

# THÀNH PHẦN LOÀI VI KHUẨN TRÊN NGHÊU NUÔI (*Meretrix lyrata*) QUA CÁC ĐỢT DỊCH CHẾT HÀNG LOẠT TẠI CÁC TỈNH VEN BIỂN VIỆT NAM

Bùi Ngọc Thanh<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Hạnh<sup>1</sup>, Phạm Thị Yến<sup>1</sup> và Phan Thị Vân<sup>1</sup>

## TÓM TẮT

Hiện nay, nghêu Bến Tre *Meretrix lyrata* là đối tượng nuôi quan trọng ở vùng bãi triều nhiều tỉnh ven biển Việt Nam bởi giá trị ở cả thị trường nội địa và xuất khẩu. Tuy nhiên, trong những năm gần đây hiện tượng nghêu chết hàng loạt đã xảy ra làm suy giảm nghiêm trọng sản lượng nghêu của cả nước. Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định thành phần loài và tỷ lệ nhiễm vi khuẩn trên nghêu nuôi trong các đợt dịch bệnh chết hàng loạt. Tổng số 558 mẫu nghêu thu được qua 11 đợt dịch chết hàng loạt trong 2 năm từ tháng 2/2012 đến tháng 6/2013 tại Hải Phòng, Nam Định, Thái Bình, Thanh Hóa, TP. Hồ Chí Minh, Bến Tre và Bạc Liêu. Vi khuẩn được phân lập từ tim nghêu bằng phương pháp nuôi cấy trên môi trường tổng hợp Nutrient Agar (thạch dinh dưỡng) có bổ sung 2% NaCl, môi trường chọn lọc TCBS và Kit API 20E được sử dụng để định danh vi khuẩn. Kết quả nghiên cứu cho thấy nghêu có hiện tượng nhiễm khuẩn cao với tỷ lệ nhiễm chung là 68,78%, trong đó nghêu thu tại Hải Phòng có tỷ lệ nhiễm 71,78%, Nam Định 54,00%, Thái Bình 80,65%, Thanh Hóa 40,49%, TP. Hồ Chí Minh 94%, Bến Tre 80% và Bạc Liêu 100%. Nghiên cứu đã xác định được tổng số 18 loài vi khuẩn thuộc 5 giống khác nhau trong đó chủ yếu là giống *Vibrio*, đặc biệt là môi trường đều có 1-2 loài vi khuẩn chiếm ưu thế - có tỷ lệ nhiễm cao hơn so với các loài khác. Loài ưu thế trên nghêu thu được tại Hải Phòng là *V. alginolyticus* (29,44%); tại Nam Định là *V. parahaemolyticus* (54%); tại Thái Bình là *V. fisheri* (43%) và *V. vulnificus* (39,7%); tại Thanh Hóa là *V. tubiashii* (12,4%) và *V. tapetis* (11,5%); tại TP. Hồ Chí Minh là *V. ichthyoenteri* (94%); trong khi đó tại Bến Tre là *V. vulnificus* (56,66%) và *V. ichthyoenteri* (40%); tại Bạc Liêu là *V. alginolyticus* (80,95%). Hầu hết các loài vi khuẩn ưu thế này đã từng được ghi nhận là tác nhân gây bệnh ở động vật thủy sản. Kết quả nghiên cứu này bước đầu xác định được sự có mặt và tần suất bất gặp của một số loài *Vibrio* có khả năng gây bệnh từ nghêu nuôi trong các đợt dịch chết hàng loạt, tuy nhiên, vai trò của những loài vi khuẩn này đối với hiện tượng nghêu chết hàng loạt gần đây tại Việt Nam cần phải được làm rõ trong các nghiên cứu tiếp theo.

Từ khóa: Bệnh nhuyễn thể, chết hàng loạt, *Meretrix lyrata*, nghêu, vi khuẩn, *Vibrio*.

## 1. MỞ ĐẦU

Nghề nuôi nghêu đang ngày một phát triển, sản lượng từ nghề nuôi vượt trội so với từ khai thác tự nhiên. Theo thống kê của FAO (2009), tổng sản lượng nghêu trên toàn thế giới năm 2009 đạt 5.648.070 tấn, tăng gần 1 triệu tấn so với năm 2000 (4.941.572 tấn) với giá trị khoảng 3,8 tỷ USD, trong đó sản lượng nghêu nuôi là 4.262.787 tấn, chiếm 75,5%. Một số loài nghêu nuôi phổ biến và có sản lượng cao ở khu vực châu Á như *Meretrix meretrix* và *M. lyrata* (Ju-Shey Ho và Zheng, 1994), *M. lusoria* (Jeng và Tyan, 1982).

