

SUU TẬP VÀ PHÂN LẬP VI KHUẨN TỪ MẪU THỦY SẢN NUÔI Ở ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

Đặng Thị Hoàng Oanh, Nguyễn Thị Thu Hằng và Nguyễn Thanh Phương¹

ABSTRACT

A total of 141 bacterial isolates were collected and preserved in cryopreservation system at the college of aquaculture and fisheries, Cantho university. These isolates were originated from common cultured aquatic species in the mekong river delta during either disease outbreak or sampling for health monitoring. There cultured species include Pangasius catfish (Pangasius hypophthalmus), Common carp (Cyprinus carpio), black tiger shrimp (Penaeus monodon) and giant freshwater prawn (Macrobrachium rosenbergii). Data related to isolation and identification of isolates is also well documented along with the in cryopreservation system. These isolates will be a good source of reference bacteria for further study on bacteriology in aquaculture.

Keywords: *Aquaculture, Bacteria, Isolation*

Title: *A collection of bacterial isolates originated from cultured aquatic species in the Mekong River Delta, Vietnam*

TÓM TẮT

Nguồn mẫu vi khuẩn phân lập từ môi trường nuôi và từ bệnh phẩm thủy sản có tầm quan trọng đặc biệt trong việc phát triển các kỹ thuật chẩn đoán bệnh, điều chế vaccin, khảo nghiệm thuốc dùng trong nuôi thủy sản và làm sinh vật chuẩn cho các phép thử nghiệm. Bộ sưu tập vi khuẩn phân lập từ các hệ thống nuôi thủy sản đã được thiết lập tại Khoa Thủy sản, Đại học Cần Thơ từ năm 2002. Khởi đầu là các chủng vi khuẩn kháng thuốc kháng sinh chloramphenicol, bộ sưu tập được phát triển bằng đề tài sưu tập các chủng vi khuẩn phân lập được từ những mẫu thủy sản được xét nghiệm bệnh tại Khoa hoặc từ các đề tài nghiên cứu quản lý dịch bệnh. Tổng cộng có 141 chủng vi khuẩn được mã hóa cùng với các dữ liệu về đặc điểm sinh học của chúng và bổ sung vào bộ sưu tập vi khuẩn của Khoa Thủy sản và được lưu trữ trong hệ thống cryobead ở nhiệt độ -80°C. Các chủng này phần lớn được phân lập từ Tôm sú (Penaeus monodon), Tôm càng xanh (Macrobrachium rosenbergii), cá Chép (Cyprinus carpio) và cá Tra (Pangasius hypophthalmus) Đây sẽ là nguồn mẫu vật tốt cho các nghiên cứu tiếp theo trong lĩnh vực vi sinh thủy sản.

Từ khóa: *Nuôi trồng thủy sản, vi khuẩn, phân lập*

1 GIỚI THIỆU

Trong những năm gần đây nghề nuôi sản ở vùng Đồng Bằng Sông Cửu Long (ĐBSCL) phát triển rất nhanh chóng góp phần tích cực vào việc nâng cao nguồn thu nhập của cộng đồng và tăng kim ngạch xuất khẩu. Tuy nhiên, khi nghề nuôi được thâm canh hóa nhất là nuôi với mật độ cao thì vấn đề dịch bệnh xảy ra thường xuyên hơn và thiệt hại cũng nhiều hơn. Nghề nuôi thủy sản cũng đang phải đương đầu với tình trạng dịch bệnh bùng nổ ngày càng thường xuyên và nghiêm trọng do sự suy thoái về môi trường và sự lây lan mầm bệnh. Trong đó bệnh truyền nhiễm, nhất là bệnh do vi khuẩn đã và đang gây thiệt hại nghiêm trọng đến sản lượng tôm cá nuôi.

¹ Trung Tâm Quản lý Dịch bệnh Thủy sản, Khoa Thủy sản, Đại học Cần Thơ, Việt Nam

Song song với việc nghiên cứu và ứng dụng kỹ thuật nuôi thủy sản thì các nghiên cứu về bệnh thủy sản cũng được các cơ quan nghiên cứu, trường đại học thực hiện nhằm vào mục đích phát hiện mầm bệnh và phòng trị bệnh. Tuy nhiên thông tin về tác nhân gây bệnh trong nuôi thủy sản ở vùng ĐBSCL còn rất hạn chế và nguồn mẫu vi sinh vật gây bệnh phân lập từ các đợt dịch bệnh bộc phát còn rất hiếm hoi, phân tán, chưa được lưu trữ và nghiên cứu một cách hệ thống.

Hiện tại, nhu cầu về mẫu vi khuẩn phân lập từ môi trường nuôi và các đối tượng nuôi thủy sản dùng cho mục đích nghiên cứu, giảng dạy và khảo nghiệm là rất cần thiết. Các dòng vi khuẩn này có tầm quan trọng đặc biệt trong việc phát triển các kỹ thuật chẩn đoán bệnh, điều chế vaccin, khảo nghiệm thuốc dùng trong nuôi thủy sản, lập kháng sinh đồ, xác định độc tính của vi khuẩn, cảm nhiễm nhân tạo, nghiên cứu dịch tễ và làm sinh vật chuẩn cho các phép thử nghiệm. Vì thế, việc thiết lập bộ sưu tập và cơ sở dữ liệu về các chủng vi khuẩn trên cá tôm nuôi ở ĐBSCL là điều cần thiết nhằm phục vụ cho việc giảng dạy và các nghiên cứu về bệnh thủy sản.

