



# NGUYÊN NHÂN BAN ĐẦU GÂY CHẾT TÔM THẺ CHÂN TRẮNG *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) NUÔI TẠI TỈNH THỪA THIÊN HUẾ

Trần Vinh Phương<sup>1,2</sup>, Nguyễn Đức Quỳnh Anh<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Xuân Hồng<sup>2</sup>,  
Nguyễn Ngọc Phước<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Đại học Huế, 1 Điện Biên Phủ, Huế, Việt Nam

<sup>2</sup> Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế, 102 Phùng Hưng, Huế, Việt Nam

\* Tác giả liên hệ: Nguyễn Ngọc Phước <nguyennngocphuoc@hueuni.edu.vn>  
(Ngày nhận bài: 3-10-2022; Ngày chấp nhận đăng: 13-1-2023)

**Tóm tắt.** Nghiên cứu này được tiến hành ở các ao nuôi tôm thẻ chân trắng thâm canh tại huyện Phong Điền. Các triệu chứng lâm sàng như: mềm vỏ, gan teo, khối gan tụy mờ nhạt, ruột rỗng và xuất hiện các đốm đen trên cơ thể đều do chủng vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus*, *V. vulnificus* và vi nấm *Fusarium solani* gây ra. Quá trình thí nghiệm cho thấy nấm *F. solani* và vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây bệnh trên tôm sau ba ngày cảm nhiễm với triệu chứng bệnh lý đặc trưng của bệnh đen mang và hoại tử gan tụy cấp tính. Không có tỷ lệ chết hoặc triệu chứng lâm sàng ở tôm khi cảm nhiễm với *V. vulnificus*. Giá trị LD<sub>50</sub> của chủng vi nấm *F. solani* là 10<sup>6</sup> tế bào/mL và vi khuẩn *V. parahaemolyticus* là 10<sup>5</sup> CFU/mL. Như vậy, *V. parahaemolyticus* và *F. solani* có liên quan đến hiện tượng tôm thẻ chân trắng chết hàng loạt khi nuôi tại địa bàn nghiên cứu.

**Từ khóa:** bệnh tôm, tôm thẻ chân trắng, *Vibrio parahaemolyticus*, *Fusarium solani*

## Preliminary causes of massive mortality in white-leg shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) cultured in Thua Thien Hue province

Tran Vinh Phuong<sup>1,2</sup>, Nguyen Duc Quynh Anh<sup>2</sup>, Nguyen Thi Xuan Hong<sup>2</sup>,  
Nguyen Ngoc Phuoc<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Hue University, 1 Dien Bien Phu, Hue, Vietnam

<sup>2</sup> University of Agriculture and Forestry, Hue University, 102 Phung Hung St., Hue, Vietnam

\* Correspondence to Nguyen Ngoc Phuoc <nguyennngocphuoc@hueuni.edu.vn>  
(Submitted: October 3, 2022; Accepted: January 13, 2023)

**Abstract.** This study was conducted in intensive white-leg shrimp culture ponds in Phong Dien district. Results of isolation and identification of bacteria and fungal in infected shrimp samples with typical clinical signs such as soft shell, atrophic liver, faint hepatopancreatic, empty intestine, and the appearance of black spots on the body might be caused by *Vibrio parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, and *Fusarium solani*. The experimental challenge of these isolates shows that *F. solani* caused diseases in shrimp with typical pathological symptoms of black spot disease on gills, and *V. parahaemolyticus* caused acute hepatopancreatic necrosis diseases. No mortality or clinical signs in shrimp were observed when challenged with *V. vulnificus*. The LD<sub>50</sub> value of *F. solani* and *V. parahaemolyticus* were 10<sup>6</sup> cells·mL<sup>-1</sup> and 10<sup>5</sup> CFU·mL<sup>-1</sup> respectively. Thus, *V. parahaemolyticus* and *F. solani* might be responsible for the massive mortality in farmed white-leg shrimp in the locality.

**Keywords:** shrimp disease, white-leg shrimp, *Vibrio parahaemolyticus*, *Fusarium solani*

## 1 Đặt vấn đề

Tôm thẻ chân trắng, tên khoa học là *Litopenaeus vannamei*, có nguồn gốc từ Nam Mỹ và được nuôi phổ biến chủ yếu ở đây từ những năm 1990 [1, 2] và đến năm 2003 mới bắt đầu phát triển nuôi phổ biến ở các nước Châu Á. Tôm thẻ chân trắng có nhiều ưu điểm như tỷ lệ sống cao, sinh trưởng tốt trong điều kiện độ mặn biến động lớn (thậm chí khi độ mặn bằng 0), là loài dễ sinh sản và gia hoá, nên được nhiều nước ưu tiên phát triển [3]. Tại Việt Nam, sau khi Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn ban hành chỉ thị số 228/CT-BNN-NTTS, ngày 25/01/2008, về Phát triển nuôi tôm thẻ chân trắng tại các tỉnh phía Nam, thì diện tích và sản lượng tôm thẻ chân trắng không ngừng tăng lên [4]. Theo báo cáo của Tổng cục Thủy sản [5], diện tích nuôi tôm nước lợ năm 2021 của cả nước ước tính là 740.000 ha (bằng 100,5% so với năm 2020). Trong đó, diện tích nuôi tôm sú (*Penaeus monodon*) là 630.000 ha, tôm thẻ chân trắng (*L. vannamei*) là 110.000 ha; sản lượng thu hoạch là 902,7 nghìn tấn và kim ngạch xuất khẩu 10 tháng đầu năm 2021 là 3,2 tỷ USD. Tuy nhiên, mức độ thâm canh hoá ngày càng cao và sự gia tăng về diện tích nuôi ngày càng nhiều dẫn đến tình dịch bệnh diễn ra ngày càng phức tạp trên diện rộng và khó kiểm soát, đe dọa nghiêm trọng đến năng suất và sự phát triển bền vững của nghề nuôi tôm. Dịch bệnh đã gây ra nhiều thiệt hại lớn ở nhiều nơi, từ các khu vực nuôi tôm trọng điểm của miền Tây Nam bộ (Bến Tre, Cà Mau, Kiên Giang, v.v.) cho đến một số tỉnh của khu vực từ Nghệ An, Thanh Hoá đến Quảng Ninh, v.v. Đặc biệt, năm 2021, diện tích tôm nuôi cả nước bị dịch bệnh là 5.030 ha [5, 6].

Trước tình hình dịch bệnh ngày càng phổ biến, từ năm 2017, tỉnh Thừa Thiên Huế triển khai cho người dân nuôi tôm vào vụ đông khi nhiệt độ thấp và đã thu được một số kết quả khả quan. Tuy nhiên, trong những tháng cuối năm 2021, dịch bệnh xảy ra trên tôm thẻ chân trắng nuôi tại huyện Phong Điền, tỉnh Thừa Thiên Huế, gây chết hàng loạt cho tôm nuôi tại đây và thiệt

hại kinh tế là hơn 20 tỷ đồng [7], nhưng chưa có nghiên cứu nào xác định nguyên nhân gây chết tôm nuôi nhằm hạn chế dịch bệnh cho người dân mặc dù các kết quả phân tích mẫu tôm chết của Chi cục Chăn nuôi và Thú y của tỉnh cho thấy không có sự có mặt của vi rút trên mẫu tôm chết. Chính vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định nguyên nhân ban đầu gây nên dịch bệnh trên tôm thẻ chân trắng nuôi tại Phong Điền, Thừa Thiên Huế, nhằm đưa ra các giải pháp khắc phục cho người dân nuôi tôm trên địa bàn trong các vụ nuôi tiếp theo.