Ở Việt Nam *M. lyrata* phân bố tự nhiên ở các tỉnh phía Nam, chủ yếu ở Bến Tre nhưng đến nay loài này được nuôi phổ biến ở nhiều tỉnh/ thành phía Bắc như Hải Phòng, Nam Định, Thanh Hóa, Thái Bình. Diện tích nuôi nghêu hiện nay là 17.730 ha, chiếm 74,3% tổng diện tích nuôi nhuyễn thể, đạt sản

lượng đạt 168.290 tấn, chiếm tỉ trọng 83% tổng sản lượng nhuyễn thể (Tổng cục Thủy sản (TCTS), 2011). Tuy nhiên, hiện tượng nghêu chết hàng loạt xảy ra trong mấy năm gần đây đã làm thiệt hại lớn về kinh tế (Cục Thú y, 2011). Năm 2011, chỉ tính riêng ở 3 tỉnh phía Nam là Bến Tre, Tiền Giang và Bạc Liêu, tổng diện tích thiệt hại lên tới 2.980 ha tương ứng với lượng nghêu chết khoảng 30.000 tấn, ước tính giá trị thiệt hại là 648 tỷ đồng (TCTS, 2011).

Sau khi khảo sát tại các vùng nuôi có xảy ra hiện tượng nghêu chết hàng loạt, nhận định bước đầu cho rằng nắng nóng kéo dài dẫn tới nhiệt độ và độ mặn tăng cao được cho là một trong những nguyên nhân quan trọng làm nghêu chết (TCTS, 2011; Bùi Đức Thuyết và Trần Văn Dũng, 2013). Nghiên cứu về tác nhân gây bệnh đã phát hiện *Perkinsus* sp nhiễm với tỷ lệ cao (Ngô Thị Ngọc Thủy, 2011) và có sự hiện diện một số loài vi khuẩn, trong đó chủ yếu là *V. alginolyticus* và *V. vulnificus* (Nguyễn Thị Thu Hiền và Trần Thị Nguyệt Minh, 2012). Mặc dù vậy, vẫn còn nhiều quan điểm khác nhau về nguyên nhân và

<sup>1</sup> Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I



tác nhân gây bệnh làm nghề nuôi thương phẩm chết hàng loạt. Trong nghiên cứu này, trên quy mô lớn hơn, chúng tôi muốn đánh giá thành phần loài vi khuẩn nhiễm trên nghề qua các đợt nghề nuôi thương phẩm chết hàng loạt xảy ra tại 7 tỉnh có diện tích nuôi nghề lớn nhất trong cả nước.

**2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

**2.1. Vật liệu, thời gian và địa điểm**

Vật liệu nghiên cứu là 558 mẫu nghề chủ yếu là kích cỡ thương phẩm thu được từ 11 đợt dịch làm chết nghề xảy ra tại 7 tỉnh, thành dọc ven biển cả nước bao gồm Hải Phòng, Nam Định, Thái Bình, Thanh Hóa, thành phố Hồ Chí Minh, Bến Tre và Bạc Liêu từ tháng 2 năm 2012 đến tháng 6 năm 2013 (bảng 1).

Mẫu nghề được vận chuyển sống về Phòng Bệnh Thủy sản - Trung tâm Nghiên cứu Quan trắc, cảnh báo Môi trường và Phòng ngừa Dịch bệnh thủy sản Khu vực miền Bắc, thuộc Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản 1 tại Đình Bảng, Từ Sơn, Bắc Ninh.

**Bảng 1. Vật liệu nghiên cứu**

| Địa điểm                      | Tỷ lệ Nghề chết (%) | Thời gian | Số mẫu thu (cá thể) |
|-------------------------------|---------------------|-----------|---------------------|
| Cát Hải, Hải Phòng            | 70-80               | 3/2013    | 163                 |
| Giao Thủy, Nam Định           | 70-80               | 4/2013    | 50                  |
| Tiền Hải, Thái Bình           | 70                  | 4/2012    | 45                  |
|                               | 90                  | 4/2013    | 48                  |
| Hậu Lộc, Hoàng Hoa, Thanh Hoa | 60-80               | 2/2012    | 41                  |
|                               | 50-70               | 4/2013    | 80                  |
| Cần Giờ, TP HCM               | 60                  | 6/2013    | 50                  |
| Bình Đại, Ba Tri, Bến Tre     | 70                  | 6/2012    | 50                  |
|                               | 20-30               | 3/2013    | 5                   |
|                               | 50-60               | 6/2013    | 5                   |
| Bạc Liêu                      | 80                  | 10/2012   | 21                  |

**2.2. Phân lập và định danh vi khuẩn**

Nghề được giải phẫu bằng cách cắt đứt cơ khép vỏ, sử dụng que cấy khử trùng trên ngọn lửa đèn cồn sau đó lấy mẫu từ tim nghề và cấy lên 2 môi trường khác nhau; môi trường tổng hợp NA (Nutrient Agar) có bổ sung 2% NaCl và môi trường chọn lọc Vibrio TCBS (Thiosulfate-citrate-bile salts-sucrose agar). Tiến hành ủ mẫu nuôi cấy trong tủ ấm ở nhiệt độ 29°C và kiểm tra sự phát triển của khuẩn lạc sau 24 h. Chọn một khuẩn lạc điển hình mọc riêng rẽ trên đường cấy, cấy chuyển sang đĩa môi trường môi NA bổ sung 2% NaCl để nuôi cấy thuần, tiếp tục ủ trong tủ ấm trong vòng 24 h để vi khuẩn thuần phát triển.

