Vietnam J. Agri. Sci. 2024, Vol. 22, No. 8: 1020-1028 Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam 2024, 22(8): 1020-1028
www.vnua.edu.vn

ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ YẾU TỐ MÔI TRƯỜNG ĐẾN KHẢ NĂNG TỒN TẠI CỦA ẤU TRÙNG SÁN *Dollfustrema bagari* GÂY BỆNH TRÊN CÁ NHEO MỸ

Vũ Đức Mạnh[1,2], Lê Đình Sơn[1], Đoàn Thị Nhinh[1], Nguyễn Mạnh Hùng[3]
Trương Đình Hoài[1], Đặng Thị Lụa[2], Kim Văn Vạn[1*]

[1]Khoa Thủy sản, Học viện Nông nghiệp Việt Nam
[2]Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản 1
[3]Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

[*]Tác giả liên hệ: kvvan@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 29.05.2024 Ngày chấp nhận đăng: 07.08.2024

TÓM TẮT

Trong những năm gần đây, bệnh đốm trắng nội tạng do metacercaria của *Dollfustrema bagari* ngày càng phổ biến trên cá nheo Mỹ và gây thiệt hại lớn cho người nuôi tại Việt Nam. Nghiên cứu được thực hiện nhằm cung cấp thêm thông tin về loài ký sinh trùng này và làm tiền đề cho các nghiên cứu dịch tễ, phòng bệnh tiếp theo. Bố trí thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của độ mặn, nhiệt độ, pH đến thời gian tồn tại của metacercaria *D. bagari* được thực hiện trên 750 ấu trùng khỏe mạnh. Kết quả thu được cho thấy mức độ ảnh hưởng khác nhau của 3 yếu tố trên. Trong môi trường nước cất (độ mặn 0ppt; pH 6,8; 23-24°C), thời gian tồn tại trung bình từ 16-18 giờ. Độ mặn phù hợp cho metacercaria tồn tại là từ 0-5ppt; sán co lại, chết nhanh trong vòng 3 giờ khi gặp độ mặn cao trên 9ppt và trương to trong môi trường nước ngọt. Ấu trùng sán có khả năng tồn tại tốt nhất trong khoảng nhiệt 20-28°C (14-18 giờ), ngoài khoảng nhiệt trên metacercaria chỉ tồn tại được trong vòng 3 giờ. pH môi trường không ảnh hưởng trực tiếp đến khả năng tồn tại của metacercaria. Với khả năng tồn tại tốt ở điều kiện môi trường, metacercaria *D. bagari* có thể thích nghi tốt và bùng nổ hơn trong bối cảnh tác động của biến đổi khí hậu gia tăng.

Từ khóa: *Dollfustrema bagari*, độ mặn, nhiệt độ, pH.

Effects of Environmental Factors on the Survival of Metacercaria of *Dollfustrema bagari* Causing Disease in Channel Catfish

ABSTRACT

In recent years, off-white grub disease caused by metacercaria of *Dollfustrema bagari* has become increasingly common in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and causes great economic loss to Vietnam farmers. The study was conducted to provide more information about this parasite and serve as a premise for further epidemiological research and disease prevention. Experiments, which were conducted to assess the influence of salinity, temperature, pH on the survival time of metacercaria *D. bagari*. The study utilized 750 healthy flukes for this purpose. The results showed different levels of influence of the above three factors. In distilled water (salinity 0ppt; pH 6.8; 23-24°C), the metacercaria survival time is 16-18 hours. The suitable salinity for metacercaria was 0-5ppt; Flukes shrinked, died quickly within 3 hours when exposed to high salinity above 9ppt and swell in freshwater. Tapeworm larvae had the best ability to survive in the temperature range of 20-28°C (14-18 hours), while metacercaria can only survive for 3 hours out of this range. Whereas, pH did not affected visibly to metacercaria. Consequently, metacercaria *D. bagari* can adapt well and be more explosive in the global climate change.

Keywords: *Dollfustrema bagari*, salinity, temperature, pH.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đốm trắng nội tạng là bệnh phổ biến trên cá nheo Mỹ nuôi lồng, bệnh đang gây thiệt hại nhiều cho người nuôi ở khu vực phía bắc Việt Nam (Vũ Đức Mạnh & cs., 2022; Kim Văn Vạn & cs., 2023). Tác nhân gây bệnh là ấu trùng sán lá *Dollfustrema bagari* (Kim & cs., 2022; Vũ Đức

Mạnh & cs., 2022). Có nhiều biện pháp để kiểm soát lây nhiễm ký sinh trùng trong hệ thống và hóa chất luôn là lựa chọn đầu tiên của người nuôi (Buchmann, 2022). Theo nghiên cứu của Kim Văn Vạn & cs. (2023), Ivermectin và Praziquantel đã được sử dụng để điều trị thành công bệnh đốm trắng nội tạng. Tuy nhiên, việc sử dụng thuốc và hóa chất lâu dài sẽ gây ra tác động xấu đến môi trường, gây độc cho cá nuôi và người lao động (Buchmann, 2022). Bên cạnh đó, ký sinh trùng cũng cho thấy sự thích ứng tốt với thay đổi của các điều kiện môi trường nên cần có nhiều phương hướng tiếp cận. Hiện nay, một trong những biện pháp bảo vệ cá nuôi tốt nhất là kiểm soát sự xuất hiện ký chủ trung gian của ký sinh trùng trong hệ thống nuôi (Madsen & Stauffer, 2024). Ngoài ra, việc điều chỉnh một số yếu tố ngoại sinh như nhiệt độ, độ mặn cũng cho thấy hiệu quả trong việc kiểm soát bệnh ký sinh trùng (Born-Torrijos & cs., 2013). Do đó, đặc điểm sinh học của ký sinh trùng là thông tin quan trọng phục vụ cho các nghiên cứu dịch tễ và phòng bệnh. Đặc biệt, các yếu tố môi trường trong hệ thống nuôi luôn có mối quan hệ mật thiết đến nguy cơ lây nhiễm và bùng phát dịch bệnh.

