HỌC VIỆN NÔNG NGHIỆP VIỆT NAM

TRƯƠNG THỊ MỸ HẠNH

NGHIÊN CỨU XÁC ĐỊNH ĐỘNG VẬT THỦY SINH CHỦ YẾU MANG VIRUS GÂY BỆNH ĐỐM TRẮNG Ở TÔM NUÔI NƯỚC LỢ TẠI MỘT SỐ TỈNH MIỀN BẮC

CHUYÊN NGÀNH: DỊCH TỄ HỌC THÚ Y

MÃ SỐ: 9 64 01 08

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ

Hà Nội, 2018

Công trình được hoàn thành tại: Học viện Nông nghiệp Việt Nam .

Người hướng dẫn khoa học 1: PGS.TS. Phan Thị Vân
Người hướng dẫn khoa học 2: PSG.TS. Huỳnh Thị Mỹ Lệ

Phản biện 1: TS. Bùi Quang Tề
Phản biện 2: TS. Phan Quang Minh
Phản biện 3: TS. Thái Thanh Bình

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án cấp Học viện họp tại Học viện Nông nghiệp Việt Nam vào hồi …. giờ …. ngày….. tháng …. năm 2018

Có thể tìm hiểu luận án tại thư viện:
-Thư viện Quốc gia Việt Nam
- Thư viện Học viện Nông nghiệp Việt Nam

PHẦN 1. MỞ ĐẦU

1.1 TÍNH CẤP THIẾT CỦA ĐỀ TÀI

Trong những năm gần đây nuôi tôm nước lợ đã trở thành một ngàng kinh tế quan trọng, có giá trị kim ngạch xuất khẩu cao. Chỉ tính riêng 2016, sản lượng đạt khoảng 657 nghìn tấn (trong đó sản lượng nuôi tôm chân trắng chiếm khoảng 60%) mang lại kim ngạch xuất khẩu khoảng 3,1 tỷ USD. Tuy nhiên, nghề nuôi tôm vẫn còn gặp nhiều thách thức, đặc biệt dịch bệnh do virus đốm trắng (WSSV) gây ra. WSSV đã lưu hành ở Việt Nam từ năm 1993, đến nay bệnh vẫn còn xảy ra ở hộ nuôi, vùng nuôi trên hầu hết các tỉnh thành có thực hành nuôi tôm ở Việt Nam. WSSV lan truyền cho tôm theo cả chiều ngang và chiều dọc. Ở Việt Nam đã kiểm soát tốt WSSV lan truyền theo chiều dọc thông qua thực hiên tốt công tác kiểm dịch tôm bố mẹ trước khi sinh sản. Tuy nhiên, kiểm soát WSSV lan theo chiều ngang còn nhiều hạn chế.

WSSV lan theo chiều ngang thông qua môi trường nuôi, sinh vật mang virus. Trên thế giới, nghiên cứu chỉ ra các sinh vật mang WSSV đã được quan tâm và đến nay xác định được hơn 150 loài sinh vật mang WSSV, trong khi đó ở Việt Nam công bố 5 loài bao gồm tôm he (*Penaeus indicus),* tôm rảo *(Etapenaeus ensis),* tôm bạc (*Metapenaeus lysianassa),* tôm càng xanh *(Macrobrachium rosenbergii*) và giun nhiều tơ (*Perinereis* sp) (Hao *et al.,* 1999, Võ Văn Tuấn và cs., 2010; Phan Thị Vân và cs., 2017) và 3 loài là ốc mượn hồn, mực và tôm tít, công bố nội bộ dưới hình thức báo cáo (Cao Chí Thuận, 2009).

Nghiên cứu bổ sung thêm loài sinh vật mang WSSV là rất quan trọng và đặc biệt cần thiết ở Việt Nam. Vì vậy, chúng tôi tiến hành thực hiện đề tài: "Nghiên cứu xác định động vật thủy sinh chủ yếu

mang virus gây bệnh đốm trắng ở tôm nuôi nước lợ tại một số tỉnh miền Bắc". Kết quả nghiên cứu giúp người nuôi có thông tin và nhận dạng loài sinh vật mang và lan truyền WSSV cho tôm nuôi, là cơ sở khoa học đưa ra biện pháp kiểm soát lan truyền bệnh theo phương thức lan truyền ngang, từ đó nâng cao năng suất và sản lượng tôm.

1.2. MỤC TIÊU NGHIÊN CỨU CỦA ĐỀ TÀI

1.2.1 Mục tiêu chung

Xác định được một số loài động vật thủy sinh chủ yếu có khả năng mang và lan truyền virus đốm trắng gây bệnh cho tôm nuôi nước lợ tại một số tỉnh miền Bắc.

1.2.2 Mục tiêu cụ thể:

Xác định yếu tố nguy cơ gây bệnh đốm trắng do virus cho tôm nuôi nước lợ tại vùng nghiên cứu.

Xác định loài động vật thủy sinh chủ yếu mang virus đốm trắng và có khả năng lan truyền bệnh cho tôm theo phương thức lây truyền ngang.

1.3. PHẠM VI NGHIÊN CỨU

Động vật thủy sinh chủ yếu ở ao nuôi tôm thẻ chân trắng thâm canh, ao lắng và quanh khu vực nguồn cấp nước ở Hải Hòa - Quảng Ninh, Giao Thủy - Nam Định và Quỳnh Liên - Nghệ An. Thời gian thực hiện từ tháng 6/2015 đến tháng 10/2017.

1.4. NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA ĐỀ TÀI

Luận án đã góp phần cung cấp các thông tin về vùng nuôi tôm nước lợ tại Nghệ An, Quảng Ninh và Nam Định, đặc biệt đã chỉ ra 8 yếu tố nguy cơ có liên quan đến nguyên nhân tôm nhiễm bệnh đốm trắng ở vùng nuôi.

Kết quả nghiên cứu của luận án đã thống kê, xác định được 23 loài động vật thủy sinh trong đó có 16 loài xuất hiện nhiều với số lượng lớn hơn được xác định là loài động vật thủy sinh chủ yếu,

chúng bao gồm tôm rảo, tôm càng, tôm gai, cáy đỏ, nòng nọc ếch, ốc đinh, cá bống và 9 loài động vật phù du *(Branchionus angularis, B. budapestinensis, B. calyciflorus, B. plicatilis, B. ucreus, Polyarthra, Microsetella norvegica, Neocalanus gracilis* và *Oithona nana)*.

Kết quả nghiên cứu của luận án đã ghi nhận được 3 loài động vật thủy sinh mang virus và có khả năng truyền bệnh đốm trắng cho tôm nuôi. Trong đó một loài tôm càng (*Macrobranchium nipponense*) mang virus đốm trắng thu được ở tự nhiên và hai loài còn lại là cáy đỏ (*Uca arcuata)* và tôm gai (*Exopalaemon carinicauda*) mang virus đốm trắng trong điều kiện thí nghiệm.