Báo cáo này chúng tôi trình bày kết quả sưu tập và cơ sở dữ liệu các chủng vi khuẩn phân lập từ tôm cá nuôi ở hệ thống nuôi thủy sản ở vùng Đồng Bằng Sông Cửu Long bổ sung bộ sưu tập vi sinh vật của Khoa Thủy sản, Đại học Cần Thơ.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Phương pháp lưu trữ và phục hồi vi khuẩn

Phương pháp lưu trữ và phục hồi vi khuẩn được thực hiện theo phương pháp của Geert Huys (2002). Hệ thống cryobead (Microbank™, Pro-Lab Diagnostics, UK) được sử dụng để lưu trữ vi khuẩn, cho phép lưu trữ vi khuẩn ở nhiệt độ -70°C trong một thời gian dài mà không làm ảnh hưởng đến các đặc tính sinh học của chúng. Vi khuẩn được cấy lên môi trường Iso-sensistent agar (ISA-Oxoid) và được ủ 24 giờ ở 28°C . Phân nửa số khuẩn lạc mọc trên đĩa ISA được thu bằng que cấy tiệt trùng và trữ vào ống cryobead và giữ ở -70°C . Sau 48h vi khuẩn được phục hồi lên môi trường ISA ở 28°C để kiểm tra khả năng phục hồi và tính thuần chủng.

2.2 Nguồn vi khuẩn

2.2.1 Sưu tập mẫu vi khuẩn từ các đề tài nghiên cứu

Vi khuẩn được sưu tập từ các đề tài nghiên cứu trước đây tại Khoa Thủy sản, bao gồm: (1) Xác định LD_{50} và thử nghiệm vaccin phòng bệnh vi khuẩn (*Aeromonas hydrophila*) trên cá Chép (*Cyprinus carpio*) (Đặng Thị Hoàng Oanh, 2002); (2) Thành phần loài và khả năng gây bệnh của nhóm vi khuẩn *Vibrio* phân lập từ hệ thống ương Tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*) (Trần Thị Tuyết Hoa, 2004); (3) Khảo sát tác nhân gây bệnh ký sinh trùng và vi khuẩn trên Tôm càng xanh nuôi trong ao và ruộng lúa ở các tỉnh Đồng Tháp, An Giang, Cần Thơ và Trà Vinh (Nguyễn Tấn Đạt, 2002); (4) Xác định tỉ lệ cảm nhiễm và một số đặc điểm của vi khuẩn phát sáng trên Tôm sú giống (*Penaeus monodon*) (Huỳnh Thị Kim Hường, 2002); và (5) Xác định khả năng gây bệnh của vi khuẩn phát sáng trên Tôm sú ở các độ mặn khác nhau và nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của thuốc kháng sinh lên sự phát triển của chúng (Phạm Thị Phương Mai, 2003).

Các chủng vi khuẩn được phục hồi trên môi trường ISA có hoặc không có thêm 1.5% NaCl tùy nguồn gốc môi trường phân lập của chúng là nước ngọt hay nước lợ (Bảng 1). Các chủng vi khuẩn được kiểm tra tính thuần chủng và được kiểm định bằng cách cấy trên môi trường chọn lọc dựa theo báo cáo của tác giả phân lập trước khi lưu trữ vào hệ thống cryobead. Các dữ liệu liên quan đến các chủng vi khuẩn được sưu tập như địa điểm thu mẫu, nguồn gốc (cơ quan) được phân lập và kết quả định danh cũng được ghi nhận và lưu giữ.

2.2.2 Phân lập và định danh vi khuẩn từ mẫu tôm xét nghiệm

(a) Phân lập vi khuẩn phát sáng

Mẫu tôm giống còn sống chứa trong túi nylon có bơm oxy, mỗi mẫu thu 20 con. Mặt ngoài cơ thể tôm được khử trùng bằng cồn 70°, rồi rửa lại bằng nước muối sinh lý, cho vào ống nghiệm chứa 2ml nước muối sinh lý và nghiền mẫu bằng que thủy tinh. Sau đó cấy mẫu vào đĩa môi trường TCBS và đĩa môi trường phát quang (nutrient agar; 1% NaCl; 0.4% $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ và 0.2% KCl). Mẫu được ủ trong tủ úm ở nhiệt độ 30°C và kiểm tra kết quả phân lập sau 24 giờ. Những đĩa có những khuẩn lạc phát ra ánh sáng màu xanh nhạt ở trong bóng tối được chọn để lưu trữ vào hệ thống cryobead.

(b) Phân lập vi khuẩn ở tôm bị bệnh phân trắng

Tôm sú lớn thu được từ những ao nuôi có dấu hiệu bệnh phân trắng được chuyển còn sống về phòng thí nghiệm. Mẫu bệnh phẩm được lấy từ máu, cơ và gan tụy của tôm và cấy lên môi trường TSA hoặc NA có bổ sung 1,5% NaCl. Mẫu được ủ ở nhiệt độ 28°C và quan sát vi khuẩn phát triển sau 24 giờ. Những mẫu có những khuẩn lạc tách rời nhau và thuần chủng (dựa vào sự đồng nhất về hình dạng, kích thước của khuẩn lạc) được chọn để trữ vào hệ thống cyobead.