Trong bối cảnh biến đổi khí hậu gia tăng kéo theo xâm nhập mặn, sóng nhiệt và biến động môi trường bất thường (Stocker & cs., 2013), các loài ký sinh trùng cũng có những biến đổi và thích nghi phù hợp để tồn tại (Aleuy & Kutz, 2020). Nhiều công bố về hiện tượng này diễn ra trên các loài ký sinh trùng khác nhau nhưng chưa có nghiên cứu về ảnh hưởng của các yếu tố môi trường đến ấu trùng sán lá *D. bagari* gây bệnh đốm trắng nội tạng cho cá nheo Mỹ ở Việt Nam.

Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của độ mặn, pH, nhiệt độ môi trường nước đến khả năng tồn tại, thích nghi của ấu trùng sán lá làm tiền đề cho nghiên cứu dịch tễ và phòng bệnh.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Địa điểm và thời gian

Thí nghiệm được thực hiện từ tháng 08/2023 đến tháng 04/2024 tại Phòng Thí nghiệm Bộ môn Môi trường và Bệnh Thủy sản, Khoa Thủy sản, Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Hoạt động thử nghiệm trên động vật thí nghiệm tuân thủ theo quy định của Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

2.2. Vật liệu và phương pháp

2.2.1. Chuẩn bị thí nghiệm

Chuẩn bị ấu trùng sán: Ấu trùng sán lá được thu từ các mẫu gan cá nheo Mỹ bị bệnh đốm trắng nội tạng tại Phòng Thí nghiệm Bộ môn Môi trường và Bệnh Thủy sản, Khoa Thủy sản, Học viện Nông nghiệp Việt Nam theo mô tả của Kim & cs. (2022). Tách 30 mẫu gan, thận từ cá nheo Mỹ nhiễm ấu trùng sán lá thu được tại lồng nuôi trên lưu vực sông Hồng thuộc địa bàn xã Vũ Bình, Kiến Xương, Thái Bình (nhiệt độ 21,5-27,8°C, pH 7,3-7,6, độ mặn 1-7ppt). Thu các nang và làm vỡ trong môi trường nước cất để ấu trùng sán lá thoát ra, các metacercariae vận động bình thường được thu thập vào đĩa petri chứa nước cất, nhẹ nhàng rửa sạch trước khi bố trí thí nghiệm tiếp theo. Lấy ngẫu nhiên 30 mẫu để tiến hành làm tiêu bản và quan sát hình thái. Cố định ký sinh trùng bằng cồn, sau đó soi tươi dưới kính hiển vi ở độ phóng đại 10 × 10 theo mô tả của Kim Văn Vạn & cs. (2012), nhuộm nhanh bằng fuchsin (Merck - Germany). Nhuộm Giemsa (Merck - Germany) để quan sát chi tiết hình thái và đo kích thước 10 mẫu ngẫu nhiên cho mỗi lần thu sán.

Chuẩn bị môi trường thí nghiệm

Muối biển nhân tạo của hãng Red Sea (Israel) pha cùng nước cất để tạo ra dung dịch có độ mặn 0, 5, 9, 15, 20, 25 và 30ppt cho thí nghiệm 1 (TN1), đo bằng khúc xạ kế có độ chính xác 0,2% của hãng Kruss (Germany). Sử dụng 1M NaOH và 1M HCl kết hợp với nước cất để tạo thành dung dịch có pH khác nhau (1,8; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0; 10,0; 11,0) cho thí nghiệm 2 (TN2) như mô tả của Tange & cs. (2020). Nước cất được sử dụng để tiến hành thí nghiệm 3 (TN3).

Thiết bị, vật liệu khác: bộ giải phẫu, tủ ấm (Thermo Fisher Scientific - USA), cốc đong, pipet, máy đo pH để bàn (Thermo Fisher Scientific - USA), đĩa petri, kính hiển vi, kính soi nổi, bộ thiết bị chạy PCR, tủ hấp.

