

QUAN HỆ DI TRUYỀN CÁC LOÀI CÁ THUỘC CHI *Anabas* DỰA TRÊN CHỈ THỊ GENE TY THỂ COI

*GENETIC RELATION OF FISHES IN THE GENUS Anabas USING
MITOCHONDRIAL CYTOCHROME OXIDASE SUBUNIT I (COI) MARKER GENE*

TRƯƠNG THẾ QUANG^(*)

TÓM TẮT: Tách chiết và thu nhận DNA tổng số của 60 mẫu cá rô đồng gồm bốn loại, ký hiệu A1, A2, A3, A4 ở Thành phố Hồ Chí Minh và các vùng phụ cận bằng phương pháp trích ly với bộ kit PHUSA-IHHNV theo quy trình của Công ty Sinh hóa Phù Sa. Các nhóm cá có khoảng cách di truyền gần gồm nhóm 3 và nhóm 4 (0,0285),... Các loài *Anabas testudineus* India, *Anabas testudineus* Myanmar được nhận diện lại là *Anabas cobojius* India, *Anabas cobojius* Myanmar thuộc nhóm 1.

Từ khóa: cá rô đồng; cây phát sinh loài; đa dạng di truyền; gene COI.

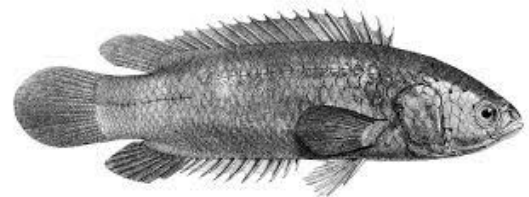
ABSTRACT: Total DNA of 60 specimens of the anabas included four types of A1, A2, A3, A4 in Ho Chi Minh city and the vicinities were extracted by extraction method with PHUSA-IHHNV kit and according to the process of the Phu Sa Biochemical Company. The species *Anabas testudineus* India, *Anabas testudineus* Myanmar were identified as *Anabas cobojius* India, *Anabas cobojius* Myanmar belongs to group 1.

Key words: anabas; phylogeny tree; genetic diversity; COI gene.

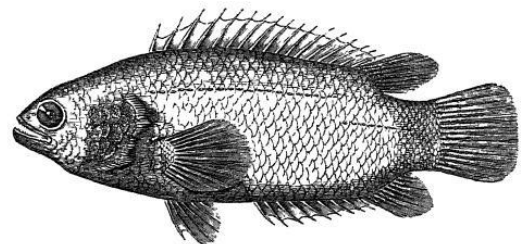
1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Anabas là một chi cá rô đồng bản địa của vùng Nam và vùng Đông Nam châu Á. Trong tự nhiên, các loài cá thuộc chi *Anabas* có thể dài đến 30 cm, chúng có thể sống được trong môi trường nước lợ và nước ngọt [12, tr.4474-4489]. Các loài cá thuộc chi này sống trong các thủy vực ở các vùng Đông Nam Á, kể cả ở India, Sri Lanka, Bangladesh, Myanmar, Malaysia, Thailand, Việt Nam và Philippines.

Có hai loài được ghi nhận trong chi *Anabas* là cá rô sông Hằng (*Anabas cobojius* Hamilton, 1822) và cá rô đồng (*Anabas testudineus* Bloch, 1792) [4], Hình 1.



a) *Anabas testudineus* [11]



b) *Anabas cobojius* [10]

Hình 1. Các loài cá thuộc chi *Anabas*

^(*) TS. Trường Đại học Văn Lang, truongthequang@vanlanguni.edu.vn, Mã số: TCKH13-08-2019

Năm 2013, Trương Ngọc Trinh và các cộng sự đã so sánh đặc điểm hình thái và di truyền của các dòng cá rô nuôi (cá rô đầu vuông) và cá rô tự nhiên. Tỷ lệ tương đồng trình tự gene COI của cá rô đầu vuông và cá rô tự nhiên là 99 %, nếu so với cá rô (*Anabas testudineus*) đã được công bố trên cơ sở dữ liệu GenBank hoặc Boldsystems là 97 %. Chứng tỏ cá rô đầu vuông và cá rô tự nhiên cùng là loài *Anabas testudineus* [7, tr.23-30].