## 2 Vật liệu và phương pháp

### 2.1 Thu thập mẫu tôm bệnh

Bốn mươi mẫu tôm sống nhiễm bệnh có dấu hiệu mềm vỏ, khối gan tụy bị teo nhỏ và có xuất hiện các đốm đen trên thân và mang được thu thập tại ba ao nuôi tôm thâm canh tại Phong Điền, Thừa Thiên Huế. Ở mỗi ao, thu thập 10–15 mẫu tôm nhiễm bệnh với khối lượng 7,2–8,1 g/con, tương ứng với chiều dài 9,7–11,5 cm/con. Mẫu tôm bệnh được thu hai đợt vào tháng 11 năm 2021 và một đợt vào tháng 8 năm 2022 để tái kiểm tra đặc điểm dịch tễ (Bảng 1). Do khi có hiện tượng tôm chết, Chi cục Chăn nuôi và Thú y và người nuôi đã gửi mẫu đến Trạm Chẩn đoán xét nghiệm và điều trị bệnh động vật tỉnh Thừa Thiên Huế và không tìm thấy sự có mặt của vi rút gây bệnh đốm trắng (WSSV), bệnh hoại tử cơ và ruột giữa (IHHNV), bệnh còi (MBV) và bệnh vi bào tử trùng (EHP). Dựa vào các dấu hiệu bệnh lý đặc trưng của các mẫu tôm nhiễm bệnh tương tự dấu hiệu của tôm nhiễm bệnh do vi khuẩn *Vibrio* spp. gây bệnh hoại tử cấp tính (AHPND) và nấm (đen mang, đốm đen), chúng tôi tập trung phân lập và định danh tác nhân vi khuẩn và vi nấm. Mẫu tôm bệnh được vận chuyển sống có sục khí. Nhiệt độ nước trong quá trình vận chuyển được duy trì ở mức 15 °C và được chuyển về Phòng thí nghiệm Khoa Thủy sản, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế, để kiểm tra, phân loại và phân lập tác nhân gây bệnh.

**Bảng 1.** Tần suất thu mẫu và kích cỡ tôm nhiễm bệnh

Thời gian thu mẫu	Đợt thu mẫu	Địa điểm thu mẫu	Giai đoạn (ngày tuổi)	Số lượng (con)	Chiều dài (cm) (TB ± SD)	Khối lượng (g) (TB ± SD)
01/11/2021	1	Phong Điền	70	15	10,5 ± 0,8	7,2 ± 0,8
30/11/2021	2	Phong Điền	75	15	9,7 ± 0,6	8,1 ± 0,5
20/8/2022	3	Phong Điền	75	10	11,5 ± 0,8	7,6 ± 0,4

## 2.2 Phân lập tác nhân gây bệnh từ mẫu tôm bệnh

### Phân lập và định danh nấm

*Quan sát tiêu bản tươi:* Làm tiêu bản tươi theo phương pháp của Hatai và cs. [8]. Cắt một phần (0,2 g) tại các bộ phận nghi nhiễm bệnh: mang tôm, gan tụy và tại các vết tổn thương có đốm đen trên cơ thể tôm đưa lên lam kính, sau đó nhỏ một giọt nước muối sinh lý vô trùng, đập lamen và quan sát dưới kính hiển vi (Nikon E 100, Nhật bản) ở độ phóng đại 200× đối với khuẩn ty và 400× và 1000× đối với bào tử [9].

*Phân lập và định danh nấm:* Phân lập nấm được tiến hành theo Hatai và cs. [8]. Dùng dao đã được tiệt trùng bằng cồn 90% để cắt 0,5 g mẫu bệnh phẩm ở mang sau đó rửa qua nước muối sinh lý vô trùng ba lần. Lúc này mẫu bệnh phẩm được cấy trên môi trường Pepton Yeast-extract Glucose Salt Agar (PYGSA: gồm 1,25 g pepton, 1,25 g yeast extract, 3 g glucose, 30 g muối, 15 g agar và 1000 mL nước cất), chứa sẵn 500 µg/mL mỗi loại kháng sinh ampicillin và streptomycin xung quanh mẫu bệnh phẩm đã cấy trên môi trường trên để hạn chế sự phát triển của vi khuẩn [9]. Mẫu bệnh được ủ ở 28 °C cho nấm phát triển trong 1–4 ngày và theo dõi sự phát triển của nấm. Khi nấm phát triển thì cấy chuyển sang môi trường nuôi cấy mới, tiếp tục phương pháp cấy chuyển ba lần để có chủng nấm thuần. Các chủng nấm thuần được định danh theo khoá phân loại của De Hoog và cs. [10].

*Nuôi cấy nấm để thu bào tử:* Bào tử nấm được nuôi cấy và thu theo phương pháp của Duc và cs. [11]. Nấm thuần được cấy trong môi trường Potato Dextrose Agar (PDA: gồm 4 g Potato extract, 20 g Dextrose, 75 g NaCl, 15 g Agar và 1000 mL nước cất), ủ ở 28–30 °C trong 10 ngày; sau đó cho 10 mL nước muối sinh lý (0,85% NaCl) vào đĩa Petri chứa nấm; dùng que cấy tách rời bào tử từ sợi nấm; sau đó dung dịch sợi nấm được lọc qua gạc y khoa tiệt trùng để thu bào tử nấm.

### Phân lập và định danh vi khuẩn

*Phân lập vi khuẩn:* Vi khuẩn *Vibrio* spp. được phân lập theo mô tả của Sung và cs. [12]. Sử dụng cồn 70% để khử trùng mặt ngoài cơ thể tôm, rồi dùng dao mổ tiệt trùng rạch một đường trên khối gan tụy. Dùng que cấy nhựa vô trùng lấy mẫu bệnh phẩm từ khối gan tụy và cấy lên đĩa môi trường Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose (TCBS) (HiMedia, Ấn độ). Đĩa cấy được ủ ở 28 °C trong 24–48 giờ. Các khuẩn lạc phát triển trên môi trường TCBS được ghi nhận về màu sắc, hình dạng và kích thước. Các chủng vi khuẩn phân lập được giữ ở –20 °C trong 15% glycerol.

*Định danh vi khuẩn:* Định danh vi khuẩn bằng môi trường phân lập đặc trưng CHROMagar™ Vibrio (Pháp). Các khuẩn lạc phát triển trên môi trường TCBS được cấy chuyển sang môi trường CHROMagar™ Vibrio để xác định màu sắc, hình dạng và được định danh theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Xác định một số chỉ tiêu về hình thái, sinh lý và sinh hoá. Hình dạng của vi khuẩn được xác định bằng phương pháp nhuộm Gram. Các đặc điểm sinh lý và sinh hoá được xác định dựa theo cẩm nang của Cowan và Steels [13], kết hợp với sử dụng kit API 20E (BioMerieux, Pháp). Chủng *Vibrio parahaemolyticus* từ Đại học Stirling, Vương quốc Anh, được sử dụng để so sánh.

### 2.3 Xác định khả năng gây bệnh trong điều kiện *in vivo* và liều gây chết 50% (Lethal dose 50% – LD<sub>50</sub>) đối với tôm cảm nhiễm

#### Chuẩn bị thí nghiệm

*Bố trí thí nghiệm:* Thí nghiệm được bố trí trong bể nhựa (80 L) được khử trùng bằng chlorine 200 ppm và phơi khô. Sau đó cấp nước mặn 20‰ (tương đương với độ mặn ao nuôi tôm nhiễm bệnh ± 2‰) vào 2/3 thể tích và sục khí liên tục.

*Chuẩn bị tôm thí nghiệm:* Tôm thẻ chân trắng có khối lượng 2–2,5 g/con, kích cỡ đồng đều, màu sắc tươi sáng và đã có chứng nhận kiểm dịch không mang mầm bệnh đốm trắng, đầu vàng, vi bào tử trùng và hoại tử gan tụy cấp. Trước khi tiến hành thí nghiệm, 10 con tôm được chọn ngẫu nhiên để kiểm tra nấm và vi khuẩn bằng cách lấy mẫu ở mang và gan tụy và cấy trực tiếp trên môi trường PDA và TCBS có bổ sung kháng sinh. Thí nghiệm với mật độ nuôi 20 con/bể được bố theo Trương Minh Út và cs. [14] và Yao và cs. [15]. Tôm sau khi cảm nhiễm được nuôi trong hệ thống nước chảy với tốc độ 14 L/phút, có hệ thống sục khí duy trì 24/24 h ở 28–30 °C.

