào tử EHP có hình bầu dục bắt màu xanh tím của thuốc nhuộm hiện diện trong tế bào biểu mô ống gan tụy hoặc tồn tại ở dạng tự do. Các ghi nhận của nghiên cứu này tương đồng với những ghi nhận của Tourtip và cộng tác viên

(2009) và Tangprasittipap và cộng tác viên (2013).

Nghiên cứu này không phát hiện EHP nhiễm ở ruột giữa của tôm. Ghi nhận này tương đồng với Flegel (2015), loài vi bào tử trùng EHP chỉ lây nhiễm trên các tế bào biểu mô ống của mô gan tụy trên tôm. Nghiên cứu của Kim và cộng tác viên (2021) cũng ghi nhận tương tự, báo cáo cho rằng các mẫu tôm nhiễm EHP ở Hàn Quốc hầu như đều chỉ tìm thấy bào tử tồn tại trong mô gan tụy, không xuất hiện ở các mô khác của tôm. Tuy nhiên, nghiên cứu của Oanh và cộng tác viên (2021) và Prachumwat và cộng tác viên (2021) đã tìm thấy bào tử EHP tồn tại không chỉ trong tế bào gan tụy mà còn tồn tại trong biểu mô của ruột giữa.



Hình 3. Mẫu gan tụy soi tươi (A, B - 100x) và nhuộm Giemsa (C - 100x)

Ghi chú: (A) Bào tử EHP (mũi tên) tồn tại tự do; (B, C) bào nang (mũi tên) chứa EHP

3.3. Tỷ lệ nhiễm của bào tử EHP trên tôm thẻ chân trắng

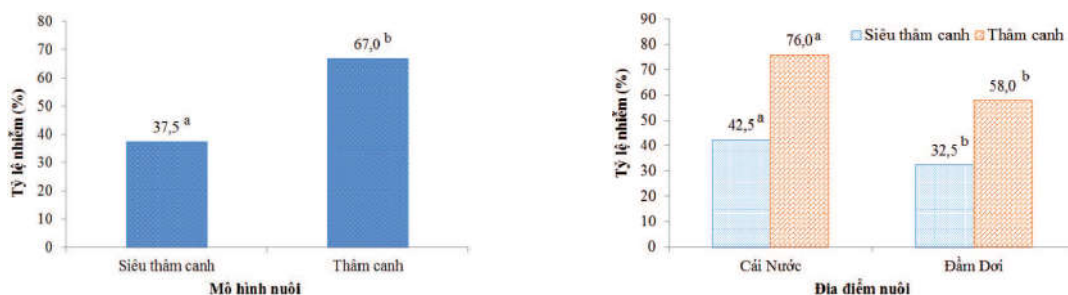
Kết quả tổng hợp hình 4 cho thấy, mô hình siêu thâm canh có tỷ lệ nhiễm EHP 37,5%. Ngược lại, mô hình thâm canh có tỷ lệ nhiễm cao hơn 67,0% (khác biệt có ý nghĩa thống kê, $p < 0,05$). Tương tự, tỷ lệ nhiễm EHP ở mô hình siêu thâm canh ở huyện Cái Nước và Đầm Dơi thấp hơn mô hình nuôi thâm canh (khác biệt có ý nghĩa thống kê, $p < 0,05$). Sự khác biệt về tỷ lệ nhiễm EHP giữa hai mô hình nuôi có thể là do quá trình kiểm soát nguồn cung cấp nước, thức ăn tự nhiên và sinh vật

hoang dã ở các hộ nuôi theo mô hình siêu thâm canh trong bể lót bạt thuận lợi và tốt hơn so với việc nuôi tôm trong ao đất, vốn rất khó kiểm soát các sinh vật hoang dã mang mầm bệnh trung gian.

