

GHI NHẬN MÔI SINH VẬT CỘNG SINH NGOÀI TRÊN HẢI SÂM VÚ *Holothuria nobilis* (Selenka, 1867) VÀ HẢI SÂM LỤ *Thelenota annanas* (Jaeger, 1833) BỊ BỆNH LỞ LOÉT

Nguyễn Văn Hùng¹, Nguyễn Quế Chi¹, Trần Quang Sáng², Đặng Thúy Bình²

TÓM TẮT

Nghiên cứu xác định thành phần sinh vật cộng sinh trên hải sâm vú và hải sâm lụ bị bệnh lở loét. Mẫu hải sâm bệnh được thu thập thuộc hai nhóm: nhóm trong điều kiện nuôi giữ và nhóm thu thập từ tự nhiên. Các loài sinh vật cộng sinh được định loại theo cả 2 phương pháp: mô tả hình thái và sinh học phân tử dựa vào trình tự đoạn gen 28S rRNA. Dấu hiệu bệnh lý và thành phần loài sinh vật cộng sinh được so sánh giữa hai nhóm hải sâm tự nhiên và nuôi nhốt. Kết quả nghiên cứu đã xác định được 3 loài sinh vật cộng sinh thuộc ngành động vật chân khớp: *Elasmopus nkjaf*, *E. viracochai* và *Chironomus cf. zealandicus* trên mẫu hải sâm vú bị bệnh lở loét cả ngoài tự nhiên lẫn trong điều kiện nuôi giữ và chỉ phát hiện trên mẫu hải sâm lụ được nuôi giữ. Đồng thời, kết quả nghiên cứu cũng cho thấy nhóm hải sâm vú và lụ trong điều kiện nuôi giữ ghi nhận số lượng sinh vật cộng sinh cao hơn so với nhóm thu từ tự nhiên.

Từ khóa: Hải sâm vú (*Holothuria nobilis*), hải sâm lụ (*Thelenota annanas*), gen 28S rRNA, bệnh lở loét, sinh vật cộng sinh.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hải sâm là loài động vật thuộc ngành da gai (Echinodermata), lớp hải sâm (Holothuroidea) hiện nay ghi nhận khoảng 1.100 loài, trong đó có khoảng hơn 20 loài có giá trị thực phẩm và y học đang được tập trung khai thác và nuôi thương phẩm (Đào Tấn Hổ, 2006; Purcell *et al.*, 2013). Ở vùng biển nước ta có khoảng 60 loài hải sâm (trong đó, hải sâm vú và hải sâm lụ được đánh giá là loài có giá trị thương mại cao), chủ yếu tập trung ở vùng biển Phú Yên, Khánh Hòa và các đảo xa bờ như Phú Quốc, Thổ Chu, Trường Sa, Côn Đảo (Đào Tấn Hổ, 2006). Mặc dù trữ lượng hải sâm khá phong phú và đa dạng nhưng do tình trạng khai thác quá mức dẫn đến nguồn lợi hải sâm suy giảm nghiêm trọng và có nguy cơ cạn kiệt (Đào Tấn Hổ, 1991). Trước yêu cầu thực tiễn, nhiều nghiên cứu về sinh sản nhân tạo, ương nuôi ấu trùng và nuôi thương phẩm các loài hải sâm đã được chú trọng thực hiện.

Cùng với sự phát triển nhân rộng mô hình nuôi, một số bệnh do ký sinh trùng (KST), virus và vi khuẩn được phát hiện trên hải sâm. Trong đó, bệnh

lở loét là bệnh nguy hiểm thường gặp nhất ở hải sâm nuôi, bệnh có thể lây lan và gây chết với tỷ lệ lớn trong khoảng thời gian ngắn (Deng *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2010). Becker *et al.*, 2003) nghiên cứu bệnh lở loét trên hải sâm cát (*H. scabra*) ghi nhận sự hiện diện của 3 nhóm vi khuẩn (*Vibrio*, *Bacteroides*, *Photobacterium*) đề xuất sự kết hợp của điều kiện môi trường hoặc tác nhân có thể là nguyên nhân gây bệnh. Nghiên cứu bệnh lở loét trên hải sâm Nhật Bản (*Apostichopus japonicus*) Deng *et al.* (2008) phát hiện tác nhân gây bệnh là virus hình cầu và 2 chủng vi khuẩn, trong khi đó Li *et al.* (2010) cho thấy 13 trong 31 chủng phân lập (8 chủng *Vibrio splendidus*, 3 chủng *Shewanella* sp. và 2 chủng *Pseudoalteromonas tetraodonis*) là tác nhân gây bệnh.