Bảng 1. Bố trí theo dõi ảnh hưởng môi trường đến thời gian tồn tại của ấu trùng sán lá

Yếu tố thí nghiệm	Nghiệm thức	Số lần lặp	Số lô thí nghiệm	Số lượng ấu trùng sán lá
TN1: Độ mặn	0; 5; 9; 10; 15; 20; 25; 30ppt	3	24	240
TN2: pH	1,8; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10	3	27	270
TN3: Nhiệt độ	6; 16; 20; 24; 28; 32; 36; 42°C	3	24	240

2.2.2. Phương pháp đánh giá ảnh hưởng của môi trường đến khả năng tồn tại của ấu trùng sán

Bố trí TN1: theo dõi ảnh hưởng của độ mặn đến khả năng tồn tại của ký sinh trùng theo mô tả của Studer & Poulin (2012). Đưa 10 metacercariae vào mỗi đĩa petri chứa 20ml dung dịch có độ mặn khác nhau đã chuẩn bị trước. Sau mỗi 4 giờ, nhẹ nhàng rút bỏ 10ml và bổ sung thêm 10ml dung dịch để duy trì ổn định độ mặn. Liên tục quan sát hoạt động của sán (<15 phút/lần) và ghi lại diễn biến và số lượng sán chết trong vòng 48 giờ hoặc đến khi sán chết hết. Sán được coi là đã chết khi bị kích thích bằng kim mà không có cử động trong vòng 1 phút. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần (mỗi nghiệm thức 3 đĩa tương ứng với 3 lần lặp) và theo dõi ở nhiệt độ phòng 23-24°C.

TN2: theo dõi ảnh hưởng của pH đến khả năng tồn tại của ấu trùng sán lá được bố trí theo mô tả của Tange & cs. (2020). Đưa 10 metacercariae vào mỗi đĩa petri chứa 20ml dung dịch có pH khác nhau đã chuẩn bị trước. Duy trì ổn định môi trường bằng cách định kỳ thay 50% sau dung dịch 4 giờ/lần cho đến khi kết thúc thí nghiệm và quan sát tương tự như với TN1. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần ở nhiệt độ phòng 23-24°C

Theo dõi ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng tồn tại của ấu trùng sán lá (TN3): Sử dụng tủ ấm mát để thiết lập các mốc nhiệt độ và thực hiện lần lượt các nghiệm thức từ 16-42°C Do điều kiện nước sông tại khu vực thu cá nhiễm bệnh dao động từ 16-28°C (số liệu không công bố) nên các mức nhiệt được thiết lập trong khoảng trên (16, 20, 24, 28°C) nhằm mô phỏng thân nhiệt của các động vật biến nhiệt trong môi trường, với các khoảng nhiệt cao hơn thăm dò theo mô phỏng thân nhiệt của một số sinh vật khác thường xuất hiện trong hệ thống nuôi thủy sản như gia cầm 39-42,5°C (Xiong & cs., 2019), chuột cống 37-38°C (Gudjonsson, 1932), chó 38,2-39,3°C (Piccione & cs., 2009) và người 36,8°C (Geneva & cs., 2019). Riêng mốc nhiệt 6°C được thiết lập trong tủ lạnh thường theo mô phỏng điều kiện bảo quản thực. Tiến hành lặp lại 3 lần và sử dụng 270 ấu trùng sán lá cho thí nghiệm này.

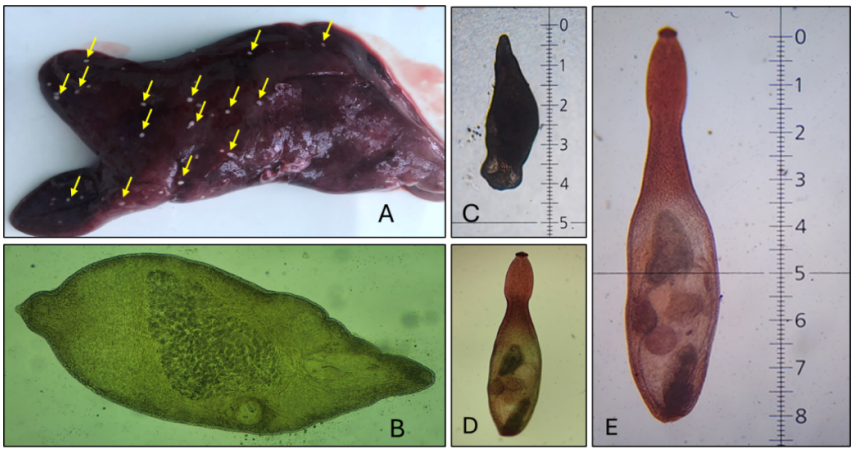
2.2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý trên phần mềm Mircosoft Excel phiên bản 2016 và IBM SPSS Statistics phiên bản 20. Việc phân tích được thực hiện bằng thống kê mô tả thông qua tính toán giá trị trung bình (M ± SD) và Log_{10}, phương trình hồi quy phi tuyến polynormial, giá trị lớn nhất Max và hệ số xác định R^2. Sử dụng phần mềm xử lý thống kê IBM SPSS Statistics phiên bản 20 với hai công cụ là: phân tích phương sai một yếu tố (One-Way ANOVA) và trắc nghiệm Duncan với mức ý nghĩa P <0,01 để so sánh đánh giá sự khác biệt về thời gian tồn tại của sán của các nghiệm thức.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả kiểm tra mẫu ký sinh trùng thu được

Kết quả kiểm tra cho thấy gan cá nheo Mỹ nhiễm bệnh thu thập được đều có cường độ nhiễm cao (Hình 1A), phù hợp với nhiều kết quả nghiên cứu trước đây. Thông qua làm tiêu bản xác định được ký sinh trùng tách ra từ nang trắng là *D. bagari* ở giai đoạn metacercaria, hình dạng nang dài, thon nhỏ phía trước, chiều dài của ấu trùng nằm trong khoảng từ 0,47-0,55mm; chiều rộng dao động từ 0,12-0,14mm (Hình 1B, hình 1E). Hình dạng và kích thước này tương đồng với công bố của Kim & cs. (2022) và Vũ Đức Mạnh & cs. (2022).