Năm 2014, Zhao H. và các cộng sự đã giải trình tự bộ gene ty thể hoàn chỉnh của *Anabas testudineus* có chiều dài 16603 bp bao gồm 13 gene mã hóa protein, 2 gene mã hóa rRNA, 22 gene mã hóa tRNA và một vùng kiểm soát [13, tr.25-40].

Các công trình nghiên cứu định danh loài trên thế giới đã ứng dụng việc giám định gene và biến đổi di truyền bằng phương pháp sinh học phân tử. Đối với nhiều loài vật nuôi, một số gene trong bộ gene ty thể (mitochondrial DNA) như *COI* (cytochrome oxidase subunit I), *NAD1* (nicotinamide dehydrogenase subunit 1), *COB* (cytochrome b) và vùng giao gene ITS-2 (internal transcribed spacer 2) thuộc bộ gene trong nhân (nuclear DNA) đã được xem là chỉ thị phân tử quan trọng trong công tác định danh, phân loại loài. Tuy nhiên, gene ty thể tiến hóa nhanh hơn với các gene nhân. Gene ty thể thường được sử dụng để phân tích mối quan hệ phát sinh chủng loại đối với các đơn vị phân loại bậc thấp như họ, tộc, giống, loài. Trong đó gene ty thể COI tiến hóa nhanh và được sử dụng để phân tích mối quan hệ giữa các loài trong cùng giống hoặc ở đơn vị dưới loài [3]. Gene COI có thể dùng kiểm tra các

mẫu đã bảo quản trong thời gian dài mà không bị ảnh hưởng. Trong nghiên cứu này, ứng dụng phương pháp di truyền phân tử dựa trên chỉ thị gene COI để tìm hiểu mối quan hệ phân loại giữa các dòng cá rô ở các vùng phụ cận, đồng thời tìm hiểu quan hệ di truyền của cá rô đồng ở Việt Nam và các loài cá thuộc chi *Anabas* ở các nước lân cận đã có trình tự gene ty thể COI lưu trữ trên cơ sở dữ liệu GenBank, nhằm góp phần bổ sung thông tin đáng tin cậy, có sức thuyết phục cao trong việc nhận dạng, phân loại các loài cá thuộc chi này.

2. MỤC TIÊU VÀ NỘI DUNG NGHIÊN CỨU

Mục tiêu nghiên cứu, giải trình tự gene ty thể COI của các loài cá thuộc chi *Anabas*, xác định quan hệ di truyền và phân nhóm theo khoảng cách di truyền của các loài cá thuộc chi này. Kết quả nghiên cứu là cơ sở khoa học ứng dụng trong nuôi trồng thủy sản như chọn giống, tạo giống mới chất lượng bằng phương pháp lai tạo hoặc chuyển gene.

Thu thập 60 mẫu cá rô đồng ở Thành phố Hồ Chí Minh và các vùng phụ cận. Tách chiết DNA từ mô thịt cá, khuếch đại gene ty thể COI bằng kỹ thuật PCR, điện di trên gel agarose 2 % để tinh sạch và kiểm tra nhằm chọn ra bốn mẫu trình tự gene COI đại diện cho cá rô đồng sống tại hồ chứa Trị An, tỉnh Đồng Nai (ký hiệu A1); huyện Cần Giờ, Thành phố Hồ Chí Minh (ký hiệu A2); tỉnh Long An (ký hiệu A3) và hồ chứa Dầu Tiếng, tỉnh Tây Ninh (ký hiệu A4). Sau đó giải trình tự và hiệu chỉnh trình tự gene ty thể COI. Các thí nghiệm này đều được thực hiện tại Phòng thí nghiệm Sinh học phân tử, Công ty Sinh hóa Phù Sa, thành phố Cần Thơ. Số liệu được xử lý

bằng công cụ Indentification trên cơ sở dữ liệu Boldsystems, ứng dụng thuật toán BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) để kiểm tra và định danh loài [8]. Tính toán ma trận khoảng cách di truyền giữa các loài, nhóm loài và xây dựng cây phát sinh loài bằng phần mềm Mega X [2, tr.1547-1549]. Phân tích quan hệ di truyền các loài cá chi *Anabas* bằng phần mềm DnaSP 6.12.01.