Cho đến nay, nghiên cứu về bệnh ở các loài hải sâm có giá trị kinh tế cao và chưa được nuôi rộng rãi (như hải sâm vú và hải sâm lụ) vẫn còn hạn chế. Theo Hùng *et al.* (2018), các chủng vi khuẩn (*V. parahaemolyticus*, *V. harveyi*, *V. alginolyticus* và *Vibrio* sp.) được tìm thấy trên hải sâm vú và hải sâm lụ trong điều kiện nuôi giữ bị bệnh lở loét. Tuy nhiên, các nhóm vi khuẩn trên có thể là tác nhân cơ hội; nhóm tác nhân mở đường như sinh vật ký sinh/cộng sinh vẫn chưa được nghiên cứu đầy đủ. Theo Eeckhaut *et al.* (2004), các loài nguyên sinh

¹ Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản III

² Viện Công nghệ Sinh học và Môi trường, Trường Đại học Nha Trang

Email: ngvhungria3@yahoo.com

động vật và động vật đa bào (giun dẹp, giáp xác, cá và động vật thân mềm) được ghi nhận ký sinh ở hệ thống tiêu hóa và khoang cơ thể của hải sâm thuộc lớp Holothuroidea. Triệu chứng quan sát thấy thường là các mụn và vết lở ở bề mặt lớp biểu bì và tổn thương ở các khoang cơ thể của hải sâm.

Xuất phát từ thực tế bệnh lở loét của hải sâm vú và hải sâm lựu, nghiên cứu hiện tại khảo sát hiện trạng nhiễm sinh vật cộng sinh, thành phần loài và triệu chứng bệnh làm cơ sở cho việc phòng và trị bệnh, hạn chế tác nhân gây bệnh cơ hội, hướng tới sự phát triển nghề nuôi hải sâm bền vững, góp phần bảo vệ nguồn lợi tự nhiên.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thời gian, địa điểm nghiên cứu và phương pháp thu mẫu

Thu mẫu chọn lọc những cá thể hải sâm vú (*Holothuria nobilis*) và hải sâm lựu (*Thelenota annanas*) có dấu hiệu bệnh lở loét từ tháng 1 - 10/2019. Hải sâm tự nhiên (10 cá thể mỗi loài) được thu tại đảo Trường Sa, Khánh Hòa, lưu giữ trong nước biển và vận chuyển về Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển nuôi biển, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản III, Nha Trang, Khánh Hòa. Hải sâm nuôi nhốt (mỗi loài 20 cá thể) được thu tại các bể xi măng (dung tích 30 m³), có mái che, nước chảy ra vào.

Sinh vật cộng sinh (SVCS) sống bám trên hải sâm được quan sát trực tiếp bằng mắt thường và kính lúp. Dùng kẹp gấp từng cá thể trên phần lưng, bụng và xúc tu. SVCS được giữ trong ethanol 99% cho các nghiên cứu phân loại hình thái và di truyền.

2.2. Định loại sinh vật cộng sinh trên hải sâm dựa trên đặc điểm hình thái và di truyền

Sinh vật cộng sinh được định loại sơ bộ dựa trên đặc điểm hình thái. Các loài chân khớp (giáp xác và côn trùng) được định loại và mô tả theo Appadoo & Myers (2003), Hughes & Lowry (2011), Forsyth & Martin (2014), Sharma & Gupta (2014), Alves *et al.* (2016), Nakamura *et al.* (2019). Tiêu bản được cố định bằng ethanol 70%, làm trong bằng acid lactic và nhuộm bằng carmin. Đặc điểm phân loại của hải sâm được quan sát dưới kính hiển vi quang học (Olympus, BX 41) và vẽ bằng phần mềm photoshop CS6.

ADN của từng cá thể SVCS được tách chiết bằng bộ kit ReliaPrepTM gDNA Tissue System kit (Promega, USA) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Một phần đoạn gen 28S rRNA được khuếch đại sử

dụng cặp mồi LSU-5: 5'-TAG GTC GAC CCG CTG AAT TTA AGC A-3' và 1500-R: 5'-GCT ATC CTG AGG GAA ACT TCG-3' (Olson *et al.*, 2003). Phản ứng PCR với tổng thể tích 50 µl (5 µl khuôn DNA, 5 µl 5X Green GoTaq® Flexi Buffer, 1 µl dNTP 10 mM, 1 µl mỗi mồi 10 mM, 0,25 µl GoTaq® DNA Polymerase (5 U/µl) và nước cất cho đủ thể tích) được thực hiện theo chu trình nhiệt gồm 94°C trong 3 phút; 40 chu kỳ của 94°C trong 30 giây, 56°C trong 45 giây, 72°C trong 1 phút; chu kỳ cuối 72°C trong 7 phút (Olson *et al.*, 2003).

Sản phẩm PCR được giải trình tự theo nguyên tắc Dye – labelled dideoxy terminator (Big Dye Terminator v.3.1, Applied Biosystems) với các đoạn mồi tương tự như phản ứng PCR theo chương trình luân nhiệt như sau: 96°C trong 20 giây, 50°C trong 20 giây, cuối cùng là 60°C trong 4 phút. Sản phẩm sau đó được phân tích bằng thiết bị ABI Prism 3.700 DNA Analyser (Applied Biosystems).