Ghi chú: A: Gan cá với các nang sán (mũi tên vàng); B: Soi tươi metacercaria thu được (10×10); C-E: Nhuộm và đo kích thước metacercaria (10 × 10).

Hình 1. Kết quả phân lập mẫu ký sinh trùng thu được

C

Độ mặn (*ppt*)	Kích thước sán (*mm*)	
	Chiều dài	*Chiều rộng*
0	$0,92^{a}\pm0,011$	$0,32^{x}\pm0,063$
5	$0,53^{b}\pm0,055$	$0,27^{xy}\pm0,041$
9 - 30	$0,33^{c}\pm0,069$	$0,21^{y}\pm0,051$

Ghi chú: A: Metacercaria co lại khi gặp độ mặn cao (10 × 10); B: Trương to trong môi trường nước cất (10 × 10); C: Kích thước sán chết thay đổi ở các độ mặn khác nhau; Trong cùng một cột, các chữ cái khác nhau thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê (P < 0,01).

Hình 2. Sự thích nghi của ấu trùng sán lá với các mức độ mặn môi trường khác nhau

Nghiên cứu của Kim & cs. (2022) tiến hành giải trình tự 28S rDNA đã xác định sán là loài *D. bagari* (Digenea: Bucephalidae). Trước đó, một số nghiên cứu đã xác định được sán trưởng thành ký sinh trên cá chiên tự nhiên ở hồ Hòa Bình và lưu vực sông Mekong thông qua khóa phân loại hình thái (Moravec & Sey, 1989; Khamboonruang & cs., 2006. Các mẫu cá bị nhiễm bệnh đốm trắng nội tạng đều xuất hiện bệnh tích đại thể là đốm trắng ở gan với 82,8% (Kim & cs., 2022) và cường độ nhiễm lên tới 3,37 KST/g gan (Vũ Đức Mạnh & cs., 2022). Ngoài ra, đốm trắng còn xuất hiện nhiều ở thận với tỉ lệ lên tới 62,1% và một số trường hợp ghi nhận trên lách, tim; khi ép các đốm trắng trên lam kính thấy các đốm trắng đều chứa sán

D. bagari ở giai đoạn metacercaria, mỗi đốm trắng chứa một bọc và trong bọc chỉ có một ấu trùng (Vũ Đức Mạnh & cs., 2022).

3.2. Ảnh hưởng của độ mặn đến khả năng tồn tại của ấu trùng sán

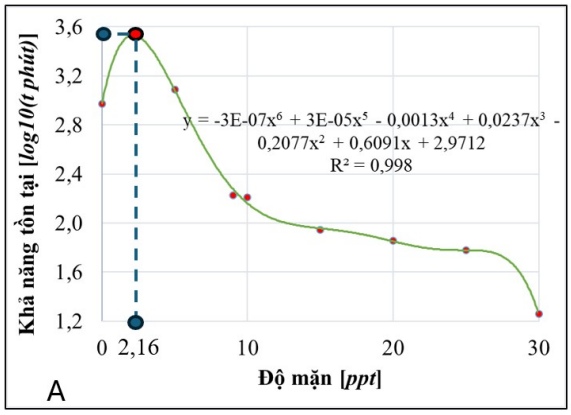
Trong thí nghiệm theo dõi ảnh hưởng của độ mặn ở nhiệt độ 23-24°C, toàn bộ ấu trùng sán lá thử nghiệm đều chết trong vòng 24 giờ quan sát (Hình 3). Ở điều kiện môi trường có độ mặn trên 9ppt, sán có dấu hiệu co lại (Hình 2A) và chỉ tồn tại được trong vòng 3 giờ. Đặc biệt ở độ mặn 30ppt, ấu trùng sán lá chỉ tồn tại được trong vòng 20 phút. Ngược lại, sán trương to khi ngâm trong môi trường nước ngọt (Hình 2B). Metacercaria thích nghi tốt hơn với điều kiện độ mặn 0-5ppt với thời gian tồn tại kéo dài từ 16-22 giờ và đạt đỉnh ở mức 2,16ppt, thời gian tồn tại của ấu trùng sán lá giảm khi độ mặn môi trường tăng từ 5-30ppt, hệ số R^2 = 0,9981 cho thấy mối tương quan chặt chẽ giữa hai thông số trên (Hình 3).

Một số loài sán lá gan cũng có phản ứng sinh lý tương tự để thích nghi với môi trường có độ mặn biến động. ấu trùng sán lá trên cá nước ngọt thường co lại trước khi chết ngay cả khi còn trong bào nang (Jensen & cs., 2017). Việc metacercaria trương to ở 0ppt có thể giải thích do độ mặn tại khu vực thu mẫu ở mức trên 1ppt.

Cá nheo Mỹ có khả năng thích nghi rất tốt với độ mặn thay đổi. Theo Allen & Avault (1970), cá giống có thể tồn tại được trong môi trường có độ mặn 9-12ppt, sinh trưởng và tiêu thụ thức ăn tốt ở độ mặn 5ppt. Đồng thời, độ mặn sinh lý của cá thay đổi theo điều kiện môi trường nước (Gonzalez, 2012; Kültz, 2015). Nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng việc thay đổi độ mặn có khả năng làm giảm cường độ nhiễm Digenea trên cá (Born-Torrijos & cs., 2014; Bommarito & cs., 2021; Buchmann, 2022). Do vậy có thể hướng đến nuôi cá nheo Mỹ ở độ mặn cao hơn nhằm giảm sự lây nhiễm tự nhiên của *D. bagari*. Ngoài ra, do khả năng tồn tại kém ở độ mặn ≥ 9ppt nên khả năng lây nhiễm sang người và động vật lớp thú là không cao. Tuy nhiên, không loại trừ khả năng tồn tại, ký sinh và gây bệnh ở đường tiêu hóa hoặc ngoại cơ quan.