Luận án đã bổ sung vào thành phần sinh vật mang mầm bệnh đốm trắng tại Việt Nam và cả trên thế giới, trong đó 3 loài lần đầu tiên được công bố ở Việt Nam và bổ sung thêm được 1 loài mới (*Uca arcuata*) vào danh sách các sinh vật mang WSSV cho thế giới. Kết quả là cơ sở khoa học góp phần đề xuất giải pháp hạn chế rủi ro bệnh dịch, nâng cao hiệu quả cho nghề nuôi tôm nước lợ ở 3 vùng nghiên cứu nói riêng và ở Việt Nam nói chung.

1.5. Ý NGHĨA KHOA HỌC VÀ THỰC TIỄN CỦA ĐỀ TÀI

Luận án đã phân tích, đánh giá thực trạng vùng nuôi, từ đó chỉ rõ một số yếu tố nguy cơ, nguyên nhân gây ra hiện tượng tôm nhiễm bệnh đốm trắng. Xác định một số loài động vật thủy sinh chủ yếu có khả năng mang và lan truyền WSSV gây bệnh cho tôm nuôi tại Nghệ An, Quảng Ninh và Nam Định, đây được xác định là nguồn mang mầm bệnh do WSSV tiềm ẩn, mối nguy sinh học ở vùng nuôi.

Kết quả đạt được của luận án giúp cho hộ nuôi thuộc vùng nghiên cứu biết rõ yếu tố nguy cơ gây bệnh đốm trắng (white spot disease-WSD) ở tôm nuôi, từ đó nghiêm túc thực hiện các kỹ thuật trong quá trình triển khai vụ nuôi nhằm giảm thiểu các yếu tố nguy

cơ. Đồng thời kết quả giúp người nuôi nhận diện một số động vật đã có khả năng mang và lan truyền WSSV cho tôm nuôi, từ đó có biện pháp ngăn chặn sự xuất hiện của chúng ở khu vực nuôi tôm, đặc biệt trong ao nuôi.

Kết quả nghiên cứu của luận án là tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo nhằm đưa ra các đề xuất giải pháp sinh học mang tính chất thân thiện với môi trường và có hiệu quả ngăn ngừa/loại bỏ sự có mặt của các sinh vật mang mầm bệnh do WSSV trong quá trình nuôi tôm nước lợ, loại bỏ mắt xích lan truyền WSD. Từ đó góp phần khống chế hiệu quả WSD cho nghề nuôi tôm công nghiệp, nâng cao đời sống cho người nuôi, nâng cao kim ngạch xuất khẩu thủy sản nói chung và sản phẩm tôm nuôi nói riêng.

PHẦN 2. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

2.1. NGHỀ NUÔI TÔM NƯỚC LỢ Ở VIỆT NAM

2.1.1. Một số đặc điểm chung của nghề nuôi tôm trên cả nước

Hiện nay loại hình nuôi tôm nước lợ ở Việt Nam rất đa dạng từ nuôi quảng canh, sinh thái, xen vụ, nuôi ghép đến thâm canh, siêu thâm canh. Trong đó mô hình thâm canh, siêu thâm canh sử dụng tôm thẻ chân trắng nuôi là chính, các mô hình còn lại với chủ yếu là tôm sú. Sản lượng tôm xuất khẩu hàng năm tôm thẻ chân trắng chiếm chủ yếu (60% tổng sản lượng). Kim ngạch xuất khẩu tôm hàng năm cao nhất so với các mặt hàng thủy sản khác. Tuy nhiên dịch bệnh xuất hiện ở tôm đang là rào cản lớn ảnh hưởng sản lượng tôm, đặc biệt bệnh do WSSV.

2.1.2 Hiện trạng nuôi tôm tại Quảng Ninh, Nam Định và Nghệ An

Quảng Ninh, Nam Định và Nghệ An là 3 trong số 5 tỉnh có sản lượng tôm lớn nhất miền Bắc, trong đó tập trung chủ yếu tại Hải Hòa

(Quảng Ninh), Giao Thủy (Nam Định) và Quỳnh Lưu (Nghệ An) (Thảo Linh., 2014).

2.2 BỆNH ĐỐM TRẮNG Ở TÔM NUÔI NƯỚC LỢ

WSD là bệnh virus truyền nhiễm ở tôm nuôi nước lợ, tác nhân gây bệnh là WSSV. Nguồn gốc của bệnh bắt nguồn từ Đông Nam Á, sau đó lan rộng ra nhiều nước trên thế giới. Bệnh do WSSV lưu hành ở Việt Nam từ 1993, đến nay bệnh vẫn diễn ra ở các vùng nuôi tôm.

2.2.1 Tác nhân gây bệnh

Hiện nay, WSSV được xếp vào họ mới có tên Nirmaviridae, giống Whispovirus (Yi *et al.,* 2004).

2.2.1.1 Cấu trúc của WSSV

WSSV được tạo thành bởi ít nhất 58 protein, có vỏ bao bọc, nhìn ngoài giống hình trụ/elip. Thể virus hoàn chỉnh có kích thước 275-335nm x 116-138nm.

2.2.1.2 Hệ gen của WSSV

Gen của WSSV là sợi đôi ADN, dạng vòng có kích thước khoảng 300kb.

2.2.2. Dấu hiệu bệnh lý

Tôm bỏ ăn, xuất hiện các đốm trắng tròn dưới lớp vỏ kitin, đặc biệt tập trung ở giáp đầu ngực và đốt bụng cuối cùng, khi tôm gần chết, chúng chuyển sang màu hồng đỏ.

2.2.3. Phương thức lan truyền bệnh đốm trắng

WSSV có khả năng truyền lây phức tạp theo cả hai chiều ngang và dọc.

2.2.4 Yếu tố nguy cơ dẫn đến tôm nhiễm bệnh do WSSV

Tôm nuôi nhiễm WSSV không phải bởi một yếu tố bất kỳ nào mà do đồng thời một số yếu tố tương tác. Yếu tố nguy cơ dẫn đến tôm nhiễm bệnh do WSSV phụ thuộc vào từng vùng nuôi cụ thể.

2.3. SINH VẬT MANG VIRUS ĐỐM TRẮNG GÂY BỆNH Ở TÔM NUÔI

2.3.1. Nghiên cứu sinh vật mang WSSV gây bệnh cho tôm trên thế giới

Năm 1997 số loài sinh vật mang WSSV được công bố là 31 (Sangamaheswaran and Jeyaseelan, 2001), tăng lên 46 loài năm 2006 (Flegel, 2006), sau đó 94 loài năm 2008 (Escobedo-Bonilla *et al.,* 2008; Sánchez-Paz, 2010), tiếp đến 119 loài năm 2014 và đến nay 153 loài.