*Chuẩn bị thức ăn:* Cho ăn hằng ngày bằng thức ăn công nghiệp N312A của Công ty TNHH Uni President Việt Nam với lượng thức ăn bằng 2% khối lượng thân.

#### Xác định khả năng gây bệnh của nấm

*Chuẩn bị bào tử nấm:* Mật độ bào tử nấm *F. solani* TTHFS202101009 (được chọn từ kết quả nghiên cứu trên) được xác định bằng buồng đếm New improved Bauer để sử dụng cho thí nghiệm gây bệnh thực nghiệm. Thí nghiệm xác định giá trị LD<sub>50</sub> được bố trí với bảy nghiệm thức bao gồm sáu nghiệm thức tôm thí nghiệm (ngâm theo phương pháp của Nardmo và Ramstad [16], với một trong sáu mật độ bào tử vi nấm từ  $1 \times 10^8$  đến  $1 \times 10^3$  tế bào/mL trong 60 phút) và một nghiệm thức đối chứng (ngâm với nước muối sinh lý (0,85% NaCl) vô trùng trong 60 phút). Tỷ lệ chết được theo dõi trong 28 ngày.

### Xác định khả năng gây bệnh của vi khuẩn

*Chuẩn bị vi khuẩn:* Chúng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* TTHVP202101001 và *V. vulnificus* TTHVV202101009 (được chọn từ kết quả nghiên cứu trên) được nuôi tăng sinh 24 giờ ở 28 °C trong môi trường Tryptic Soy Broth (TSB), có bổ sung 2% NaCl; sau đó ly tâm và rửa hai lần bằng dung dịch NaCl 0,85%. Mật độ vi khuẩn được xác định bằng máy quang phổ tự động LABOMED UV-VIS Spectro UV-2650 (Anh Quốc) ở bước sóng 600 nm, kết hợp với đếm số khuẩn lạc trên môi trường TSA + 2% NaCl. Thí nghiệm xác định giá trị LD<sub>50</sub> được bố trí trên bảy nghiệm thức bao gồm sáu nghiệm thức thí nghiệm (ngâm với một trong sáu mật độ các chủng vi khuẩn trên từ  $1 \times 10^8$  đến  $1 \times 10^3$  CFU/mL trong 60 phút) và một nghiệm thức đối chứng (ngâm với nước muối sinh lý (0,85% NaCl) vô trùng trong 60 phút) [16]. Tỷ lệ chết được theo dõi trong 14 ngày [14]. Ghi nhận số tôm chết hàng ngày cho đến khi tôm ngưng chết liên tục trong ba ngày hoặc chết hoàn toàn. Giá trị liều gây chết LD<sub>50</sub> được xác định theo phương pháp của Reed và Muench [17].

Dựa vào số lượng tôm chết ở các nghiệm thức để tính LD<sub>50</sub> theo công thức (1).

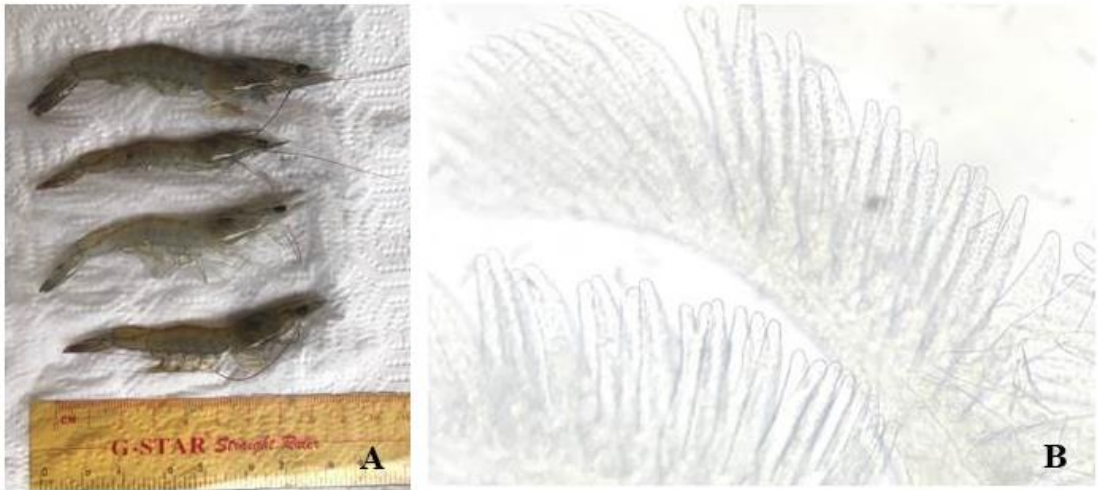
$$LD_{50} = 10^{a-x} \quad (1)$$

trong đó  $a$  là số lũy thừa mà tại đó vi khuẩn gây tôm chết thấp nhất (trên 50%);  $x$  được tính dựa vào công thức:  $x = (P_a - 50)/(P_a - P_u)$  với  $P_a$  là tỷ lệ chết cận trên và  $P_u$  là tỷ lệ chết cận dưới của liều gây chết 50%

## 3 Kết quả và thảo luận

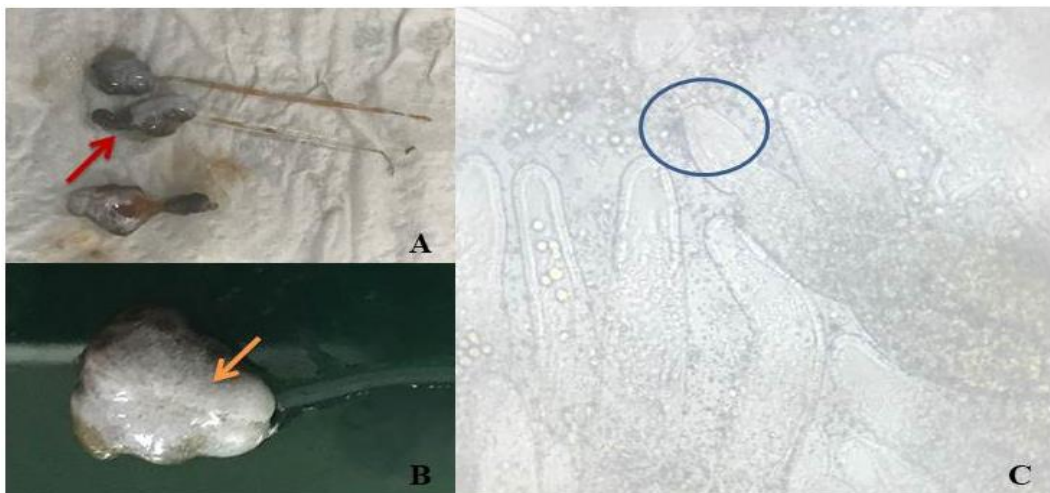
### 3.1 Kết quả soi tươi tiêu bản mẫu bệnh

Khi quan sát soi tươi tiêu bản mang của tôm bệnh có dấu hiệu mềm vỏ, khối gan tụy teo, mờ nhạt, ruột rỗng nhưng không đen mang (Hình 1A). Kết quả cho thấy mang tôm rất sạch, không thấy sự có mặt của nấm hay ký sinh trùng (Hình 1B).