Các trình tự của SVCS được kết nối bằng phần mềm Genious 10.2.2 (<https://www.geneious.com/>) và đăng ký mã số trên ngân hàng quốc tế Genbank. Sau đó, trình tự được kiểm chứng bằng chương trình BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>); đóng hàng, chỉnh sửa bằng phần mềm BioEdit 7.0.1 (Hall, 1999).

2.3. Mô tả dấu hiệu bệnh lý và thành phần sinh vật cộng sinh

Quan sát ghi nhận dấu hiệu bệnh lý bên ngoài của hải sâm ở các mức độ khác nhau. Trên mỗi cá thể hải sâm có nhiễm SVCS, cường độ nhiễm trung bình từng loài được xác định bằng số lượng cá thể sinh vật cộng sinh/ vật chủ bị nhiễm.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Định loại sinh vật cộng sinh trên hải sâm dựa trên đặc điểm hình thái và di truyền

Dựa trên phân loại hình thái, nghiên cứu hiện tại phát hiện được 3 loài chân khớp (Arthropoda) trên hải sâm lựu và hải sâm vú, trong đó 2 loài (*Elasmopus nkjaf* và *E. viracochai*) là dạng trưởng thành thuộc phân ngành Giáp xác (Crustacea), lớp giáp mềm (Malacostraca) và bộ Giáp mềm (Amphipoda); và 1 loài là dạng ấu trùng (*Chironomus cf. zealandicus* thường gọi là giun máu) thuộc lớp côn trùng (Insecta), bộ ruồi thật (Diptera) và họ ruồi (Chiromidae). Cả 3 loài trên đều được tìm thấy trên hải sâm vú (nuôi nhốt), 2 loài lần lượt được tìm thấy

trên hải sâm vú tự nhiên và hải sâm lựu nuôi nhốt; không có SVCS hiện diện trên hải sâm lựu tự nhiên.

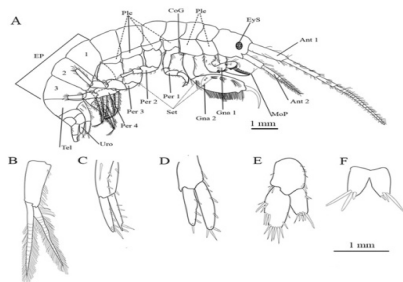
3.1.1. Định loại SVCS dựa trên đặc điểm hình thái

- Loài *Elasmopus nkjaf* (Hình 1)

Tình trạng khảo sát: Ghi nhận mới tại Việt Nam trên hải sâm lựu và hải sâm vú, mã số Genbank MN912363

Vị trí cảm nhiễm: Phía ngoài thân, lưng, bụng và xúc tu của hải sâm lựu và hải sâm vú

Số lượng mẫu khảo sát: 10 mẫu lưu giữ trong ethanol 95%



Hình 1. Hình thái ngoài của *Elasmopus nkjaf*.

A: Cơ thể, B: Quạt đuôi phụ, C-E: Quạt đuôi chính, F: Gai đuôi. Ký hiệu: Ant (ăng ten), MoP (phần phụ miệng), EyS (điểm mắt), Gna (chân bơi), Per (chân bò), CoG (mang hô hấp), Ple (màng bụng), EP (tấm mở rộng), Uro (quạt đuôi chính), Tel (gai đuôi), Set (cụm lông cứng và mềm)

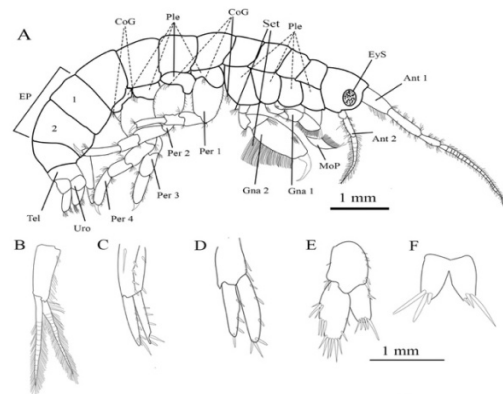
Đặc điểm hình thái: Cơ thể tròn, mịn, tỉ lệ các tấm vỏ trên cơ thể (đầu: chân bơi: chân bò: tấm mở rộng: đuôi) là 1:2:4:3:1. Phần đầu chiếm khoảng 1/6 cơ thể. Phần thân chiếm khoảng 2/3 cơ thể với các cặp chân phân thành 4 đốt gồm 2 cặp chân bơi (Gnathopod 1 và 2) và 4 cặp chân bò (Pereopod 1,2,3,4). Cấu trúc hô hấp (coxal gill) hiện diện ở phần chân bơi 2, màng bụng (Pleopods) chỉ xuất hiện trên các chân ở phần đầu và thân. Phần đuôi nối với phần thân thông qua 3 tấm mở rộng (Epimeral plate 1,2,3), chứa phần phụ phía sau gồm 3 quạt đuôi chính (Uropods 4,5,6) và gai đuôi (Telson). Cụm cấu trúc lông mềm và cứng (setae) trải dài trên cơ thể ở các phần đầu, thân và đuôi.