So sánh với những nghiên cứu gần đây ghi nhận về sự hiện diện của EHP trên tôm thẻ chân trắng, có thể thấy tỷ lệ nhiễm mà nghiên cứu này ghi nhận được ở Cà Mau có nhiều khác biệt. Nghiên cứu của Lê Thị Mây và cộng tác viên (2020) cho rằng tần suất xuất hiện của bệnh EHP có liên quan đến mùa vụ nuôi, vụ hè thấp hơn vụ đông. Báo cáo gần đây của Oanh và cộng tác viên (2021) cũng ghi

nhận tỷ lệ nhiễm EHP ở tôm thẻ thu tại Sóc Trăng, Bạc Liêu và Cà Mau, dao động khoảng 7,9% các mẫu phân tích. Nghiên cứu của Kim và cộng tác viên (2021) lần đầu tiên báo cáo về các trường hợp

tôm thẻ chân trắng nuôi ở Hàn Quốc nhiễm bào tử trùng EHP cũng ghi nhận tỷ lệ nhiễm thấp. Tỷ lệ nhiễm dao động từ 3,3 - 56%, trung bình khoảng 25,5%.



Hình 4. Tỷ lệ nhiễm bào tử EHP theo mô hình và địa điểm nuôi

Ghi chú: Các cột có chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Tương tự kết quả ghi nhận của nghiên cứu này, nghiên cứu của Caro và cộng tác viên (2021) báo cáo tỷ lệ nhiễm EHP trên tôm thẻ chân trắng trong các thí nghiệm thực nghiệm dao động trung bình trong khoảng 28,5 - 50%, tỷ lệ nhiễm cao nhất đạt tới 87,5% ở các nghiệm thức nuôi tôm ở độ mặn 30 ppt. Một số nghiên cứu tại Ấn Độ cũng có ghi nhận tỷ lệ nhiễm EHP cao tương tự kết quả nghiên cứu này ghi nhận được. Nghiên cứu của Rajendran và cộng tác viên (2016) cho thấy, ở Ấn Độ tỷ lệ nhiễm EHP trong các ao nuôi tôm thẻ chân trắng không có biểu hiện phân trắng (WFS) là 39,7% và tỷ lệ nhiễm EHP trong các ao nuôi tôm thẻ chân trắng có biểu hiện phân trắng (WFS) là 96,4%.

Tương tự kết quả ghi nhận của nghiên cứu này, nghiên cứu của Caro và cộng tác viên (2021) báo cáo tỷ lệ nhiễm EHP trên tôm thẻ chân trắng trong các thí nghiệm thực nghiệm dao động trung bình trong khoảng 28,5 - 50%, tỷ lệ nhiễm cao nhất đạt tới 87,5% ở các nghiệm thức nuôi tôm ở độ mặn 30ppt. Nghiên cứu này xác nhận có mối liên hệ chặt chẽ giữa độ mặn và tôm nhiễm EHP. Tỷ lệ nhiễm EHP ở tôm nuôi ở độ mặn cao (30 ppt) cao hơn so với tôm nuôi với độ mặn thấp (2 ppt và 15 ppt).

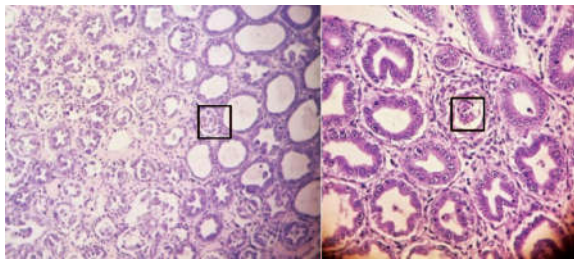
Mặc khác, một số nghiên cứu tại Ấn Độ đã ghi nhận tỷ lệ nhiễm EHP cao tương tự kết quả nghiên cứu này. Nghiên cứu của Rajendran và cộng tác viên (2016) cho thấy, ở Ấn Độ, tỷ lệ nhiễm EHP trong các ao nuôi tôm thẻ chân trắng không có biểu hiện phân trắng (WFS) là 39,7% và tỷ lệ nhiễm EHP trong các ao nuôi tôm thẻ chân trắng

