

QUAN HỆ DI TRUYỀN CÁC LOÀI THUỘC HỌ TÔM HE (PENAEIDAE) DỰA TRÊN CHỈ THỊ GENE TY THỂ 16S RIBOSOMAL RNA (16S-rRNA)

*FINDING GENETIC RELATIONS OF THE SPECIES OF THE PENAEIDAE FAMILIA BASED
ON INDICATION OF MITOCHONDRIAL 16S RIBOSOMAL RNA (16S-rRNA) GENE*

TRƯƠNG THẾ QUANG^(*)

TÓM TẮT: Tách chiết và giải trình tự thành công gene 16S-rRNA của ba mẫu tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vannamei*) Việt Nam. Hai mươi sáu loài thuộc họ tôm he (Penaeidae) được phân thành 8 nhóm dựa trên gene chỉ thị 16S-rRNA. Nhóm I có 5 loài, nhóm II có 4 loài, nhóm III có 5 loài, nhóm IV có 6 loài, nhóm V có 1 loài, nhóm VI có 1 loài, nhóm VII có 3 loài và nhóm VIII có 1 loài. Khoảng cách di truyền của nhóm III và nhóm V là gần nhất 0,272. Khoảng cách di truyền của nhóm IV và nhóm VII xa nhất 1,645. Khoảng cách di truyền của nhóm VII và nhóm VIII gần nhau 0,342. Khoảng cách di truyền giữa nhóm VII, nhóm VIII và các nhóm còn lại đều lớn từ 1,153 đến 1,645, điều này cho thấy các loài tôm thuộc nhóm VII, nhóm VIII có quan hệ tiến hóa di truyền xa đối với hầu hết các loài tôm he thuộc họ Penaeidae từ nhóm I đến nhóm VI.

Từ khóa: cây phát sinh loài; gene 16S-Rrna; khoảng cách di truyền; quan hệ di truyền.

ABSTRACT: The 16S ribosomal RNA genes of three species of *Penaeus vannamei* in Vietnam were extracted and sequenced successfully. Twenty six species of the Penaeidae familia were classified into eight groups based on the indication of 16S ribosomal RNA gene. Group I has 5 species, group II has 4 species, group III has 5 species, group IV has 6 species, group V has 1 species, group VI has 1 species, group VII has 3 species and group VIII has 1 species. The genetic distance between group III and group V is nearest, 0.272. The genetic distance between group IV and group VII is farthest, 1.645. The genetic distance of group VII and group VIII is close to 0.342. The genetic distance between group VII, group VIII and the remaining groups is ranged from 1.153 to 1.645, this shows that shrimp species belonging to groups VII and VIII have a long genetic evolution relationship for most shrimp species of the Penaeidae familia from group I to group VI.

Key words: phylogeny tree; 16S-rRNA gene; genetic distance; genetic relation.

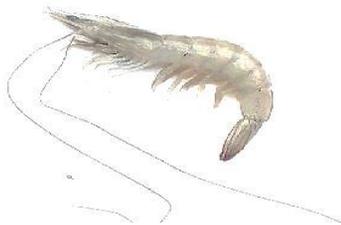
1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong động vật giáp xác (Crustacea) ở biển, họ tôm he (Penaeidae) được quan tâm nhiều do sự đa dạng về thành phần loài, có giá trị kinh tế cao, quan trọng đối với nghề nuôi và khai thác thủy sản ở vùng ven biển nước ta. Với những loài đối tượng nuôi quan trọng như tôm sú (*Penaeus Monodon*), tôm bạc thẻ

(*Penaeus Merguiensis*), Tôm thẻ chân trắng (*Penaeus Vannamei*), tôm đoi (*Penaeus Chinensis*), tôm đất (*Metapenaeus Ensis*),... đã mang lại lợi nhuận lớn với nhiều hình thức nuôi khác nhau. Bên cạnh sản lượng tôm khai thác tự nhiên, sản lượng tôm nuôi của Việt Nam cũng tăng lên nhanh chóng, trong đó sản phẩm tôm sú nuôi hiện nay đứng ở vị trí hàng đầu