- Loài *Elasmopus viracochai* (Hình 2)

Tình trạng khảo sát: Ghi nhận mới tại Việt Nam trên hải sâm lựu và hải sâm vú, mã số Genbank MN912362.

Vị trí cảm nhiễm: Phía ngoài thân, lưng, bụng và xúc tu của hải sâm lựu và hải sâm vú.

Số lượng mẫu khảo sát: 10 mẫu lưu giữ trong ethanol 95%.



Hình 2. Hình thái ngoài của *Elasmopus viracochai*

A: Cơ thể, B: Quạt đuôi phụ, C-E: Quạt đuôi chính, F: Gai đuôi. Ký hiệu: Ant (ăng ten), MoP (phần phụ miệng), EyS (điểm mắt), Gna (chân bơi), Per (chân bò), CoG (mang hô hấp), Ple (màng bụng), EP (tấm mở rộng), Uro (quạt đuôi chính), Tel (gai đuôi), Set (cụm lông cứng và mềm)

Đặc điểm hình thái: Phần đầu, thân và đuôi có cấu trúc cơ quan tương tự với loài *E. nkjaf*. Một số đặc điểm khác biệt bao gồm cấu trúc coxal gill hiện diện ở Gnathopod 2 và Pereopod 1, 2, 3, 4, phần đuôi không chứa màng bụng (Pleopods) được nối với phần thân thông qua 2 tấm mở rộng (Epimeral plate 1, 2).

- Ấu trùng loài *Chironomus cf. zealandicus* (Hình 3)

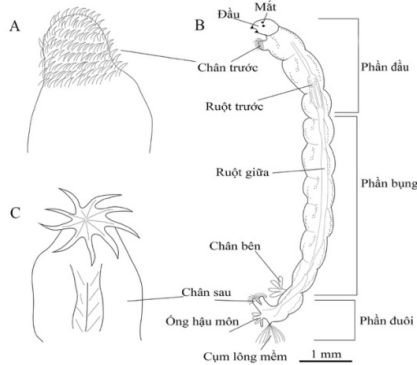
Tình trạng khảo sát: Ghi nhận mới tại Việt Nam trên hải sâm vú nuôi và tự nhiên, mã số Genbank MN912364.

Vị trí cảm nhiễm: Phía ngoài thân, lưng và bụng của hải sâm vú nuôi và tự nhiên.

Số lượng mẫu khảo sát: 5 mẫu lưu giữ trong ethanol 95%.

Đặc điểm hình thái: Cơ thể hình que (Hình 3B), màu đỏ tươi do sự hiện diện của huyết sắc tố, thường được gọi là "Giun máu (Blood worm)". Cấu trúc phần đầu chứa điểm mắt, chân trước với gai mềm, nhỏ và có 8 vòng gai sắp xếp theo hình tròn (Hình 3A). Phần bụng đơn giản gồm hầu, ruột kéo dài toàn bộ cơ thể. Cấu trúc phần đuôi bao gồm 1 cụm gai mềm (setae)

nằm bên trên ống hậu môn, chân sau với cấu trúc có 10 móc bám cứng hình móc câu sắp xếp thành hình tròn (Hình 3C) và 2 cặp chân bên (parapod).



Hình 3. Hình thái ngoài của *Chironomus cf. zealandicus*. A. Chân trước, B. Cơ thể, C. Chân sau

Xét về hình thái ngoài, loài *Chironomus cf. zealandicus* có đặc điểm giống với loài *Chironomus zealandicus* trong mô tả của Freeman (1959), các đặc điểm tương tự bao gồm số vòng gai ở phần đầu, số chân bên và phân bố của cụm gai mềm (Setae) ở phần đuôi. Sự sắp xếp và số lượng móc bám cứng ở phần đuôi của loài *Chironomus cf. zealandicus* cũng cho thấy sự tương đồng với loài *C. zealandicus*, tuy nhiên đặc điểm này vẫn chưa rõ ràng ở nghiên cứu

của Forsyth & Martin (2014). *C. analis* có đặc điểm tương tự với *C. cf. zealandicus* nhưng không quan sát thấy ống hậu môn ở phần đuôi (Forsyth & Martin, 2014) nên có thể phân tách thành hai loài riêng biệt.