3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

3.1. Tách chiết DNA tổng số

Mẫu cá rô đồng được xử lý và bảo quản ở -20°C cho việc tách chiết DNA tổng số. DNA tổng số được trích ly từ mô thịt cá bằng bộ kit PHUSA-IHHNV theo quy trình của Công ty Sinh hóa Phù Sa. Kiểm tra nồng độ và độ tinh sạch của các mẫu DNA tổng số bằng phương pháp đo hai bước sóng 260 nm và 280 nm trên máy quang phổ hấp thụ phân tử UV-VIS hãng Bio-Rad.

3.2. Khuếch đại, tinh sạch, giải trình tự và hiệu chỉnh trình tự gene COI

Cặp mồi *Anabas-F* và *Anabas-R* dùng để khuếch đại trình tự gene COI được thiết kế bằng công cụ Primer-BLAST trên NCBI và được tổng hợp tại Phòng Oligo, Công ty Sinh hóa Phù Sa. Sau khi chạy phản ứng PCR khuếch đại trình tự gene COI, tiến hành điện di trên gel agarose 2 % để kiểm tra chất lượng và tinh sạch sản phẩm PCR. Sử dụng thang chuẩn DNA 100 bp (từ 100 bp đến 1500 bp) để ước lượng kích thước band sản phẩm PCR. Band sản phẩm PCR phải sáng rõ, chiều rộng của band lớn và có kích thước khoảng 650 bp, xem như phản ứng khuếch đại thành công. Sản phẩm PCR được tinh sạch và giải trình tự gene COI bằng hệ thống 3130 hãng Applied

Biosystems. Sau đó, hiệu chỉnh các trình tự gene COI bằng phần mềm BioEdit 7.0.5.2.

3.3. So sánh trình tự COI với cơ sở dữ liệu Boldsystems

Sau khi có kết quả giải trình tự gene COI, tiến hành thu thập các mối quan hệ tương quan và kiểm tra các sai lệch dựa trên sắp hàng hai trình tự gồm trình tự truy vấn COI với từng trình tự trong cơ sở dữ liệu Boldsystems bằng công cụ Indentification, ứng dụng thuật toán BLAST để tìm ra những trình tự trong cơ sở dữ liệu Boldsystems có tỷ lệ tương đồng cao với trình tự truy vấn, qua đó kiểm tra và nhận diện tên loài của các mẫu vật.

3.4. Phân tích phát sinh chủng loài

Phân tích phát sinh chủng loài được thực hiện dựa trên sắp hàng nhiều trình tự gene COI của bốn mẫu cá rô đồng Việt Nam A1, A2, A3, A4 và trình tự gene COI của các loài cá thuộc chi *Anabas* sống ở India, Bangladesh, Myanmar, Malaysia, Thailand và Philippines được thu thập từ cơ sở dữ liệu GenBank (Bảng 2) theo thuật toán ClustalW, ứng dụng phần mềm Mega X.

3.5. Xây dựng cây phát sinh loài

Cây phát sinh loài là sơ đồ thể hiện mức độ tương đồng giữa các trình tự qua quá trình tiến hóa di truyền. Thông qua cây phát sinh loài có thể phân loại thành từng nhóm sinh vật hoặc cho biết các sinh vật nào chiếm số lượng nhiều hay loài nào sơ khai, loài nào phát triển. Việc xây dựng cây phát sinh loài để mô tả lịch sử tiến hóa của một nhóm các loài với những đặc tính khác nhau nhưng có cùng mối quan hệ họ hàng với nhau và cùng hình thành từ một tổ tiên chung trong quá khứ. Lập ma trận khoảng cách di truyền giữa các loài, nhóm loài theo

mô hình Maximum Composite Likelihood [6, tr.11030-11035] và xây dựng cây phát sinh loài theo thuật toán Neighbor - Joining Tree [5, tr.406-425], [8] là các công cụ thuộc phần mềm Mega X. Chọn khởi tạo với bootstrap 1000 lần lặp lại để tăng độ tin cậy tính toán [1, tr.783-791].