Một số chủng vi khuẩn phát sáng phân lập từ tôm giống và các chủng vi khuẩn phân lập từ tôm bị bệnh phân trắng được định danh dựa vào một số chỉ tiêu hình thái, sinh lý và sinh hóa. Các chỉ tiêu này được chọn để định danh dựa theo hệ thống phân loại của Baumann *et al.*, 1984. Các đặc điểm sinh lý sinh hóa được xác định dựa theo cẩm nang Cowan & Steels (Barrow và Feltham, 1993) và phương pháp của West & Colwell (1984). Mỗi chỉ tiêu được xác định ba lần kết quả được ghi nhận là kết quả có ít nhất 2 lần lặp lại. Các chỉ tiêu về hình thái, sinh lý và sinh hóa của các chủng vi khuẩn sưu tập được so sánh với các chuẩn bằng biểu đồ phân nhánh qua chương trình phân tích cụm của phần mềm Statistica 5.0. Thước đo mức độ giống nhau giữa các chủng vi khuẩn được xác định bằng khoảng cách Euclid (Euclidean distance).

2.3 Phương pháp mã hóa các chủng vi khuẩn thuộc bộ sưu tập

Các chủng vi khuẩn được đăng ký và mã hóa theo hệ thống của bộ sưu tập vi khuẩn của Khoa Thủy sản, Đại học Cần Thơ. Tiếp theo sau kết quả của Đặng Thị Hoàng Oanh (2004) mã số các chủng vi khuẩn được ký hiệu từ V301 cùng với tên loài vi khuẩn.

3 KẾT QUẢ

Tổng số có một trăm bốn mươi một chủng vi khuẩn được sưu tập trong thời gian từ tháng 4/2004 đến tháng 12/2005. Cơ sở dữ liệu các chủng vi khuẩn đăng ký vào bộ sưu tập vi khuẩn của Khoa Thủy sản được trình bày ở Bảng 1. Các chủng vi khuẩn phân lập được từ nhiều nguồn gốc khác nhau trong đó có những mẫu cá tôm có dấu hiệu bệnh lý đặc trưng. Tuy nhiên các chủng vi khuẩn sưu tập được chủ yếu tập trung vào hai nhóm vi khuẩn là *Aeromonas* và *Vibrio* được định danh bằng phương pháp sinh hóa truyền thống.

3.1 Vi khuẩn sưu tập từ các đề tài

Có 11 chủng vi khuẩn *Aeromonas hydrophila* được sưu tập từ đề tài xác định LD₅₀ và thử nghiệm vaccin phòng bệnh vi khuẩn (*Aeromonas hydrophila*) trên cá Chép (*Cyprinus carpio*) (Đặng Thị Hoàng Oanh, 2002) (Bảng 1). Một số chủng vi khuẩn thuộc nhóm này đã được xác định độc lực và thử nghiệm chế vacin chết để phòng bệnh xuất huyết ở cá Chép do chính chủng vi khuẩn đó gây ra.

Có 13 trong số 50 chủng vi khuẩn thuộc nhóm *Vibrio* được sưu tập từ đề tài nghiên cứu về: Thành phần loài và khả năng gây bệnh của nhóm vi khuẩn *Vibrio* phân lập từ hệ thống ương Tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*) (Trần Thị Tuyết Hoa, 2004) (xem Bảng 1). Các chủng vi khuẩn được định danh thuộc các loài *V. cholerae*, *V. alginolyticus*, *V. carchariae* và *V. mimicus*. Kết quả gây cảm nhiễm của đề tài cho thấy các chủng vi khuẩn này có khả năng gây bệnh ở Tôm càng xanh ấu trùng và hậu ấu trùng. Tôm bị nhiễm bệnh lúc yếu đi hoặc sắp chết thì thân trở nên trắng đục và lảng xuống đáy bể.

20 chủng vi khuẩn giống *Aeromonas* sp. phân lập từ Tôm càng xanh bị bệnh cụt râu, mòn phụ bộ thuộc đề tài: Khảo sát tác nhân gây bệnh ký sinh trùng và vi khuẩn trên Tôm càng xanh nuôi trong ao và ruộng lúa ở các tỉnh Đồng Tháp, An Giang, Cần Thơ và Trà Vinh (Nguyễn Tấn Đạt, 2002) (Bảng 1). Các chủng vi khuẩn được định danh gồm *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. sorbia* và *Aeromonas* sp. Tác giả đã chứng minh rằng vi khuẩn *Aeromonas hydrophila* chủng 1.081514 có khả năng gây ra hiện tượng cụt râu, mòn phụ bộ ở hậu ấu trùng tôm ở mật độ vi khuẩn cảm nhiễm là $2.1.10^4$ CFU/ml.