3.1.2. Kiểm chứng định loại dựa trên đặc điểm di truyền

So sánh trình tự các loài SVCS thu được với trình tự gần nhất trên Genbank (Bảng 1) cho thấy sự khác biệt di truyền dao động từ 0% (tương đồng 100%) đến 10,6% (tương đồng 89,4%); thấp nhất là 0% đối với loài *Elasmopus nkjaf* và *E. nkjaf* (LC215810), cao nhất 10,6% giữa loài *Chironomus cf. zealandicus* và *Chironomus tentans* (X99212), loài còn lại (*Elasmopus viracochai*) là 1,5% (tương đồng 98,5%) với loài *Elasmopus nkjaf* (LC215810). Loài *C. cf. zealandicus* cũng thể hiện sự khác biệt (10,3%) với loài *C. tepperi* (FJ040555) và 10,6% với loài khác giống (*Dicrotendipes septemmaculatus*) với độ bao phủ và điểm tương đồng thấp (83%, 651 điểm). Do đó, dựa trên cả dữ liệu hình thái và di truyền, có thể định danh chính xác 2 loài (*Elasmopus nkjaf* và *E. viracochai*). Loài *Chironomus cf. zealandicus* chưa đủ cơ sở để định loại chính xác do thiếu dữ liệu di truyền từ 2 loài gần gũi là *C. zealandicus* và *C. analis*.

Bảng 1. So sánh trình tự khác biệt của các sinh vật cộng sinh trên hải sâm với trình tự trên Genbank

Tên loài	Loài trên Genbank	Điểm tương đồng	Độ bao phủ (%)	% tương đồng
<i>Elasmopus nkjaf</i>	<i>E. nkjaf</i> (LC215810)	2206	95	100
<i>E. viracochai</i>	<i>E. nkjaf</i> (LC215810)	2108	95	98,5
<i>Chironomus cf. zealandicus</i>	<i>C. tepperi</i> (FJ040555)	747	96	89,7
	<i>C. tentans</i> (X99212)	737	96	89,4
	<i>Dicrotendipes septemmaculatus</i> (JF304484)	651	83	89,7

3.2. Dấu hiệu bệnh lý và thành phần loài sinh vật cộng sinh trên hải sâm

3.2.1. Dấu hiệu bệnh lý

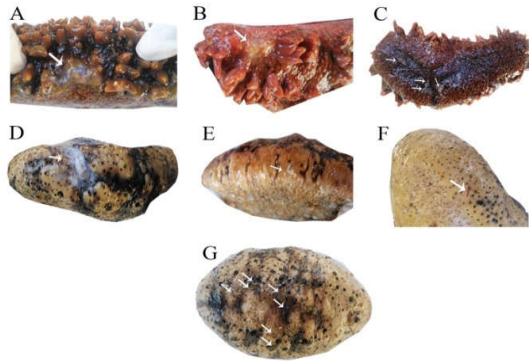
Trên 20 cá thể hải sâm vú nuôi nhốt và 10 cá thể thu tự nhiên khảo sát có dấu hiệu bệnh lở loét ở các mức độ khác nhau. Hải sâm vú mới nhiễm bệnh chỉ xuất hiện vài đốm trắng trên thân, hoặc gần vị trí lỗ miệng, diện tích vết loét nhỏ và chưa ăn sâu vào cơ (Hình 4E). Ở những cá thể nhiễm nặng, các vết loét lan rộng nhanh chóng trên toàn bộ bề mặt cơ thể và phá hủy hoàn toàn lớp biểu bì và cả mô liên kết, tạo ra lớp màng nhầy trắng khắp cơ thể. Hải sâm ốm

dần, thải nội tạng và dẫn đến chết nhanh chóng sau vài ngày (Hình 4D).

Riêng đối với những cá thể hải sâm vú bị nhiễm giun máu còn có biểu hiện cơ thể ốm dần nhanh chóng, có thể quan sát được những con giun máu bám trên lưng (Hình 4F), những cá thể nhiễm giun máu nặng quan sát có nhiều nếp gấp trên mặt lưng và giun máu bám dày theo các kẽ nếp gấp trên thân hải sâm.

Khác với hải sâm vú, hải sâm lựu mới bị bệnh lở loét biểu hiện không rõ ràng, quan sát kỹ sẽ thấy vài tua gai lưng bị mòn cụt, mặt bụng có vài đốm lở loét nhỏ (Hình 4C). Những cá thể hải sâm lựu bệnh nặng

có vùng lở loét lan rộng, mòn cụt gai sâu vào thân, toàn bộ cơ thể phủ lớp nhớt trắng dày, nhiều cá thể thải nội tạng và chết nhanh nếu không xử lý kịp thời (Hình 4A, B).



Hình 4. Hình ảnh hải sâm bị bệnh lở loét nhiễm sinh vật cộng sinh

A-B: hải sâm lựu bị lở loét nặng, C: hải sâm lựu bị nhiễm nặng (Giáp xác), D: hải sâm vú bị lở loét nặng, E: hải sâm vú bị lở loét nhẹ, F: hải sâm vú nhiễm máu nhẹ, G: hải sâm vú nhiễm máu nhẹ.

3.2.2. Thành phần sinh vật cộng sinh

Đối với hải sâm vú, đa số cá thể trong điều kiện nuôi thường bắt gặp SVCS (18/20 cá thể quan sát) với 3 loài SVCS gồm *Elasmopus nkjaf*, *E. viracochai* và *Chironomus cf. zealandicus*, trong khi đó tỷ lệ phát hiện ở hải sâm vú tự nhiên thấp hơn (12/20).