có biểu hiện phân trắng (WFS) là 96,4%. Tuy nhiên, nghiên cứu của Tangprasittipap và cộng tác viên (2013) đã chứng minh EHP không gây ra hội chứng phân trắng (WFS) trên tôm thẻ chân trắng. Nhưng chúng có thể tồn tại trên tôm biểu hiện hội chứng phân trắng (WFS) và tôm bệnh hội chứng đốm trắng (WSSV). Tỷ lệ nhiễm EHP cũng phụ thuộc vào điều kiện nuôi của ao như các ao trong nhà kính có tỷ lệ nhiễm là 54,4% thấp hơn so với ao đất, với tỷ lệ nhiễm là 79,5% (Shen *et al.*, 2017).

Nghiên cứu của Prathisha và cộng tác viên (2019) ghi nhận tỷ lệ tôm nhiễm EHP cao nhất trong khoảng 35% vào tháng 4 ở Ấn Độ và đạt thấp nhất khoảng 15% vào tháng 9 và tháng 11. Nghiên cứu của Lê Hồng Phước và Nguyễn Hồng Lộc (2019) cũng ghi nhận tỷ lệ nhiễm EHP trên tôm thẻ nuôi thương phẩm ở Cà Mau thường cao hơn vào mùa mưa (40%) và thấp hơn vào mùa khô (25%). Thêm vào đó, nghiên cứu của Lê Hồng Phước và cộng tác viên (2020) cũng ghi nhận tỷ lệ nhiễm EHP trên tôm giống là khá thấp, khoảng 7,0%. Tỷ lệ nhiễm EHP trên tôm nuôi tại các tỉnh Sóc Trăng, Bạc Liêu và Cà Mau cũng thấp hơn ghi nhận của nghiên cứu này, lần lượt là 48,4%, 34,1% và 40,4%. Trong số các mẫu nhiễm EHP cho thấy mức độ nhiễm kép của EHP với WSSV, *V. parahaemolyticus* và IHNV khá cao. Ngoài ra, nghiên cứu này không phát hiện EHP trong tất cả các mẫu thức ăn. Tuy nhiên phát hiện EHP ở con ruốc, ốc đĩnh, tép trùng và hào. Có thể kết luận rằng tôm chậm lớn có liên quan đến nguồn lây nhiễm là EHP và các động vật khác.

3.4. Kết quả phân tích mô bệnh học mẫu mô gan tụy tôm nhiễm EHP

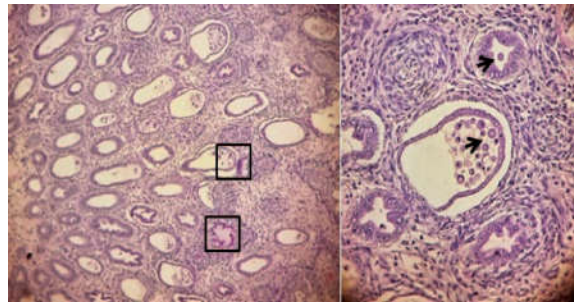
Kết quả phân tích mô bệnh học của 61 mẫu mô gan tụy của tôm thẻ chân trắng ghi nhận được hình dạng khối hợp bào, hình dạng của bào tử và cấu trúc mô gan tụy bị nhiễm bào tử EHP. Các bào tử mới hình thành thường tồn tại nội bào bên trong tế bào chất của tế bào chủ, có dạng hạt bất màu tím đỏ với mật độ dày đặc. Ngoài ra, quan sát các mẫu mô gan tụy có thể thấy EHP thường tồn tại ở hai dạng là dạng bào tử tự do hoặc dạng khối hợp bào plasmodia. Các khối hợp bào cũng thường tồn tại ở hai giai đoạn phát triển, gồm giai đoạn phát triển sớm và dạng phát triển muộn.