Chọn 1 khuẩn lạc từ đĩa môi trường nuôi cấy thuần pha loãng thành dịch huyền phù bằng NaCl 2%

trong ống eppendoft. Sử dụng Kit API-20E để thử phản ứng sinh hóa bằng cách lấy đúng dịch vi khuẩn pha trong NaCl 2% nhỏ lên các giếng phản ứng của tets API và ủ trong tủ ấm ở nhiệt độ 29°C, sau 24 h đọc kết quả phản ứng sinh hóa và tra cứu loài trên website được cung cấp bởi nhà sản xuất <https://apiweb.biomerieux.com/servlet/Authentication?action=prepareLogin>.

**2.3. Phân tích số liệu**

Nhập số liệu và vẽ bảng biểu được thực hiện trên Excel Microsoft Office 2010. Tỷ lệ nhiễm vi khuẩn (TLN) được tính theo công thức sau:

$$TLN (\%) = \frac{\text{Số mẫu nhiễm}}{\text{Số mẫu kiểm tra}} \times 100$$

Tỷ lệ nhiễm các loài vi khuẩn khác nhau trong cùng một vùng nuôi được so sánh bằng “Chi-square with Yates correction” sự khác biệt có ý nghĩa thống kê được xác định khi P<0,05 dựa trên phần mềm Graphpad.

**3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU**

**3.1. Tỷ lệ nhiễm khuẩn trên nghề qua các đợt dịch chết hàng loạt tại một số tỉnh ven biển Việt Nam**  
**Bảng 2. Tỷ lệ nhiễm khuẩn trên nghề thu được qua các đợt dịch chết hàng loạt tại một số tỉnh thành ven biển Việt Nam**

| Địa điểm        | Số mẫu nhiễm khuẩn (cá thể) | Tỷ lệ nhiễm khuẩn (%) |
|-----------------|-----------------------------|-----------------------|
| Hải Phòng       | 117                         | 71,78 <sup>a</sup>    |
| Nam Định        | 27                          | 54,00 <sup>b</sup>    |
| Thái Bình       | 75                          | 80,65 <sup>a</sup>    |
| Thanh Hóa       | 49                          | 40,49 <sup>b</sup>    |
| TP. Hồ Chí Minh | 47                          | 94,00 <sup>c</sup>    |
| Bến Tre         | 48                          | 80,00 <sup>a</sup>    |
| Bạc Liêu        | 21                          | 100 <sup>c</sup>      |

*Ghi chú: trong cùng 1 cột, số mũ khác nhau giá trị tỷ lệ nhiễm khác nhau có ý nghĩa về mặt thống kê (P<0,05) và ngược lại.*

Nghiên cứu qua các đợt dịch gây chết hàng loạt ở nghề, chủ yếu nghề nuôi thương phẩm tại 7 tỉnh và thành phố trong cả nước cho thấy vai trò quan trọng của vi khuẩn, chủ yếu là vi khuẩn Vibrio. Tỷ lệ nhiễm khuẩn chung trên nghề thu được từ các vùng nuôi đang xảy ra hiện tượng chết hàng loạt là 68,81%, dao động 40,49% - 100% (bảng 2). Có sự biến động về tỷ lệ nhiễm khuẩn trên nghề thu được từ các vùng nuôi khác nhau. Nghề thu được từ các đợt dịch ở Bạc Liêu và thành phố Hồ Chí Minh có tỷ lệ nhiễm vi khuẩn cao nhất, tiếp đến là Thái Bình, Bến Tre và



Hải Phòng. Tỷ lệ nhiễm khuẩn thấp nhất trên nghêu thu được tại Thanh Hóa và Nam Định lần lượt là 40,49% và 54%.

3.2. Thành phần loài và tỷ lệ nhiễm vi khuẩn nhiễm trên nghêu qua các đợt dịch chết hàng loạt tại một số tỉnh ven biển Việt Nam

Bảng 3. Thành phần loài và tỷ lệ nhiễm vi khuẩn trên nghêu qua các đợt dịch chết hàng loạt tại một số tỉnh ven biển Việt Nam

| STT | Thành phần loài                                     | Số mẫu nhiễm (cả thể) | Tỷ lệ nhiễm (%)     |
|-----|-----------------------------------------------------|-----------------------|---------------------|
| 1   | <i>V. vulnificus</i>                                | 91                    | 16,38 <sup>a</sup>  |
| 2   | <i>V. alginolyticus</i>                             | 88                    | 15,69 <sup>a</sup>  |
| 3   | <i>V. ichthyoenteri</i>                             | 70                    | 12,59 <sup>a</sup>  |
| 4   | <i>V. parahaemolyticus</i>                          | 69                    | 12,41 <sup>a</sup>  |
| 5   | <i>V. fischeri</i>                                  | 38                    | 6,89 <sup>b</sup>   |
| 6   | <i>V. splendidus</i>                                | 37                    | 6,72 <sup>b</sup>   |
| 7   | <i>V. tubiashii</i>                                 | 14                    | 2,59 <sup>c</sup>   |
| 8   | <i>V. ordalii</i>                                   | 13                    | 2,41 <sup>c</sup>   |
| 9   | <i>V. tapetis</i>                                   | 10                    | 1,72 <sup>c,d</sup> |
| 10  | <i>Pseudomonas</i> sp.                              | 9                     | 1,55 <sup>c,d</sup> |
| 11  | <i>Photobacterium damsela</i> subsp. <i>damsela</i> | 6                     | 1,03 <sup>c,d</sup> |
| 12  | <i>Vibrio agarivorans</i>                           | 4                     | 0,69 <sup>d</sup>   |
| 13  | <i>V. anguillarum</i>                               | 3                     | 0,52 <sup>d</sup>   |
| 14  | <i>Vibrio</i> sp.                                   | 3                     | 0,52 <sup>d</sup>   |
| 15  | <i>Streptococcus</i> sp.                            | 2                     | 0,34 <sup>d</sup>   |
| 16  | <i>V. harveyi</i>                                   | 2                     | 0,34 <sup>d</sup>   |
| 17  | <i>V. logei</i>                                     | 1                     | 0,17 <sup>d</sup>   |
| 18  | <i>Flavobacterium</i> sp.                           | 1                     | 0,17 <sup>d</sup>   |