3.2. Ảnh hưởng của pH đến khả năng tồn tại của ấu trùng sán

Ở nhiệt độ phòng 23-24°C, thời gian tồn tại trung bình của ấu trùng sán lá trong thí nghiệm TN2 dao động từ 13-18 giờ, khác biệt không có ý nghĩa thống kê với lô đối chứng pH = 7,0 ở mức ý nghĩa 0,01 (Hình 4A). Kết quả theo dõi cho thấy pH môi trường không ảnh hưởng đến khả năng tồn tại của ấu trùng sán lá (R^2 < 0,5). Khi ấu trùng sán lá chết, không nhận thấy biểu hiện bất thường về kích thước cũng như màu sắc so với lô đối chứng.

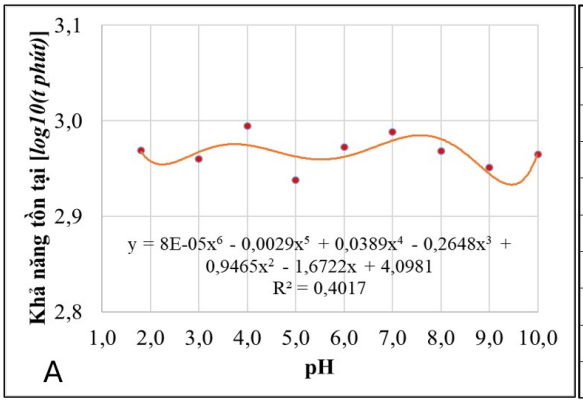


Độ mặn (*ppt*)	Thời gian tồn tại (*phút*)
0	938^{e}±94,4
5	1225^{d}±43,3
9	170^{c}±17,3
10	163^{bc}±17,6
15	88^{abc}±7,6
20	72^{ab}±2,9
25	60^{a}±5,0
30	18^{a}±2,9

B

Ghi chú: A: Biểu đồ tương quan độ mặn và thời gian tồn tại của metacercaria; B: Thời gian tồn tại của metacercaria trong môi trường có độ mặn khác nhau. Trong cùng một cột, các chữ cái khác nhau thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê (P < 0,01).

Hình 3. Biểu đồ thể hiện mối quan hệ giữa độ mặn và khả năng tồn tại của ấu trùng sán lá



pH	Thời gian tồn tại (phút)
1,8	935[a] ±108,5
3	917[a] ±100,2
4	988[a] ±43,7
5	870[a] ±78,1
6	938[a] ±30,1
7	975[a] ±52,2
8	932[a] ±75,9
9	897[a] ±90,9
10	B 922[a] ±12,6

Ghi chú: (A) Biểu đồ tương quan pH môi trường và thời gian tồn tại của metacercaria; (B) Thời gian tồn tại của metacercaria trong môi trường có pH khác nhau. Trong cùng một cột, các chữ cái khác nhau thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê (P < 0,01).

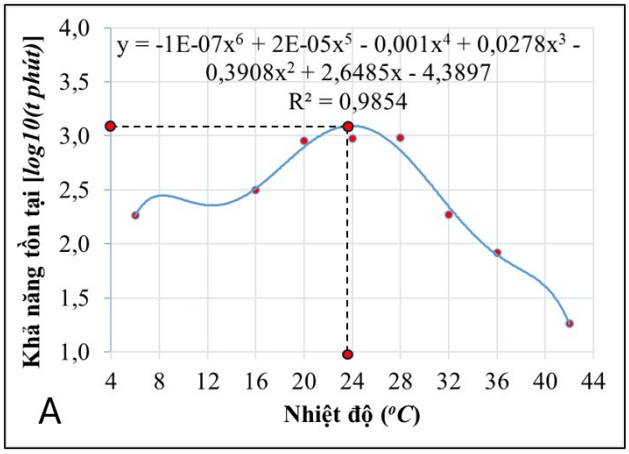
Hình 4. Khả năng tồn tại của metacercaria trong môi trường có pH khác nhau

Khả năng tồn tại của nhiều loài ký sinh trùng giảm xuống khi pH môi trường biến động mạnh. Theo nghiên cứu của Marcogliese & Cone (1996), không ghi nhận sự tồn tại của nhóm Digenean trong môi trường tự nhiên ở các lưu vực sông khu vực tây nam nước Mỹ khi pH môi trường xuống thấp dưới 4,7. Thời gian tồn tại của cả 3 giai đoạn *Ichthyophthirius multifiliis* đều giảm khi gặp điều kiện môi trường có pH dưới 5 (Tange & cs., 2020). Tuy nhiên, theo kết quả thu được, metacercaria của *D. bagari* có khả năng thích nghi tốt hơn khi tồn tại tới hơn 14 giờ ở các điều kiện pH môi trường dao động từ 2-10 (Hình 4B). cá nheo Mỹ nuôi chỉ sinh trưởng và phát triển tốt trong môi trường có điều kiện pH từ 6,5-9,0 (Tucker & Hargreaves, 2004). Do đó, việc điều chỉnh pH môi trường để loại bỏ *D. bagari* ký sinh trên cá nheo Mỹ là không khả thi.