^(*) TS. Trường Đại học Văn Lang, truongthequang@vanlanguni.edu.vn, Mã số: TCKH22-04-2020

trên thế giới. Vấn đề chất lượng con giống luôn được quan tâm và đặt ra nhiều câu hỏi cho các nhà quản lý cũng như người nuôi. Xét về mặt di truyền, nguyên nhân chủ yếu dẫn tới sụt giảm chất lượng giống là do giao phối cận huyết. Trong quần thể chọn lọc, giao phối cận huyết gây ra các tác động tiêu cực như tăng đồng hợp tử, dẫn đến gia tăng biểu hiện của gene lặn gây hại, suy thoái cận huyết và giảm biến dị di truyền. Điều này dẫn đến làm tăng khả năng mắc bệnh, giảm khả năng tăng trưởng, kích cỡ tối đa có thể đạt được của đối tượng được nuôi. Việc ứng dụng di truyền phân tử để đánh giá đặc điểm di truyền trên đối tượng thủy sản nói chung và tôm nói riêng có ý nghĩa quan trọng [1, tr.797-803]. Ở Việt Nam, các nghiên cứu chính trên tôm mới chỉ tập trung vào sinh sản nhân tạo và nuôi thương phẩm. Việc đánh giá quan hệ di truyền một số quần đàn tôm đang nuôi ở Việt Nam có ý nghĩa rất quan trọng, là cơ sở khoa học để đề xuất các chương trình chọn giống trên tôm giúp tăng biến dị di truyền và góp phần nâng cao hiệu quả cho việc phát triển đối tượng này. Bên cạnh đó, việc phân tích định danh loài theo hình thái là không chính xác, do đó nghiên cứu về quan hệ di truyền một số loài thuộc họ tôm he (Penaeidae) bằng phương pháp sinh học phân tử dựa trên trình tự vùng gene ty thể 16S- rRNA (16S ribosomal ribonucleic acid) là cần thiết.



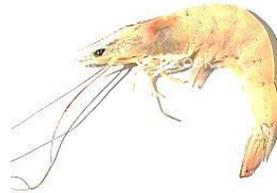
a. Tôm thẻ chân trắng (*Penaeus Vannamei*)



b. Tôm vân (*Penaeus Semisulcatus*)



c. Tôm sú (*Penaeus Monodon*)



d. Tôm bạc thẻ (*Fenneropenaeus Merguensis*)

Hình 1. Một số loài thuộc họ tôm he (Penaeidae) [3]

2. NỘI DUNG

2.1. Mục tiêu và nội dung nghiên cứu

Mục tiêu nghiên cứu giải trình tự gene ty thể 16S-rRNA của ba mẫu tôm thẻ chân trắng (*Penaeus Vannamei*) Việt Nam, xác định quan hệ di truyền và phân nhóm theo khoảng cách di truyền của các loài tôm thuộc họ Penaeidae. Kết quả nghiên cứu là cơ sở khoa học chọn giống trong nuôi trồng thủy sản. Nội dung nghiên cứu tách chiết, giải trình tự và chỉnh sửa trình tự gene ty thể 16S-rRNA của ba mẫu tôm thẻ chân trắng Việt Nam. Ứng dụng tin sinh học nhận diện loài *Penaeus Vannamei* ở Việt Nam dựa trên cơ sở dữ liệu GenBank, ước lượng khoảng cách di truyền giữa các loài, nhóm loài và xây dựng cây phát sinh loài. Phân tích quan hệ di truyền giữa loài tôm thẻ chân trắng Việt Nam và các loài tôm khác thuộc họ Penaeidae.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Tách chiết DNA tổng số

Mẫu tôm được xử lý và bảo quản ở -20°C cho việc tách chiết DNA tổng số (Total Deoxyribonucleic Acid). DNA tổng số được trích ly từ mô thịt tôm bằng bộ kit PHUSA-IHNV 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.

2.2.2. Khuếch đại, tinh sạch, giải trình tự và chỉnh sửa trình tự gene 16S-rRNA

Cặp mồi 16Lvan-f và 16Lvan-r dùng để khuếch đại trình tự gene 16S-rRNA được thiết kế bằng công cụ Primer-BLAST, National Center for Biotechnology Information (NCBI) và được tổng hợp tại Phòng Oligo, Công ty Sinh hóa Phù Sa [7], [8], [9]. Sau khi chạy PCR khuếch đại trình tự gene 16S-rRNA, tiến hành điện di trên gel agarose 2% để kiểm tra chất lượng và độ 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 550 bp, xem như phản ứng khuếch đại thành công. Sau đó, sản phẩm PCR được tinh sạch theo quy trình của Công ty Sinh hóa Phù Sa và giải trình tự theo nguyên tắc Sanger bằng hệ thống 3130, hãng Applied Biosystems. Chỉnh sửa các file trình tự gene 16S-rRNA thu được bằng phần mềm BioEdit phiên bản 7.0.5.2 và công cụ Nucleotide Blast (NCBI).