2.3.1.1. Giáp xác mang virus gây bệnh đốm trắng cho tôm

Xác định được 123 loài giáp xác có khả năng mang virus đốm trắng (Trương Thị Mỹ Hạnh và cs., 2016).

2.3.1.2. Các loài sinh vật phù du mang virus gây bệnh đốm trắng cho tôm

Một số loài sinh vật phù du có khả năng mang virus gây bệnh đốm trắng cho tôm muôi:

a. Thực vật phù du mang virus gây bệnh đốm trắng cho tôm: Có 10 loài thực vật phù du mang WSSV đã được công bố, tất cả đều mang WSSV dưới hình thức gây nhiễm (Jiang, 2012; Liu *et al.,* 2007)

b. Động vật phù du: Có 09 loài động vật phù du mang WSSV đã được công bố thuộc 5 quốc gia bao gồm Mexico, Thái Lan, Ấn Độ, Đài Loan và Trung Quốc (Lo *et al.,* 1995, 1999; Li *et al.,* 2003; Sahul Hameed *et al.,* 2003; Ramirez-Douriet *et al.,* 2005).

2.3.1.3. Các loài sinh vật khác mang virus gây bệnh đốm trắng

a. Nhuyễn thể: xác định hàu (*Crassostrea gigas*) nhiễm WSSV ở mang và tuyến tiêu hóa (Vazquez-Boucard *et al.,* 2012).

b. Giun nhiều tơ: Xác định có 2 loài giun có tên *Marphysa gravelyi* và *Dendronereis* spp mang WSSV (Haryadi *et al.,* 2015)

c. Côn trùng: Có năm loài côn trùng có kết quả dương tính với WSSV, tất cả đều nhiễm WSSV trong điều kiện tự nhiên (Lo *et al.,* 1996; Mohan, 2008).

d. Chim và gà: chim mòng biển và gà nuôi là 2 loài động vật có khả năng mang WSSV (Vanpatten *et al.,* 2004)

2.3.2. Nghiên cứu sinh vật mang WSSV gây bệnh cho tôm ở VN

Đến nay, ở Việt Nam đã xác định được 8 loài động vật có khả năng mang và lan truyền virus đốm trắng gây bệnh cho tôm, trong đó 5 loài *Penaeus indicus*, *Etapenaeus ensis*, *Metapenaeus lysianassa, M. rosenbergii* và *Perinereis* sp được công bố trên tạp chí (Hao *et al.,* 1999, Võ Văn Tuấn và cs., 2010, Phan Thị Vân và cs., 2017) và 3 loài (Ốc mượn hồn, mực và tôm tít) công bố nội bộ thông qua báo cáo (Cao Chí Thuận, 2009).

PHẦN 3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

3.1 ĐỊA ĐIỂM NGHIÊN CỨU

Số hộ điều tra tại vùng nghiên cứu lần lượt là 50 hộ ở Quỳnh Liên-Nghệ An, 45 hộ ở Giao Thủy-Nam Định và 49 hộ ở Hải Hòa-Quảng Ninh.

Phân tích 1432 mẫu động vật thủy sinh tại Trung tâm Quan trắc Môi trường và Bệnh thủy sản miền Bắc, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I.

3.2. THỜI GIAN NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 6/2015 đến tháng 10/2017.

3.3. ĐỐI TƯỢNG VÀ VẬT LIỆU NGHIÊN CỨU

3.3.1. Đối tượng nghiên cứu

Động vật thủy sinh xuất hiện ở ao nuôi tôm thâm canh và quanh khu vực nguồn cấp nước và các hộ nuôi tôm tại vùng nghiên cứu

3.3.2. Vật liệu nghiên cứu

Nguyên liệu: Mẫu WSSV thu tại Quảng Ninh và hải Phòng sử dụng gây nhiễm xác định động vật thủy sinh nhiễm WSSV. Tôm thẻ có kích thước 4-5g/con sử dụng trong thí nghiệm lan truyền bệnh do WSSV. Động vật thủy sinh chủ yếu (tôm càng, tôm gai, ốc đinh, nòng nọc ếch, cá bống và cáy đỏ). Hệ thống bể thí nghiệm 20 cái mỗi loại (300 lít và 20 lít). Bộ câu hỏi điều tra ở nông hộ.

Hóa chất: Kít QIAquick PCR PurificationKit để tinh sạch ADN. Kít tách chiết ADN (QiaGen). Kít tách chiết ARN (IQ2000). Kít RevertAid First Strand cDNA (tổng hợp cDNA). Cặp mồi WSSV366 và COI.

3.3. NỘI DUNG NGHIÊN CỨU

- Điều tra hiện trạng vùng nuôi, đánh giá mối nguy liên quan đến tôm nuôi bị bệnh đốm trắng tại Quảng Ninh, Nghệ An và Nam Định thông qua bộ câu hỏi.
- Nghiên cứu xác định động vật thủy sinh chủ yếu mang WSSV tại vùng nuôi tôm nước lợ ở Nghệ An, Nam Định và Quảng Ninh.
- Nghiên cứu xác định khả năng lan truyền WSSV từ động vật thủy sinh sang tôm thẻ chân trắng trong cùng môi trường nuôi.

3.4. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

3.4.1. Phương pháp điều tra lấy thông tin:

Dùng bộ câu hỏi điều tra chuẩn bị sẵn

3.4.2. Phương pháp thu mẫu, bảo quản và định danh loài động vật thủy sinh

Sử dụng vật dụng chuyên dụng thu các loại mẫu, mẫu được cố định trong cồn với tỷ lệ mẫu: cồn = 1:10, một số lưu giữ âm sâu phục vụ định danh loài.

3.4.3. Phương pháp phân tích bằng sinh học phân tử

Các nội dung nghiên cứu đã sử dụng kỹ thuật PCR để phân tích

1) WSSV trong mẫu động vật thủy sinh thu trong tự nhiên tại vùng nghiên cứu;

2) Xác định WSSV nhân lên trong tế bào vật chủ ở điều kiện thí nghiệm gây nhiễm;

3) Tinh sạch mẫu ADN trước khi giải trình tự gen WSSV thu ở mẫu nhiễm trong điều kiện tự nhiên và giám định loài động vật mang và lan truyền WSSV cho tôm thẻ chân trắng.

3.4.4. Phương pháp tách chiết ADN

Thực hiện theo quy trình của kít tách chiết ADN (Qiagen-DNA).

3.4.5. Phương pháp tách chiết ARN

Thực hiện theo quy trình của Kít tách chiết ARN (IQ2000).