Tổng cộng có 32 chủng vi khuẩn phát quang (Bảng 1) được sưu tập từ hai đề tài: (1) Xác định tỉ lệ cảm nhiễm và một số đặc điểm của vi khuẩn phát sáng trên Tôm sú giống (*Penaeus monodon*) (Huỳnh Thị Kim Hương, 2002); và (2) Xác định khả năng gây bệnh của vi khuẩn phát sáng trên Tôm sú ở các độ mặn khác nhau và nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của thuốc kháng sinh lên sự phát triển của chúng (Phạm Thị Phương Mai, 2003). Toàn bộ các chủng phát quang chỉ được định danh đến mức giống *Vibrio*. Một số chủng vi khuẩn phát quang được chọn để gây cảm nhiễm trên Tôm sú giống. Tác giả đã chứng minh các chủng V04, V20 và V497 gây bệnh phát sáng ở độ mặn 3 ‰ mà không thể gây bệnh ở các độ mặn 9, 15, 20 ‰.

3.2 Vi khuẩn phân lập từ mẫu tôm xét nghiệm

Có 16 chủng vi khuẩn giống *Vibrio* được phân lập từ ao nuôi Tôm sú bị bệnh phân trắng (Bảng 1). Các chủng vi khuẩn này được định danh là *Vibrio* sp (8 chủng), *V. vulnificus* (3 chủng), *V. cholerae* (2 chủng), *V. navarrensis* (1 chủng) và *V.*

hollisae (1 chủng). Tuy nhiên các chủng vi khuẩn này chưa được cảm nhiễm trên tôm khỏe để xác định khả năng gây bệnh phân trắng.

Ngoài ra, còn có 49 chủng vi khuẩn phát quang được phân lập từ mẫu Tôm sú xét nghiệm tại Khoa Thủy sản (Bảng 1). Trong đó có 25 chủng được định danh ở mức giống là *Vibrio sp.* Các chủng được định danh đến mức loài gồm có 22 chủng là *V. carchariae*, 2 chủng là *V. vulnificus*.

