

# THÍ NGHIỆM GÂY CẢM NHIỄM NẤM BẤT TOÀN *PLECTOSPORIUM ORATOSQUILLAE* VÀ *ACREMONIUM SP.* TRÊN TÔM HE NHẬT BẢN (*PENAEUS JAPONICUS*)

Phạm Minh Đức<sup>1</sup>

## ABSTRACT

*This study was carried out to determine pathogenicity of new anamorphic fungi, Plectosporium oratosquillae NJM 0662 and Acremonium sp. NJM 0672 to Kuruma prawn (Penaeus japonicus). Cumulative mortality of the prawn injected with a high dose ( $5.0 \times 10^6$  conidia ml<sup>-1</sup>) and a low dose ( $5 \times 10^4$  conidia ml<sup>-1</sup>) of the isolate NJM 0662 reached 40% and 0%, respectively after 45 days inoculation. In the contrary, cumulative mortality of prawn injected with the high dose and the low dose of the isolate NJM 0672 reached 100% and 40%, respectively after 45 days inoculation. The gill lesions, blackish with numerous black spots in the gill filaments were found in the kuruma prawn. The histopathological examinations demonstrated that hyphae and conidia grew well inside the gill filaments. The result confirmed that these two anamorphic fungi were pathogenic to kuruma prawn.*

**Keywords:** *Anamorphic fungi, Kuruma prawn, Penaeus japonicus, pathogenicity*

**Title:** *Pathogenicity of anamorphic fungi Plectosporium oratosquillae and Acremonium sp. to kuruma prawn Penaeus japonicus*

## TÓM TẮT

*Thí nghiệm gây cảm nhiễm trên tôm he Nhật Bản (Penaeus japonicus) được thực hiện nhằm xác định khả năng gây bệnh của hai loài nấm bất toàn Plectosporium oratosquillae NJM 0662 và Acremonium sp. NJM 0672. Kết quả cho thấy tỷ lệ chết của tôm khi cảm nhiễm nấm P. Oratosquillae ở mật độ  $5 \times 10^6$  và  $5 \times 10^4$  bào tử/ml lần lượt là 40% và 0% sau 45 ngày cảm nhiễm. Trong khi đó, tỷ lệ chết của tôm khi cảm nhiễm nấm Acremonium sp. ở mật độ xác định như trên lần lượt là 100% và 40% sau 45 ngày cảm nhiễm. Dấu hiệu bệnh tích là mang chuyển màu đen, hoặc có nhiều chấm đen, quan sát tiêu bản tươi của tia mang cho thấy có sự hiện diện của khuẩn ty. Kết quả mô học cũng chứng minh có sự hiện diện của khuẩn ty và bào tử trong tia mang. Từ kết quả của thí nghiệm cảm nhiễm có thể kết luận hai loài nấm bất toàn này cũng có thể gây bệnh trên tôm he Nhật Bản.*

**Từ khóa:** *Nấm bất toàn, tôm he Nhật Bản Penaeus japonicus, gây cảm nhiễm*

## 1 GIỚI THIỆU

Một số loài nấm bất toàn thuộc các giống như *Fusarium*, *Acremonium*, *Plectosporium*, *Ochroconis*, *Phoma* và *Exophiala* thường gây bệnh trên động vật thủy sản (Hatai *et al.*, 1986a; Hatai *et al.*, 1986b; Diler và Bolat, 2001; Hatai, 2002; Khoa *et al.*, 2004; Khoa *et al.*, 2005; Khoa và Hatai, 2005; Munchan *et al.*, 2006; Duc *et al.*, 2009; Duc và Hatai, 2009; Munchan *et al.*, 2009).

<sup>1</sup> Bộ môn Sinh học và Bệnh Thủy sản, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