Hình 5. Mẫu mô gan tụy của tôm thẻ chân trắng ở độ mô học G1 (20x)

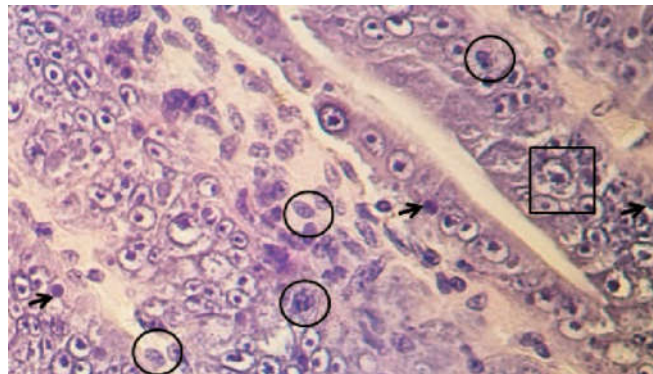
Ghi chú: cụm bào tử trưởng thành (ô vuông)

Mức độ nghiêm trọng của sự nhiễm vi bào tử trùng EHP được phân loại theo quy trình của Lightner (1996). Quy trình này được Caro và cộng tác viên (2021) mô tả chi tiết bằng yếu tố độ mô học (histology grade) đặc trưng của bệnh. Độ mô học trong trường hợp nhiễm EHP trên tôm thường được chia thành 4 cấp độ, ký hiệu là: $G0 < G1 < G2 < G3 < G4$, trong đó G0 đại diện cho giai đoạn không có dấu hiệu nhiễm trùng và G4 đại diện cho số lượng ký sinh trùng cao hoặc nhiễm trùng ở mức độ nặng, có biểu hiện của các tổn thương tế bào dày đặc và phá hủy mô nâng cao.



Hình 6. Mẫu mô gan tụy của tôm thẻ chân trắng ở độ mô học G2 (20X)

Ghi chú: plasmodia giai đoạn phát triển sớm (mũi tên); khu vực chứa cụm bào tử trưởng thành (ô vuông)



Hình 7. Mẫu mô gan tụy của tôm thẻ chân trắng ở độ mô học G3 (20X)

Ghi chú: plasmodia giai đoạn phát triển sớm (mũi tên); plasmodia giai đoạn phát triển muộn (vòng tròn); bào tử trong tế bào chất (ô vuông)

Kết quả khảo sát mẫu mô học của nghiên cứu này ghi nhận được giai đoạn mô gan tụy tôm nhiễm bệnh ở độ mô học G1, G2 và G3. Không ghi nhận mẫu ở G4. Các đặc điểm mô học trong nghiên cứu này phù hợp với các báo cáo về nhiễm EHP ở gan tụy trên tôm *P. vannamei* (Pattarayingsakul *et al.*, 2022; Tangprasittipap *et al.*, 2013; Tourtip *et al.*, 2009). Theo Rajendran và cộng tác viên (2016),

tôm nhiễm EHP có các thay đổi về mặt mô học phức tạp hơn, mô gan tụy bị nhiễm hoại tử nghiêm trọng, các tế bào thoái hóa và tích tụ bào tử trong lòng ống. Nghiên cứu của Santhoshkumar và cộng tác viên (2016) kiểm tra mô gan tụy ghi nhận sự hiện diện của plasmodium xuất hiện dưới dạng cấu trúc cơ bản và sự hoại tử của các tế bào biểu mô ống gan tụy của tôm. Tương tự ghi nhận của

nghiên cứu này, nghiên cứu của Oanh và cộng tác viên (2021) cũng cho thấy, các bào tử EHP bắt màu tím có dạng hình bầu dục đơn lẻ hoặc thành cụm. Theo Prachumwat và cộng tác viên (2021) và

Pattarayingsakul và cộng tác viên (2022), cấu trúc mô học của gan tụy, ruột giữa của tôm nhiễm EHP là các tế bào bị teo, bào tử EHP tồn tại trong tế bào biểu mô ống gan tụy và ruột.