Thông thường, metacercaria xâm nhập vào cơ thể vật chủ qua đường tiêu hóa khi vật chủ ăn động vật có chứa ấu trùng sán lá (Koprivnikar & cs., 2023; Sures & cs., 2017; Cirtwill & Stouffer, 2015). Trong khi đó, pH sinh lý trong dạ dày, cơ thịt cá nheo Mỹ lần lượt dao động từ 3,0-4,0 (Đỗ Thị Thanh Hương & Nguyễn Văn Tư, 2010) và 6,0-6,2 (Refaey & cs., 2017). Đối với người và động vật ăn thịt khác, pH dạ dày ở mức 1,6-2,4 (Lentner, 1981). Với khả năng tồn tại ở điều kiện pH thấp, không loại trừ khả năng cá nheo Mỹ hoặc động vật ăn thịt khác là vật chủ cuối cùng của *D. bagari*. Metacercaria có thể theo thức ăn vào đường tiêu hóa, đâm thủng cơ quan và biến thái thành sán trưởng thành. Do đó, cần có thử nghiệm ở điều kiện mô phỏng dịch dạ dày để đánh giá khả năng tồn tại metacercaria của ký sinh trùng trong đường tiêu hóa.

3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng tồn tại của ấu trùng sán

Tương tự như độ mặn, nhiệt độ cũng có ảnh hưởng trực tiếp đến khả năng tồn tại của metacercaria, xu hướng biến thiên thể hiện chi tiết ở hình 5. Từ phương trình hồi quy xác định được giá trị nhiệt độ thích hợp nhất cho sán tồn tại ở mức 23,99°C, hệ số R^2 ở mức 0,9854 (Hình 5A) cho thấy mối tương quan chặt chẽ giữa 2 thông số trên. Kết quả thu được thể hiện ở hình 5B cho thấy ấu trùng sán lá có khả năng tồn tại tốt nhất trong khoảng từ 20-28°C. Từ 36°C tương đương với mức thân nhiệt của cơ thể người và một số loài động vật lớp thú, metacercaria sống được trong vòng 1,5 giờ. Ở điều kiện tương đương thân nhiệt của vịt là 42°C, ấu trùng sán lá *D. bagari* chỉ tồn tại được trong thời gian ngắn. Tuy nhiên, ấu trùng sán lá này có thể thích nghi tốt ở các mức nhiệt thấp, điển hình là điều kiện bảo quản lạnh thông thường dành cho thực phẩm 6°C, với khả năng tồn tại hơn 3 giờ.



Nhiệt độ (°C)	Thời gian tồn tại (phút)
6	$193^{bc} \pm 75,1$
16	$317^{c} \pm 30,6$
20	$907^{d} \pm 75,1$
24	$953^{d} \pm 95,0$
28	$968^{d} \pm 86,1$
32	$188^{bc} \pm 17,6$
36	$83^{ab} \pm 5,8$
42	$18^{a} \pm 2,9$

B

Ghi chú: A: Biểu đồ tương quan nhiệt độ và thời gian tồn tại của metacercaria; B: Thời gian tồn tại của metacercaria ở các mức nhiệt khác nhau. Trong cùng một cột, các chữ cái khác nhau thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê (P < 0,01).

Hình 5. Khả năng tồn tại của metacercaria ở các mức nhiệt khác nhau

Theo một số nghiên cứu, loài KST này được tìm thấy ở các vùng khí hậu có nền nhiệt cao, ổn định từ 18-28°C. *D. bagari* đã được tìm thấy trong nội tạng cá chiên (*Bagarius bagarius*) tại một số tỉnh phía Bắc của Việt Nam (Moravec & Sey, 1989), trên sông Mekong qua tỉnh Chiang Rai của Thái Lan (Khamboonruang & cs., 2006) dù không gây chết như trên cá nheo Mỹ. Những kết quả trên phù hợp với xu hướng tồn tại ở khoảng nhiệt 20-28°C trong nghiên cứu này. Cường độ nhiễm *Bolbophorus damnificus* không khác biệt ở hai ngưỡng nhiệt 18°C và 28°C khi theo dõi trong vòng 30 tháng (Mitchell & cs., 2011). Nghiên cứu của Prokofiev & cs. (2017) cũng cho thấy không có sự khác biệt về cường độ nhiễm *Himasthla elongata* (Digenea) khi nhiệt độ tăng giảm trong khoảng nhiệt 18-22°C. Tương đồng với khả năng tồn tại của metacercaria *D. bagari*, khả năng phóng thích cercaria *Proterometra macrostoma* ngoài khoảng nhiệt 15-30°C là rất thấp (Rosen & cs., 2018), từ đó có thể dẫn đến cường độ nhiễm và tỉ lệ nhiễm sang cá giảm khi nhiệt độ tăng cao hoặc giảm sâu. Để thích nghi với điều kiện nhiệt độ thay đổi, một số loài Digenea cũng có khả năng kích thích vật chủ điều chỉnh thân nhiệt theo hướng có lợi cho phát triển và truyền lây của chúng (Żbikowska & Żbikowski, 2015). Điều này chưa được nghiên cứu trên metacercaria của *D. bagari.*