Trong đó một số loài phổ biến thuộc giống *Fusarium* như *F. solani*, *F. oxysporum* và *F. incarnatum* thường gây bệnh đen mang trên tôm he Nhật Bản, *Penaeus japonicus* (Ishikawa, 1968; Egusa và Ueda, 1972; Hatai và Egusa, 1978; Momoyama, 1987 và Khoa *et al.*, 2005). Ngoài ra, bệnh đen mang còn tìm thấy trên tôm sú, *Penaeus monodon* nuôi thâm canh ở Việt Nam (Khoa *et al.*, 2004), và tôm hùm, *Homarus americanus* nuôi ở Hoa Kỳ (Lightner và Fontaine, 1975). Nấm bắt toàn *Plectosporium tabacinum* cũng có khả năng gây bệnh đen mang trên tôm crayfish ở Anh (Alderman và Polglase, 1985). Khi tôm he bị nhiễm nấm thì mang xuất hiện nhiều chấm đen hoặc bị đen hoàn toàn là do hắc tố hóa (Khoa *et al.*, 2005; Duc và Hatai, 2009), hoặc khuẩn ty bị bao bọc bởi tế bào bạch cầu tạo thành những khối u khuẩn ty (Bian và Egusa, 1981; Khoa và Hatai, 2005; Duc và Hatai, 2009). Một vài thí nghiệm gây cảm nhiễm nấm đã được thực hiện nhằm xác định tác nhân gây bệnh (Hose *et al.*, 1984; Duc và Hatai, 2009; Munchan *et al.*, 2009). Hơn nữa, một số chỉ tiêu cơ bản nhằm xác định khả năng gây bệnh của nấm bằng thí nghiệm gây cảm nhiễm như quan sát khuẩn ty và bào tử qua tiêu bản tươi, mô bệnh học, theo dõi tỉ lệ chết và tái phân lập tác nhân gây bệnh (Khoa và Hatai, 2005; Duc và Hatai, 2009). Tôm he là đối tượng nuôi phổ biến ở Nhật. Tuy nhiên, nhiều nghiên cứu trước đây đã cho thấy bệnh đen mang là do một số loài thuộc *Fusarium* gây ra làm thiệt hại đáng kể cho người nuôi (Khoa *et al.*, 2005; Khoa và Hatai, 2005). Những năm gần đây, hai loài *Plectosporium oratosquillae* và *Acremonium* sp. là nấm bắt toàn mới phát hiện có khả năng gây bệnh nâu mang trên tôm tít Nhật Bản (*Oratosquilla oratoria*) làm cho mang chuyển sang màu nâu hoặc cung mang bị hủy hoại và rụng mất dẫn đến tôm chết (Duc *et al.*, 2009). Tuy nhiên, khả năng lây lan bệnh của hai loài nấm này cho những đối tượng giáp xác nuôi thương phẩm khác chưa được xác định, đặc biệt là tôm he Nhật Bản. Chính vì vậy, mục tiêu của nghiên cứu này nhằm đánh giá khả năng gây bệnh của hai loài nấm này đối với tôm he Nhật Bản là cần thiết, đồng thời qua nghiên cứu này đưa ra phương pháp và thông số ứng dụng cho thí nghiệm gây cảm nhiễm nấm bắt toàn cần thiết trong nghiên cứu bệnh nấm trên động vật thủy sản.

## 2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Nấm và tôm dùng thí nghiệm

Nấm sử dụng trong nghiên cứu này là hai chủng nấm chuẩn NJM 0662 và NJM 0672 lần lượt thuộc hai loài nấm *Plectosporium oratosquillae* và *Acremonium* sp. được phân lập từ mang tôm tít *Oratosquilla oratoria* bị bệnh thu ở Tỉnh Yamaguchi và Aichi của Nhật Bản. Hiện nay, hai loài nấm này đang được lưu trữ tại Trung tâm nghiên cứu vi sinh vật (MMRC) Chiba, Nhật Bản.

Phương pháp nuôi cấy để thu bào tử: nấm được nuôi cấy trong môi trường Peptone Yeast extract Glucose Salt Agar (PYGSA) gồm 0,125% Bacto peptone, 0,125% Bacto yeast extract, 0,3% glucose, 1,2% agar và 3,8% muối), thời gian nuôi cấy là 10 ngày (NJM 0672) và 1 tháng (NJM 0662) tùy vào tốc độ phát triển của từng loài nấm, ủ ở nhiệt độ 25°C. Thu hoạch bào tử nấm bằng cách cho 10 ml nước muối sinh lí (0.85% NaCl) đã tiệt trùng vào đĩa Petri nuôi cấy nấm, dùng que cấy cào nhẹ trên bề mặt của đĩa thạch để cho các bào tử tách ra từ các khuẩn ty. Sau đó dung dịch này được lọc qua phễu lọc đã tiệt trùng (phễu bằng thủy tinh có lót 2 lớp

vải mùng dùng trong y khoa) để thu bào tử. Số lượng bào tử nấm được xác định bằng cách sử dụng buồng đếm hồng cầu, xác định mật độ là  $5 \times 10^6$  (mật độ cao) và  $5 \times 10^4$  bào tử/ml (mật độ thấp) dùng cho thí nghiệm gây cảm nhiễm.