3.4.6. Tổng hợp cDNA

Thực hiện theo kít RevertAid First Strand cDNA.

3.4.7. Khuyếch đại ADN

Sau khi có được ADN của mẫu, tiếp tục cho hóa chất và chạy với chu trình nhiệt tương ứng với cặp mồi WSSV366 và COI, nhằm khuyếch đại ADN mẫu.

3.4.8. Chu trình nhiệt của PCR

Chu trình nhiệt cho 2 cặp mồi bao gồm WSSV366 (phát hiện WSSV) và cặp mồi COI (giám định loài).

3.4.9. Tinh sạch ADN (sản phẩm quá trình điện di)

Thực hiện theo bộ kít QIAquick PCR Purification Kit

3.4.10. Định lượng nồng độ WSSV bằng kỹ thuật Real time PCR

Kỹ thuật Real time PCR với chất huỳnh quang là SYBR Green I được sử dụng để đánh giá nồng độ của virus.

3.5. GÂY NHIỄM XÁC ĐỊNH KHẢ NĂNG MANG WSSV CỦA ĐỘNG VẬT THỦY SINH

3.5.1. Gây nhiễm WSSV lên động vật thủy sinh bằng hình thức tiêm

Phương pháp cảm nhiễm được áp dụng theo (Wu *et al.,* 2005; Kim *et al.,* 2014; Chen *et al.,* 2004)

3.5.2. Gây nhiễm WSSV lên động vật thủy sinh bằng hình thức ngâm

Áp dụng phương pháp cảm nhiễm bằng hình thức ngâm của Chen *et al.,* (2004).

3.6. GÂY NHIỄM XÁC ĐỊNH KHẢ NĂNG LAN TRUYỀN WSSV TỪ ĐỘNG VẬT THỦY SINH SANG TÔM THẺ TRONG CÙNG MÔI TRƯỜNG NUÔI

Sử dụng tôm chân trắng sạch bệnh SPF *L. vannamei* nuôi chung với động vật mang mầm bệnh đốm trắng được gây nhiễm nhân tạo.

3.7. PHÂN TÍCH VÀ XỬ LÝ SỐ LIỆU

Số liệu được xử lý nhờ sự hỗ trợ của phần mềm SPSS 17.0 và thống kê mô tả Excel 2007. Công thức tính OR-tỷ số chênh.

PHẦN 4. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

4.1. ĐIỀU TRA HIỆN TRẠNG VÙNG NUÔI, ĐÁNH GIÁ MỐI NGUY LIÊN QUAN ĐẾN TÔM NUÔI BỊ BỆNH ĐỐM TRẮNG TẠI QUẢNG NINH, NAM ĐỊNH VÀ NGHỆ AN

4.1.1 Thông tin chung về hiện trạng quản lý và bệnh đốm trắng ở tôm nuôi tại vùng nghiên cứu

4.1.1.1 Thực trạng về nuôi tôm tại vùng nghiên cứu theo không gian.

Diện tích ao nuôi tôm ở Nam Định nhỏ nhất (0,05ha/ao) trong khi đó ở Quảng Ninh là 0,2ha/ao và Nghệ an là 0,3ha/ao. Mỗi hộ nuôi thuộc mỗi tỉnh sở hữu số ao nuôi khác nhau, dao động từ 1-8 ao/hộ (Nam Định) 1-9 ao/hộ (Quảng Ninh) và 1-11 ao/hộ (Nghệ An).

Quảng Ninh có tỷ lệ số hộ thấp nhất sử dụng hệ thống ao lắng (39,5%) và 16% sử dụng lưới lọc, tiếp đến Nghệ an có 88% số hộ sử hệ thống ao lắng và 24% hộ sử dụng lưới lọc và cao nhất là Nam Định với 100% hộ lấy nước vào ao qua ao lắng và 33,3% sử dụng lưới lọc.

Trong quá trình nuôi, ở Nam Định số lần bổ sung nước vào ao nuôi ít nhất (0-4 lần/vụ), trong khi đó ở Nghệ An và Quảng Ninh có những hộ nuôi cấp nước vào ao nuôi lần lượt tương ứng 0-8 lần/vụ nuôi và 0-15 lần/vụ nuôi. Đặc biệt, ở Nam Định nguồn nước bổ sung vào ao trong vụ nuôi phần lớn người nuôi lấy từ giếng máy khoan

4.1.1.2. Thực trạng về nuôi tôm tại vùng nghiên cứu theo thời gian

Nhìn chung các hộ nuôi tôm tại Nghệ An và Quảng Ninh bắt đầu thả tôm vào tháng 3 và kết thúc vào tháng 9 hàng năm, ngoại trừ một số hộ tại Nam Định thả nuôi muộn hơn (tháng 4 đến tháng 10).

Ở vụ nuôi thứ nhất, tỷ lệ % trung bình số hộ có tôm bệnh đốm trắng cao nhất ở tháng nuôi thứ nhất (21,9%) và có sự sai khác ý nghĩa đối với tháng thứ 2 và 3 ($p<0,05$), trong khi đó tháng thứ 2 và 3 lần lượt có tỷ lệ 8 và 9,4% và không có sự khác biệt ý nghĩa ($p>0,05$). Ở vụ nuôi thứ 2, tỷ lệ trung bình hộ nuôi có tôm nhiễm bệnh do WSSV gây ra xuất hiện ở tháng nuôi thứ ba là cao nhất (25,4%), tiếp đến tháng nuôi thứ nhất (14,9%) và cuối cùng là tháng nuôi thứ hai (11,5%), tỷ lệ xuất hiện bệnh giữa các tháng trong vụ nuôi 2 có sự khác biệt ý nghĩa với $p<0,05$

4.1.1.3 Thực trạng về nuôi tôm tại vùng nghiên cứu theo đối tượng

Tôm giống thả nuôi được thu mua từ các điểm khác nhau như Nghệ An, Ninh Thuận, Cà Mau, Quảng Trị, Nha Trang và Trung Quốc. Tất cả đều được kiểm dịch bệnh, trong đó có chỉ tiêu WSSV.

Mật độ thả nuôi giao động từ 50-120 con/m^2. Cỡ giống thả ở các nông hộ tại Nghệ An và Quảng Ninh là post 8-12, trong khi đó ở Nam Định sử dụng cỡ giống post 10-15.