3.6. Phân tích quan hệ di truyền

Dựa vào cây phát sinh loài, phân loại nhóm loài sao cho khoảng cách di truyền giữa các nhóm $D_{ij} \geq 0,020$. Xác định các nhóm có khoảng cách di truyền xa, trung bình và gần. Ứng dụng phần mềm DnaSP 6.12.01 phân tích đa hình đơn nucleotide SNP (Single Nucleotide Polymorphism) trong sắp hàng hai trình tự gene COI của các loài cá trong cùng một nhóm hoặc các loài cá khác nhóm để nhận diện và điều chỉnh chính xác tên loài theo tỷ số SNP K (%) được tính theo công thức (1).

$$K = \frac{100.S}{N} \quad (1)$$

S là số lượng các vị trí SNP, N là tổng số vị trí nucleotide trong sắp hàng hai trình tự gene COI của hai loài *Anabas* tương ứng.

4. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

4.1. Tách chiết DNA tổng số

DNA tổng số được tách chiết từ mẫu thịt cá theo quy trình của Công ty Sinh hóa Phù Sa, sau đó được kiểm tra nồng độ và độ tinh sạch bằng cách đo trên máy hấp thụ phân tử UV-VIS tại bước sóng 260 nm và 280 nm. Kết quả các mẫu DNA tổng số đều có nồng độ cao từ 81,0 đến 191,3 $\mu\text{g/ml}$. Tỷ lệ độ hấp thụ tại bước sóng 260 nm và 280 nm OD_{260}/OD_{280} đều nằm trong giới hạn từ 1,8 đến 2,0 chứng tỏ mẫu DNA tinh sạch tốt không bị tạp nhiễm protein (Bảng 1).

Bảng 1. Kết quả kiểm tra nồng độ và mức độ tinh sạch của sản phẩm DNA tổng số [9]

Tên mẫu	Nồng độ DNA ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	OD_{260}/OD_{280}
A1	191,3	1,95
A2	107,0	1,90
A3	84,5	1,85
A4	81,0	1,87

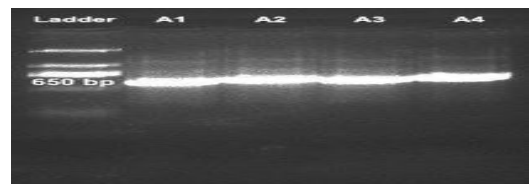
4.2. Khuếch đại, tinh sạch, giải trình tự và hiệu chỉnh trình tự gene COI

Lấy 2 μl dung dịch DNA tổng số, thực hiện phản ứng PCR khuếch đại chọn lọc trình tự gene ty thể COI với cặp mồi:

Anabas-F 5'-3': ACCCAAAAGACATTGGCACC

Anabas-R 5'-3': GGCCAAAGAATCAAAACAAGTG

Kết quả chạy PCR đã khuếch đại thành công gene ty thể COI, sản phẩm tạo thành là band DNA có kích thước khoảng 650 bp (Hình 2).



Hình 2. Kết quả điện di sản phẩm PCR [9]

Tiến hành cắt lấy band 650 bp và tinh sạch theo quy trình của Công ty Sinh hóa Phù Sa. Sau khi tinh sạch các mẫu được đem đi giải trình tự theo nguyên tắc Sanger bằng hệ thống 3130 hãng Applied Biosystems. Hiệu chỉnh trình tự COI bằng phần mềm BioEdit 7.0.5.2, kết quả thu được các file trình tự COI định dạng fasta hoàn chỉnh.

4.3. Kết quả so sánh trình tự gene COI với cơ sở dữ liệu Boldsystems

Kiểm tra bằng công cụ Identification trên cơ sở dữ liệu Boldsystems cho thấy tỷ lệ tương đồng trình tự gene ty thể COI của cả bốn mẫu cá rô đồng Việt Nam A1, A2, A3, A4 so với loài *Anabas testudineus* Malaysia (JF781185) là 99,83 %, *Anabas testudineus* Thailand (JQ661369) là

97,36 %. Các mẫu cá rô đồng Việt Nam đều là loài *Anabas testudineus* [9].