Ghi chú: trong cùng 1 cột, số mũ khác nhau giá trị tỷ lệ nhiễm khác nhau có ý nghĩa về mặt thống kê ( $P < 0,05$ ) và ngược lại.

Nghiên cứu xác định được 18 loài vi khuẩn nhiễm trên nghêu thu được qua các đợt dịch chết hàng loạt tại 7 tỉnh nghiên cứu. Các loài vi khuẩn bao gồm *Vibrio vulnificus*, *V. alginolyticus*, *V. ichthyoenteri*, *V. parahaemolyticus*, *V. fischeri*, *V. splendidus*, *V. tubiashii*, *V. ordalii*, *V. tapetis*, *V. agarivorans*, *V. anguillarum*, *V. harveyi*, *Vibrio* sp., *Pseudomonas* sp., *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* và *Streptococcus* sp (bảng 3). Trong các loài vi khuẩn phân lập và định danh được, 4 loài vi khuẩn là *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*, *V. ichthyoenteri* và *V. parahaemolyticus* có tỷ lệ nhiễm cao nhất tương ứng là 16,73%, 15,86%, 12,59% và 12,41%. Vi khuẩn *V. fischeri* và *V. splendidus* có tỷ lệ

nhiễm chung thấp hơn 4 loài vi khuẩn nói trên, tương ứng là 6,89% và 6,72%. Các loài vi khuẩn còn lại tỷ lệ nhiễm chung thấp dao động từ 2,59% ở *V. tubiashii* đến 0,17% ở *Flavobacterium* sp. (chi tiết ở bảng 3).

3.3. Thành phần loài và tỷ lệ nhiễm vi khuẩn trên nghêu tại Hải Phòng

Nam loài vi khuẩn bao gồm *V. alginolyticus*, *V. splendidus*, *V. parahaemolyticus*, *V. tapetis* và *V. damsela* subsp. *damsela* được phát hiện nhiễm trên nghêu qua đợt dịch lam chết 70-80% Nghêu thương phẩm nuôi tại Cát Hải, Hải Phòng vào tháng 3 năm 2013 (bảng 1). Có 2 loài chiếm ưu thế với tỷ lệ nhiễm cao nhất bao gồm *V. alginolyticus* và *V. splendidus* tương ứng là 29,47% và 23,31%. Vi khuẩn *V. parahaemolyticus* nhiễm với tỷ lệ 13,49% cao hơn so với *V. tapetis* và *P. damsela* subsp. *damsela* nhiễm tỷ lệ tương ứng là 3,06% và 2,45% (bảng 4).

Bảng 4. Thành phần loài và tỷ lệ nhiễm vi khuẩn tại Hải Phòng

| STT | Thành phần loài                         | Số mẫu nhiễm (cả thể) | Tỷ lệ nhiễm (%)    |
|-----|-----------------------------------------|-----------------------|--------------------|
| 1   | <i>V. alginolyticus</i>                 | 48                    | 29,44 <sup>a</sup> |
| 2   | <i>V. splendidus</i>                    | 38                    | 23,31 <sup>a</sup> |
| 3   | <i>V. parahaemolyticus</i>              | 22                    | 13,49 <sup>b</sup> |
| 4   | <i>V. tapetis</i>                       | 5                     | 3,06 <sup>c</sup>  |
| 5   | <i>P. damsela</i> subsp. <i>damsela</i> | 4                     | 2,45 <sup>c</sup>  |

Ghi chú: trong cùng 1 cột, số mũ khác nhau giá trị tỷ lệ nhiễm khác nhau có ý nghĩa về mặt thống kê ( $P < 0,05$ ) và ngược lại

3.4. Thành phần loài và tỷ lệ nhiễm vi khuẩn trên nghêu tại Nam Định

Ở Nam Định dịch chết xảy ra tại Giao Thủy, các điểm thu mẫu có tỷ lệ chết lên tới 70-80% vào tháng 4 năm 2013 (bảng 1). Nghiên cứu chi phân lập được 2 loài vi khuẩn là *V. parahaemolyticus* và *Streptococcus* sp. Tỷ lệ nhiễm *V. parahaemolyticus* là 54% cao hơn so với vi khuẩn *Streptococcus* sp. 4% (bảng 5).