Đối với hải sâm lựu, chỉ phát hiện SVCS trên những cá thể nuôi nhốt và gồm 2 loài *E. nkjaf* và *E. viracochai* trong khi không phát hiện trên cá thể hải sâm lựu tự nhiên.

Tuy thành phần loài SVCS được phát hiện trên hải sâm lựu và hải sâm vú không phong phú nhưng mức độ nhiễm SVCS tương đối cao, với cường độ nhiễm trung bình chung từ 3,84 - 11,63 cá thể SVCS/vật chủ nhiễm, cao nhất thuộc về nhóm hải sâm nuôi giữ. Từ đó, có thể thấy rằng môi trường nuôi nhốt có thể tạo điều kiện cho SVCS phát triển và gây nhiễm lên các đối tượng nuôi.

Trong ngành da gai, lớp hải sâm (Holothuroidea) là nhóm nhiễm ký sinh trùng nhiều nhất. Có khoảng 150 loài động vật đa bào (giun dẹp, động vật thân mềm, động vật chân khớp và cá) ký sinh trên hải sâm (Eeckhaut *et al.*, 2004). Theo ghi nhận có khoảng 12 loài của thân mềm (pinnotherid crabs) sống cộng sinh với hải sâm, hầu hết sống

trong hệ thống hô hấp hoặc phần sau của đường tiêu hóa. Trong khi loài *Pinnotheres decanus*, hiếm khi được phát hiện trong khoang cơ thể, loài *Lissocarcinus orbicularis* (loài của phổ biến ở Ấn Độ - Thái Bình Dương), thường được tìm thấy trên bề mặt cơ thể của vật chủ. Thông thường, các loài giáp xác cộng sinh không gây ra tác động bất lợi cho vật chủ, ngoại trừ làm tổn thương nhẹ (Jangoux, 1990), hoặc trong trường hợp ngoại lệ làm tổn thương nặng hệ thống hô hấp (Hamel *et al.*, 1999) và cơ quan sinh sản cái (Hamel *et al.*, 2019) như trường hợp loài *Pinnotheres haling*.

Ngoài ra, sinh vật cộng sinh, ký sinh có thể gây bệnh trên hải sâm ở giai đoạn ấu trùng. Gamboa *et al.* (2012) phát hiện giun máu "Blood worm" xuất hiện nhiều trong bể nuôi hải sâm giai đoạn ấu trùng và giống. Mercier *et al.* (2005) chứng minh nguyên sinh động vật ký sinh và gây bệnh trên hải sâm giống. Ở Nam Mỹ, biện pháp giảm sức khí và ổn định nhiệt độ nước được áp dụng để hạn chế bệnh do nhóm nguyên sinh động vật ký sinh gây ra trên hải sâm nuôi (Mercier *et al.*, 2012). Ngoài những sinh vật ký sinh có thể gây bệnh trên hải sâm nuôi, copepods vừa là nhóm địch hại, vừa là nhóm cạnh tranh thức ăn trong bể nuôi hải sâm giai đoạn ấu trùng (Zonghe *et al.*, 2015)

Theo nghiên cứu của nhiều tác giả (Becker *et al.*, 2003; Deng *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2010) một số loài vi khuẩn (*Vibrio* spp., *Bacterioides* sp. và *Proteobacterium*) và virus, thậm chí là các yếu tố kết hợp có thể là tác nhân gây bệnh lở loét.

Nghiên cứu hiện tại, 2 loài giáp xác trưởng thành (*Elasmopus nkjaf* và *E. viracochai*) và dạng ấu trùng chưa định danh chính xác thuộc họ ruồi (*Chironomus cf. zealandicus*) được phát hiện trên bề mặt cơ thể và xúc tu của hải sâm vú và hải sâm lựu nuôi giữ bị lở loét. Đặc điểm hình thái và di truyền cho thấy đây là các loài lần đầu được ghi nhận ở Việt Nam, cũng như trên các loài hải sâm. Hải sâm vú nhiễm 3 loài, trong khi hải sâm lựu chỉ nhiễm 2 loài và không ghi nhận hải sâm lựu tự nhiên nhiễm SVCS. Xét về mặt hình thái, hải sâm lựu cơ thể có nhiều gai nhọn có thể không phù hợp cho các loài cộng sinh ngoài tự nhiên. Tuy nhiên, trong điều kiện nuôi giữ, các gai của hải sâm lựu có thể là chỗ trú ẩn lý tưởng cho các loài giáp xác trong khi đó bề mặt trơn, mịn của hải sâm vú rất thích hợp cho giáp xác và ấu trùng giun máu ký sinh.