Tôm he Nhật Bản có trọng lượng trung bình 13,5 g/con được thu từ ao nuôi tôm thâm canh ở Tỉnh Yamaguchi. Tôm he được bố trí trong hệ thống bể kính có thể tích 20 lít mỗi bể, sử dụng hệ thống ít thay nước. Tôm được cho ăn hàng ngày bằng 3% trọng lượng thân với loại thức ăn công nghiệp chuyên dùng cho tôm he. Nguồn nước biển nhân tạo có độ mặn 35‰ được pha từ muối nhân tạo (Công ty muối nhân tạo Nisso, Tokyo, Japan), pH 7,5 và nhiệt độ ổn định 18°C. Tôm he được nuôi dưỡng 10 ngày trước khi tiến hành thí nghiệm. Chọn tôm khỏe mạnh để tiến hành gây cảm nhiễm bằng cách quan sát và chọn mẫu ngẫu nhiên (5% số lượng tôm) để kiểm tra và phân lập nấm.

## **2.2 Thiết kế thí nghiệm**

Thí nghiệm được tiến hành từ tháng 5 năm 2008 tại phòng thí nghiệm bệnh cá, Trường Đại học Thú Y và Khoa học Đời sống Nhật Bản. Thí nghiệm gồm 5 nghiệm thức: nghiệm thức 1 tôm được tiêm bào tử nấm (NJM 0662) ở mật độ cao, nghiệm thức 2 tôm được tiêm bào tử nấm (NJM 0662) ở mật độ thấp, nghiệm thức 3 tôm được tiêm bào tử nấm (NJM 0672) ở mật độ cao, nghiệm thức 4 tôm được tiêm bào tử nấm (NJM 0672) ở mật độ thấp và nghiệm thức 5 (đối chứng) tôm được tiêm nước muối sinh lý (0,85% NaCl). Mỗi nghiệm thức có 5 cá thể. Thí nghiệm lặp lại 3 lần. Gây cảm nhiễm bằng phương pháp tiêm bằng cách dùng ống tiêm vô trùng có dung tích 1ml và kim tiêm có kích thước 0,50x25 mm. Lấy 0,1 ml dung dịch bào tử nấm được tiêm vào đốt bụng thứ hai của của tôm. Ở nhóm đối chứng, mỗi cá thể được tiêm 0.1ml dung dịch nước muối sinh lý. Thí nghiệm được tiến hành trong thời gian 45 ngày. Tôm được cho ăn theo yêu cầu, cho ăn 1 lần/ngày. Thay nước 1 lần/tuần, mỗi lần thay 30% thể tích nước trong bể.