Bảng 2. Tần suất xuất hiện các cấp độ mô học theo trọng lượng tôm

Trọng lượng tôm (g)	Tần suất xuất hiện độ mô học (%)		
	G1	G2	G3
3,5 - 5,5	11,1	13,6	71,4
> 5,5 đến < 10	83,3	81,8	23,8
≥10	5,6	4,5	4,8

Kết quả ghi nhận của nghiên cứu này cho thấy, nhóm tôm ở cả hai mô hình siêu thâm canh và thâm canh có trọng lượng và chiều dài nhỏ (3,5 - 5,5 g) thường có nhiều mẫu mô ở cấp độ mô G3, chiếm 71,4%. Nhóm tôm > 5,5 đến < 10 g có các độ mô học G1 và G2 chiếm trên 80% (Bảng 2). Theo Biju và cộng tác viên (2016), mức độ chậm phát triển của tôm có tương quan với mức độ nhiễm bệnh tăng lên theo phân loại cấp độ mô học.

IV. KẾT LUẬN

Giai đoạn tôm nhiễm EHP trong mô hình siêu thâm canh từ 80 đến 87 ngày tuổi, mô hình thâm canh từ 77 đến 89 ngày tuổi. Tôm nhiễm EHP có kích cỡ nhỏ hơn tôm khỏe. Tỷ lệ nhiễm EHP trên tôm nuôi ở Cái Nước 61,1% và Đầm Dơi 46,7%. Tỷ lệ nhiễm EHP ở mô hình nuôi siêu thâm canh 37,5% và thâm canh 67,0%. Kết quả phân tích mô bệnh học ghi nhận hình dạng khối hợp bào, bào tử và cấu trúc mô gan tụy bị nhiễm EHP ở độ mô học G1, G2 và G3. Tần suất xuất hiện độ mô học G3 cao nhất (71,4%) ở mô hình nuôi thâm canh và siêu thâm canh với nhóm tôm có trọng lượng và chiều dài nhỏ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Cục Thú Y, 2021. Báo cáo nhiệm vụ, giải pháp phòng, chống dịch bệnh trên tôm nuôi nước lợ năm 2021. Bộ NN&PTNT 2021. Tài liệu Hội nghị trực tuyến “Giải pháp phát triển ngành tôm năm 2021”.

Nguyễn Thị Hà, Đồng Thanh Hà, Nguyễn Thị Thủy, Vũ Thị Kim Liên, 2011. Phát hiện *Enterocytozoon hepatopenaei* ký sinh trên tôm sú (*Penaeus monodon*) nuôi ở Việt Nam và liên quan đến hội chứng phân trắng. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 12: 45-50.

Lê Thị Mây, Trương Thị Mỹ Hạnh, Trương Thị Thành Vinh, 2020. Sinh vật mang vi bào tử trùng *Enterocytozoon hepatopenaei* và một số yếu tố ảnh

hưởng đến bệnh vi bào tử trùng ở tôm nuôi nước lợ. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Vinh*, 49 (3A): 43-50.

Lê Hồng Phước, Trương Hồng Việt, Trần Minh Thiện, Đoàn Văn Cường, Thới Ngọc Bảo, 2020. Khảo sát sự hiện diện của vi bào tử trùng *Enterocytozoon hepatopenaei* trên tôm nuôi, thức ăn công nghiệp và các loài động vật khác trong ao nuôi tôm. *Tạp chí Nghề cá sông Cửu Long*, 16: 27-35.

Lê Hồng Phước và Nguyễn Hồng Lộc, 2019. Sự hiện diện của White spot syndrome virus, *Vibrio parahaemolyticus* và *Enterocytozoon hepatopenaei* trên tôm giống và tôm nuôi nước lợ ở Đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Nghề cá sông Cửu Long*, 15: 15-23.

Aranguren, L.F., Mai, H., Pichardo, O., Hanggono, B. and Dhar, A.K., 2019. White feces syndrome in shrimp: Predictor of EHP. *Global Aquaculture Advocate*, April, 29: 37-42.

Biju, N.G.S., Raj, M., Shanmugam, V., Baskaran, B., Govindan, U., Kumaresan, G., Kasthuriraju, K.K. and Chellamma, T.S.R.Y., 2016. High prevalence of *Enterocytozoon hepatopenaei* in shrimps *Penaeus monodon* and *Litopenaeus vannamei* sampled from slow growth ponds in India. *Diseases of Aquatic Organisms*, 120: 225-230.