Hiện nay, chưa ghi nhận ca nhiễm *D. bagari* trên người. Cùng với kết quả thu được, chúng tôi tiếp tục có thêm luận cứ chứng minh khả năng con người và một số loài động vật hằng nhiệt là vật chủ trung gian cuối cùng của *D. bagari* là không cao. Do vậy, cần có nghiên cứu chuyên sâu hơn xác định vật chủ, đánh giá khả năng truyền lây trên động vật thí nghiệm để từ đó đưa ra cảnh báo và khuyến cáo hợp lý cho người nuôi và người tiêu thụ. Tuy nhiên, việc tồn tại tốt ở điều kiện độ mặn 5ppt, nhiệt độ 16-28°C và pH dao động mạnh từ 1,8-10 cũng cho thấy khả năng thích nghi cao của loài ký sinh trùng này. Từ đó, biến đổi khí hậu có thể sẽ là thời cơ tốt để bùng phát dịch bệnh do *D. bagari* gây ra trên cá nheo Mỹ.

4. KẾT LUẬN

Trung bình, metacercaria *D. bagari* tồn tại được từ 16-18h trong môi trường nước cất có độ mặn 0ppt, pH 6,8, nhiệt độ 23-24°C. pH môi trường không ảnh hưởng đến khả năng tồn tại của metacercaria *D. bagari* gây bệnh trên cá nheo Mỹ trong khi nhiệt độ và độ mặn khác nhau có thể làm giảm thời gian sống của sán. Ở

độ mặn từ 9ppt, ấu trùng sán lá co lại và thời gian tồn tại giảm xuống dưới 3 giờ. Ở điều kiện trên 32°C và dưới 6°C, ấu trùng sán lá chỉ tồn tại được trong vòng 3 giờ.

Việc tồn tại ở điều kiện môi trường khắc nghiệt sẽ giúp *D. bagari* phát triển nhanh, mạnh và có khả năng bùng nổ thành dịch bệnh trong bối cảnh biến đổi khí hậu gia tăng. Kết quả nghiên cứu này cũng bổ sung thêm thông tin về đặc điểm sinh học của loài *D. bagari* và làm tiền đề cho các nghiên cứu về dịch tễ và phòng trị bệnh tiếp theo.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm nghiên cứu xin được cảm ơn sự hỗ trợ của sinh viên Nguyễn Minh Vũ, Phan Đức Vương trong vận chuyển mẫu, thu thập số liệu; ThS. Trần Thị Trinh, ThS. Đặng Thị Hóa hỗ trợ chuẩn bị mẫu vật cho thí nghiệm; TS. Lê Việt Dũng đã có những góp ý trong thí nghiệm gây nhiễm. Xin cảm ơn Học viện Nông nghiệp Việt Nam đã cung cấp trang thiết bị cần thiết để thực hiện thí nghiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Aleuy O.A. & Kutz S. (2020). Adaptations, life-history traits and ecological mechanisms of parasites to survive extremes and environmental unpredictability in the face of climate change. International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife. 12: 308-317.

Allen K.O. & Avault Jr J.W. (1970). Effects of brackish water on ichthyophthiriasis of channel catfish. The Progressive Fish - Culturist. 32(4): 227-230.

Buchmann K. (2022). Control of parasitic diseases in aquaculture. Parasitology. 149(14): 1985-1997.

Born-Torrijos A., Holzer A.S., Raga J.A. & Kostadinova A. (2014). Same host, same lagoon, different transmission pathways: effects of exogenous factors on larval emergence in two marine digenean parasites. Parasitology research. 113: 545-554.

Bommarito C., Thieltges D.W., Pansch C., Barboza F.R., Pranovi F. & Wahl M. (2021). Effects of first intermediate host density, host size and salinity on trematode infections in mussels of the south-western Baltic Sea. Parasitology. 148(4): 486-494.

Cirtwill A.R. & Stouffer D.B. (2015). Concomitant predation on parasites is highly variable but constrains the ways in which parasites contribute to food web structure. Journal of Animal Ecology. 84(3): 734-744.

Đỗ Thi Thanh Hương & Nguyễn Văn Tư (2010). Một số vấn đề về sinh lý cá và giáp xác. Nhà xuất bản Nông nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh.

Geneva I.I., Cuzzo B., Fazili T. & Javaid W. (2019). Normal body temperature: a systematic review. In Open forum infectious diseases. US: Oxford University Press. 6(4): ofz032.

Gonzalez R.J. (2012). The physiology of hyper-salinity tolerance in teleost fish: a review. Journal of Comparative Physiology B. 182: 321-329.

Gudjonsson S.V. (1932). The body temperature in rats on normal and deficient diets: Preliminary report. The Journal of physiology. 74(1): 73.

Jensen A.B., Malagocka J., Eilenberg J. & Fredensborg B.L. (2017). Viability of *Dicrocoelium dendriticum* metacercariae in *Formica polyctena* ants after exposure to different treatments. Journal of insects as food and feed. 3(1): 15-20.

Kim V.V., Hoai T.D., Kurt B., Ander D. & Nguyen V. T. (2012). Efficacy of Praziquantel against Centrocestus formosanus metacercariae infections in common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758). Journal of Southern Agriculture. 43(4): 520-523.