Bảng 1: Dữ liệu về các chủng vi khuẩn sưu tập

STT	Mã số sưu tập	Mã số phân lập	Địa điểm thu mẫu	Thời gian	Nguồn gốc	Dấu hiệu bệnh	Tên loài định danh
Sưu tập từ đề tài 1							
1	V372	BSK	Cần Thơ	2001	Cá ba sa	Xuất huyết	<i>Aeromonas hydrophylla</i>
2	V373	Lei.1.10.99	Cần Thơ	2001	Cá rô phi	Xuất huyết	<i>Aeromonas hydrophylla</i>
3	V374	58 (97 VII)	Cần Thơ	2001	Cá ba sa	Xuất huyết	<i>Aeromonas hydrophylla</i>
4	V375	60 (97 HV)	Cần Thơ	2001	Cá Chép	Xuất huyết	<i>Aeromonas hydrophylla</i>
5	V376	69 (Tam 2L)	Cần Thơ	2001	Cá Chép	Xuất huyết	<i>Aeromonas hydrophylla</i>
6	V377	82 (VI 6L)	Cần Thơ	2001	Cá ba sa	Xuất huyết	<i>Aeromonas hydrophylla</i>
7	V378	90(VII 4kp)	Cần Thơ	2001	Cá ba sa	Xuất huyết	<i>Aeromonas hydrophylla</i>
8	V379	BSL ₃₁₇₂₀₀₀	Cần Thơ	2001	Cá ba sa	Xuất huyết	<i>Aeromonas hydrophylla</i>
9	V380	63 (K ₁₉)	Cần Thơ	2001	Cá bóng tương	Xuất huyết	<i>Aeromonas hydrophylla</i>
10	V381	0019b	Cần Thơ	2001	Cá bóng tương	Xuất huyết	<i>Aeromonas hydrophylla</i>
11	V382	11	Cần Thơ	2001	Cá ba sa	Xuất huyết	<i>Aeromonas hydrophylla</i>
Sưu tập từ đề tài 2							
1	V439	3c	Cần Thơ	2002	ấu trùng Tôm càng xanh Đục thân		<i>Vibrio cholerae</i>
2	V440	3b	Cần Thơ	2002	ấu trùng Tôm càng xanh Đục thân		<i>Vibrio cholerae</i>
3	V441	1fy	Cần Thơ	2002	ấu trùng Tôm càng xanh Đục thân		<i>Vibrio alginolyticus</i>
4	V442	990607	Cần Thơ	2002	ấu trùng Tôm càng xanh Đục thân		<i>Vibrio cholerae</i>
5	V443	2C tom H	Cần Thơ	2002	ấu trùng Tôm càng xanh Đục thân		<i>Vibrio cholerae</i>
6	V444	5b	Cần Thơ	2002	ấu trùng Tôm càng xanh Đục thân		<i>Vibrio mimicus</i>
7	V445	TCX NTSH	Cần Thơ	2002	ấu trùng Tôm càng xanh Đục thân		<i>Vibrio cholerae</i>
8	V446	990611	Cần Thơ	2002	ấu trùng Tôm càng xanh Đục thân		<i>Vibrio carchariae</i>
9	V447	990612	Cần Thơ	2002	ấu trùng Tôm càng xanh Đục thân		<i>Vibrio cholerae</i>
10	V448	990615	Cần Thơ	2002	ấu trùng Tôm càng xanh Đục thân		<i>Vibrio cholerae</i>
11	V449	Labeled	Cần Thơ	2002	ấu trùng Tôm càng xanh Đục thân		<i>Vibrio mimicus</i>
12	V450	A1	Cần Thơ	2002	ấu trùng Tôm càng xanh Đục thân		<i>Vibrio cholerae</i>
13	V451	D 3II T(a)	Cần Thơ	2002	ấu trùng Tôm càng xanh Đục thân		<i>Vibrio alginolyticus</i>
Sưu tập từ đề tài 3							
1	V352	1.081505	An Giang	8/15/2001	Tôm càng xanh	Cụt râu, mòn phụ bộ	<i>Aeromonas sp</i>
2	V353	1.081507	An Giang	8/16/2001	Tôm càng xanh	Cụt râu, mòn phụ bộ	<i>Aeromonas sp</i>
3	V354	1.081508	An Giang	8/17/2001	Tôm càng xanh	Cụt râu, mòn phụ bộ	<i>Aeromonas sp</i>
4	V355	1.081509	An Giang	8/18/2001	Tôm càng xanh	Cụt râu, mòn phụ bộ	<i>Aeromonas sp</i>
5	V356	1.081516	An Giang	8/19/2001	Tôm càng xanh	Cụt râu, mòn phụ bộ	<i>Aeromonas sp</i>
6	V357	1.081521	An Giang	8/20/2001	Tôm càng xanh	Cụt râu, mòn phụ bộ	<i>Aeromonas sp</i>
7	V358	1.081522	An Giang	8/21/2001	Tôm càng xanh	Cụt râu, mòn phụ bộ	<i>Aeromonas sp</i>
8	V359	1.092313	Đồng Tháp	9/23/2001	Tôm càng xanh	Cụt râu, mòn phụ bộ	<i>Aeromonas sp</i>
9	V360	1.092315	Đồng Tháp	9/24/2001	Tôm càng xanh	Cụt râu, mòn phụ bộ	<i>Aeromonas sp</i>
10	V361	1.092317	Đồng Tháp	9/25/2001	Tôm càng xanh	Cụt râu, mòn phụ bộ	<i>Aeromonas sp</i>
11	V362	1.092716	Cần Thơ	9/27/2001	Tôm càng xanh	Cụt râu, mòn phụ bộ	<i>Aeromonas sp</i>
12	V363	1.10083	Cần Thơ	10/8/2001	Tôm càng xanh	Cụt râu, mòn phụ bộ	<i>Aeromonas sp</i>
13	V364	1.112605	Đồng Tháp	11/26/2001	Tôm càng xanh	Cụt râu, mòn phụ bộ	<i>Aeromonas sp</i>
14	V365	1.11261	Đồng Tháp	11/27/2001	Tôm càng xanh	Cụt râu, mòn phụ bộ	<i>Aeromonas sp</i>
15	V366	1.112613	Đồng Tháp	11/28/2001	Tôm càng xanh	Cụt râu, mòn phụ bộ	<i>Aeromonas sp</i>
16	V367	1.112919	An Giang	11/29/2001	Tôm càng xanh	Cụt râu, mòn phụ bộ	<i>Aeromonas sp</i>
17	V368	1.112923	An Giang	11/30/2001	Tôm càng xanh	Cụt râu, mòn phụ bộ	<i>Aeromonas sp</i>
18	V369	1.120801	Cần Thơ	12/8/2001	Tôm càng xanh	Cụt râu, mòn phụ bộ	<i>Aeromonas sp</i>
19	V370	1.120805	Cần Thơ	12/9/2001	Tôm càng xanh	Cụt râu, mòn phụ bộ	<i>Aeromonas sp</i>
20	V371	1.120807	Cần Thơ	12/10/2001	Tôm càng xanh	Cụt râu, mòn phụ bộ	<i>Aeromonas sp</i>