Bảng 2. Các loài cá thuộc chi *Anabas* trong sắp hàng nhiều trình tự gene ty thể COI [9]

STT	Tên loài cá, vùng địa lý	Accession number (Ký hiệu)
1	<i>Anabas testudineus</i> Đồng Nai, Việt Nam	A1
2	<i>Anabas testudineus</i> Tp. HCM, Việt Nam	A2
3	<i>Anabas testudineus</i> Long An, Việt Nam	A3
4	<i>Anabas testudineus</i> Tây Ninh, Việt Nam	A4
5	<i>Anabas testudineus</i> Thailand	JQ661369
6	<i>Anabas testudineus</i> Indonesia	KU692243
7	<i>Anabas testudineus</i> Philippines	HQ682664
8	<i>Anabas testudineus</i> Malaysia	JF781185
9	<i>Anabas testudineus</i> Myanmar	LC190180
10	<i>Anabas testudineus</i> India	JX260824
11	<i>Anabas cobojius</i> Bangladesh	KY124377
12	<i>Anabas cobojius</i> India (hap. AnoH1)	KC774635
13	<i>Anabas cobojius</i> India (hap. AnoH2)	KC774636

4.4. Cây phát sinh loài, nhóm loài

Kết quả sắp hàng nhiều trình tự gene ty thể COI của các loài cá thuộc chi *Anabas* (Bảng 2), bằng các công cụ Distance, Phylogeny của phần mềm Mega X, thiết lập được ma trận khoảng cách di truyền (Bảng 3) và cây phát sinh loài (Hình 3).

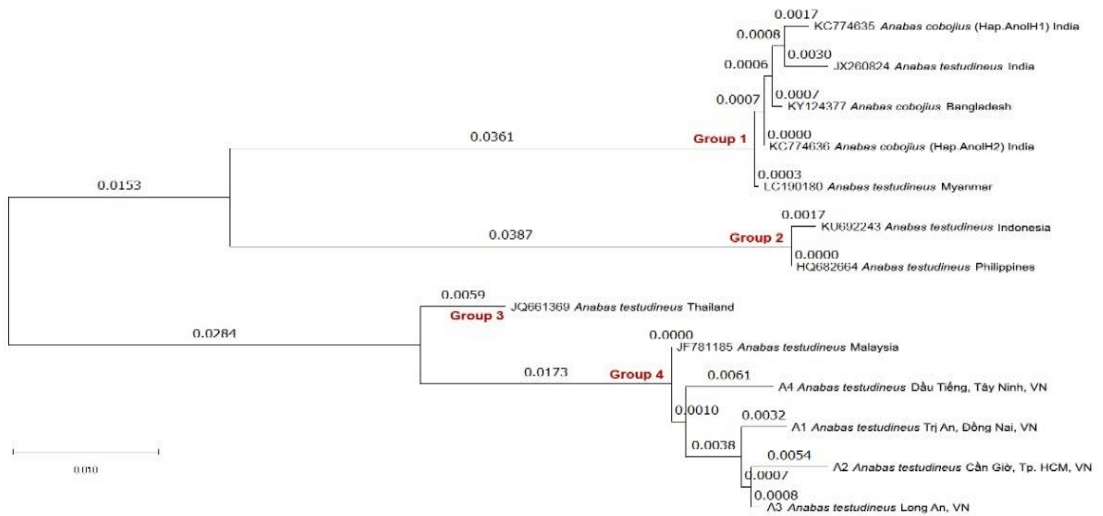
Với điều kiện khoảng cách di truyền giữa các nhóm $D_{ij} \geq 0,020$, các loài cá thuộc chi *Anabas* được phân thành bốn nhóm như sau:

Nhóm 1: *Anabas testudineus* India (JX260824), *Anabas testudineus* Myanmar (LC190180), *Anabas cobojius* Bangladesh (KY124377), *Anabas cobojius* India hap. AnoH1 (KC774635), *Anabas cobojius* India hap. AnoH2 (KC774636); Nhóm 2: *Anabas testudineus* Indonesia (KU692243), *Anabas testudineus* Philippines (HQ682664); Nhóm 3: *Anabas testudineus* Thailand (JQ661369); Nhóm 4: *Anabas testudineus* Việt Nam (A1, A2, A3, A4), *Anabas testudineus* Malaysia (JF781185);