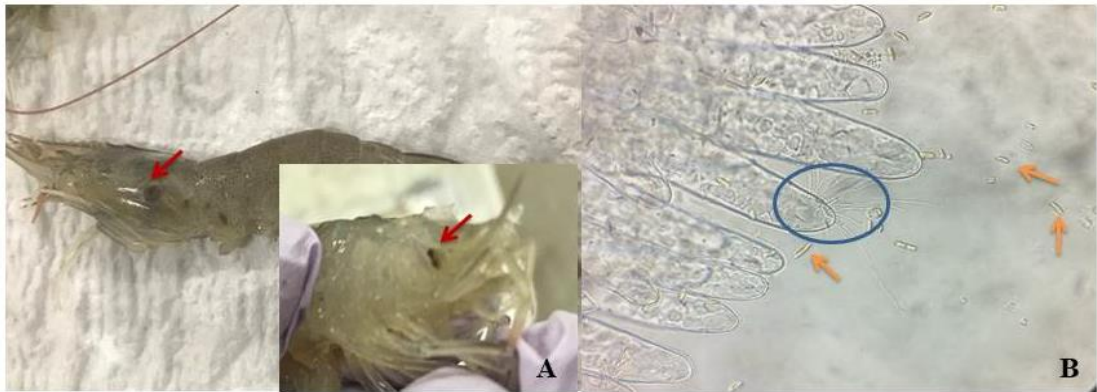


**Hình 1.** Tôm có dấu hiệu mềm vỏ (A), mang tôm sạch không có ký sinh trùng và nấm (B, vật kính 20×)

Đối với mẫu tôm nhiễm bệnh có dấu hiệu mềm vỏ, gan tụy teo và có các đốm đen trên vỏ kitin và trên mang. Trên màng gan xuất hiện một lớp màng trắng bao bọc (Hình 2B) và gan có hình dạng biến đổi (Hình 2C). Đồng thời, quan sát trên tiêu bản mang của tôm bệnh (Hình 3A) còn thấy có sự xuất hiện của các sợi nấm và bào tử hình thuyền, dấu hiệu ban đầu cho thấy tôm bị nhiễm nấm *Fusarium* (Hình 3B).



**Hình 2.** Gan tôm bị teo nhỏ (A, mũi tên đỏ), màng gan bị mờ (B, mũi tên cam), gan bị biến dạng (C, vòng tròn, vật kính 20×)



**Hình 3.** Tôm có đốm đen ở mang (A, mũi tên đỏ), kiểm tra mẫu mang phát hiện các sợi nấm trên tơ mang (B, vòng tròn) và bào tử hình thuyền của nấm *Fusarium* trên mẫu soi tươi (B, mũi tên cam, vật kính 20×)

### 3.2 Kết quả phân lập vi nấm và vi khuẩn

Từ bốn mươi mẫu tôm bệnh, chúng tôi đã phân lập được 20 chủng vi nấm trên môi trường PDA ở các đợt 2 và 3 đã thu được 30 chủng vi khuẩn cho khuẩn lạc màu xanh và 10 chủng vi khuẩn cho khuẩn lạc màu vàng trên môi trường TCBS (Bảng 2). Trong đó, đợt thu mẫu thứ nhất không phân lập được nấm, nhưng đã phân lập được 10 chủng *Vibrio* có khuẩn lạc màu xanh và 2 chủng *Vibrio* có khuẩn lạc vàng trên môi trường TCBS từ tất cả mẫu tôm nhiễm bệnh.

**Bảng 2.** Kết quả phân lập vi khuẩn và vi nấm từ mẫu tôm bị bệnh

Đợt thu mẫu	Số lượng mẫu (con)	Số chủng vi nấm (chủng)	Số chủng vi khuẩn trên môi trường TCBS (chủng)	
			Khuẩn lạc xanh	Khuẩn lạc vàng
1	15	0	10	2
2	15	10	10	4
3	10	10	10	4
<b>Tổng</b>	<b>40</b>	<b>20</b>	<b>30</b>	<b>10</b>

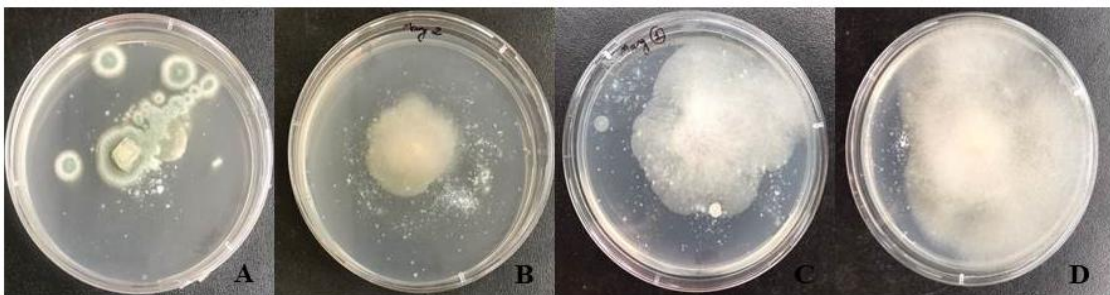


Ở đợt thu mẫu thứ hai, chúng tôi phân lập được 10 chủng vi nấm từ 15 mẫu tôm nhiễm bệnh (67%). Ngoài ra, từ 15 mẫu tôm bệnh đã phân lập được 10 chủng *Vibrio* có khuẩn lạc màu xanh và 4 chủng *Vibrio* có khuẩn lạc vàng trên cùng một đĩa môi trường TCBS. Ở lần thu mẫu thứ ba, chúng tôi phân lập được vi nấm trên 100% mẫu tôm bệnh (10 chủng) và 10 chủng *Vibrio* có khuẩn lạc màu xanh và 4 chủng *Vibrio* có khuẩn lạc vàng trên môi trường TCBS từ tất cả mẫu gan tụy của tôm nhiễm bệnh. Kết quả này cho thấy các mẫu tôm bệnh vừa cảm nhiễm vi khuẩn vừa vi nấm trong cùng một thời điểm (Bảng 2).