4.1.2 Xác định yếu tố nguy cơ liên quan đến bệnh đốm trắng ở tôm chân trắng nuôi tại vùng nghiên cứu

4.1.2.1 Yếu tố nguy cơ liên quan đến bệnh đốm trắng ở tôm theo không gian

Những hộ nuôi tôm thẻ lấy nước vào ao nuôi trực tiếp từ kênh cấp thì tôm nuôi có khả năng nhiễm WSSV cao gấp 6,3 lần so với những hộ nuôi lấy nước vào ao nuôi qua hệ thống ao lắng ($p=0,007$). Tiếp đến trong quá trình nuôi việc bổ sung nước vào ao nuôi cũng là

nguy cơ cao hơn 3,6 lần so với ao không áp dụng kỹ thuật này (p=0,008). Bên cạnh đó, nước được lấy qua lưới lọc rất có ý nghĩa hạn chế tôm nhiễm bệnh do WSSV trong vụ nuôi, ở hộ có sử dụng lưới lọc khi lấy nước thì tôm giảm nguy cơ nhiễm bệnh đốm trắng thấp hơn 3,2 lần so với hộ không áp dụng kỹ thuật này (p=0,016). Khi trong khu vực có hộ nuôi báo đã xuất hiện tôm chân trắng nhiễm bệnh do WSSV thì nguy cơ ao nuôi còn lại trong khu vực này bị WSSV cao hơn gấp 4,6 lần so với những ao nuôi ở khu vực không bị WSSV (p=0,002).

Nguồn nước vào không qua xử lý là điều kiện thuận lợi đưa mầm bệnh vào ao nuôi, do WSSV có thể sống ngoài vật chủ trong môi trường nước biển ở 30^0C ít nhất 30 ngày và trong nước ao nuôi ít nhất 3-4 ngày (Momoyama *et al.,* 1998; Nakano *et al.,* 1998), nếu nguồn nước có mang mầm bệnh là virus gây WSD thì việc truyền lây theo trục ngang sẽ xảy ra (Chou *et al.,* 1998; Venegas1 *et al.,* 1999). Bên cạnh đó việc lấy nước không qua lưới lọc làm tăng khả năng dẫn bước các sinh vật nhỏ bé nhiễm WSSV vào trong ao nuôi (Lo *et al.,* 1996), có rất nhiều loài có kích thước nhỏ như sinh vật phù du bao gồm cả động vật phù du và thực vật phù du được xác định mang WSSV gây WSD cho tôm nuôi (Jiang., 2012; Liu *et al.*, 2007). Trong nghiên cứu này đối với mô hình nuôi thâm canh, việc lấy bổ sung nước vào ao nuôi trong vụ nuôi là yếu tố nguy cơ gây tôm nuôi nhiễm bệnh đốm trắng, kết quả này hoàn toàn trùng hợp với nghiên cứu của (Takahashi *et al.,* 1995).

Bên cạnh đó, kết quả phân tích cũng đã chỉ ra ở vùng nghiên cứu diện tích ao nuôi và mực nước trong ao nuôi không có sự khác biệt ý nghĩa giữa ao tôm không mắc bệnh và ao tôm mắc bệnh do WSSV lần lượt có giá trị p tương ứng là 0,5 và 0,4

4.1.2.2. Yếu tố nguy cơ liên quan đến bệnh đốm trắng ở tôm theo thời gian

Nguy cơ xuất hiện WSSV ở những ao nuôi được thường xuyên kiểm tra môi trường sẽ thấp hơn 3,7 lần so với ao nuôi không thực hành kỹ thuật này (p=0,005).

Các yếu tố nguy cơ trong nghiên cứu này chỉ ra hoàn toàn trùng hợp với các nghiên cứu đã được chỉ ra trước đây nhưng ở dạng mô hình nuôi kết hợp và quảng canh cải tiến tại huyện Cái Nước, tỉnh Cà Mau (Phan Quốc Việt và cs., 2011).

4.1.2.3. Yếu tố nguy cơ liên quan đến bệnh đốm trắng ở tôm theo đối tượng

Nghiên cứu tại vùng nuôi ở Nghệ An, Nam Định và Quảng Ninh cho thấy sử dụng con giống có cỡ nhỏ hơn post 10 thì nguy cơ tôm nhiễm bệnh do WSSV cao hơn gấp 7,5 lần so với giống thả đạt cỡ post > 10 (p=0,002). Bên cạnh đó, vai trò hoạt động giảm sốc cho tôm giống khi thả nuôi cũng được chỉ rõ, ở ao nuôi không áp dụng kỹ thuật giảm sốc cho tôm giống thì tôm nuôi có nguy cơ nhiễm bệnh do WSSV gây ra cao hơn gấp 4,8 lần so với ao có áp dụng kỹ thuật này (p=0,001). Ngoài ra, sự xuất hiện của sinh vật khác ngoài tôm nuôi trong ao nuôi tôm là dấu hiệu báo nguy cơ tôm nuôi nhiễm bệnh do WSSV cao gấp 3,9 lần so với ao nuôi không xuất hiện giáp xác (p=0,006).

Xét về yếu tố nguy cơ là sinh vật khác ngoài tôm chân trắng, kết quả nghiên cứu cho thấy có 11 loài động vật "hoang dã"ghi nhận xuất hiện trong vùng nuôi tôm, trong đó có 5 loài thuộc giáp xác (cáy đỏ, tôm rảo, tôm gai, tôm càng và còng lông). Trong số 11 loài được chỉ ra, có đến 10, 11 loài lần lượt có mặt tại vùng nuôi Nghệ An và Quảng Ninh, trong khi đó tại Nam Định chỉ với 6 loài được phát hiện có mặt trong vùng nuôi (Bảng 4.1).

Bảng 4. 1: Thành phần các loài sinh vật xuất hiện trong vùng nuôi tôm.

TT	Loài sinh vật	Tên khoa học	Vùng nghiên cứu		
			Nghệ An (n=50)	**Nam Định** (n=45)	**Quảng Ninh** (n=49)
1	Cá bống, n(%)	*Gobius* sp	27(54,0)	-	2 (4,1)
2	Cáy đỏ, n(%)	*Uca arcuata*	**17(34,0)**	**8(17,8)**	**13(27,9)**
3	Tôm gai, n(%)	*Exopalaemon carinicauda*	**30(60,0)**	**7(15,6)**	**10(20,4)**
4	Tôm càng, n(%)	*Macrobrachium nipponense*	**17(34,0)**	**11(24,4)**	**5(11,6)**
5	Còng lông, n(%)	*Macrophthalmus convexus*	1(2,0)	-	4(8,2)
6	Ốc đinh, n(%)	*Cerithium cingulata*	**20(40,0)**	**39(86,7)**	**17(34,9)**
7	Dắt, n(%)	*Corbula erythrodon*	2(4,0)	-	-
8	Vẹm, n(%)	*Mytilus* sp	3(6,0)	5 (11,1)	1(2,3)
9	Nòng nọc, n(%)	*Tylototriton* sp	**15(30,0)**	**-**	**5(11,6)**
10	Tôm rảo, n(%)	*Metapenaeus ensis*	4 (8)	6 (13,3)	1(2,3)
11	Giun nhiều tơ, n(%)	*Nephthys polybranchia*	1(2,0)	-	1(2,3)

Ghi chú: (-) không xuất hiện ở hộ nuô

4.2. NGHIÊN CỨU XÁC ĐỊNH ĐỘNG VẬT THỦY SINH CHỦ YẾU MANG WSSV TẠI NGHỆ AN, NAM ĐỊNH VÀ QUẢNG NINH

4.2.1 Động vật thuỷ sinh nhiễm WSSV thu được trong điều kiện tự nhiên

Nghiên cứu đã xác định được 1 loài thuộc giáp xác (tôm càng – *M. nipponense*) nhiễm WSSV với tỷ lệ nhiễm 7,14%.