Bảng 3. Ma trận khoảng cách và sai số chuẩn của các loài cá thuộc chi *Anabas* dựa trên gene COI

TT	Accession, Tên loài, Vùng địa lý	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	A1 <i>Anabas testudineus</i> Trì An, Đồng Nai		0.0039	0.0025	0.0044	0.0185	0.0187	0.0173	0.0186	0.0186	0.0016	0.0180	0.0178	0.0070
2	A2 <i>Anabas testudineus</i> Cần Giò, Tp. HCM	0.0093		0.0030	0.0047	0.0188	0.0190	0.0178	0.0191	0.0196	0.0029	0.0183	0.0183	0.0077
3	A3 <i>Anabas testudineus</i> Long An	0.0046	0.0062		0.0037	0.0178	0.0180	0.0171	0.0185	0.0188	0.0016	0.0176	0.0178	0.0070
4	A4 <i>Anabas testudineus</i> Dầu Tiếng, Tây Ninh	0.0140	0.0156	0.0108		0.0184	0.0187	0.0178	0.0191	0.0187	0.0000	0.0182	0.0180	0.0074
5	KY124377 <i>Anabas cobojius</i> Bangladesh	0.1101	0.1136	0.1064	0.1104		0.0021	0.0015	0.0026	0.0135	0.0150	0.0015	0.0133	0.0168
6	KC774635 <i>Anabas cobojius</i> India (hap. AnoH1)	0.1121	0.1156	0.1084	0.1143	0.0031		0.0015	0.0026	0.0137	0.0150	0.0021	0.0138	0.0170
7	KC774636 <i>Anabas cobojius</i> India (hap. AnoH2)	0.1032	0.1087	0.1033	0.1092	0.0016	0.0016		0.0021	0.0136	0.0150	0.0014	0.0137	0.0166
8	JX260824 <i>Anabas testudineus</i> India	0.1107	0.1161	0.1119	0.1143	0.0047	0.0047	0.0032		0.0154	0.0152	0.0021	0.0140	0.0169
9	KU692243 <i>Anabas testudineus</i> Indonesia	0.1125	0.1218	0.1140	0.1123	0.0747	0.0766	0.0753	0.0891		0.0148	0.0135	0.0000	0.0164
10	JF781185 <i>Anabas testudineus</i> Malaysia	0.0017	0.0052	0.0017	0.0000	0.0806	0.0806	0.0806	0.0826	0.0807		0.0150	0.0148	0.0077
11	LC190180 <i>Anabas testudineus</i> Myanmar	0.1066	0.1101	0.1047	0.1088	0.0016	0.0031	0.0016	0.0032	0.0750	0.0806		0.0135	0.0165
12	HQ682664 <i>Anabas testudineus</i> Philippines	0.1068	0.1124	0.1070	0.1073	0.0733	0.0768	0.0767	0.0790	0.0000	0.0807	0.0750		0.0163
13	JQ661369 <i>Anabas testudineus</i> Thailand	0.0269	0.0305	0.0269	0.0286	0.0908	0.0933	0.0911	0.0913	0.0851	0.0296	0.0886	0.0846	

Chú thích: Khoảng cách di truyền (ma trận tam giác dưới), sai số chuẩn của khoảng cách di truyền tương ứng (ma trận tam giác trên).



Hình 3. Cây phát sinh loài, nhóm loài của các loài cá thuộc chi *Anabas* dựa trên gene COI

Khoảng cách di truyền và sai số chuẩn của khoảng cách di truyền tương ứng giữa các nhóm cá thuộc chi *Anabas* dựa trên trình tự gene COI được nêu trong Bảng 4.