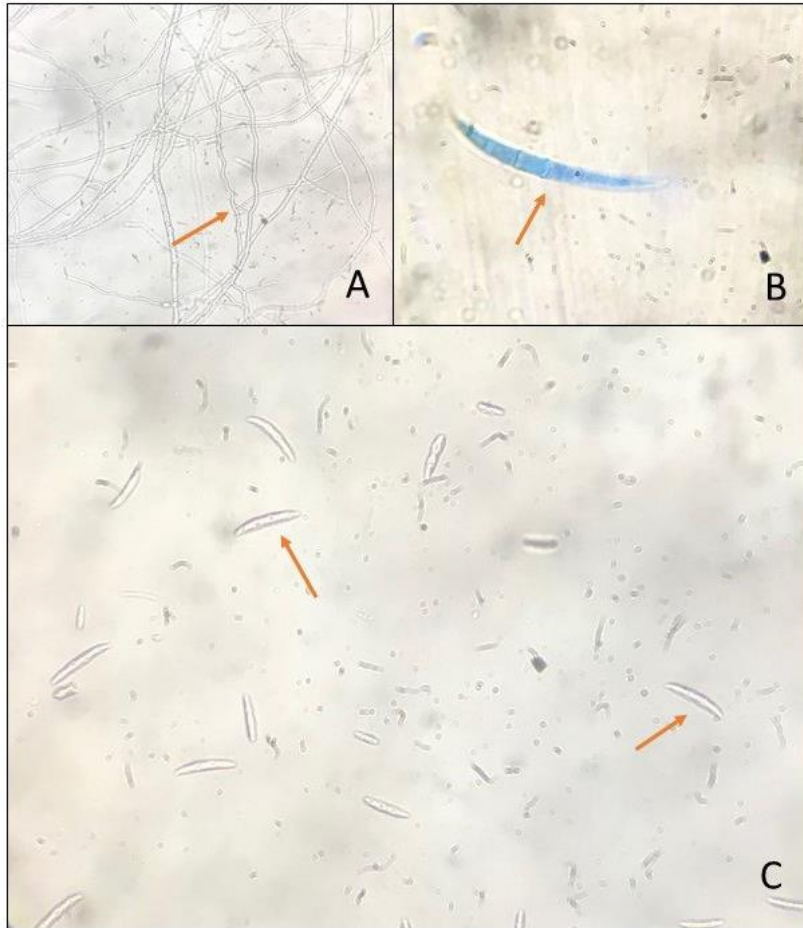
### 3.3 Kết quả định danh vi nấm

Hai mươi chủng vi nấm phân lập được khi nuôi cấy trên môi trường PDA cho khuẩn lạc có chiều dài 4–6 cm sau bảy ngày nuôi cấy. Khuẩn lạc có màu trắng kem và xanh nhạt (Hình 4), tạo nhiều tiểu bào tử và các tiểu bào tử không tạo thành chuỗi; cuống sinh bào tử phân nhánh, nhưng không có cuống sinh đa bào tử; tiểu bào tử có dạng đơn dài; đại bào tử có dạng hình thuyền hay đế giày và có nhiều vách ngăn (Hình 5). Dựa vào khoá phân loại của De Hoog và cs. [10], chúng tôi nhận thấy mẫu nấm phân lập được là *Fusarium solani* và được ký hiệu là TTHFS202101001 đến TTHFS2021010020. Kết quả này tương đồng với mô tả của Yao và cs. [15]. Bào tử có dạng hình thuyền và khuẩn lạc màu trắng, kem là đặc trưng của vi nấm *F. solani*. Yao và cs. [15] đã xác định *F. solani* là tác nhân gây bệnh đen mang và đốm đen trên tôm thẻ chân trắng. Trên mẫu bệnh phẩm xuất hiện các đốm đen, đồng thời bề mặt của lớp biểu bì tại vết bệnh đốm đen ở bụng tôm bệnh được bao phủ hoàn toàn bởi các sợi nấm.

Khuẩn ty nấm *Fusarium* phát triển chằng chịt có vách ngăn; bào tử có hai dạng hình đơn dài và hình thuyền với 2–4 vách ngăn (Hình 5). Cũng như mô tả của Yao và cs. [15], trên môi trường Rose Bengal Agar, các sợi nấm *F. solani* phát triển và lan rộng; màu sắc của sợi nấm dần dần chuyển từ hồng sang nhạt. Các bào tử có 1–2 vách ngăn hình bầu dục hoặc lưỡng liềm với chiều dài 8,7–13,1  $\mu\text{m}$  và đường kính 3,2–5,1  $\mu\text{m}$ .



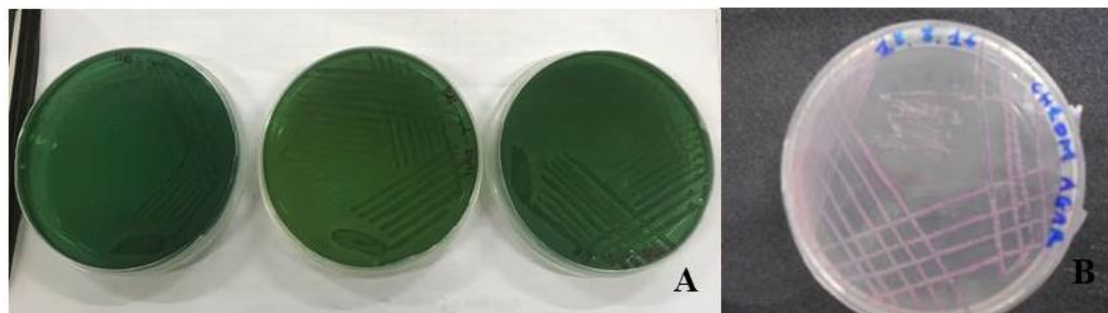
**Hình 4.** Khuẩn lạc nấm sau ba ngày (A, B) và bảy ngày nuôi cấy (C, D)



**Hình 5.** Hình dạng khuẩn ty (A, 200×), bào tử hình thuyền có bốn vách ngăn (B, 1000×) và bào tử thu được khi nuôi cấy để cảm nhiễm (C, 400×)

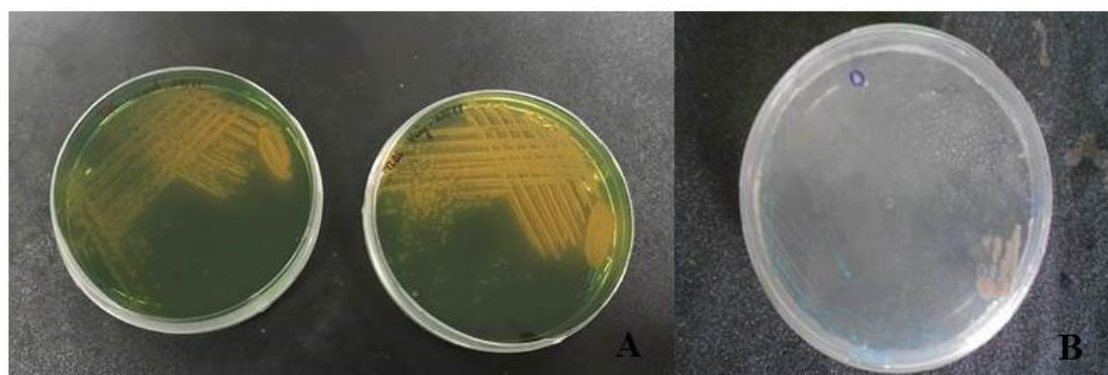
### 3.4 Kết quả định danh vi khuẩn

Chúng tôi phân lập được 40 chủng vi khuẩn trên môi trường TCBS cho hai dạng khuẩn lạc với màu sắc khác nhau: khuẩn lạc vàng (10 chủng) và khuẩn lạc xanh (30 chủng). Tuy nhiên, khi cấy 30 chủng này trên môi trường CHROMagar thì tất cả chủng vi khuẩn cho khuẩn lạc xanh trên TCBS (Hình 6A) và trên môi trường CHROMagar đều cho khuẩn lạc có màu tím hoa cà (Hình 6B). Vì vậy, có thể kết luận 30 chủng này là *Vibrio parahaemolyticus* và được ký hiệu là TTHVP202101001 đến TTHVP2021010030. Mùi của chủng vi khuẩn cho khuẩn lạc màu vàng trên TCBS khi nuôi cấy trên môi trường CHROMagar cho khuẩn lạc màu xanh ngọc, cho phép kết



**Hình 6.** Khuẩn lạc *V. parahaemolyticus* có màu xanh trên môi trường TCBS (A) và tím hoa cà trên môi trường CHROMAgar (B)

luận rằng các chủng này là *Vibrio vulnificus* và được ký hiệu là TTHVV202101001 đến TTHVV2021010010. Sự có mặt các chủng vi khuẩn này trên mẫu tôm bệnh ở Thừa Thiên Huế giống với kết quả phân lập vi khuẩn của các nghiên cứu khác [18, 19]. Tôm thẻ chân trắng có dấu hiệu mềm vỏ, ruột rỗng, gan tụy teo và nhạt màu. Phản ứng sinh hoá cho thấy các chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* phân lập được là khá đồng nhất về đặc điểm sinh hoá (Bảng 3). Các chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* đều có khả năng di động và đều tạo khuẩn lạc màu xanh trên môi trường TCBS và màu tím hoa cà trên môi trường CHROM agar (Hình 6). Trong khi đó, các chủng vi khuẩn *V. vulnificus* tạo khuẩn lạc màu vàng trên môi trường TCBS và màu xanh ngọc trên môi trường CHROM agar (Hình 7) và đồng nhất về mặt sinh hoá (Bảng 4). Các chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* phân lập từ Thừa Thiên Huế có đặc điểm sinh hoá giống với đặc điểm sinh hoá của chủng *V. parahaemolyticus* phân lập từ Đại học Stirling (Vương quốc Anh). Chỉ có 4/30 chủng cho phản ứng âm tính với glucose và phản ứng chuyển nitrate thành nitrite (Bảng 3).