4.2.2 Động vật thủy sinh chủ yếu mang virus đốm trắng trong điều kiện thí nghiệm

4.2.2.1. Nồng độ WSSV sử dụng trong thí nghiệm gây nhiễm

Thí nghiệm gây nhiễm bằng hình thức ngâm sử dụng WSSV ở nồng độ $1,31x10^7$copy/mL. Thí nghiệm gây nhiễm bằng hình thức tiêm sử dụng WSSV ở nồng độ $1,02x10^6$copy/mL.

4.2.2.2. Động vật thủy sinh nhiễm WSSV trong điều kiện thí nghiệm bằng phương pháp tiêm

Sau 107h (4,5 ngày) gây nhiễm, WSSV đã sao chép nhân lên trong cáy đỏ *U. arcuata* (Hình 4.1), tuy nhiên cáy đỏ nhiễm virus đốm trắng không có dấu hiệu bệnh lý bất thường.

Hình 4. 1: WSSV đã được xác định ở các mẫu sau khi gây nhiễm theo thời gian
1,2,4 và 5: cáy đỏ thu sau 55, 72, 120 và 107h gây nhiễm, 6, 7, mẫu nước thu sau 107 và 175h gây nhiễm, 8,9 cạn bể thu sau 107 và 175h gây nhiễm, 10, 11 và 12 mẫu cáy đỏ, nước và cặn bể của đối chứng, 13 đối chứng dương, 3: Marker 100bp

Kết quả nghiên cứu này phù hợp với kết quả của một số nghiên cứu khác chỉ ra rằng nhiều loài sinh vật thuộc giáp xác như cua xanh, cua bùn… là sinh vật chủ mang WSSV dưới hình thức lây nhiễm tự nhiên và nhân tạo, nhưng WSSV không ảnh hưởng đến vật chủ trong quá trình phát triển (Kanchanaphum *et al.,* 1998).

Đối với cua, WSSV không ảnh hưởng đến tỷ lệ sống đồng thời không gây ra biểu hiện bệnh lý khác thường (Ghosh., 2014; Rajendran *et al.,* 1999), song đây được xác định là mối nguy tiềm ẩn gây bệnh lên tôm theo hình thức lan truyền bệnh theo chiều ngang (Kanchanaphum *et al.,* 1998).

4.2.3 Động vật thủy sinh nhiễm WSSV trong điều kiện thí nghiệm bằng phương pháp ngâm

Nghiên cứu sử dụng độ pha loãng 10^{-2} tương ứng với $1,31x10^{7}$ copy/mL sử dụng gây nhiễm cho 4 động vật thủy sinh, kết quả cho thấy sau 25 ngày theo dõi tỷ lệ nhiễm WSSV tích lũy của 3 đối tương (nòng nọc ếch, cá bống và ốc đinh) là 0%, trong khi đó tỷ lệ nhiễm WSSV của tôm gai là 100% ở ngày thứ 5.

Bên cạnh việc phân tích mẫu với chỉ tiêu WSSV thì các dấu hiệu bệnh lý bằng quan sát cũng được ghi nhận. Tất cả các lô thí nghiệm

cũng như lô đối chứng, động vật gây nhiễm không có sự khác biệt về hoạt động, màu sắc.

4.3. KHẢ NĂNG LAN TRUYỀN WSSV TỪ ĐỘNG VẬT THỦY SINH SANG TÔM THẺ CHÂN TRẮNG TRONG CÙNG MÔI TRƯỜNG NUÔI

4.3.1. Khả năng lây truyền WSSV từ cáy đỏ sang tôm thẻ chân trắng

Kết quả phân tích bằng cách phát hiện mRNA thông qua tổng hợp cDNA của WSSV trong mẫu TCT cho thấy: sau 175h (tức sau 68h nuôi chung) tôm chưa nhiễm WSSV, nhưng sang đến 190 giờ (sau 83 giờ kể từ khi cáy đỏ nhiễm WSSV) một số mẫu tôm đã có kết quả dương tính với WSSV và tỷ lệ số mẫu dương tính tăng dần theo thời gian. Kết thúc thí nghiệm tỷ lệ tích lũy tôm nhiễm WSSV là 81,8%, trong khi đó lô đối chứng cho kết qủa âm tính với WSSV ở cả cáy và tôm.

Kết quả nghiên cứu này đã chỉ ra *U. arcuata* là động vật có khả năng mang và lan truyền WSSV cho tôm nuôi đây là kết quả bổ sung thêm vào danh sách loài mang WSSV trên thế giới, đồng thời là kết quả xác nhận loài cáy đầu tiên ở Việt Nam mang và lan truyền virus cho tôm nuôi. Kết quả nghiên cứu này sẽ là tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo nhằm đưa ra các đề xuất giải pháp loại bỏ sự có mặt của cáy đỏ trong quá trình nuôi tôm nước lợ. Chính vì vậy việc giám định loài bằng sinh học phân tử là cần thiết. Kết quả cho thấy cáy đỏ có tính tương đồng cao với *Uca arcuata* (99%) (Hình 4.2). Vậy kết quả định danh bằng hình thái học hoàn toàn trùng khớp với định danh bằng sinh học phân tử với cặp mồi COI.

Hình 4. 2: Kết quả định danh cáy đỏ bằng sinh học phân tử

***(A)** Sản phẩm PCR của mẫu cáy đỏ chạy với cặp mồi COI: ADN của cáy đỏ được khuếch đại bởi mồi COI (giếng 2), 200 bp DNA marker (giếng M). **(B)** Giản đồ giải trình tự gen COI của mẫu cáy đỏ. **(C)** Kết quả BLAST trình tự COI của cáy*

*đỏ. **(D)** So sánh trình tự gen của cáy đỏ (C1) với các trình tự tham chiếu; các vị trí có sai khác nucleotide được đóng khung*

4.3.2. Khả năng lan truyền WSSV từ tôm càng sang tôm thẻ chân trắng

WSSV từ tôm càng sang TCT nuôi ở ngày thứ 5 sau khi cảm nhiễm với tỷ lệ 25% mẫu nhiễm, trong khi đó mẫu tôm càng có tỷ lệ nhiễm WSSV là 100% (Bảng 4.2). Số mẫu tôm thẻ 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; 66,7; 83,3 và 100% (Bảng 4.2). Trong khi đó, lô đối chứng các mẫu phân tích tiếp tục có kết quả âm tính đối với WSSV ở cả tôm thẻ và tôm càng (Bảng 4.2).