Caro, L.F.A., Alghamdi, F., De Belder, K., Lin, J., Mai, H.N., Millabas, J., Alrehaili, Y., Alazwari, A., Algetham, S. and Dhar, A.K., 2021. The effect of salinity on *Enterocytozoon hepatopenaei* infection in *Penaeus vannamei* under experimental conditions. *BMC Research*, 17: 65-73.

Chayaburakul, K., Nash, G., Pratanpipat, P., Sriurairatana, S. and Withyachumnarnkul, B., 2004. Multiple pathogens found in growth - retarded black tiger shrimp *Penaeus monodon* cultivated in Thailand. *Diseases of Aquatic Organisms*, 60 (2): 89-96.

Flegel, T.W., 2015. Diseases of Crustaceans - Hepatopancreatic microsporidiosis caused by *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP). Department of Agriculture. Australian Government.

- Kim, B.S., Jang, G.I., Kim, S.M., Kim, Y.S., Jeon, Y.G., Oh, Y.K., Hwang, J.Y. and Kwon, M.G., 2021. First report of *Enterocytozoon hepatopenaei* infection in pacific whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) cultured in Korea. *Animals*, 11: 3150-3158.
- Lightner, D.V., 1996. *A handbook of shrimp pathology and diagnostic procedure for disease of shrimp*. World Aquaculture Society. United States: 230 pp.
- Margolis, L.G.W., Holmes, J.C., Kuris, A.M. and Schad, G.A., 1982. The use of ecological terms in parasitology (Report of an ad hoc committee of the American Society of Parasitologists). *Journal of Parasitology*, 68 (1): 131-133.
- Oanh, D.T.H., Thuy, N.T.N. and Ut, V.N., 2021. Investigation of parasites in the digestive tract of white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) cultured at coastal farms in the Mekong Delta. *Can Tho University Journal of Science*, 13 (Special issue on Aquaculture and Fisheries): 79-85.
- Pattarayingsakul, W., Munkongwongsiri, N., Thitamadee, S., Sritunyalucksana, K. and Aldama-Cano, D.J., 2022. Shrimp microsporidian EHP spores in culture water lose activity in 10 days or can be inactivated quickly with chlorine. *Aquaculture*, 548: 737665-737673.
- Prachumwat, A., Munkongwongsiri, N., Eamsaard, W., Lertsiri, K., Flegel, T.W., Stentiford, G.D. and Sritunyalucksana, K., 2021. A potential prokaryotic and microsporidian pathobiome that may cause shrimp white feces syndrome (WFS). *BioRxiv preprint*, 22 pp. doi: <https://doi.org/10.1101/2021.05.23.445355>.
- Prathisha, R., George, M.R. and John, K.R., 2019. Assessment of occurrence of *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) in South Tamil Nadu. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 7 (1): 137-142.
- Rajendran, K.V., Saloni, S., Praveena, E., Rajan, J.S., Kumar, S., Satheesha, T.A., Jagadeesan, V., Babu, S.V.A., Pande, N.V., Krishnan, A., Alavandi, S.V. and Vijayan, K.K., 2016. Emergence of *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) in farmed *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* in India. *Aquaculture*, 12: 13-22.
- Santhoshkumar, S., Sivakumar, S., Vimal, S., Majeed, S.A., Taju, G., Haribabu, P., Uma, A. and Sahul Hameed, A.S., 2016. Biochemical changes and tissue distribution of *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) in naturally and experimentally EHP - infected whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931), in India. *Journal of Fish Diseases*, 40 (4): 529-539.
- Singh, M. and Singh, P., 2018. *Enterocytozoon hepatopenaei*: A microsporidian in the midst of serious threat to shrimp aquaculture. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6 (6): 936-939.
- Tangprasittipap, A., Srisala, J., Chouwdee, S., Somboon, M., Chuchird, N., Limsuwan, C., Srisuvan, T., Flegel, T.W. and Sritunyalucksana, K., 2013. The microsporidian *Enterocytozoon hepatopenaei* is not the cause of white feces syndrome in whiteleg shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*. *BMC Veterinary Research*, 9: 139-148.
- Tourtip, S., Wongtripop, S., Stentiford, G.D., Bateman, K.S., Sriurairatana, S., Chavadej, J., Sritunyalucksana, K. and Withyachumnarnkul, B., 2009. *Enterocytozoon hepatopenaei* sp. nov. (Microsporida: Enterocytozoonidae), a parasite of the black tiger shrimp *Penaeus monodon* (Decapoda: Penaeidae): Fine structure and phylogenetic relationships. *Journal of Invertebrate Pathology*, 102: 21-29.
- Vavra, J. and Maddox, J.V., 1976. *Methods in microsporidiology*. In *Biology of the Microsporidia*. Springer, US. pp. 281-319.