Bảng 5. Thành phần loài và tỷ lệ nhiễm vi khuẩn tại Nam Định

| STT | Loài vi khuẩn              | Số mẫu nhiễm (cả thể) | Tỷ lệ nhiễm (%) |
|-----|----------------------------|-----------------------|-----------------|
| 1   | <i>V. parahaemolyticus</i> | 27                    | 54 <sup>a</sup> |
| 2   | <i>Streptococcus</i> sp.   | 2                     | 4 <sup>b</sup>  |

Ghi chú: trong cùng 1 cột, số mũ khác nhau giá trị tỷ lệ nhiễm khác nhau có ý nghĩa về mặt thống kê ( $P < 0,05$ ) và ngược lại.



3.5. Thành phần loài và tỷ lệ nhiễm vi khuẩn trên nghêu tại Thái Bình

Tại Tiên Hải, Thái Bình, nghiên cứu đã thu được mẫu nghêu từ cả 2 lần dịch chết hàng loạt khác nhau xảy ra vào cùng 1 thời điểm tháng 4 nhưng năm là 2012 và 2013 (bảng 1). Kết quả phân lập vi khuẩn phát hiện được 5 loài Vibrio khác nhau, trong đó có 2 loài ưu thế là *V. fischeri* và *V. vulnificus* có tỷ lệ nhiễm tương ứng 43,01% và 39,78%. Các loài *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* và *V. agarivorans* có tỷ lệ nhiễm thấp hơn lần lượt là 18,27%, 15,05% và 4,30% (bảng 6).

Bảng 6. Thành phần loài và tỷ lệ nhiễm vi khuẩn trên nghêu tại Thái Bình

| STT | Loài vi khuẩn              | Số mẫu nhiễm (cả thể) | Tỷ lệ nhiễm (%)    |
|-----|----------------------------|-----------------------|--------------------|
| 1   | <i>V. fischeri</i>         | 40                    | 43,01 <sup>a</sup> |
| 2   | <i>V. vulnificus</i>       | 37                    | 39,78 <sup>a</sup> |
| 3   | <i>V. alginolyticus</i>    | 17                    | 18,28 <sup>b</sup> |
| 4   | <i>V. parahaemolyticus</i> | 14                    | 15,05 <sup>b</sup> |
| 5   | <i>V. agarivorans</i>      | 4                     | 4,30 <sup>c</sup>  |

Ghi chú: trong cùng 1 cột, số mũ khác nhau giá trị tỷ lệ nhiễm khác nhau có ý nghĩa về mặt thống kê ( $P < 0,05$ ) và ngược lại.

3.6. Thành phần loài và tỷ lệ nhiễm vi khuẩn trên nghêu tại Thanh Hóa

Bảng 7. Thành phần loài và tỷ lệ nhiễm vi khuẩn trên nghêu tại Thanh Hóa

| STT | Loài vi khuẩn              | Số mẫu nhiễm (cả thể) | Tỷ lệ nhiễm (%)      |
|-----|----------------------------|-----------------------|----------------------|
| 1   | <i>V. tubiashii</i>        | 15                    | 12,40 <sup>a</sup>   |
| 2   | <i>V. ordalii</i>          | 14                    | 11,57 <sup>a,b</sup> |
| 3   | <i>V. alginolyticus</i>    | 6                     | 4,96 <sup>b,c</sup>  |
| 4   | <i>V. tapetis</i>          | 5                     | 4,13 <sup>b,c</sup>  |
| 5   | <i>V. parahaemolyticus</i> | 3                     | 2,48 <sup>b,c</sup>  |
| 6   | <i>V. ichthyenteri</i>     | 2                     | 1,65 <sup>c</sup>    |
| 7   | <i>V. splendidus</i>       | 1                     | 0,82 <sup>c</sup>    |
| 8   | <i>V. logei</i>            | 1                     | 0,82 <sup>c</sup>    |
| 9   | <i>Flavobacterium</i> sp.  | 1                     | 0,82 <sup>c</sup>    |

Ghi chú: trong cùng 1 cột, số mũ khác nhau giá trị tỷ lệ nhiễm khác nhau có ý nghĩa về mặt thống kê ( $P < 0,05$ ) và ngược lại.

Qua 2 đợt dịch xảy ra vào tháng 2 năm 2012 và tháng 4 năm 2013 tại Hậu Lộc và Hoảng Hóa, Thanh Hóa với tỷ lệ chết dao động 50-80% (bảng 1) nghiên cứu đã phân lập và định danh được 9 loài vi khuẩn bao gồm *V. fischeri*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*, *V.*

*tapetis*, *V. parahaemolyticus*, *V. ichthyenteri*, *V. splendidus*, *V. logei* và *Flavobacterium* sp. Mặc dù vậy, tỷ lệ nhiễm các loài vi khuẩn trên nghêu tại Thanh Hóa khá thấp. Có 4 loài vi khuẩn ưu thế hơn cả là *V. tubiashii*, *V. ordalii*, *V. alginolyticus* và *V. tapetis*, mặc dù vậy tỷ lệ nhiễm chỉ lần lượt là 12,40%, 11,57%, 4,96% và 4,13% (bảng 7).