Bảng 4.2: Kết quả phân tích WSSV ở tôm càng và tôm thẻ trong thí nghiệm xác định khả năng lan truyền WSSV

Thời gian (ngày[1])	Tỷ lệ mẫu dương tính WSSV (%)			
	Lô gây nhiễm WSSV		Lô đối chứng	
	Tôm càng (n=33)	Tôm thẻ (n=33)	Tôm càng (n=22)	Tôm thẻ (n=22)
5	100	25	0	0
10	100	66,7	0	0
15	100	83,3	0	0
20	100	100	0	0
25	100	100	0	0
Tỷ lệ nhiễm tích lũy (%)	100	75,0	0	0

Ghi chú: [1] thời gian thu mẫu sau khi cảm nhiễm
Điều kiện thí nghiệm: độ mặn 8-9‰, nhiệt độ 27-29^{0}C

Kết quả nghiên cứu xác định *M. nipponense* nhiễm WSSV trong điều kiện tự nhiên và có khả năng lan truyền WSSV tôm thẻ

nuôi là nghiên cứu đầu tiên được công bố ở Việt Nam. Đối với tôm thuộc giống Macrobrachium, hiện nay đã xác định được 3 loài bao gồm *M. idella, M. lamerrae, M. rosenbergii* có khả năng mang và lan truyền WSSV cho tôm nuôi (Đặng Hoàng Oanh và cs., 2012; Sahul Hameed *et al.,* 2000), trong đó *M. rosenbergii* được xác định có khả năng đáp miễn dịch tốt với WSSV (Sarathi *et al.,* 2008).

Hình 4.3: Kết quả định danh tôm càng bằng sinh học phân tử

***(A)** Sản phẩm PCR của mẫu tôm càng chạy với cặp mồi COI: ADN của tôm càng được khuyếch đại bởi mồi COI (giếng 1), 200 bp DNA marker (giếng M). **(B)** Giản đồ giải trình tự gen COI của mẫu tôm càng. **(C)** Kết quả BLAST trình tự COI của tôm càng. **(D)** So sánh trình tự gen của tôm càng (C1) với các trình tự tham chiếu; các vị trí có sai khác nucleotide được đóng khung*

Để cảnh báo cho người nuôi nhận dạng loài tôm càng và loại bỏ sự có mặt của chúng trong quá trình nuôi TCT cũng như tôm sú, thì việc giám định lại tên loài bằng phương pháp có độ tin cậy cao là cần thiết. Kết quả giám định bằng sinh học phân tử cho thấy tôm càng có độ tương đồng cao với *M. nipponense* (99-100%) (Hình 4.3). Như vậy kết quả định danh loài bằng hình thái học hoàn toàn trùng khớp với kết quả định dang bằng sinh học phân tử với cặp mồi COI.

4.3.3 Khả năng lan truyền WSSV từ tôm gai sang tôm thẻ chân trắng

Thí nghiệm được bố trí nhằm xác định khả năng lan truyền WSSV từ tôm gai sang tôm thẻ khi chúng được nuôi trong cùng một môi trường nước. Sau 5 ngày gây nhiễm tôm gai có kết quả dương tính với virus đốm trắng 100% trong khi đó tôm thẻ chân trắng đạt 41,7%, tỷ lệ này tăng dần theo thời gian ở các ngày thí nghiệm tiếp theo đạt 91,7% (ngày thứ 10) và 100% từ ngày thứ 15 trở về sau, bên cạnh đó lô đối chứng cả tôm gai và tôm thẻ đều cho kết quả âm tính với WSSV từ ngày đầu thí nghiệm đến khi kết thúc thí nghiệm (Bảng

4.3). Trong suốt quá trình thí nghiệm tôm gai không có biểu hiện bất thường, chúng vẫn bắt mồi, hoạt động bình thường dù có kết quả dương tính với virus đốm trắng từ ngày thứ 5 của thí nghiệm.

Kết quả nghiên cứu này hoàn toàn trùng hợp với nghiên cứu trước đây khi chỉ ra *E. carinicauda* nhiễm WSSV trong cả điều kiện tự nhiên và thí nghiệm (Lei *et al.,* 2002; OIE 2016).

Hơn nữa, kết quả nghiên cứu của Duan *et al.,* (2015, 2014) và Wang *et al.,* (2013) đã chỉ ra WSSV không ảnh hưởng đến loài tôm *E. carinicauda*. Nguyên nhân được xác định WSSV không ảnh hưởng đến tôm gai do bởi 1 loài protein có tên EcCRT cư trú trong mang, gan tụy, cơ, buồng trứng, ruột, dạ dày và mắt, đặc biệt với mức biểu hiện cao nhất trong hemocytes và trong buồng trứng. EcCRT đóng vai trò quan trọng trong việc điều hòa ion Ca^{2+} trong cơ thể, phân tử ion này có vai trò trong việc đáp ứng miễn dịch tự nhiên với một số tác nhân virus, trong đó có WSSV (Duan *et al.,* 2014, 2015; L. Wang *et al.,* 2013).

Bảng 4. 3: Kết quả phân tích WSSV ở tôm gai và tôm thẻ trong thí nghiệm xác định khả năng lan truyền WSSV

Thời gian (ngày[1])	Tỷ lệ mẫu dương tính WSSV (%)			
	Lô cảm nhiễm WSSVV		Lô đối chứng	
	Tôm gai	Tôm thẻ	Tôm gai	Tôm thẻ
5	100	41,7	0	0
10	100	91,7	0	0
15	100	100	0	0
20	100	100	0	0
22	100	100	0	0
Tỷ lệ nhiễm tích lũy (%)	100	86,6	0	0

Ghi chú: [1] thời gian thu mẫu sau khi cảm nhiễm

Tương tự như cáy đỏ và tôm càng thì tôm gai được giám định loài bằng phương pháp sinh học phân tử sau khi xác định là loài có khả năng mang và lan truyền WSSV sang tôm thẻ nuôi cùng môi trường nước. Mẫu tôm gai được khuyếch đại ADN với cặp mồi COI, kết quả điện di cho thấy hình ảnh sản phẩm có độ dài tương ứng khoảng 700bp (Hình 4.4A). Sản phẩm PCR đặc hiệu sau khi tinh sạch được giải trình tự và thu được các đỉnh tín hiệu rõ ràng (Hình 4.4B). Kết quả BLAST tìm kiếm các trình tự tương đồng có trên ngân hàng Genbank cho thấy mẫu tôm gai có tương đồng rất cao với loài *Exopalaemon carinicauda* với độ tương đồng 99-100% (Hình 4.4C). Ở độ tượng đồng 99% với 4 mẫu *Exopalaemon carinicauda* xác định có 7 đột biến điểm (Hình 4.4D). Như vậy kết quả định danh theo hình thái học hoàn toàn trùng khớp với kết quả định danh bằng sinh học phân tử với cặp mồi COI.

