

O-GE06: PHÁT TRIỂN CHỈ THỊ PHÂN TỬ SCAR NHẬN DIỆN LOÀI *Vibrio shilonii* VÀ *Vibrio vulnificus* GÂY BỆNH TRÊN TÔM VÀ CÁ NUÔI TẠI TỈNH THỪA THIÊN HUẾ

Hoàng Tấn Quang^{1*}, Phạm Thị Diễm Thi¹, Trần Thúy Lan¹, Nguyễn Đức Huy¹, Phạm Thị Hải Yến², Trần Quang Khánh Vân², Nguyễn Duy Quỳnh Trâm², Nguyễn Thị Thu Liên¹

¹ Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế

² Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu trước đây, chúng tôi nhận thấy hai loài vi khuẩn *Vibrio shilonii* và *Vibrio vulnificus* xuất hiện khá phổ biến trên tôm nuôi bị hoại tử gan tụy cấp và cá nuôi bị xuất huyết ở tỉnh Thừa Thiên Huế. Các loại vi khuẩn này gây bệnh trên tôm và cá làm ảnh hưởng nghiêm trọng đến ngành nuôi trồng thủy sản. Vì vậy, chúng tôi thực hiện nghiên cứu nhằm phát triển một chỉ thị phân tử dựa trên kỹ thuật đa hình các đoạn khuếch đại ngẫu nhiên (RAPD) để xác định nhanh chóng loài *V. shilonii* và *V. vulnificus*. Tổng cộng có 20 mẫu ngẫu nhiên đã được sử dụng cho phản ứng PCR-RAPD để phát hiện đa hình DNA giữa các loài *Vibrio*. Trong đó, mỗi OPN-06 tạo ra một sản phẩm khuếch đại đặc hiệu cho loài *V. shilonii* có chiều dài là 468 bp; mỗi OPA-09 tạo ra một sản phẩm khuếch đại đặc hiệu cho loài *V. vulnificus* có chiều dài là 1356 bp. Hai trình tự này được thiết kế mỗi đặc hiệu và chuyển thành chỉ thị SCAR cho loài *V. shilonii* dài 441 bp (N6-441) và loài *V. vulnificus* dài 938 bp (A9-938). Cặp mỗi đặc hiệu Vshi-441F/Vshi-441R phát triển cho loài *V. shilonii* khuếch đại một băng duy nhất ở tất cả các chủng *V. shilonii* nhưng không xuất hiện ở các loài *Vibrio* khác. Cặp mỗi đặc hiệu Vvul-1F/Vvul-938R phát triển cho loài *V. vulnificus* khuếch đại một băng duy nhất ở tất cả các chủng *V. vulnificus* nhưng không xuất hiện ở các loài *Vibrio* khác. Đây là các chỉ thị có độ đặc hiệu cao và có thể sử dụng để nhận diện sự có mặt của *V. shilonii* và *V. vulnificus* có trong các mẫu bệnh phẩm tôm cá.

Từ khóa: Tôm, cá, RAPD, SCAR, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio shilonii*.

DEVELOPMENT OF A DIAGNOSTIC SCAR MARKER FOR *Vibrio shilonii* AND *Vibrio vulnificus* CAUSED DISEASE IN SHRIMP AND FISH IN THUA THIEN HUE

Hoang Tan Quang^{1*}, Pham Thi Diem Thi¹, Tran Thuy Lan¹, Nguyen Duc Huy¹, Pham Thi Hai Yen, Tran Quang Khanh Van, Nguyen Duy Quynh Tram², Nguyen Thi Thu Lien¹

¹ Institute of Biotechnology, Hue University

² University of Agriculture and Forestry, Hue University

SUMMARY

In the previous study, we found that two species of *Vibrio shilonii* and *Vibrio vulnificus* appeared quite commonly in cultured shrimp with acute hepatopancreatic necrosis disease in Thua Thien Hue province, Vietnam. These bacteria cause diseases in shrimp and fish that seriously affect the aquaculture industry. Therefore, we performed to develop a diagnostic molecular marker generated by random amplified polymorphic DNA (RAPD) for *V. shilonii* and *V. vulnificus* rapid detection. Twenty random primers were evaluated for RAPD to identify DNA polymorphisms between *Vibrio* species. The random primer OPN-06 generated a 468-bp DNA fragment specific for *V. shilonii*. The random primer OPA-09 generated a 1356-bp DNA fragment specific for *V. vulnificus*. These was then converted into the sequence-characterized amplified regions (SCAR) marker designated N6-441 for *V. shilonii* and A9-938 for *V. vulnificus*. The specific primers Vshi-441F / Vshi-441R developed for *V. shilonii* amplified a unique DNA fragment in all *V. shilonii* isolates but not in the other *Vibrio* spp. The specific primers Vvul-1F / Vvul-938R developed for *V. vulnificus* amplified a unique DNA fragment in all *V. vulnificus* isolates but not in the other *Vibrio* spp. This PCR assays showed significantly sensitive to the target DNA and reliably for the amplification the *V. shilonii* and *V. vulnificus* genomes.

Keywords: RAPD, SCAR, *Vibrio shilonii*, *Vibrio vulnificus*, Vietnam.

* Author for corresspondence: Tel: +84-983735509; Email: htquang@hueuni.edu.vn