Determination of the presence of *Enterocytozoon heparopenaei* in cultured pacific whiteleg shrimp

Nguyen Tuyen Mui, Nguyen Thi Thu Hang

Abstract

Study on the effect of *Enterocytozoon heparopenaei* (EHP) was conducted throughout infection rate and histopathological structure of white leg shrimps. Sampling was carried out in 18 shrimp ponds (intensive and super intensive) from October 2021 to March 2022 in Ca Mau. The results of fresh smear showed that EHP spores are pear-shaped or ovoid, slightly tapered at one end. The spores are usually located in the cysts or in the intracellular and free form outside the cells. The super-intensive model had a lower prevalence of infection (37.5%) than the intensive model (67.0%). Histopathological results recorded that EHP spores infected with the shape of the syncytial mass, the shape of the spores and the structure of the hepatopancreas tissue. *Enterocytozoon heparopenaei* spores exist as free spores in the lumen of the hepatopancreatic duct or a syncytial mass. Shrimp histological samples infected with EHP at 3 histological levels as G1, G2 and G3, the study did not record G4 histology. The highest frequency of occurrence of G3 histology was 71.4% in both intensive and super-intensive models.

Keywords: Pacific whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*), *Enterocytozoon heparopenaei*, histopathology

Ngày nhận bài: 13/7/2022

Ngày phản biện: 23/8/2022

Người phản biện: TS. Lê Hồng Phước

Ngày duyệt đăng: 28/9/2022

ĐỘNG VẬT PHIÊU SINH VÀ MỐI LIÊN HỆ VỚI CÁC THÔNG SỐ MÔI TRƯỜNG NƯỚC TRONG AO ƯƠNG TÔM THẺ CHÂN TRẮNG (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) SIÊU THÂM CANH

Nguyễn Thị Kim Liên¹, Nguyễn Duy Thanh¹,
Phan Văn Nin¹, Võ Nam Sơn¹ và Huỳnh Trường Giang¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm mục tiêu xác định thành phần loài và mật độ của động vật phiêu sinh (ĐVPS) dưới ảnh hưởng của các mật độ ương tôm thẻ chân trắng khác nhau. Nghiên cứu được tiến hành ở 3 ao với mật độ 600 con/m² (N1) và 3 ao với mật độ 400 con/m² (N2). Kết quả đã ghi nhận được tổng cộng 32 loài, trong đó Protozoa có số loài cao nhất (15 loài), kế đến là Rotifera (8 loài), các nhóm còn lại từ 4 - 5 loài. Số loài ĐVPS qua các đợt khảo sát từ 6 - 15 loài tương ứng với mật độ trung bình 989 - 3.088.343 ct/m³. Mật độ ĐVPS từ đợt 1 đến đợt 6 không có sự chênh lệch lớn giữa hai nhóm ao. Tuy nhiên, từ đợt 7 đến cuối giai đoạn ương có sự khác biệt đáng kể giữa nhóm N1 và N2, trong đó, nhóm N1 có mật độ Protozoa và Rotifera cao hơn nhóm N2. Nhiệt độ, pH, oxy, TAN, NO₃ tương quan không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) với tổng loài và mật độ ĐVPS. Độ kiểm tương quan thuận ($p < 0,05$) với tổng số loài và mật độ của ĐVPS. Ngoài ra, mật độ của Copepoda và nauplius bị ảnh hưởng mạnh bởi hàm lượng TN.