2.2.3. Sắp hàng trình tự 16S-rRNA với cơ sở dữ liệu GenBank

Sau khi có kết quả giải trình tự gene 16S-rRNA, 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 16S-rRNA với từng trình tự trong cơ sở dữ liệu GenBank bằng công cụ Nucleotide Blast để tìm ra những trình tự trong cơ sở dữ liệu GenBank có tỷ lệ tương đồng cao với trình tự truy vấn, qua đó kiểm tra và nhận diện tên loài của các mẫu vật.

2.2.4. Phân tích phát sinh chủng loài

Phân tích phát sinh chủng loài được thực hiện dựa trên sắp hàng nhiều trình tự gene 16S-rRNA của ba mẫu tôm thẻ chân trắng Việt Nam T1 (Cà Mau), T2 (Bạc Liêu) và T3 (Sóc Trăng) với từng trình tự gene 16S-rRNA của các loài

thuộc họ tôm he (Penaeidae) được thu thập từ cơ sở dữ liệu GenBank theo thuật toán ClustalW, ứng dụng phần mềm Mega phiên bản X.

2.2.5. 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. Ước lượng ma trận khoảng cách di truyền giữa các loài, nhóm loài theo mô hình Kimura 2 – Parameter [2] và xây dựng cây phát sinh loài theo thuật toán Neighbor – Joining Tree [6, tr.406-425], ứng dụng phần mềm Mega phiên bản X [5, tr.1547-1549]. Chọn bootstrap 1000 lần lặp lại để tăng độ tin cậy tính toán [4, tr.783-791].

2.2.6. Phân tích quan hệ di truyền

Dựa vào cây phát sinh loài, phân loại nhóm loài sao cho khoảng cách di truyền của hai nhóm i và nhóm j $D_{ij} > 0,200$. Từ đó, ước lượng hai nhóm có khoảng cách di truyền xa nhất, gần nhất. Khoảng cách di truyền D_{km} của nhóm k và nhóm m, ($k \neq m$) được tính theo công thức (1) [2].

$$D_{km} = \frac{n_i D_{mi} + n_j D_{mj}}{n_i + n_j} \quad (1)$$

Công thức (1) đảm bảo rằng D_{mk} là khoảng cách trung bình của tất cả các loài trong nhóm k và nhóm m. Ở đây, n_i và n_j lần lượt là số loài của nhóm i và nhóm j, D_{mi} là khoảng cách di truyền của nhóm m và nhóm i, D_{mj} là khoảng cách di truyền của nhóm m và nhóm j.

2.3. Kết quả và thảo luận

2.3.1. Tách chiết DNA tổng số

DNA tổng số được tách chiết từ mô thịt tôm đều có tỷ lệ độ hấp thụ tại bước sóng 260

nm và 280 nm (OD_{260} / OD_{280}) bằng 1,85 đến 1,97 và đều nằm trong giới hạn từ 1,8 đến 2,0 chứng tỏ mẫu DNA có độ tinh sạch cao không bị tạp nhiễm protein, RNA và các phân tử hữu cơ khác (Bảng 1).

Bảng 1. Kết quả kiểm tra độ tinh sạch của sản phẩm DNA tổng số [3]

STT	Tên mẫu	OD_{260}	OD_{280}	OD_{260}/OD_{280}
1	Tôm Cà Mau (T1)	0,528	0,268	1,97
2	Tôm Bạc Liêu (T2)	0,617	0,315	1,96
3	Tôm Sóc Trăng (T3)	0,437	0,236	1,85

2.3.2. Khuếch đại, tinh sạch, giải trình tự và hiệu chỉnh trình tự gene 16S-rRNA

Thực hiện kỹ thuật PCR khuếch đại các trình tự gene ty thể 16S-rRNA với cặp mồi [7], [8], [9]:

16Lvan-f (5' - 3'): GTCCCGAAAGAAAAA GAGCTAAC

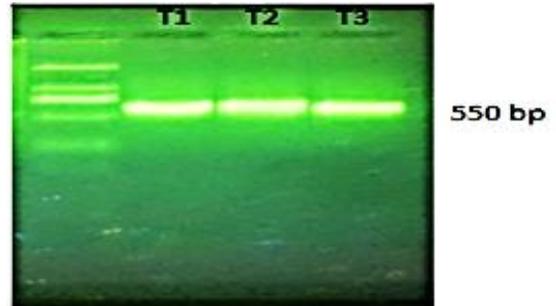
16Lvan-r (5' - 3'): GTCCAACCATTCATAC GAGC