STT	Mã số sưu tập	Mã số phân lập	Địa điểm thu mẫu	Thời gian	Nguồn gốc	Dấu hiệu bệnh	Tên loài định danh
Sưu tập từ đề tài 4 và 5							
1	V301	V01	Kiên Giang	12/28/2001	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
2	V302	V04	Kiên Giang	1/4/2002	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
3	V303	V10	Kiên Giang	1/4/2002	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
4	V304	V13	Sóc Trăng	1/5/2002	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
5	V305	V14	Bạc Liêu	1/11/2002	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
6	V306	V15	Bạc Liêu	1/11/2002	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
7	V307	V16	Bạc Liêu	1/14/2002	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
8	V308	V17	Sóc Trăng	1/15/2002	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
9	V309	V18	Kiên Giang	1/17/2002	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
10	V310	V19	Kiên Giang	1/17/2002	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
11	V311	V20	Cần Thơ	1/21/2002	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
12	V312	V21	Cần Thơ	1/21/2002	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
13	V313	V22	Sóc Trăng	1/22/2002	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
14	V314	V24	Sóc Trăng	1/28/2002	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
15	V315	V26	Sóc Trăng	1/30/2002	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
16	V316	V30	Sóc Trăng	1/31/2002	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
17	V317	V31	Sóc Trăng	1/30/2002	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
18	V318	378	Sóc Trăng	2/4/2002	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
19	V319	431	Bạc Liêu	2/4/2002	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
20	V320	434	Bạc Liêu	2/18/2002	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
21	V321	435	Bạc Liêu	2/18/2002	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
22	V322	497	Sóc Trăng	2/18/2002	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
23	V323	584	Bạc Liêu	2/18/2002	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
24	V324	613	Sóc Trăng	2/20/2002	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
25	V325	A.1.1	Sóc Trăng	2/23/2002	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
26	V326	A1.2	Sóc Trăng	2/23/2002	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
27	V327	A1.3	Sóc Trăng	2/23/2002	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
28	V328	A1.4	Bạc Liêu	6/20/2002	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
29	V329	A1.5	Bạc Liêu	6/21/2002	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
30	V330	A3	Bạc Liêu	6/22/2002	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
31	V331	BL1	Bạc Liêu	6/23/2002	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
32	V332	V332	Bạc Liêu	9/3/2002	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
Phân lập từ tôm bệnh phân trắng							
1	V658	1	Cần Thơ	2003	Tôm sú	Phân trắng	<i>Vibrio navarrensis</i>
2	V659	2	Cần Thơ	2003	Tôm sú	Phân trắng	<i>Vibrio hollisae</i>
3	V660	3	Cần Thơ	2003	Tôm sú	Phân trắng	<i>Vibrio vulnificus</i>
4	V661	4	Sóc Trăng	2003	Tôm sú	Phân trắng	<i>Vibrio sp.</i>
5	V662	5	Sóc Trăng	2003	Tôm sú	Phân trắng	<i>Vibrio cholerae</i>
6	V663	6	Sóc Trăng	2003	Tôm sú	Phân trắng	<i>Vibrio sp.</i>
7	V664	7	Nha Trang	2003	Tôm sú	Phân trắng	<i>Vibrio sp.</i>
8	V665	8	Nha Trang	2003	Tôm sú	Phân trắng	<i>Vibrio sp.</i>
9	V666	9	Nha Trang	2003	Tôm sú	Phân trắng	<i>Vibrio sp.</i>
10	V667	10	Sóc Trăng	2003	Tôm sú	Phân trắng	<i>Vibrio vulnificus</i>
11	V668	11	Nha Trang	2003	Tôm sú	Phân trắng	<i>Vibrio vulnificus</i>
12	V669	12	Nha Trang	2003	Tôm sú	Phân trắng	<i>Vibrio sp.</i>
13	V670	13	Nha Trang	2003	Tôm sú	Phân trắng	<i>Vibrio sp.</i>
14	V671	14	Sóc Trăng	2003	Tôm sú	Phân trắng	<i>Vibrio sp.</i>
15	V672	15	Sóc Trăng	2003	Tôm sú	Phân trắng	<i>Vibrio cholerae</i>
16	V673	16	Sóc Trăng	2003	Tôm sú	Phân trắng	<i>Vibrio cholerae</i>
Phân lập từ tôm bệnh phát sáng							
1	V333	1145	Bạc Liêu	4/9/2003	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
2	V334	1158	Sóc Trăng	4/16/2003	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
3	V335	881	-	2003	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
4	V336	903	Cà Mau	2003	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
5	V337	906	Cà Mau	2003	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
6	V338	921	Phan Rang	2003	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
7	V339	984	-	2003	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio carchariae</i>