Dấu hiệu đặc trưng của bệnh lở loét quan sát được trên hải sâm vú và hải sâm lựu nghiên cứu tương tự với những mô tả dấu hiệu bệnh lở loét ghi nhận trên hải sâm cát (Becker *et al.*, 2003) và hải sâm Nhật Bản (Deng *et al.*, 2008) mà tác nhân có thể là vi khuẩn và virus. Hiện chưa có công trình nào phát hiện sinh vật cộng/ký sinh gây bệnh lở loét trên hải sâm nuôi. Liên kết dấu hiệu bệnh lở loét với sự hiện diện nhiều của SVCS (đặc biệt là hải sâm nuôi nhốt) có thể thấy các loài giáp xác và ấu trùng giun máu có thể là tác nhân mở đường, tạo những vết thương hở cho những tác nhân như vi khuẩn *Vibrio* xâm nhập vào cơ thể hải sâm và gây ra bệnh lở loét. Sự xuất hiện nhiều của các cá thể giáp xác cũng có thể cản trở khả năng hô hấp (Hamel *et al.*, 1999), dẫn đến hải sâm yếu và dễ bị tấn công bởi các tác nhân cơ hội trong điều kiện nuôi nhốt.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

Lần đầu ghi nhận ba loài sinh vật cộng sinh thuộc ngành động vật chân khớp *Elasmopus nkjaf*, *E. viracochai* và *Chironomus cf. zealandicus* được phát hiện trên hải sâm vú bị bệnh lở loét thu từ tự nhiên và trong điều kiện nuôi giữ; hai loài được phát hiện trên mẫu hải sâm lựu nuôi giữ và không ghi nhận trên hải sâm lựu tự nhiên. Hải sâm vú và lựu nuôi giữ có tỷ lệ nhiễm sinh vật cộng sinh cao hơn so với ở điều kiện tự nhiên.

Thành phần loài sinh vật cộng sinh trên hải sâm vú và hải sâm lựu bị bệnh lở loét không nhiều nhưng tỷ lệ nhiễm cao, có thể là nhân tố mở đường cho các tác nhân cơ hội xâm nhập. Cơ chế và mối liên hệ giữa sinh vật cộng sinh và tác nhân gây bệnh lở loét ở hải sâm cần được nghiên cứu chuyên sâu, làm cơ sở cho phương pháp phòng trị bệnh hiệu quả, hướng tới phát triển nghề nuôi bền vững và bảo tồn nguồn lợi tự nhiên.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Đào Tấn Hổ (1991). Nguồn lợi hải sâm (*Holothuroidea*) ở vùng biển phía Nam Việt Nam. Tuyển tập Báo cáo khoa học, Hội nghị khoa học toàn quốc về biển lần III, tập 1, tr. 112-118.
- Đào Tấn Hổ (2006). Đặc điểm hình thái các loài hải sâm có giá trị thương mại ở biển Việt Nam. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Biển, số 2, tr. 70-89.
- Nguyễn Văn Hùng, Nguyễn Thị Quế Chi và Dương Thị Phượng (2018). Thành phần vi khuẩn *Vibrio* trên 2 loài hải sâm vú (*Holothuria nobilis*) và

hải sâm lựu (*Thelenota annanas*) bị bệnh lở loét trong điều kiện nuôi giữ. Tạp chí Nông nghiệp và PTNT, kỳ 1 tháng 1/2018, tr. 87-94.

- Appadoo C. & Myers A. A. (2003). The genus *Elasmopus* (Crustacea: Amphipoda: Melitidae) from Mauritius (Indian Ocean) with description of five new species. Records of the Australian Museum, 55, 61-84.
- Alves J., Johnsson R. & Senna A. R. (2016). On the genus *Elasmopus* Costa, 1853 from the Northeastern Coast of Brazil with five new species and new records. Zootaxa, 4184 (1), 1-40.
- Becker P., Gillan D., Lanterbecq D., Jangoux M., Rasolofonirina R., Rakotavao J., Eeckhaut I. (2003). The skin ulceration disease in cultivated juveniles of *Holothuria scabra* (Holothuroidea, Echinodermata). Aquaculture 242:13-20.
- Deng H., Zhou Z., Wang N. and Liu C. (2008). The syndrome of sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) infected by virus and bacteria. Virologica Sinica 2008, 23: 63-67.
- Eeckhaut, I., Parmentier, E., Becker, P., Gomez Da Silva, S. & Jangoux, M. (2004). Parasites and biotic diseases in field and cultivated sea cucumbers. *Advances in sea cucumber aquaculture and management*, 311-325.
- Freeman P. (1959). A study of New Zealand Chironomidae (Diptera, Nematocera), Bull. Brit Mus. Nat. Hist. Entomol., 7: 393-437.
- Forsyth D. & Martin J. (2014). New Zealand Chironomus species, Data integration, The University of Melbourne, Australia, 1-59.
- Gamboa, R. U., Aurelio, R., Ganad, D. A., Concepcion, L. B. & Abreo, N. A. S. (2012). Small-scale hatcheries and simple technologies for sandfish (*Holothuria scabra*) production. *Asia-Pacific Tropical Sea Cucumber Aquaculture. ACIAR Proceedings*, 136: 63-74.
- Hall, T. A. (1999). BioEdit: A User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Series, 41, 95-98.
- Hughes L. E. & Lowry J. K. (2011). The genus *Elasmopus* (Crustacea: Amphipoda: Maeridae) in Australian waters. Journal of Natural History, 45: 579-628.
- Hamel J-F, Peter K. L. Ng, Seth M. and Annie M. (2019). Note on the pea crab *Holotheres semperi*