Bảng 2. Kết quả sắp hàng trình tự 16S-rRNA tôm thẻ chân trắng Việt Nam trên cơ sở dữ liệu GenBank

STT	Tên loài	Độ bao phủ (%)	Tỷ lệ tương đồng (%)	Quốc gia	Accession
1	<i>Penaeus vannamei</i>	99,00	99,00	China	KT596762
2	<i>Penaeus vannamei</i>	99,00	99,00	China	DQ534543
3	<i>Penaeus vannamei</i>	99,00	99,00	Mexico	EF584003
4	<i>Penaeus vannamei</i>	98,00	99,00	Mexico	AY046914
5	<i>Penaeus vannamei</i>	98,00	99,00	Spain	HM590748

Kiểm tra bằng công cụ Nucleotide Blast trên cơ sở dữ liệu GenBank cho thấy, tỷ lệ tương đồng trình tự gene ty thể 16S-rRNA của cả ba mẫu tôm thẻ chân trắng Việt Nam T1, T2 và T3 so với loài *Penaeus vannamei* China (KT596762, DQ534543), Mexico (EF584003, AY046914), Spain (HM590748) là 99 % (Bảng 2). Như vậy, nhận diện cả ba mẫu tôm thẻ chân trắng Việt Nam đều là loài *Penaeus vannamei* [3].

Kết quả chạy PCR đã khuếch đại thành công gene ty thể 16S-rRNA, điện di sản phẩm PCR thu được band DNA sáng rõ và có kích thước khoảng 550 bp (Hình 2).



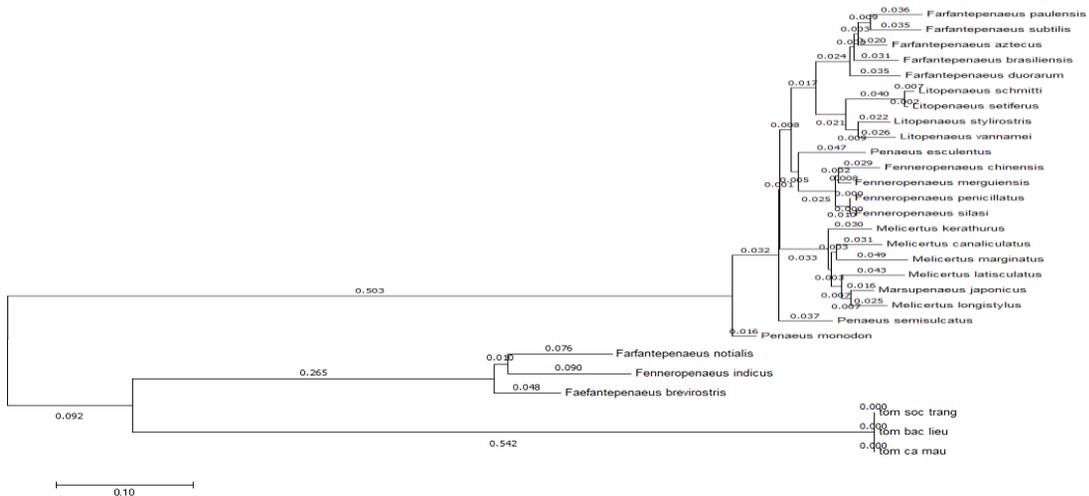
Hình 2. Kết quả điện di sản phẩm PCR [3]

Kết quả giải trình tự, chỉnh sửa thu được ba file trình tự 16S-rRNA định dạng fasta của ba mẫu tôm thẻ chân trắng Việt Nam T1, T2 và T3. Ba trình tự gene 16S-rRNA này đã đệ trình GenBank (USA) và được phát hành ngày 09/01/2020 với các số gia nhập (Accession) lần lượt là MK390356, MK390357 và MK390358 [7], [8], [9].

2.3.3. Kết quả sắp hàng trình tự gene 16S-rRNA với cơ sở dữ liệu GenBank

2.3.4. Cây phát sinh loài

Kết quả sắp hàng nhiều trình tự gene ty thể 16S-rRNA của các loài thuộc họ tôm he (Penaeidae), bằng các công cụ Distance, Phylogeny của phần mềm Mega X ước lượng được ma trận khoảng cách di truyền và cây phát sinh loài (Hình 3).