Kim V.V., Nguyen H.M., Greiman S.E., Nguyen H.V., Nguyen C.N., Vu M.D., Hoai T.D. & Madsen H. (2022). Molecular and morphological characterization of Dollfustrema bagari (Digenea: Bucephalidae) metacercariae from aquaculture channel catfish (*Ictalurus punctatus*) in northern Vietnam. Journal of Fish Diseases. pp. 1-7. doi.org/10.1111/jfd.13651.

Kim Văn Vạn, Kim Minh Anh, Vũ Đức Mạnh, Đặng Thị Hóa, Trần Thị Trinh, Đoàn Thị Nhinh & Trương Đình Hoài (2023). Vi khuẩn bội nhiễm trong bệnh đốm trắng nội tạng cá nheo Mỹ (*Ictalurus punctatus*) và thử nghiệm điều trị. Tạp chí Nông nghiệp & Phát triển Nông thôn. 103: 105-112.

Koprivnikar J., Thieltges D.W. & Johnson P.T.J. (2023). Consumption of trematode parasite infectious stages: from conceptual synthesis to future research agenda. Journal of Helminthology. 97: e33.

Kültz D. (2015). Physiological mechanisms used by fish to cope with salinity stress. The Journal of Experimental Biology. 218(12): 1907-1914.

Khamboonruang P., Karnasuta P., Purivirojkul W. & Sirikanchana P. (2006). Parasites of Pla Kae

Bagarius bagarius (Hamilton-Buchanan) from Mekong River at Amphoe Chiang Khong Chiang Rai Province. *In:* Proceedings of the 44th Kasetsart University Annual Conference, Kasetsart, 30-January-2 February, 2006. Subject: Fisheries (pp. 392-399). Kasetsart University.

Lentner C. (1981). Geigy Scientific Tables. West Caldwell, N.J. USA: Ciba-Geigy Corp.

Madse H. & Stauffer Jr J.R. (2024). Aquaculture of Animal Species: Their Eukaryotic Parasites and the Control of Parasitic Infections. Biology. 13(1): 41.

Marcogliese D.J. & Cone D.K. (1996). On the distribution and abundance of eel parasites in Nova Scotia: influence of pH. The Journal of parasitology. pp. 389-399.

Mitchell A., Yost M., Pote L., Farmer B. & Panuska C. (2011). Longevity of Bolbophorus damnificus infections in channel catfish. Journal of Aquatic Animal Health. 23(2): 103-109.

Moravec F. & Sey O. (1989). Some trematodes of freshwater fishes from North Vietnam with a list of recorded endohelminths by fish hosts. Folia Parasitologica. 36(3): 243-262.

Piccione G., Fazio F., Giudice E. & Refinetti R. (2009). Body size and the daily rhythm of body temperature in dogs. Journal of thermal biology. 34(4): 171-175.

Prokofiev V.V., Levakin I.A., Nikolaev K.E. & Galaktionov K.V. (2017). Light and temperature interaction of factors determining the intensity of emergence of cercariae of *Himasthla elongata* (Digenea, Himasthlidae). pp. 457-465.

Refaey M.M., Tian X., Tang R. & Li D. (2017). Changes in physiological responses, muscular composition and flesh quality of channel catfish *Ictalurus punctatus* suffering from transport stress. Aquaculture. 478: 9-15.

Rosen R., Blank S., Akabogu F., Hauschner R., Meneses S., Slater O., Melton A., Tetidrick C. & Gosnell W. (2018). Effect of temperature on the release of *Proterometra macrostoma* (Trematoda: Digenea) cercariae from their snail intermediate host, *Pleurocera semicarinata* (Gastropoda: Pleuroceridae) at North Elkhorn Creek, Kentucky. Comparative parasitology. 85(2): 202-207

Stocker T.F., Qin D. & Plattner G.K. (2013) Climate change 2013: the physical science basis. Working Group I contribution to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.

Studer A. & Poulin R. (2012). Effects of salinity on an intertidal host-parasite system: Is the parasite more sensitive than its host? Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 412: 110-116.

Sures B., Nachev M., Pahl M., Grabner D. & Selbach C. (2017). Parasites as drivers of key processes in aquatic ecosystems: Facts and future directions. Experimental Parasitology. 180: 141-147.

Tange E.Ø., Mathiessen H. & von Gersdorff Jørgensen, L. (2020). Effects of pH on free-living stages of a Nordic strain of the economically important freshwater fish parasite *Ichthyophthirius multifiliis*. International Journal for Parasitology. 50(10-11): 859-864.

Tucker C.S. & Hargreaves J.A. (Eds.) (2004). Biology and culture of channel catfish. Elsevier.

Vũ Đức Mạnh, Kim Minh Anh, Nguyễn Mạnh Hùng, Đỗ Đình Hùng, Trương Đình Hoài, Đặng Thị Lụa & Kim Văn Vạn (2022). Bệnh đốm trắng nội tạng cá nheo Mỹ (*Ictalurus punctatus*) nuôi lồng khu vực phía bắc do ấu trùng sán lá Dollfustrema bagari gây ra. Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y. 6(29): 62-69.

Xiong Y. (2019). Engineering solutions to address several current livestock and poultry housing challenges (Doctoral dissertation, University of Illinois at Urbana-Champaign).

Żbikowska E. & Żbikowski J. (2015). Digenean larvae - the cause and beneficiaries of the changes in host snails' thermal behavior. Parasitology research. 114: 1063-1070.