Từ khóa: Động vật phiêu sinh, ao tôm thẻ chân trắng, các yếu tố môi trường nước

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) là một trong những đối tượng nuôi phổ biến trên thế giới và Việt Nam. Theo Tổng cục Thủy sản (2021), diện tích thả nuôi tôm nước lợ ước đạt 740 nghìn ha (bằng 100,5% so với năm 2020), trong đó diện tích nuôi tôm thẻ chân trắng (TCT) là 110 nghìn ha. Sản lượng tôm nuôi 11 tháng đầu năm đạt 902,7 nghìn tấn (tăng 1,9% so với cùng kỳ năm 2020), trong đó ước tính sản lượng tôm TCT nuôi năm 2021 đạt 642,5 nghìn tấn. Cà Mau là một trong các tỉnh ở đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) có điều kiện thuận lợi cho ngành thủy sản phát triển và là vùng nuôi thủy sản trọng điểm của cả nước, trong đó nuôi tôm là hoạt động chủ lực. Những năm gần đây, bên cạnh mô hình nuôi tôm truyền thống tại ĐBSCL và đặc biệt là tỉnh Cà Mau đã và đang ngày càng phát triển nhiều mô hình nuôi tôm, trong đó có nuôi tôm TCT thâm canh, siêu thâm canh bước đầu đem lại hiệu quả cao.

Phiêu sinh vật là nguồn thức ăn tự nhiên quan trọng đối với động vật thủy sản và là sinh vật chỉ thị môi trường nước. Trong đó, động vật phiêu sinh (ĐVPS) là mắt xích quan trọng trong chuỗi thức ăn, góp phần nâng cao năng suất sinh học của thủy

vực. Trong nuôi tôm TCT, ĐVPS là nguồn thức ăn tự nhiên góp phần cung cấp dinh dưỡng thiết yếu cho tôm giai đoạn nhỏ khi mà tôm chưa tiêu thụ được thức ăn công nghiệp. Theo Chen và Chen (1992), tôm sẽ tiêu thụ ĐVPS nhiều hơn khi mật độ của chúng cao. Tôm sử dụng ĐVPS làm thức ăn có thể chuyển một tỷ lệ dinh dưỡng đáng kể từ hệ sinh vật tự nhiên cho tôm (Martinez-Cordova *et al.*, 1998; Anderson *et al.*, 1987). Các nghiên cứu về Cladocera và Copepoda trong các ao nuôi tôm đã chỉ ra rằng đây là nhóm sinh vật phức tạp có sự thay đổi cấu trúc thành phần loài nhanh chóng theo thời gian (Coman *et al.*, 2003). Ngoài ra, sự phát triển của ĐVPS còn góp phần trong việc giữ cân bằng trong hệ sinh thái thủy vực thông qua việc tiêu thụ sinh khối tảo trong ao tôm, làm giảm mức độ ô nhiễm nước. Tuy nhiên, một số nghiên cứu cho thấy khi ĐVPS phát triển quá mức trong các ao tôm cũng gây ra một số bất lợi, đặc biệt đối với nhóm ĐVPS sống ký sinh hoặc sống nổi thuộc Protozoa. Sự phát triển của ĐVPS có liên quan đến các thông số môi trường nước. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát thành phần loài và mật độ ĐVPS và mối liên hệ của chúng với các thông số môi trường nước trong các ao ương tôm TCT với các mật độ khác nhau góp phần trong việc quản lý nguồn thức ăn tự nhiên trong ương nuôi tôm.

¹ Khoa Thủy sản, Đại học Cần Thơ

* Tác giả liên hệ, e-mail: ntklien@ctu.edu.vn