Hình 4. 4: Kết quả định danh tôm gai bằng sinh học phân tử

(A) *Sản phẩm PCR của mẫu tôm gai chạy với cặp mồi COI: ADN của tôm gai được khuyếch đại bởi mồi COI (giếng 2), 500 bp DNA marker (giếng M).* ***(B)*** *Giản đồ giải trình tự gen COI của mẫu tôm gai.* ***(C)*** *Kết quả BLAST trình tự COI của tôm gai.* ***(D)*** *So sánh trình tự gen của tôm gai (C1) với các trình tự tham chiếu; các vị trí có sai khác nucleotide được đóng khung*

PHẦN 5. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

5.1. Kết luận

1) Điều tra hiện trạng vùng nuôi, đánh giá mối nguy liên quan đến tôm nuôi bị bệnh đốm trắng tại 3 tỉnh Quảng Ninh, Nghệ An và Nam Định.

Luận án đã thu mẫu và thống kê xác định 23 loài động vật thủy sinh xuất hiện vùng nuôi tôm tại Nghệ An, Quảng Ninh và Nam Định. Trong đó 16 loài xuất hiện với tần suất cao bao gồm; tôm rảo,

tôm càng, tôm gai, cáy đỏ, nòng nọc ếch, ốc đinh, cá bống và 9 loài động vật phù du.

Có 8 yếu tố được xác định là mối nguy liên quan đến dịch bệnh đốm trắng ở tôm tại các tỉnh Nghệ An, Nam Định và Quảng Ninh bao gồm lấy nước vào ao không qua hệ thống ao lắng, không sử dụng lưới lọc khi lấy nước, thả giống với cỡ nhỏ hơn post 10, không giảm sốc khi thả tôm nuôi, bổ sung nước vào ao nuôi trong quá trình nuôi, ao nằm trong vùng nuôi có ao bệnh, không kiểm tra môi trường nước ao nuôi thường xuyên và xuất hiện giáp xác trong ao nuôi.

2) Nghiên cứu xác định động vật thủy sinh chủ yếu mang virus đốm trắng tại vùng nuôi tôm nước lợ ở Nghệ An, Nam Định và Quảng Ninh.

Xác định được 3 loài động vật thủy sinh chủ yếu trong số 16 loài mang virus đốm trắng, trong đó tôm càng (*Macrobranchium nipponense*) mang virus đốm trắng thu được trong điều kiện tự nhiên, cáy đỏ *(Uca arcuata)* và tôm gai (*Exopalaemon carinicauda*) mang virus đốm trắng trong điều kiện thí nghiệm.

3) Nghiên cứu xác định khả năng lan truyền WSSV từ động vật thủy sinh sang tôm chân trắng trong cùng môi trường nuôi

Tôm càng, cáy đỏ và tôm gai là những vector lây truyền và gây bệnh đốm trắng cho tôm chân trắng *L. vannamei*

Nghiên cứu bổ sung 3 loài mới là tôm càng, tôm gai và cáy đỏ vào danh sách sinh vật mang và lan truyền mầm bệnh đốm trắng cho tôm nuôi ở Việt Nam. Trong đó, bổ sung 1 loài mới là cáy đỏ vào danh sách loài sinh vật mang mầm bệnh đốm trắng cho tôm nuôi trên thế giới.

Kết quả giám định loài cho thấy ADN của tôm càng, cáy đỏ và tôm gai có kết quả tương đồng 99-100% với các loài tương ứng trên ngân hàng gen. Kết quả phân lập định danh loài bằng hình thái học hoàn toàn trùng khớp với kết quả định danh bằng sinh học phân tử.

5.2. Đề xuất

Với những kết quả đạt được của luận án cũng nhưng những hạn chế chưa thực hiện được trong nghiên cứu này, chúng tôi đưa ra một số đề xuất sau:

Tiếp tục nghiên cứu thu mẫu động vật thủy sinh phân tích theo phương pháp cắt dọc để xác định động vật mang virus trong điều kiện thu mẫu tự nhiên. Nghiên cứu thí nghiệm gây nhiễm xác định khả năng mang WSSV của nhóm động vật phù du xuất hiện chủ yếu ở vùng nghiên cứu.

Thông tin rộng rãi đến hộ nuôi về 3 loài mang và truyền virus đốm trắng cho tôm nuôi và một số đặc điểm cơ bản nhận dạng.

Xây dựng mô hình nuôi có can thiệp ngăn ngừa sự xâm nhập của các sinh vật mang và lây truyền bệnh đốm trắng nhằm giảm thiểu dịch bệnh đốm trắng cho tôm nuôi nước lợ ở các vùng nuôi Nghệ An, Quảng Ninh và Nam Định.

Tiếp tục nghiên cứu xác định khả năng mang mầm bệnh virus đốm trắng đối với 9 loài động vật phù du được xác định hiện diện phổ biến ở các vùng nuôi tôm tại Quảng Ninh, Nghệ An, Nam Định

NHỮNG CÔNG TRÌNH CỦA TÁC GIẢ ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. Trương Thị Mỹ Hạnh, Huỳnh Thị Mỹ Lệ, Đặng Thị Lụa, Lê Thị Mây và Phan Thị Vân (2016). Sinh vật mang vi rút gây bệnh đốm trắng trên tôm. Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn, Kỳ 2, Tháng 5: 85-97.
2. Trương Thị Mỹ Hạnh, Huỳnh Thị Mỹ Lệ, Phạm Thế Việt và Phan Thị Vân (2017). Đánh giá khả năng lây nhiễm vi rút đốm trắng từ cáy đỏ (*Uca* sp.) sang tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*). Tạp chí Khoa học Nông Nghiệp Việt Nam, Tập 15, Số 2: 198-204
3. Trương Thị Mỹ Hạnh, Phan Trọng Bình, Phạm Thế Việt, Huỳnh Thị Mỹ Lệ và Phan Thị Vân (2017). Nghiên cứu sự nhiễm vi rút đốm trắng (WSSV) ở tôm càng (*Macrobrachium nipponense*) và khả năng lan truyền bệnh sang tôm thẻ (*Litopenaeus vannamei*). Tạp chí Khoa học Công Nghệ Việt Nam. Tập 19, Số 8: 33-38