## **2.3 Chỉ tiêu quan sát**

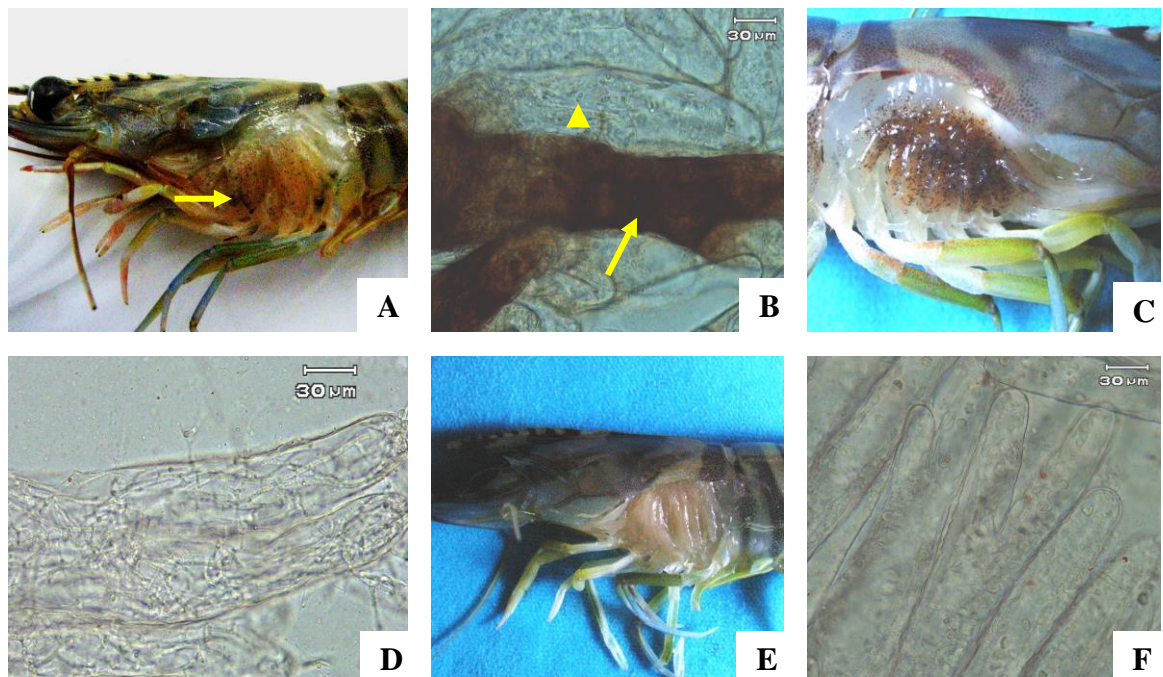
Tỉ lệ chết: thí nghiệm được theo dõi hàng ngày để ghi nhận tôm yếu hoặc gần chết, tính toán tỉ lệ chết. Quan sát tiêu bản tươi: làm tiêu bản tươi ở mang những tôm yếu hoặc gần chết, quan sát dưới kính hiển vi ở độ phóng đại x200 (hoặc x400) sự phát triển của khuẩn ty và bào tử. Những tia mang bị hắc tố hóa được tái phân lập để xác định lại chủng nấm ban đầu khi gây cảm nhiễm.

Quan sát mô bệnh học: tất cả tôm yếu hoặc chết được cố định trong dung dịch formalin 10% (phosphate buffered formalin solution PBF: 0,44 %  $\text{NaH}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 0,65%  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  và 10% formalin). Mẫu dùng để quan sát mô bệnh học gồm mang và phần đốt bụng thứ 2 được khử canxi bằng cách ngâm trong dung dịch chứa 10% acid formic trong PBF (10% formic acid trong formalin 10%) trong 3 ngày. Sau đó ngâm mẫu trong dung dịch Sodium Sunfat (5% sodium sulfate trong nước cất) thời gian 1 ngày, mẫu tiếp tục được ngâm trong dung dịch PBF 3 ngày. Mẫu được đúc khối paraffin, cắt lát mỏng từ 3 - 4  $\mu\text{m}$  và nhuộm bằng phương pháp của Grocott-HE, quan sát mô bệnh và ghi nhận kết quả bằng kính hiển vi (Olympus BX41 Nhật Bản).

### 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1 Dấu hiệu bệnh tích

Dấu hiệu bệnh tích của tôm he khi gây cảm nhiễm với nấm *P. oratosquillae* NJM 0662 là mang có nhiều chấm đen (Hình 1A). Các chấm đen trông giống như một khối u nhỏ bên trong có nhiều khuẩn ty khi quan sát dưới kính hiển vi. Tôm được tiêm bào tử nấm ở mật độ cao thì có nhiều chấm đen ở mang, ngược lại ở mật độ thấp thì không thấy chấm đen ở mang. Quan sát tiêu bản tươi cho thấy khuẩn ty và bào tử hiện diện nhiều trong các tia mang hoặc tia mang bị hắc tố hóa (hình 1B). Trong trường hợp tôm he được gây cảm nhiễm nấm *Acremonium* sp. NJM 0672 ở mật độ cao và thấp thì mang tôm đều chuyển sang màu đen (Hình 1C). Khuẩn ty và bào tử hiện diện nhiều trong các tia mang (Hình 1D). Ngược lại, trong nghiệm thức đối chứng, mang tôm vẫn bình thường và quan sát tiêu bản tươi cũng không có sự hiện diện của nấm (Hình 1E và 1F). Tôm he Nhật Bản khi gây cảm nhiễm với nấm *P. oratosquillae* and *Acremonium* sp. có dấu hiệu bệnh tích là mang tôm bị hắc tố hóa. Dấu hiệu bệnh tích của kết quả nghiên cứu này tương tự với kết quả nghiên cứu của Khoa *et al.* (2005) cho rằng tôm he Nhật Bản khi được gây cảm nhiễm với nấm *Fusarium solani* NJM 0180 có dấu hiệu bệnh tích là mang tôm cũng chuyển sang màu đen, tương tự như mang tôm sú bị đen khi bị nhiễm nấm *F. solani* NJM 0180 (Khoa *et al.*, 2004). Điều này cho thấy đối với nhóm giáp xác nói chung khi bị nhiễm nấm bất toàn thường có biểu hiện bệnh tích là mang chuyển sang màu đen hoặc nâu hoặc bị hoại tử và rụng mất (Duc *et al.*, 2009 và Duc và Hatai, 2009).