Bảng 4. Ma trận khoảng cách và sai số chuẩn của các nhóm cá thuộc chi *Anabas* dựa trên gene COI

TT	Tên nhóm	1	2	3	4
1	Nhóm 4		0.0170	0.0175	0.0074
2	Nhóm 1	0.1041		0.0137	0.0166
3	Nhóm 2	0.1055	0.0772		0.0164
4	Nhóm 3	0.0285	0.0910	0.0849	

4.5. Kết quả phân tích quan hệ di truyền

Căn cứ ma trận khoảng cách di truyền của các nhóm cá thuộc chi *Anabas* (Bảng 4), các nhóm cá có khoảng cách di truyền xa gồm nhóm 2 và nhóm 4 (khoảng cách 0,1055), nhóm 1 và nhóm 4 (khoảng cách 0,1041), nhóm 1 và nhóm 3 (khoảng cách 0,0910). Các nhóm cá có khoảng cách di truyền trung bình gồm nhóm 2 và nhóm 3 (khoảng cách 0,0849), nhóm 1 và nhóm 2 (khoảng cách 0,0772). Các nhóm cá có khoảng cách di truyền gần gồm nhóm 3 và nhóm 4 (khoảng cách 0,0285).

Kết quả sắp hàng hai trình tự gene COI của các loài cá thuộc chi *Anabas* (Bảng 5), tỷ số SNP của *Anabas testudineus* India (nhóm 1) và *Anabas cobojius* India hap. AnoH1 (nhóm 1) là $K_{11} = 3/664 = 0,45 \%$, *Anabas testudineus* Myanmar (nhóm 1) và *Anabas cobojius* India hap. AnoH1 (nhóm 1) là $K_{21} = 2/651 = 0,31 \%$; Tỷ số SNP đối với *Anabas testudineus* India (nhóm 1) và *Anabas testudineus* Indonesia (nhóm 2) là $K_{12} = 54/652 = 8,28 \%$, đối với *Anabas testudineus* Myanmar (nhóm 1) và *Anabas testudineus* Indonesia (nhóm 2) là $K_{22} = 45/655 = 6,87 \%$. Tỷ số SNP $K_{12} = 8,28 \%$ và $K_{22} = 6,87 \%$ lớn hơn nhiều so với $K_{11} = 0,45 \%$ và $K_{21} = 0,31 \%$ do đó các loài *Anabas testudineus* India, *Anabas testudineus* Myanmar nên được nhận diện lại lần lượt là *Anabas cobojius* India, *Anabas cobojius* Myanmar cùng thuộc nhóm 1 (nhóm cá rô sông Hằng) với các loài *Anabas cobojius* Bangladesh, *Anabas cobojius* India hap. AnoH1, *Anabas cobojius* India hap. AnoH2.

Bảng 5. Tỷ số SNP K (%) trong sắp hàng hai trình tự COI cá *Anabas*

Tên loài vùng (nhóm)	<i>A. cobojius</i>	<i>A. testudineus</i>
	India AnoH1 (nhóm 1)	Indonesia (nhóm 2)
<i>A. testudineus</i> India (nhóm 1)	K ₁₁ = 0,45 %	K ₁₂ = 8,28 %
<i>A. testudineus</i> Myanmar (nhóm 1)	K ₂₁ = 0,31 %	K ₂₂ = 6,87 %

5. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

5.1. Kết quả nghiên cứu

Tách chiết và thu nhận được DNA tổng số của bốn mẫu cá rô đồng sống ở Thành phố Hồ Chí Minh, Đồng Nai, Long An, Tây Ninh bằng bộ kit PHUSA-IHHNV theo quy trình của Công ty Sinh hóa Phù Sa. Hiệu chỉnh thành công quy trình PCR khuếch đại vùng gene ty thể COI bằng cặp mồi Anabas-F và Anabas-R. Khuếch đại được vùng gene ty thể COI đúng kích thước và không lẫn tạp.

So sánh trình tự gene COI của các mẫu cá rô đồng A1, A2, A3, A4 với loài *Anabas testudineus* trên cơ sở dữ liệu Boldsystems có tỷ lệ tương đồng đạt 97,36 ÷ 99,83 %, cho thấy các mẫu cá rô đồng Việt Nam đều là loài *Anabas testudineus*.