STT	Mã số sưu tập	Mã số phân lập mẫu	Địa điểm thu mẫu	Thời gian	Nguồn gốc	Dấu hiệu bệnh	Tên loài định danh
8	V340	990	-	2003	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
9	V341	1004	-	2003	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio carchariae</i>
10	V342	1006	-	2003	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
11	V343	1007	-	2003	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
12	V344	1013	Vũng Tàu	2003	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
13	V345	1019	Vũng Tàu	2003	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio carchariae</i>
14	V346	1024	-	2003	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
15	V347	H ₂ O.1	Bạc Liêu	2003	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio carchariae</i>
16	V348	H ₂ O.2	Bạc Liêu	2003	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio carchariae</i>
17	V349	1499	Sóc Trăng	2003	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
18	V350	1500	Sóc Trăng	2003	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
19	V351	1514	Sóc Trăng	2003	Tôm sú giống	Phát Sáng	<i>Vibrio sp.</i>
20	V628	1904	-	-	Tôm sú giống	Phát sáng	<i>Vibrio sp</i>
21	V629	1905	-	-	Tôm sú giống	Phát sáng	<i>Vibrio sp</i>
22	V630	-	-	-	Tôm sú giống	Phát sáng	<i>Vibrio sp</i>
23	V631	-	Sóc Trăng	5/4/2004	Tôm sú giống	Phát sáng	<i>Vibrio sp</i>
24	V632	1263	-	-	Tôm sú giống	Phát sáng	<i>Vibrio sp</i>
25	V633	-	Sóc Trăng	4/19/2004	Tôm sú giống	Phát sáng	<i>Vibrio sp</i>
26	V634	5	-	2/6/2004	Tôm sú giống	Phát sáng	<i>Vibrio sp</i>
27	V635	42	-	2/7/2004	Tôm sú giống	Phát sáng	<i>Vibrio sp</i>
28	V636	43	-	2/8/2004	Tôm sú giống	Phát sáng	<i>Vibrio sp</i>
29	V637	45	-	2/9/2004	Tôm sú giống	Phát sáng	<i>Vibrio sp</i>
30	V638	48	-	2/9/2004	Tôm sú giống	Phát sáng	<i>Vibrio sp</i>
31	V639	1004	-	-	Tôm sú giống	Phát sáng	<i>Vibrio carchariae</i>
32	V640	1019	-	Vũng Tàu	Tôm sú giống	Phát sáng	<i>Vibrio carchariae</i>
33	V641	H ₂ O.1	-	Bạc Liêu	Tôm sú giống	Phát sáng	<i>Vibrio carchariae</i>
34	V642	H ₂ O.2	-	Bạc Liêu	Tôm sú giống	Phát sáng	<i>Vibrio carchariae</i>
35	V643	2007	Bạc Liêu	3/22/2004	Tôm sú giống	Phát sáng	<i>Vibrio carchariae</i>
36	V644	984	Sóc Trăng	9/6/2004	Tôm sú giống	Phát sáng	<i>Vibrio carchariae</i>
37	V645	2275	Sóc Trăng	5/17/2004	Tôm sú giống	Phát sáng	<i>Vibrio carchariae</i>
38	V646	2288	Sóc Trăng	5/20/2004	Tôm sú giống	Phát sáng	<i>Vibrio carchariae</i>
39	V647	2289	Sóc Trăng	5/21/2004	Tôm sú giống	Phát sáng	<i>Vibrio carchariae</i>
40	V648	2290	Sóc Trăng	5/22/2004	Tôm sú giống	Phát sáng	<i>Vibrio vulnificus</i>
41	V649	2291	Sóc Trăng	5/23/2004	Tôm sú giống	Phát sáng	<i>Vibrio carchariae</i>
42	V650	2320	Sóc Trăng	2/6/2004	Tôm sú giống	Phát sáng	<i>Vibrio carchariae</i>
43	V651	2321	Sóc Trăng	2/7/2004	Tôm sú giống	Phát sáng	<i>Vibrio carchariae</i>
44	V652	2323	-	2/8/2004	Tôm sú giống	Phát sáng	<i>Vibrio carchariae</i>
45	V653	2324	-	2/9/2004	Tôm sú giống	Phát sáng	<i>Vibrio carchariae</i>
46	V654	2330	-	2/10/2004	Tôm sú giống	Phát sáng	<i>Vibrio carchariae</i>
47	V655	2369	Sóc Trăng	9/6/2004	Tôm sú giống	Phát sáng	<i>Vibrio vulnificus</i>
48	V656	2383	-	6/17/2004	Tôm sú giống	Phát sáng	<i>Vibrio carchariae</i>
49	V657	2392	Sóc Trăng	6/22/2004	Tôm sú giống	Phát sáng	<i>Vibrio carchariae</i>

(1) Xác định LD50 và thử nghiệm vaccin phòng bệnh vi khuẩn (*Aeromonas hydrophila*) trên cá Chép (*Cyprinus carpio*) (Đặng Thị Hoàng Oanh, 2002); (2) Thành phần loài và khả năng gây bệnh của nhóm vi khuẩn *Vibrio* phân lập từ hệ thống ương Tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*) (Trần Thị Tuyết Hoa, 2004); (3) Khảo sát tác nhân gây bệnh ký sinh trùng và vi khuẩn trên Tôm càng xanh nuôi trong ao và ruộng lúa ở các tỉnh Đồng Tháp, An Giang, Cần Thơ và Trà Vinh (Nguyễn Tấn Đạt, 2002); (4) Xác định tỉ lệ cảm nhiễm và một số đặc điểm của vi khuẩn phát sáng trên Tôm sú giống (*Penaeus monodon*) (Huỳnh Thị Kim Hương, 2002); (5) Xác định khả năng gây bệnh của vi khuẩn phát sáng trên Tôm sú ở các độ mặn khác nhau và nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của thuốc kháng sinh lên sự phát triển của chúng (Phạm Thị Phương Mai, 2003).

(-) không rõ địa điểm

4 THẢO LUẬN

Toàn bộ 141 chủng vi khuẩn sưu tập được tập trung vào hai nhóm vi khuẩn là *Aeromonas* và *Vibrio* được định danh bằng phương pháp sinh hóa truyền thống.

Bệnh do vi khuẩn *Vibrio* rất phổ biến ở tôm nuôi và thường gặp là 8 loài *Vibrio* như sau: *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. vulnificus*, *V. alguilarum*, *V. harveyi*, *V. damsela*, *V. fluvialis* và *V. cholerae* (Lavilla-Pitogo, 1995 và Lightner, 1996). Theo kết quả phân lập từ ấu trùng tôm bị bệnh của Hào (2002) đã định được các chủng vi khuẩn thường gặp trên tôm trong số đó có *V. cholerae*. Còn theo Macián (1999) cho rằng có nhiều loài *Vibrio* thường gây bệnh trong đó có *V. navarrensis* (13% tổng số vi khuẩn thường gặp). Kết quả định danh của chúng tôi cũng nằm trong số các vi khuẩn *Vibrio* thường gặp.