**Hình 7.** Khuẩn lạc *V. vulnificus* có màu vàng trên môi trường TCBS (A) và tím xanh ngọc trên môi trường CHROMAgar (B)

Sự sai khác về đặc điểm sinh hoá ở các chủng trong nghiên cứu có thể do độ nhạy của kit sinh hoá thương mại API 20E (BioMerieux, Pháp) không đồng nhất so với phương pháp dùng môi trường sinh hoá truyền thống [13].

**Bảng 3.** Đặc điểm sinh hoá của các chủng *V. parahaemolyticus* phân lập được từ mẫu tôm bệnh và chủng từ Đại học Stirling, Vương quốc Anh, được sử dụng để làm kết quả so sánh

TT	Chỉ tiêu hình thái, sinh lý, sinh hoá	<i>V. parahaemolyticus</i> (Đại học Stirling, Vương quốc Anh)	Tỷ lệ % chủng vi khuẩn <i>V. parahaemolyticus</i> phân lập (n = 30)	
			Dương tính	Âm tính
1	Gram	–	100	0
2	Hình dạng	Que ngắn		Que ngắn
3	Phát triển trên TCBS	Xanh		100
4	Phát triển CHROMagar	Tím	100	0
5	Di động	+	100	
6	Oxidase	+	100	
7	Lysine Decarboxylase	+	100	
8	Glucose	+	86,7	13,3
9	Nitrate thành Nitrite	+	86,7	13,3
10	ONPG	–		100
11	Sinh Urease	–		100
12	Phenyl Alanine Deaminase	–		100
13	Citrate	–		100
14	Esculine	–		100
15	H <sub>2</sub> S	–		100
16	Indol	+	100	0
17	Voges – Proskauer	–		100
18	Sử dụng Malonate	–	13,3	86,7

*Chú thích:* (+): phản ứng dương tính; (–) phản ứng âm tính.

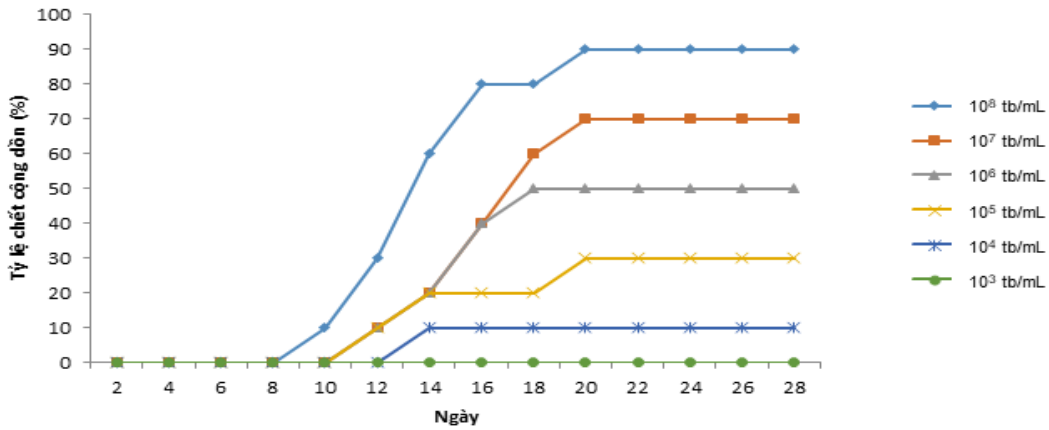
**Bảng 4.** Đặc điểm sinh hoá của các chủng *V. vulfinicus* phân lập được từ mẫu tôm bệnh

TT	Chỉ tiêu hình thái, sinh lý, sinh hoá	Đặc điểm	Tỷ lệ % chủng vi khuẩn <i>V. vulfinicus</i> phân lập ( $n = 10$ )	
			Dương tính	Âm tính
1	Gram	-	100	0
2	Hình dạng	Que ngắn	Que ngắn	
3	Phát triển trên TCBS	Vàng	100	
4	Phát triển CHROMagar	Khuẩn lạc có màu xanh ngọc	100 (tất cả khuẩn lạc có màu xanh ngọc)	
5	Di động	+	100	
6	Oxidase	+	100	
7	Lysine Decarboxylase	+	100	
8	Lactose	+	90	10
9	Catalase	+	90	10
10	ONPG	-		100
11	ADH	-		100
12	LDC	-		100
13	Citrate	-		100
14	Esculine	-		100
15	H <sub>2</sub> S	-		100
16	Indol	+	100	0
17	ODC	-		100
18	Glucose	+	90	10

Chú thích: (+): phản ứng dương tính; (-) phản ứng âm tính.

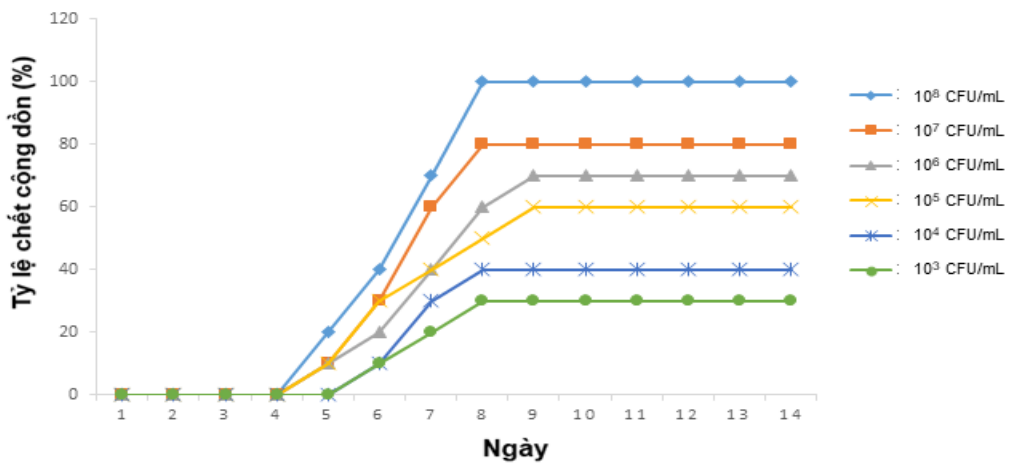
### 3.5 Khả năng gây bệnh của các chủng vi nấm và vi khuẩn phân lập được trong điều kiện *in vivo*

Sau 28 ngày cảm nhiễm, tỷ lệ chết ở do chủng vi nấm *F. solani* TTHFS202101009 phân lập từ ao nuôi tôm ở Phong Điền phụ thuộc vào mật độ bào tử vi nấm đưa vào ban đầu (Hình 8). Từ kết quả số lượng tôm chết ở các thí nghiệm, liều gây chết 50% (LD<sub>50</sub>) của chủng vi nấm *F. solani* TTHFS202101009 là 10<sup>6</sup> tế bào/mL. Theo Yao và cs. [15], *F. solani* là tác nhân gây bệnh đốm đen trên tôm thẻ chân trắng và thử nghiệm độc tính cho thấy *F. solani* gây chết đối với tôm thẻ chân trắng nhiễm bệnh đốm đen với tỉ lệ 88,66% trong vòng 30 ngày cảm nhiễm ở liều 1,02 × 10<sup>6</sup> CFU/mL và giá trị LD<sub>50</sub> của *F. solani* là 3,37 × 10<sup>4</sup> CFU/mL.