Tiến hành xây dựng cây phát sinh loài và đánh giá quan hệ di truyền của các mẫu cá rô đồng (*Anabas testudineus*) Việt Nam A1, A2, A3, A4 và các loài cá thuộc chi *Anabas* ở các nước thuộc khu vực Nam và

Đông Nam châu Á, kết quả phân thành bốn nhóm cá dựa trên chỉ thị gene COI.

Các nhóm cá có khoảng cách di truyền xa gồm nhóm 2 và nhóm 4, nhóm 1 và nhóm 4, nhóm 1 và nhóm 3. Các nhóm cá có khoảng cách di truyền trung bình gồm nhóm 2 và nhóm 3, nhóm 1 và nhóm 2. Các nhóm cá có khoảng cách di truyền gần gồm nhóm 3 và nhóm 4.

Các loài *Anabas testudineus* India, *Anabas testudineus* Myanmar được nhận diện lại là *Anabas cobojius* India, *Anabas cobojius* Myanmar, với các loài *Anabas cobojius* Bangladesh, *Anabas cobojius* India hap. AnoH1, *Anabas cobojius* India hap. AnoH2 cùng thuộc nhóm 1 (nhóm cá rô sông Hằng).

5.2. Kiến nghị

Nghiên cứu ứng dụng trong chọn giống, lai tạo giống hoặc chuyển gene để tạo ra các giống cá mới có chất lượng. Mở rộng phạm vi nghiên cứu thu thập thêm nhiều mẫu cá thuộc chi *Anabas* của Việt Nam và các nước trên thế giới. Thiết kế mồi đặc hiệu và xây dựng hoàn thiện quy trình giải trình tự gene ty thể COI cho tất cả các loài cá thuộc chi *Anabas*. Cần sử dụng thêm một số chỉ thị khác trong genome để định danh chính xác tên loài và xây dựng hệ thống mã vạch DNA cho các loài cá thuộc chi *Anabas*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Felsenstein J. (1985), *Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap*, Evolution 39.
- [2] Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. (2018), *MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms*, Molecular Biology and Evolution 35.
- [3] Nguyen D. A., Korsós Z., (2011), *A revision of the millipede genus Riukiupeltis Verhoeff, 1939 (Diplopoda, Polydesmida, Paradoxosomatidae), with comments on the status of related species*, ZooKeys 156.
- [4] Ranier Froese, Daniel Pauly (2012), *Species in the genus Anabas*, FishBase, <http://www.fishbase.org>.
- [5] Saitou N., Nei M. (1987), *The neighbor - joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees*, Molecular Biology and Evolution 4.
- [6] Tamura K., Nei M., Kumar S. (2004), *Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor - joining method*, Proceedings of the National Academy of Sciences (USA) 101.
- [7] Trương Ngọc Trinh, Phạm Hoàng Yến, Dương Thúy Yên (2013), *Sơ sánh đặc điểm hình thái và di truyền của các dòng cá rô đồng (Anabas testudineus)*, Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ 40.
- [8] Trương Thế Quang (2018), *Tin sinh học*, Nxb Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.
- [9] Trương Thế Quang, Nguyễn Thị Mỹ Duyên (2018), *Xác định quan hệ di truyền và phân bố địa lý của các loài cá rô thuộc họ Anabantidae dựa trên trình tự COI gene ty thể*, Trường Đại học Văn Lang.
- [10] Wikipedia (2017), *Cá rô sông Hằng (Anabas cobojius)*.
- [11] Wikipédia (2014), *Anabas testudineus*, pt.wikipedia.org/wiki/anabas_testudineus.
- [12] Yi L. Tay, et al. (2006), *Active ammonia transport and excretory nitrogen metabolism in the climbing perch, Anabas testudineus, during 4 days of emersion or 10 minutes of forced exercise on land*, Journal of Experimental Biology 209.
- [13] Zhao H., Yang H., Sun J., Chen Y., Lru L., Li G., Liu L. (2014), *The complete mitochondrial genome of the Anabas testudineus (Perciformes, Anabantidae)*.

Ngày nhận bài: 08-12-2018. Ngày biên tập xong: 20-12-2018. Duyệt đăng: 21-01-2019