**Hình 1: Dấu hiệu bệnh tích của tôm he Nhật Bản. Tôm được gây cảm nhiễm với nấm *P. oratosquillae* NJM 0662: (A) Chấm đen ở mang, (B) Bào tử và tia mang bị hắc tố hóa. Tôm được gây cảm nhiễm với nấm *Acremonium* sp. NJM 0672: (C) mang tôm bị đen, (D) Khuẩn ty phát triển nhiều ở tia mang. Tôm ở lô đối chứng: (E) Mang có màu bình thường, (F) Tia mang bình thường**

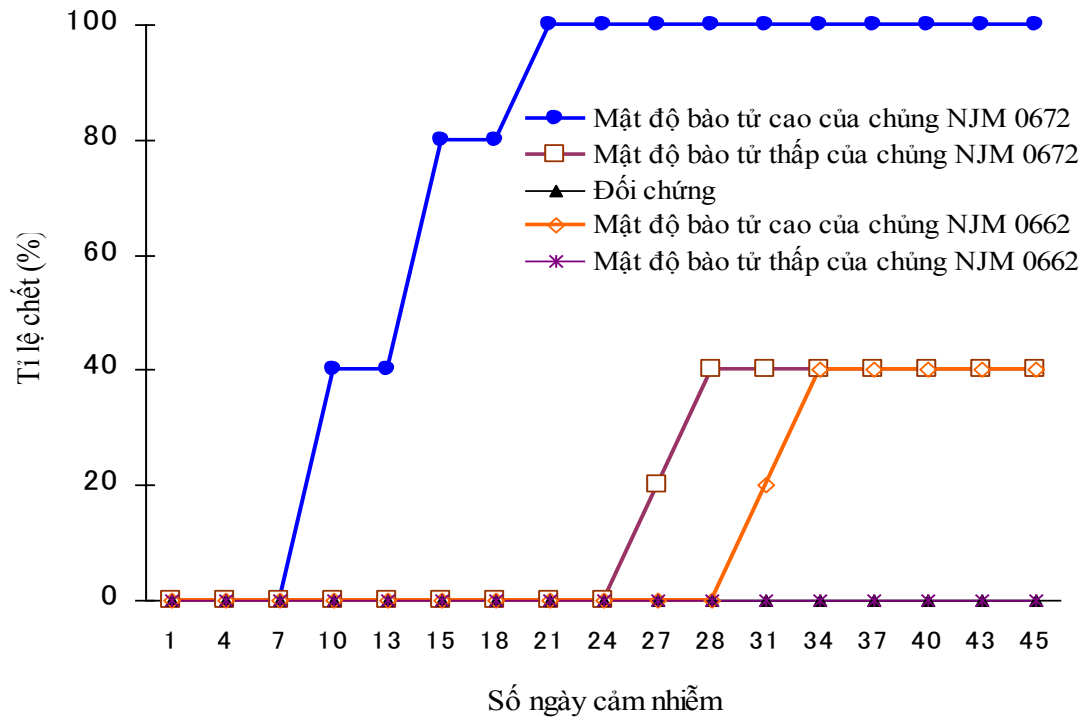
### 3.2 Mức độ gây bệnh

Tỷ lệ chết của tôm he khi gây cảm nhiễm với nấm *P. oratosquillae* NJM 0662 ở mật độ cao và thấp lần lượt là 40% and 0%, sau 45 ngày (Hình 2). Kết quả tái phân lập có 100% tôm he bị nhiễm nấm ở mật độ cao và chỉ có 40% ở mật độ thấp. Trong khi đó, tỷ lệ chết của tôm he khi gây cảm nhiễm với nấm *Acremonium* sp. NJM 0672 ở mật độ cao và thấp lần lượt là 100% và 40% sau 22 và 45 ngày cảm nhiễm (Hình 2). Điều này cho thấy tỷ lệ chết của tôm phụ thuộc vào loài nấm và mật độ bào tử nấm. Kết quả tái phân lập có 100% tôm he bị nhiễm nấm ở cả hai mật độ cao và mật độ thấp gây cảm nhiễm. Ở lô đối chứng, tỷ lệ chết của tôm sau khi kết thúc thí nghiệm là 0% và không thấy dấu hiệu bệnh tích xuất hiện trên mang tôm. Điều này chứng minh hai nấm này có khả năng gây bệnh cho tôm he.