**Hình 8.** Tỷ lệ chết cộng dồn (%) của tôm thẻ chân trắng cảm nhiễm với *F. solani*

Vi khuẩn *V. vulnificus* TTHVV202101009 không gây chết ở bất kỳ nghiệm thức nào sau 11 ngày gây bệnh; tỷ lệ sống của tôm thí nghiệm là 100%. Tôm cảm nhiễm không có dấu hiệu bệnh lý và sau khi kết thúc thí nghiệm không tái phân lập được vi khuẩn *V. vulnificus* từ khối gan tụy của tôm ở các nghiệm thức thí nghiệm và cả đối chứng. Trong khi đó, tỷ lệ chết ở các nghiệm thức ngâm chùng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* TTHVP202101001 phụ thuộc vào mật độ vi khuẩn đưa vào ban đầu và được trình bày trên Hình 9.



**Hình 9.** Tỷ lệ chết cộng dồn (%) của tôm thẻ chân trắng cảm nhiễm với *V. parahaemolyticus*

Tôm thí nghiệm thể hiện bệnh lý sau ba ngày cảm nhiễm. Tôm bị bệnh có dấu hiệu bệnh lý điển hình của bệnh AHPND, như tôm bị mềm vỏ, khối gan tụy teo và nhạt màu và ruột không có thức ăn. Các dấu hiệu ghi nhận được tương tự trong mô tả của Lightner và cs. [20] về các dấu hiệu bệnh lý của tôm khi nhiễm bệnh AHPND. Vi khuẩn tái phân lập từ mẫu gan tụy được định danh là *V. parahaemolyticus* bằng test kit API 20E. Như vậy, kết quả thử nghiệm khả năng gây bệnh trên tôm của chủng *V. parahaemolyticus* TTHVP202101001 thỏa mãn định đề Koch [21] về xác định tác nhân gây bệnh như mô tả của Nguyễn Ngọc Phước và cs. [22]. Từ số lượng tôm chết ở các thí nghiệm, chúng tôi xác định được LD<sub>50</sub> của chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* TTHVP202101001 là 10<sup>5</sup> CFU/mL. *V. parahaemolyticus* được xem là tác nhân chính gây bệnh AHPND ở tôm trên thế giới và Việt Nam [20] và đây cũng là nghiên cứu đầu tiên ở Thừa Thiên Huế xác định tôm thẻ chân trắng nhiễm đồng thời vi khuẩn *V. parahaemolyticus* và vi nấm *F. solani* với những dấu hiệu bệnh lý đặc trưng. Chưa có nghiên cứu nào phân lập nấm trên mẫu tôm nuôi tại Thừa Thiên Huế nói riêng và Việt Nam nói chung, mặc dù Yao và cs. [15] đã xác định vi nấm *F. solani* là nguyên nhân gây bệnh đốm đen trên tôm thẻ chân trắng tại khu vực Thái Bình Dương với tỷ lệ gây chết là trên 60% ở tôm nuôi. Nguyễn Ngọc Phước và cs. [22] đã xác định 4/8 chủng *V. parahaemolyticus* mang gen gây bệnh AHPND trên tôm thẻ chân trắng nuôi tại Thừa Thiên Huế. Các chủng này có khả năng di động và hoạt động thủy phân của các enzyme như caseinase, phospholipase, haemolysin mạnh hơn các chủng không mang gen gây bệnh. Trong năm 2020, Quang và cs. [23] đã xác định 14 chủng *Vibrio* từ 120 mẫu vi khuẩn *Vibrio* mang đồng thời hai gen độc tố *PirA<sub>vp</sub>* và *PirB<sub>vp</sub>* phân lập từ tôm thẻ chân trắng nhiễm bệnh AHPND nuôi ở Thừa Thiên Huế, gồm các chủng *V. parahaemolyticus*, *V. shilonii*, *V. communis* và *V. furnissii*. Một số nghiên cứu trước đây xác định tác nhân gây bệnh AHPND trên tôm thẻ chân trắng với các dấu hiệu như khối gan tụy teo, mờ nhạt và ruột rỗng, chủ yếu là các chủng vi khuẩn *Vibrio*: *V. parahaemolyticus*, *V. harveyi*, *V. vulnificus* và *V. alginolyticus* [24]; cũng như khi xét nghiệm sinh học và sinh học phân tử đối với tác nhân gây bệnh AHPND trên tôm thẻ chân trắng nuôi ở Việt Nam đã xác định ít nhất hai loài *Vibrio* gây bệnh là *V. parahaemolyticus* [18] và *V. harveyi* [25]. Khả năng gây bệnh thực nghiệm trên tôm thẻ chân trắng đối với chủng *V. parahaemolyticus*, phân lập trên tôm nuôi nhiễm bệnh tại Ninh Thuận, có giá trị LD<sub>50</sub> là 1,3 × 10<sup>5</sup> CFU/mL [26] và các chủng *V. parahaemolyticus*, phân lập trên tôm bệnh tại Bạc Liêu, có LD<sub>50</sub> 10<sup>5</sup> CFU/g (sau 9 ngày) và 10<sup>6</sup> CFU/g (sau 6 ngày) [19], tương đồng với các chủng *V. parahaemolyticus* TTHVP202101001 phân lập tại Thừa Thiên Huế trong nghiên cứu này. Điều này cho thấy độc lực của các chủng *V. parahaemolyticus* trên tôm thẻ chân trắng tại Việt Nam là khá đồng nhất.

## 4 Kết luận và kiến nghị

### 4.1 Kết luận

Chúng tôi đã phân lập được 10 chủng vi nấm *Fusarium solani*, 30 chủng vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* và 10 chủng vi khuẩn *V. vulnificus* trên tôm thẻ chân trắng bị bệnh tại Phong Điền, Thừa Thiên Huế. Các chủng vi khuẩn phân lập được khá đồng nhất về mặt sinh hoá. Kết quả gây bệnh thực nghiệm cho thấy các chủng vi nấm *F. solani* và *V. parahaemolyticus* gây bệnh trên tôm sau ba ngày cảm nhiễm với dấu hiệu bệnh lý đặc trưng của bệnh đen mang và bệnh AHPND. Giá trị LD<sub>50</sub> của chủng *F. solani* là 10<sup>6</sup> tế bào/mL và của *V. parahaemolyticus* là 10<sup>5</sup> CFU/mL.

### 4.2 Kiến nghị

Cần nghiên cứu đồng cảm nhiễm hai loại tác nhân này để xác định đâu là tác nhân đầu tiên gây ra hiện tượng chết trên tôm nuôi để từ đó nghiên cứu biện pháp phòng và trị hiệu quả.

## Thông tin tài trợ

Nghiên cứu này được tài trợ thông qua Đề tài khoa học và công nghệ cấp Đại học Huế (mã số: DHH2023-08-14); nhóm Nghiên cứu mạnh Đại học Huế (NCM.DHH.2022.005). [Trần Vinh Phương] được tài trợ bởi Chương trình học bổng đào tạo thạc sĩ, tiến sĩ trong nước của Quỹ Đổi mới sáng tạo (VinIF), mã số [VINIF.2022.TS097].

## Tài liệu tham khảo

1. FAO: FAO Yearbook (2011), *Fishery and Aquaculture Statistics, FAO annuaire. In: Statistiques des pêches et de l'aquaculture 2011/FAO anuario: Estadísticas de pescay acuicultura 2011*, Rome.
2. Wedner, D. and Rosenberry, R. (1992), World shrimp farming, *Proceedings of the World Aquaculture Society Special Session on Shrimp Farming, World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA*, 1–21.
3. Wyban, J. and Sweeney, J. N. (1991), *Intensive Shrimp Production Technology: The Oceanic Institute Shrimp Manual*, Oceanic Institute Honolulu, 158. [https://www.scirp.org/\(S\(351jmbntvnsjt1aadkposzje\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=2085789](https://www.scirp.org/(S(351jmbntvnsjt1aadkposzje))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=2085789).



4. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (2008), *Chỉ thị số 228/CT-BNN-NTTS ngày 25/01/2008 Phát triển nuôi tôm chân trắng*, <https://thuvienphapluat.vn/van-ban/Tai-nguyen-Moi-truong/Chi-thi-228-CT-BNN-NTTS-phat-trien-nuoi-tom-chan-trang-62154.aspx>.
5. Tổng Cục Thủy sản (2021), *Tôm Việt Nam 2021: Sản lượng nuôi tăng, xuất khẩu ước đạt 3,8 tỷ USD*, <https://tongcucthuysan.gov.vn/vi-vn/Tin-t%E1%BB%A9c/-Tin-v%E1%BA%AFn/doc-tin/016572/2021-12-13/tom-viet-nam-2021-san-luong-nuoi-tang-xuat-khau-uoc-dat-38-ty-usd>, [Truy cập 13/9/2022].
6. Tổng Cục Thủy sản (2022), *Dịch bệnh thủy sản tiếp tục được kiểm soát*. <https://tongcucthuysan.gov.vn/vi-vn/nu%C3%B4i-tr%E1%BB%93ng-th%E1%BB%A7y-s%E1%BA%A3n/-ph%C3%B2ng-ch%E1%BB%91ng-d%E1%BB%8Bch-b%E1%BB%87nh/doc-tin/017384/2022-05-20/dich-benh-thuy-san-tiep-tuc-duoc-kiem-soat>, [Truy cập 13/9/2022].
7. Báo Doanh nhân và Pháp lý (2021), *Thừa Thiên Huế: hơn 20 tỷ đồng "bốc hơi" vì nuôi tôm chân trắng*, <https://doanhnhannhaply.vn/thua-thien-hue-hon-20-ty-dong-boc-hoi-vi-nuoi-tom-chan-trang-d16855.html>. [Truy cập 30/10/2022].
8. Hatai, K., Roza, D., and Nakayama, T. (2000), Identification of lower fungi isolated from larvae of mangrove crab, *Scylla serrata*, in Indonesia, *Mycoscience*, 41(6), 565–572. <https://doi.org/10.1007/BF02460922>.
9. Choi, Y. J., Lee, S. H., T. T. N. Thuong, B. Nam, and Lee, H. B. (2019), Characterization of *Achlya americana* and *A. isexualis* (*Saprolegniales Oomycota*) isolated from freshwater environments in Korea, *Mycobiology*, 47(2), 135–142, 10.1080/12298093.2018.1551855.
10. De Hoog G. S., Guarro, J., Gené, J., and Figueras, M. J. (2000), *Atlas of clinical fungi*, 2nd edition, Centraalbureau voor schimmelculture, 1126.
11. P. M. Duc and Hatai, K. (2009), Pathogenicity of anamorphic fungi *Plectosporium oratosquillae* and *Acremonium* sp. to Mantis shrimp, *Oratosquilla oratoria*, *Fish Pathology*, 44(2), 81–85. [https://www.jstage.jst.go.jp/article/jsfp/44/2/44\\_2\\_81/\\_pdf](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jsfp/44/2/44_2_81/_pdf).
12. Sung, H. H., Hsu, S. F., Chen, C. K., Ting, Y. Y., and Chao, W. L. (2001), Relationships between disease outbreak in cultured tiger shrimp (*Penaeus monodon*) and the composition of *Vibrio* communities in pond water and shrimp hepatopancreas during cultivation, *Aquaculture*, 192(2-4), 101–110. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00458-0](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00458-0).
13. Barrow, G. I. and Feltham, R. K. A. (1993), *Cowan and Steel's manual for the identification of medical bacteria*, 3rd edn: Cambridge University Press, Cambridge.

14. Trương Minh Út, Lê Minh Khôi, Nguyễn Trọng Nghĩa, Lý Thị Ngọc Duyên, Từ Thanh Dung (2021), Xác định khả năng gây bệnh phân trắng của vi khuẩn *Vibrio* spp. phân lập trên tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) ở một số tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 08(129). <https://tapchi.vaas.vn/sites/tapchi.vaas.vn/files/tapchi/2022-01/tc19-2021.pdf>.
15. Yao, L., Wang, C., Li, G., and Xie, G. (2022), Identification of *Fusarium solani* as a causal agent of black spot disease (BSD) of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, *Aquaculture*, 548(1), 737–602. 10.1016/j.aquaculture.2021.737602.
16. Nordmo, R. and Ramstad, A. (2003), Comparison of different challenge methods to evaluate the efficacy of furunculosis vaccines in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., *Journal of Fish disease*, 20(2). <https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.1997.d01-114.x>.
17. Reed, L. and Muench, H. (1938), A simple method of estimating fifty per cent endpoints, *American journal of epidemiology*, 27(3), 493–497. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a118408>.
18. L. Tran, Nunan, L., Redman, R. M., et al. (2013), Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp, *Disease of Aquature Organisms*, 105, 45–55. <https://doi.org/10.3354/dao02621>.
19. N. T. Nghĩa, Đ. T. H. Oanh, T. Q. Phú, P. A. Tuấn (2015), Phân lập và xác định khả năng gây hoại tử gan tụy của vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* phân lập từ tôm nuôi ở Bạc Liêu, *Tạp chí khoa học, Trường Đại học Cần Thơ: Phần B: Nông nghiệp, Thủy sản và Công nghệ Sinh học*, 39, 99–107. <https://sj.ctu.edu.vn/ql/docgia/tacgia-16192/baibao-8444.html>.
20. Lightner, D. V., Redman, R. M., Pantoja, C. R., Noble, B. L., and T. Loc. (2012), *Early mortality syndrome affects shrimp in Asia*. <https://www.globalseafood.org/advocate/early-mortality-syndrome-affects-shrimp-in-asia/> [Truy cập 30/9/2022].
21. Koch, R. (1876), Untersuchungen über Bakterien: V. Die Ätiologie der Milzbrand-Krankheit, begründet auf die Entwicklungsgeschichte des *Bacillus anthracis* [Investigations into bacteria: V. The etiology of anthrax, based on the ontogenesis of *Bacillus anthracis*], *Cohns Beiträge zur Biologie der Pflanzen (bằng tiếng Đức)*, 2, 277–310.
22. N. N. Phước, N. T. X. Hồng, N. C. Chung (2020), Nghiên cứu độc lực của một số chủng vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp (AHPND) trên tôm chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) nuôi tại Thừa Thiên Huế, *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 18(3), 202–211. <http://tapchi.vnua.edu.vn/wp-content/uploads/2020/06/tap-chi-so-3.1.5-1.pdf>.
23. H. T. Quang, T. T. Lan, T. T. H. Hai, P. T. H. Yen, T. Q. K. Van, H. T. Tung, et al. (2020), Genetic diversity and toxic genes analysis of *Vibrio* spp. isolated from white leg shrimp and

- marine fishes cultured in Tam Giang lagoon in Thua Thien Hue province, Vietnam, *Indian Journal of Science and Technology*, 13(13), 1412–1422. 10.17485/IJST/v13i13.161.
24. T. L. Dang, A. T. Pham, T. V. Phan (2018), Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND) in Vietnam, *Asian Fisheries Science*, 31S, 274–282. <https://doi.org/10.33997/j.afs.2018.31.S1.020>.
  25. Kondo, H., T. V. Phan, L. T. Dang, and Hirono, I. (2015), Draft genome sequence of non-*Vibrio parahaemolyticus* Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease Strain KC13.17.5, isolated from diseased shrimp in Vietnam, *Genome Announcements*, 3(5), e00978-15. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00978-15>.
  26. Dư Ngọc Tuấn, Trần Kiến Đức, Nguyễn Văn Có, Nguyễn Văn Minh (2019), Đánh giá khả năng gây bệnh của *Vibrio* sp. phân lập từ tôm thẻ bị bệnh hoại tử gan tụy cấp tính tại Ninh Thuận, *Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy sản, Trường Đại học Nha Trang*, 4, 181–188. <https://tapchi.ntu.edu.vn/docgia/tacgia-33493/baibao-382.html>.