Việc sưu tập mẫu vi khuẩn gây dịch bệnh trên động vật thủy sản từ các sở thủy sản địa phương gặp nhiều khó khăn. Nguyên nhân do các trung tâm khuyến ngư, các sở thủy sản địa phương phần lớn không có lưu trữ các chủng vi khuẩn gây bệnh khi khảo sát hay phân tích mẫu bệnh phẩm. Cho nên mẫu chỉ chủ yếu được sưu tập từ các đề tài thực hiện ở Khoa Thủy sản, từ những mẫu tôm bệnh từ nơi khác mang đến xét nghiệm hay từ con giống kiểm dịch.

Mặc dù số lượng chưa phong phú và đa dạng về thành phần loài nhưng tất cả các giống loài vi khuẩn này được phân lập và lưu giữ có hệ thống cung cấp thông tin hữu dụng về mẫu vi khuẩn phân lập trên tôm cá nuôi ở vùng Đồng Bằng Sông Cửu Long. Mặt khác các chủng vi khuẩn được phân lập từ nhiều dạng đối tượng nuôi như Tôm sú, Tôm càng xanh, cá ba sa, cá Chép, vv... Mẫu cũng được thu từ nhiều giai đoạn phát triển của tôm cá nuôi nên có thể sử dụng làm mẫu vật chứng cho những thí nghiệm sâu hơn trong tương lai về bệnh thủy sản.

5 KẾT LUẬN

Tổng cộng có 141 chủng vi khuẩn mã hóa cùng với các dữ liệu về đặc điểm sinh học của chúng và bổ sung vào bộ sưu tập vi khuẩn của Khoa thủy sản. Các chủng này được phân lập từ Tôm sú (*Penaeus monodon*), Tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*), cá Chép (*Cyprinus carpio*) và cá tra (*Pangasius hypophthalmus*). Các chủng vi khuẩn này thuộc vào hai nhóm vi khuẩn gây bệnh phổ biến ở tôm và cá nuôi và sẽ là nguồn mẫu vật tốt cho công tác giảng dạy và các nghiên cứu tiếp theo về bệnh thủy sản.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Barrow, G.I. & R.K.A. Feltham. 1993. Covan and Steel's manual for the identification of medical bacteria, 3rd edn. Cambridge University Press, Cambridge.
- Baumann, P., A., L. Furnss and J.V.Lee, 1984. Genus 1 *Vibrio pacini* 1854, 411 al. 518-538 pp. In: Krieig, N.R. and J.G. Holt (eds). Bergeyfs manual of systematic bacteriology, Volume1. William and Wilkins Baltimore.
- Đặng Thị Hoàng Oanh, 2002. Xác định LD50 và thử nghiệm vaccin phòng bệnh vi khuẩn (*Aeromonas hydrophila*) trên cá Chép (*Cyprinus carpio*). Tạp Chí Khoa học. Đại học cần Thơ.
- Đặng Thị Hoàng Oanh, Đoàn Nhật Phương, Nguyễn Minh Hậu và Nguyễn Thanh Phương. 2004. Thiết lập bộ sưu tập vi khuẩn kháng thuốc kháng sinh chloramphenicol tại Khoa Thủy sản, Đại học Cần Thơ. Tạp chí nghiên cứu Khoa học, Đại học Cần Thơ, số 2: 152-157.
- Geert Huys (2002) Preservation of bacteria using commercial cryopreservation systems. Standard Operationg Procedure, Asiaresist.

- Huỳnh Kim Hương, 2002. LVTN. Xác định tỷ lệ cảm nhiễm và một số đặc điểm của vi khuẩn phát sáng trên Tôm sú. Khoa Thủy Sản- Đại học Cần Thơ.
- Lavilla – Pitogo, C.R.,1995. Bacterial diseases of penaeid shrimp: an Asian view. In: Diseases Asian Aquaculture II. 110 pp.
- Lightner, D. V., 1996. A handbook of shrimp pathology and diagnostic procedure for diseases of culture penaeid shrimp. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA 304p.
- Macián, C., C.R. Arias, R. Aznar, E. Garay and M.J. Pujalte, 1999. Identification of *V. spp* (other than *V. vulnificus*) recovered on CPC agar from marine natural samples. *In: Internatl microbiol* (2000), 3:51 pp.
- Nguyễn Tấn Đạt, 2002. LVTN. Khảo sát bệnh ký sinh trùng và vi khuẩn trên Tôm càng xanh nuôi trong ao và ruộng lúa mật độ thấp.
- Nguyễn Văn Hào, 2002. Nghiên cứu một số bệnh thường gặp, các yếu tố nguy cơ chính và các biện pháp phòng trị, dự phòng ở vật nuôi thủy sản. Nhà xuất bản TP Hồ Chí Minh.
- Phạm Thị Phương Mai, 2003. LVTN. Xác định khả năng gây bệnh của vi khuẩn phát sáng trên Tôm sú ở các độ mặn khác nhau và nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của thuốc kháng sinh lên sự phát triển của chúng.
- Trần Thị Tuyết Hoa, 2004. Thành phần loài và khả năng gây bệnh của nhóm vi khuẩn *Vibrio* phân lập từ hệ thống ương Tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*). Tạp Chí Khoa học. Đại học Cần Thơ.
- West, P.A. & R.R. Colwell. 1984. Identification and classification of Vibrionaceae - an overview. Pp. 285-363 in: R.R. Colwell (ed.). *Vibrios in the environment*. John Wiley & Sons, New York.