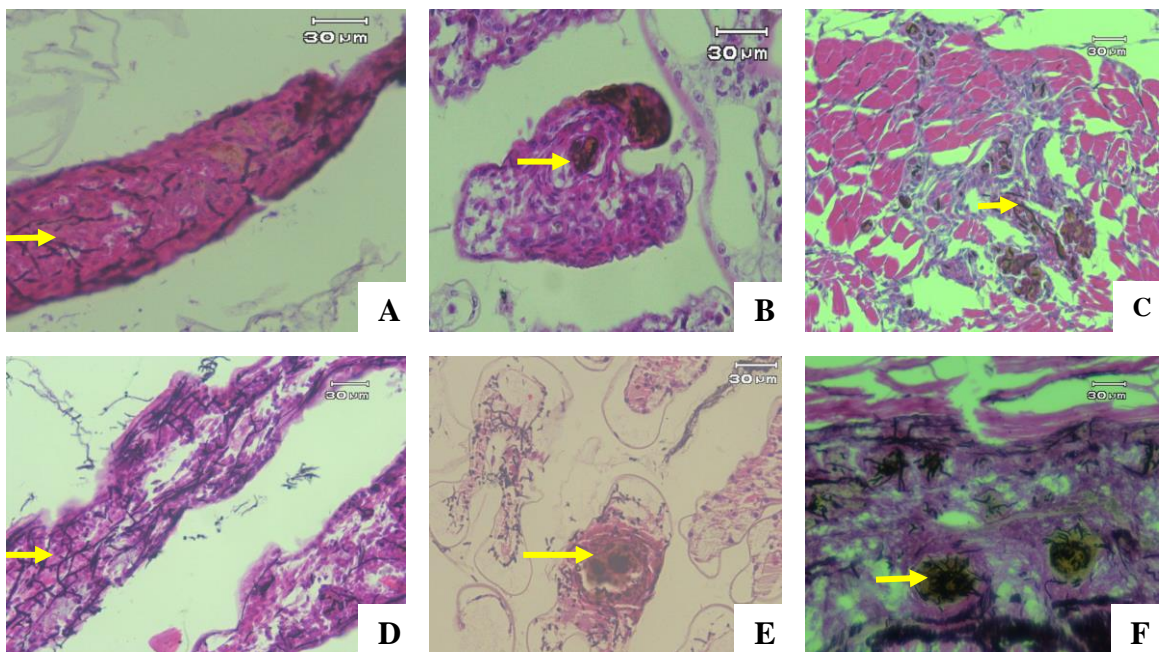
Chủng nấm *Acremonium* sp. NJM 0672 có khả năng gây tôm chết rất nhanh và tỷ lệ chết lên đến 100% sau 22 ngày cảm nhiễm ở mật độ cao. Khả năng gây chết tôm tùy thuộc vào mật độ bào tử tiêm ban đầu và thời gian gây cảm nhiễm. Đối với loài nấm *P. oratosquillae* NJM 0662 khi gây cảm nhiễm cho tôm he ở mật độ thấp ( $5 \times 10^4$  bào tử/ml) chưa gây chết cho tôm sau 45 ngày thí nghiệm. Tuy nhiên, ở mật độ cao ( $5 \times 10^6$  bào tử/ml) tỉ lệ tôm chết là 40%. Nấm phát triển dày đặc trong các tia mang, hủy hoại hệ thống mang, gây ảnh hưởng cho hệ thống tuần hoàn và hô hấp dẫn đến tôm chết. Tuy nhiên, ở lô đối chứng, không có tôm bị chết sau 45 ngày thí nghiệm và cũng không có dấu hiệu xuất hiện nấm và bào tử trên bất kì tôm thí nghiệm nào. Mặt khác khối u khuẩn ty được tìm thấy trên các tia mang tương tự kết quả nghiên cứu của Bian và Egusa (1981), Khoa và Hatai (2005) và Khoa *et al.* (2005). Tương tự kết quả nghiên cứu của Duc và Hatai (2005) khi gây cảm nhiễm 2 loài nấm này cho tôm tít, làm tôm tít có tỉ lệ chết cao.