3.7. Thành phần loài và tỷ lệ nhiễm vi khuẩn trên nghêu tại thành phố Hồ Chí Minh

Nghiên cứu chỉ phát hiện 2 loài là *V. ichthyenteri* và *V. vulnificus* trên nghêu thu được qua đợt dịch tại huyện Cần Giờ, TP. Hồ Chí Minh vào tháng 3 năm 2013. Trong đó, *V. ichthyenteri* có tỷ lệ nhiễm lên tới 94% cao hơn so với *V. vulnificus* là 38% (bảng 8).

Bảng 8. Thành phần loài và tỷ lệ nhiễm vi khuẩn trên nghêu tại TP. Hồ Chí Minh

| STT | Loài vi khuẩn          | Số mẫu nhiễm (cả thể) | Tỷ lệ nhiễm (%) |
|-----|------------------------|-----------------------|-----------------|
| 1   | <i>V. ichthyenteri</i> | 47                    | 94 <sup>a</sup> |
| 2   | <i>V. vulnificus</i>   | 19                    | 38 <sup>b</sup> |

Ghi chú: trong cùng 1 cột, số mũ khác nhau giá trị tỷ lệ nhiễm khác nhau có ý nghĩa về mặt thống kê ( $P < 0,05$ ) và ngược lại.

3.8. Thành phần loài và tỷ lệ nhiễm vi khuẩn trên nghêu tại Bến Tre

Tại Bến Tre, chúng tôi đã xác định được 7 loài vi khuẩn trên nghêu thu được qua 3 đợt nghêu chết xảy ra vào tháng 6/2012, 3/2013 và 6/2013 với tỷ lệ chết 20-70% (bảng 1). Trong số 7 loài phân lập được, có 2 loài ưu thế bao gồm *V. vulnificus* và *V. ichthyenteri* với tỷ lệ nhiễm vượt trội (55,66% và 40%) so với các loài còn lại (bảng 9).

Bảng 9. Thành phần loài và tỷ lệ nhiễm vi khuẩn trên nghêu tại Bến Tre

| STT | Loài vi khuẩn              | Số mẫu nhiễm (cả thể) | Tỷ lệ nhiễm (%)    |
|-----|----------------------------|-----------------------|--------------------|
| 1   | <i>V. vulnificus</i>       | 34                    | 56,67 <sup>a</sup> |
| 2   | <i>V. ichthyenteri</i>     | 24                    | 40,00 <sup>a</sup> |
| 3   | <i>V. alginolyticus</i>    | 3                     | 5,00 <sup>b</sup>  |
| 4   | <i>V. parahaemolyticus</i> | 3                     | 5,00 <sup>b</sup>  |
| 5   | <i>V. anguillarum</i>      | 2                     | 3,33 <sup>b</sup>  |
| 6   | <i>Pseudomonas</i> sp.     | 2                     | 3,33 <sup>b</sup>  |
| 7   | <i>V. harveji</i>          | 1                     | 1,67 <sup>b</sup>  |

Ghi chú: trong cùng 1 cột, số mũ khác nhau giá trị tỷ lệ nhiễm khác nhau có ý nghĩa về mặt thống kê ( $P < 0,05$ ) và ngược lại.



3.9. Thành phần loài và tỷ lệ nhiễm vi khuẩn trên nghêu tại Bạc Liêu

Có 8 loài vi khuẩn (bảng 10) được xác định nhiễm trên nghêu thu được qua đợt dịch chết xảy ra tại Bạc Liêu vào tháng 10 năm 2012 với tỷ lệ chết lên tới 80%. Tỷ lệ nhiễm khuẩn trên nghêu thu được tại Bạc Liêu là 100%, trong đó *V. alginolyticus* có tỷ lệ nhiễm lên tới 80,95%, vượt trội so với *Pseudomonas* sp. 33,33% và *V. vulnificus* 23,81%. Các loài *V. parahaemolyticus*, *Vibrio* sp. *V. damsela* subsp. *damsela*, *V. anguillarum* và *V. harveyi* có tỷ lệ nhiễm thấp lần lượt là 14,28%, 14,28%, 9,52% và 4,78% (bảng 10).

Bảng 10. Thành phần loài và tỷ lệ nhiễm vi khuẩn tại Bạc Liêu

| STT | Loài vi khuẩn                           | Mẫu nhiễm | Tỷ lệ nhiễm (%)      |
|-----|-----------------------------------------|-----------|----------------------|
| 1   | <i>V. alginolyticus</i>                 | 17        | 80,95 <sup>a</sup>   |
| 2   | <i>Pseudomonas</i> sp.                  | 7         | 33,33 <sup>b</sup>   |
| 3   | <i>V. vulnificus</i>                    | 5         | 23,81 <sup>b,c</sup> |
| 4   | <i>V. parahaemolyticus</i>              | 3         | 14,28 <sup>b,c</sup> |
| 5   | <i>Vibrio</i> sp.                       | 3         | 14,28 <sup>b,c</sup> |
| 6   | <i>P. damsela</i> subsp. <i>damsela</i> | 2         | 9.52 <sup>b,c</sup>  |
| 7   | <i>V. anguillarum</i>                   | 1         | 4.76 <sup>c</sup>    |
| 8   | <i>V. harveyi</i>                       | 1         | 4.76 <sup>c</sup>    |

Ghi chú: trong cùng 1 cột, số mũ khác nhau giá trị tỷ lệ nhiễm khác nhau có ý nghĩa về mặt thống kê ( $P < 0,05$ ) và ngược lại.