- (Bürger, 1895) parasitising the sea cucumber *Holothuria scabra* in Rempang, Indonesia SPC Beche-de-mer Information Bulletin. 39: 36-38.
15. Hamel J.-F., P. K. L. Ng and A. Mercier. (1999). Life cycle of the pea crab *Pinnotheres halingi*, sp. nov., and obligate symbiont of the sea cucumber *Holothuria scabra* Jaeger. *Ophelia* 50: 149-175.
16. Jangoux M. (1990). Diseases of Echinodermata. Pp: 439-567. In: Diseases of Marine Animals. Vol.3. Kinne, O. (Ed.). Biologische Anstalt Helgoland, Hamburg, Germany. 696 p.
17. Li H., Qiao G., Gu J. Q., Zhou W., Li Q., Woo S. H., Xu D. H., Park S. I. (2010). Phenotypic and genetic characterization of bacteria isolated from diseased cultured sea cucumber *Apostichopus japonicus* in northeastern China. *Dis Aquat Org*, 91: 223-235.
18. Mercier, A., Hidalgo, R. Y. & Hamel, J.-F. (2005). Aquaculture of the Galapagos sea cucumber, *Isostichopus fuscus*. FAO Fisheries Technical paper, 347-358.
19. Mercier, A., Ycaza, R. H., Espinoza, R., Arriaga-Haro, V. & Hamel, J.-F. (2012). Hatchery experience and useful lessons from *Isostichopus fuscus* in Ecuador and Mexico. *Asia-Pacific Tropical*
- Sea Cucumber Aquaculture. ACIAR Proceedings, 136: 79-90.
20. Nakamura Y., Nakano T., Ota Y. & Tomikawa K. (2019). A new species of the genus *Elasmopus* from Miyako Island, Japan (Crustacea: Amphipoda: Maeridae), *Zootaxa* 4544 (3): 395-406.
21. Olson, M. R., Holley, C. L., Yoo, S. J., Huh, J. R., Hay, B. A., Kornbluth, S. (2003). Reaper Is Regulated by IAP-mediated Ubiquitination. *J. Biol. Chem.* 278: 4028-4034.
22. Purcell, S. W., Samyn, Y. & Conand, C. (2013). Commercially important sea cucumbers of the world. FAO Species Catalogue for Fishery Purposes. No. 6. Rome, FAO. 2012. 150 pp. 30 colour plates, available online at <http://www.fao.org/docrep/017/i1918e/i1918e.pdf>
23. Sharma M. R. & Gupta V. (2014). Morphological Identification of *Chironomus* Larvae in Jaipur District (Rajasthan) India, *International Journal of Scientific Research* 9(3): 411-413.
24. Zonghe Yu, Hongsheng Yang, Jean-François Hamel, Annie Mercier. (2015). Chapter 14 - Larval, Juvenile, and Adult Predators, *Developments in Aquaculture and Fisheries Science*, 39: 243-256

SURVEY COMPOSITION OF SYMBIOTIC ORGANISMS ON SEA CUCUMBER *Holothuria nobilis* (Selenka, 1867) AND *Thelenota annanas* (Jaeger, 1833) WITH SKIN ULCERATION DISEASE

Nguyen Van Hung, Nguyen Que Chi, Tran Quang Sang, Dang Thuy Binh

Summary

This study has identified the composition of symbiotic organisms located on skin ulceration disease two species sea cucumber *Holothuria nobilis* and prickly redfish *Thelenota annanas*. The samples were collected from skin ulceration disease sea cucumber of both nature and captive conditions. The parasites were identified by both morphology and biological molecular method description based on sequencing of the gene 28S rRNA. The composition of symbiotic organisms have been calculated the average and compared to both groups of nature and captive animals. The study results have found three symbiotic species that belonging Arthropoda phylum: *Elasmopus nkjaf*, *E. viracochai* and *Chironomus cf. zealandicus* on sea cucumber specimens were infected both nature and captive animals and found only in prickly redfish. At the same time, the research results also showed that the group sea cucumber and prickly redfish in captivity had a higher rate of symbiotic infection than the group collected from the nature.

Keywords: Sea cucumber (*Holothuria nobilis*), prickly redfish sea cucumber (*Thelenota annanas*), 28S rRNA gen, skin ulceration disease, symbiotic organisms.

Người phản biện: PGS.TS. Tô Long Thành

Ngày nhận bài: 19/6/2020

Ngày thông qua phản biện: 21/7/2020

Ngày duyệt đăng: 28/7/2020