### 3.3 Quan sát mô bệnh học

Quan sát biểu hiện mô bệnh của tôm he được gây cảm nhiễm với nấm *P. oratosquillae* NJM 0662 cho thấy rất nhiều khuẩn ty (Hình 3A) và khối u khuẩn ty (Hình 3B) được tìm thấy trong tia mang của tôm. Ngoài ra, khuẩn ty phát triển xung quanh phần cơ được tiêm bào tử (Hình 3C). Trong nghiệm thức đối chứng không có sự xuất hiện của khuẩn ty trong tia mang. Tương tự, khi quan sát biểu hiện mô bệnh của tôm he được gây cảm nhiễm với nấm *Acremonium* sp. NJM 0672 cho thấy có rất nhiều khuẩn ty (Hình 3D) và các khối u khuẩn ty (Hình 3E) trong tia mang. Khối u khuẩn ty (Hình 3F) xuất hiện xung quanh phần cơ được tiêm bào tử nấm. Tuy nhiên, không thấy xuất hiện trong tụy tạng, ruột và những vùng cơ khác. Như vậy có thể khẳng định cơ quan miễn cảm là mang tôm. Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Bian và Egusa (1981), Alderman và Polglase (1985), Khoa *et al.* (2005), Duc *et al.* (2009) và Duc và Hatai (2009). Biểu hiện mô bệnh cho thấy khuẩn ty xâm nhập và phát triển dày đặc trong các tia mang, phá hủy cấu trúc tia mang và làm mất chức năng của mang hoặc mang bị mất đi dẫn đến tôm chết.



Hình 2: Tỉ lệ chết của tôm he khi tiêm bào tử nấm *P. oratosquillae* NJM 0662 hoặc *Acremonium* sp. NJM 0672 ở mật độ cao ( $5.0 \times 10^6$ ) và mật độ thấp ( $5.0 \times 10^4$  bt/ml)



Hình 3: Biểu hiện mô bệnh của tôm he. Tôm được gây cảm nhiễm với nấm *P. oratosquillae* NJM 0662: (A) Khuẩn ty phát triển trong tia mang (Grocott-HE), (B) Khối u khuẩn ty trong tia mang (Grocott-HE), (C) Khuẩn ty phát triển xung quanh vùng tiêm (Grocott-HE). Tôm được gây cảm nhiễm với nấm *Acremonium* sp. NJM 0672: (D) Khuẩn ty phát triển trong tia mang (Grocott-HE), (E) Khối u khuẩn ty trong tia mang (Grocott-HE), (F) Cơ bị hoại tử và khối u khuẩn ty phát triển xung quanh vùng tiêm (Grocott-HE)

## 4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

### 4.1 Kết luận

Hai loài nấm bắt toàn *Plectosporium oratosquillae* NJM 0662 và *Acremonium* sp. NJM 0672 có khả năng gây bệnh đen mang cho tôm he Nhật Bản (*P. japonicus*) trong điều kiện phòng thí nghiệm. Mức độ gây chết tôm của chúng tùy vào mật độ bào tử nấm tiêm ban đầu và thời gian gây cảm nhiễm.