4. THẢO LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy có sự sai khác đáng kể về thành phần loài vi khuẩn và mức độ nhiễm đối với nghêu thương phẩm bị bệnh ở các tỉnh, thành của 2 miền (miền Bắc: Hải Phòng, Thái Bình, Nam Định, Thanh Hóa; miền Nam: Tp Hồ Chí Minh, Bến Tre, Bạc Liêu). Ở miền Bắc: phát hiện được 13 loài (*V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. ichthyoenteri*, *V. splendidus*, *V. tapetis*, *Streptococcus* sp., *V. fisheri*, *V. agarivorans*, *V. tubiashii*, *V. ordalii*, *V. logei*, *P. damsela* subsp. *damsela*). Ở miền Nam: phát hiện được 8 loài (*V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. ichthyoenteri*, *V. anguillarum*, *V. harveyi*, *Pseudomonas* sp., *Vibrio* sp.). Trong đó có 4 loài đều gặp chung ở cả hai miền là: *V. ichthyoenteri*, *V. alginolyticus*, *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus* với tỷ lệ nhiễm tương đối cao, tương ứng là 94%, 80,95%, 56,67%, 54%. Tỷ lệ nhiễm của các loài vi khuẩn ở nghêu cũng rất khác nhau giữa các tỉnh (Bảng 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10). Sự di có sự khác nhau đáng kể vừa nêu

trên, theo chúng tôi, có thể do điều kiện tự nhiên môi trường khác nhau ở các vùng miền: do thời gian thu mẫu và số lượng mẫu thu để nghiên cứu cũng rất khác nhau (ở miền Bắc thu 427 mẫu, ở miền Nam thu 131 mẫu; ở tỉnh ít nhất là 21 mẫu như Bạc Liêu, ở thành phố nhiều nhất là 163 mẫu như Hải Phòng).

Một số tác giả trong và ngoài nước đã công bố những công trình nghiên cứu xác định một số loài vi khuẩn như *V. alginolyticus* là tác nhân gây bệnh lam chết hàng loạt nghêu *Meretrix* sp. (Nguyễn Thị Hiền và Trần Thị Nguyệt Minh, 2012); *V. parahaemolyticus* lam chết hàng loạt nghêu *M. meretrix* (Li Guo và ctv, 2008; Yue Xin và ctv, 2010; Yue Xin, 2011). Nghiên cứu của chúng tôi, ở các đợt dịch bệnh lam chết rất nhiều nghêu *M. lyrata*, đã phát hiện được 18 loài vi khuẩn, đặc biệt có một số loài có tỷ lệ nhiễm khá cao như *V. ichthyoenteri*, *V. alginolyticus*, *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus*. Một hoặc nhiều loài vi khuẩn này cũng đã được xác định là tác nhân gây bệnh trên các loài nhuyễn thể khác như sò *R. decussatus* (Monia El Bour và ctv., 2013; Gomez-Leon và ctv., 2005.), Hàu *C. gigas* (Garnier và ctv., 2007 ) và Trai *Tapes philippinarum* và *T. decussatus* (Paillard và ctv., 1989). Tuy nhiên, để xác định rõ loài vi khuẩn nào là tác nhân gây bệnh cho nghêu *M. lyrata* thì cần phải tiếp tục có những nghiên cứu sâu hơn, đầy đủ hơn để có những biện pháp phòng trị, góp phần phát triển nghề nuôi nghêu thương phẩm ở Việt Nam.

5. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu đã phát hiện được 18 loài vi khuẩn thuộc 5 giống (chủ yếu là *Vibrio*), trong đó ở các tỉnh phía Bắc có 13 loài, ở các tỉnh phía Nam có 8 loài. Tỷ lệ nhiễm chung các loài vi khuẩn đối với nghêu *M. lyrata* thu được qua các đợt dịch chết hàng loạt là 68,81%. Đối với từng loài vi khuẩn bắt gặp ở các tỉnh khác nhau thì tỷ lệ nhiễm cũng rất khác nhau.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bùi Đức Thuyết và Trần Văn Dũng, 2013. Hiện trạng nghề nuôi ngao ở một số tỉnh ven biển miền Bắc và Bắc Trung bộ, Việt Nam. Tạp chí Khoa học và Phát triển 11, 972-980.
2. Cục Thú y 2011. Báo cáo tình hình dịch bệnh trên Ngao ở đồng bằng sông Cửu Long. Tổ công tác phòng chống dịch bệnh Ngao (Cục Thú y).
3. Garnier, M., Labreuche, Y., Garcia, C., Robert, M., Nicolas, J. L., 2007. Evidence for the involvement of pathogenic bacteria in summer mortalities of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Microb. Ecol. 53, 187-196.

4. Gomez-Leon, J., Villamil, L., Lemos, M. L., Novoa, B., Figueras, A., 2005. Isolation of *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio splendidus* from aquacultured carpet shell clam (*Ruditapes decussatus*) larvae associated with mass mortalities. Appl. Environ. Microbiol. 71, 98-104.