### 4.2 Đề nghị

Nghiên cứu khả năng phòng và trị hai loài nấm này cũng như đánh giá khả năng gây bệnh cho một số đối tượng nuôi nước lợ khác.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Alderman, D. J. and J. L. Polglase. 1985. *Fusarium tabacinum* (Beyma) Gams. as a gill parasite in the crayfish, *Austropotamobius pallipes*. *Journal of Fish Diseases* 8: 249-252.
- Bian, B. Z. and S. Egusa. 1981. Histopathology of black gill disease caused by *Fusarium solani* (Martius) infection in the Kuruma prawn, *Penaeus japonicus* Bate. *Journal Fish Diseases* 4: 195-201.
- Diler, Ö. and Y. Bolat. 2001. Isolation of *Acremonium* species from crayfish, *Astacus leptodactylus* in Egirdir Lake. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathology* 21: 164-168.
- Duc, P. M., K. Hatai, O. Kurata, K. Tensha, U. Yoshitaka, T. Yaguchi, S. I. Udagawa. 2009. Fungal infection of mantis shrimp, *Oratosquilla oratoria* caused by two anamorphic fungi found in Japan. *Mycopathologia* 167: 229-247.
- Duc, P. M. and K. Hatai. 2009. Pathogenicity of anamorphic fungi *Plectosporium oratosquillae* and *Acremonium* sp. to Mantis shrimp, *Oratosquilla oratoria*. *Fish Pathology* 44: 81-85.
- Egusa, S. and T. Ueda. 1972. A *Fusarium* sp. Associated with black gill diseases of the kuruma prawn, *Penaeus japonicus* Bate. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 38: 1253-1260.
- Hatai, K. and S. Egusa. 1978. Studies on the pathogenic fungus associated with black gill disease of kuruma prawn *Penaeus japonicus* II: some of the note on the BG-*Fusarium*. *Fish pathology* 12: 225-231.
- Hatai, K., S. Kubota, N. Kida, S. Udagawa. 1986a. *Fusarium oxysporum* in red sea beam, *Pagrus* sp. *Journal Wildlife Diseases* 22: 570-571.
- Hatai, K., Y. Fujimaki, S. Egusa. 1986b. A visceral mycosis in ayu fry, *Plecoglossus altivelis* Temminck & Schlegel, caused by a species of *Phoma*. *Journal Fish Diseases* 9: 111-116.
- Hatai, K. 2002. A review of crustacean fungal diseases in Japan. *JSPS-DGHE International Seminar. Crustacean Fisheries* 2002.
- Hose, J. E., D. V. Lightner, R. M. Redman and D. A. Donald. 1984. Observations on the pathogenesis of the imperfect fungus, *Fusarium solani*, in the Californian brown shrimp, *Penaeus californiensis*. *J. Invertebr. Pathol.* 44: 292-303.
- Ishikawa, Y. 1968. A fungus caused black gill condition in cultured kuruma prawn. *Fish pathology* 3: 34-49.
- Khoa, L. V., K. Hatai, and T. Aoki. 2004. *Fusarium incarnatum* isolated from black tiger shrimp *Penaeus monodon* Fabricius, with black gill disease cultured in Vietnam. *Journal of Fish Diseases* 27: 507-515.
- Khoa, L. V., K. Hatai, A. Yuasa and K. Sawada. 2005. Morphology and molecular phylogeny of *Fusarium solani* isolated from Kuruma prawn *Penaeus japonicus* with black gills. *Fish Pathology* 40: 103-109.

- Khoa, L. V. and K. Hatai. 2005. First case of *Fusarium oxysporum* infection in culture Kuruma Prawn *Penaeus japonicus* in Japan. *Fish Pathology* 40: 195-196.
- Lightner, D. V. and C. T. Fontaine. 1975. A mycosis of the American lobster *Homarus americanus* caused by *Fusarium* sp. *Journal of Invertebrate* 25: 239-245.
- Momoyama, K. 1987. Distribution of the hyphae in kuruma prawn *Penaeus japonicus* infected with *Fusarium solani*. *Fish pathology* 22: 15-23.
- Munchan, C., O. Kurata, K. Hatai, N. Hashiba, N. Nakaoka, H. Kawakami. 2006. Mass mortality of young striped jack, *Pseudocaranx dentex* caused by a fungus *Ochroconis humicola*. *Fish Pathology* 41: 179–182.
- Munchan, C., C. Munchan<sup>1</sup>, O. Kurata<sup>1</sup>, S. Wada<sup>1</sup>, K. Hatai<sup>1</sup>, A. Sano, K. Kamei and N. Nakaoka. 2009. *Exophiala xenobiotica* infection in cultured striped jack, *Pseudocaranx dentex* (Bloch & Schneider), in Japan. *Journal of Fish Diseases* 32: 893-900.