5. Jeng, S. S., Tyan, Y. M., 1982. Growth of the hard clam *Meretrix lusoria* in Taiwan. Aquaculture 27, 9.

6. Ju-Shey Ho, Zheng, G.-X., 1994. Ostrincola koe (Copepoda, Mycicolidae) and mass mortality of cultured hard clam (*Meretrix meretrix*) in China. Hydrobiologia 284, 4.

7. Li Guo, Yan Maocang, Chang Weishan, Liu Liansheng, M. A. Aimin, Zhihua, L., 2008. Study on indirect ELISA method for detecting *Vibrio parahaemolyticus* in hard clam *Meretrix meretrix* Linnaeus. Marine Science Bulletin.

8. Monia El Bour, Fatma Lakhal, Radhia Mraouna, Annick Jacq, Christine Paillard, Klena, J., 2013. Characterization of *Vibrio* Isolates from Carpet Shell Clam (*Ruditapes decussatus*) Suffering from Brown Ring Disease (BRD) on Tunisian Coasts. Journal of Microbiology Research 3, 8.

9. Ngô Thị Ngọc Thủy, 2011. Điều tra nghiên

**BACTERIA SPECIES ON CULTURED HARD CLAM (*Meretrix lyrata*) FROM MASSIVE MORTALITIES IN COASTAL PROVINCES OF VIETNAM**

Bui Ngoc Thanh<sup>1</sup>, Nguyen Thi Hanh<sup>1</sup>, Pham Thi Yen<sup>1</sup> and Phan Thi Van<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Research Institute for Aquaculture No1

**Summary**

Currently, hard clam *Meretrix lyrata* is a major cultured mollusc species in coastal provinces of Vietnam due to its high value both in domestic and exported markets as well. However, massive mortalities have occurred recently decreasing seriously the hard clam production. This study conducted aims to determine the component and infection of bacteria on cultured hard clam collected from the mortalities. Total 558 hard clams were collected from 11 mortalities during 2 years from 4/2012 to 6/2013 in 7 provinces/city kites of Hai Phong, Nam Dinh, Thai Binh, Thanh Hoa, Ho Chi Minh, Ben Tre and Bac Lieu. Bacteria were isolated from heart by culture method using the medium of nutrient agar plus 2% NaCl and TCBS, then species were identified by using API 20E KIT. Results showed that high infection of bacteria in hard clam from mortalities is 68.78% in which Hai Phong is 71.78%, Nam Dinh 54.00%, Thai Binh 80.65%, Thanh Hoa 40.49%, Ho Chi Minh 94%, Ben Tre 80% and Bac Lieu 100%. The study has identified 18 bacterial species belonging to 5 genera mainly of *Vibrio*, especially there are about 1-2 prominent bacterial species in each province. Those species are *V. alginolyticus* in Hai Phong (29.44%) and Bac Lieu (80.95%), *V. parahaemolyticus* in Nam Dinh (54%), *V. fisheri* in Thai Binh (43%), *V. vulnificus* in Thai Binh (39.7%) and Ben Tre (56.66%), *V. tubiashii* (12.4%) and *V. tapetis* (11.5%) in Thanh Hoa, *V. ichthyoenteri* in Ho Chi Minh (94%) and Ben Tre (40%). Most of these species have been previously reported as pathogenic agents in aquatic animals. Therefore, this study reports the primary findings of the present and infection of major bacteria that could be pathogens in hard clam. However, it is needed to clarify the role of these bacteria in relation to the occurrence of massive mortalities in hard clam by further studies.

**Key words:** Bateria, hard clam, massive mortality, meretrix lyrata, mollusc diseases, Vibrio.

Người phân biên: TS. Hà Kỳ

Ngày nhận bài: 28/7/2014

Ngày thông qua phân biên: 29/8/2014

Ngày duyệt đăng: 5/9/2014

cứu các bệnh trên một số đối tượng nhuyễn thể nuôi tại vùng ven biển Việt Nam. Báo cáo kết quả chương trình khoa học công nghệ. Bộ Khoa học và Công nghệ. Cơ quan chủ trì đề tài: Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản 2.

10. Nguyễn Thị Thu Hiền, Trần Thị Nguyệt Minh, 2012. Kết quả nghiên cứu một số tác nhân gây bệnh thương gập trên ngao *Meretrix sp.* tại vùng ven biển Hải Phòng. Bản tin (Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản 1), trang 2.

11. Paillard, C. L., Percelay, M., Le Penneç, D. L. Picard, 1989. Origine pathogene de l'"anneau brun" chez *Tapes philippinarum* (Mollusque, bi-valve). C. R. Acad. Sci 309, 6.

12. TCTS, 2011. Báo cáo hiện trạng nghề nuôi Ngao tại Việt Nam (Bộ Nông nghiệp và PTNT).

13. Yue Xin, 2011. *Vibrio* Disease, Anti-vibrio Immunity and *Vibrio* resistance selective Breeding of Clam *Meretrix meretrix*. Institute of Oceanography.

14. Yue Xin, Liu Bao, Xiang J., Jia J., 2010. Identification and characterization of the pathogenic effect of a *Vibrio* related bacterium isolated from clam *Meretrix meretrix* with mass mortality. J. Invertebr. Pathol. 103, 6.