Hình 3. Cây phát sinh loài của các loài thuộc họ tôm he (Penaeidae) dựa trên chỉ thị gene 16S-rRNA [3]

2.3.5. Kết quả phân tích quan hệ di truyền

Với điều kiện phân loại theo khoảng cách di truyền của hai nhóm i và nhóm j sao cho $D_{ij} > 0,200$, các loài tôm thuộc họ Penaeidae được phân thành 8 nhóm như sau:

Nhóm I có 5 loài: *Farfantepenaeus paulensis*, *Farfantepenaeus subtilis*, *Farfantepenaeus aztecus*, *Farfantepenaeus brasiliensis* và *Farfantepenaeus duorarum*;

Nhóm II có 4 loài: *Litopenaeus schmitti*, *Litopenaeus setiferus*, *Litopenaeus stylirostris* và *Litopenaeus vannamei*;

Nhóm III có 5 loài: *Penaeus esculentus*, *Fenneropenaeus chinensis*, *Fenneropenaeus merguensis*, *Fenneropenaeus penicillatus* và *Fenneropenaeus silasi*;

Nhóm IV có 6 loài: *Melicertus laticulatus*, *Melicertus kerathurus*, *Melicertus marginatus*, *Melicertus longistylus*, *Marsupenaeus japonicus* và *Melicertus canaliculatus*;

Nhóm V có 1 loài: *Penaeus semisulcatus*;

Nhóm VI có 1 loài: *Penaeus monodon*;

Nhóm VII có 3 loài: *Farfantepenaeus notialis*, *Fenneropenaeus indicus*, *Farfantepenaeus brevirostris*;

Nhóm VIII có 1 loài: *Penaeus vannamei*
Cà Mau, Bạc Liêu, Sóc Trăng.

Kết quả phân tích quan hệ di truyền:

Nhóm I: *Farfantepenaeus paulensis*, *Farfantepenaeus subtilis*, *Farfantepenaeus aztecus*, *Farfantepenaeus*

brasiliensis và *Farfantepenaeus duorarum* có khoảng cách di truyền gần nhau không vượt quá 0,086 nên có cùng chi *Farfantepenaeus*. Loài *Farfantepenaeus paulensis* ở Anh, loài *Farfantepenaeus subtilis* ở Brazil và loài *Farfantepenaeus duorarum* ở Mexico.

Nhóm II: *Litopenaeus schmitti*, *Litopenaeus setiferus*, *Litopenaeus stylirostris* và *Litopenaeus vannamei* có cùng chi, khoảng cách di truyền gần nhau không vượt quá 0,073. *Litopenaeus schmitti* và *Litopenaeus setiferus* ở vùng Đại Tây Dương, *Litopenaeus stylirostris* ở Japan, *Litopenaeus vannamei* ở Brazil.

Nhóm III: Chi *Penaeus* đã được tổ chức lại theo hệ thống mà Pérez Farfante và Kensley đề xuất dựa trên các khác biệt về hình thái, đặc biệt là các đặc trưng cơ quan sinh dục của các loài này, mặc dù sửa đổi này vẫn chưa được chấp nhận rộng rãi. Kết quả là, nhiều loài trước đây thuộc chi *Penaeus* đã được chuyển qua các chi mới cùng họ Penaeidae gồm có *Farfantepenaeus*, *Fenneropenaeus*, *Litopenaeus* và *Marsupenaeus*. Tuy *Penaeus esculentus* nằm chung nhóm với *Fenneropenaeus chinensis*, *Fenneropenaeus merguensis*, *Fenneropenaeus penicillatus* và *Fenneropenaeus silasi* nhưng khác chi. Như vậy kết quả phân loại khoa học dựa vào hình thái của nhóm này là chính xác với sinh học phân tử.

Nhóm IV: *Marsupenaeus japonicus* và *Melicertus longistylus* có khoảng cách di truyền nhỏ bằng 0,041 nên hai loài này thuộc cùng một chi. Có thể định danh lại *Melicertus longistylus* là *Marsupenaeus longistylus*.

Nhóm V và nhóm VI là hai nhóm độc lập, *Penaeus semisulcatus* và *Penaeus monodon* là hai loài khác nhau, nhưng cùng chi *Penaeus*. Theo cây phát sinh loài (Hình 3) khoảng cách di truyền của *Penaeus semisulcatus* và *Penaeus monodon* là $D_{ij} = 0,085$ nhỏ hơn điều kiện phân nhóm với khoảng cách di truyền giữa các nhóm tối thiểu là 0,200.

Nhóm VII: Gồm các loài cùng chi *Farfantepenaeus notialis*, *Fenneropenaeus indicus* và *Farfantepenaeus brevitrostris* có khoảng cách di truyền không vượt quá 0,176.

Nhóm VIII: Gồm một loài tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vannamei*) Việt Nam.

Khoảng cách di truyền giữa các nhóm thuộc họ tôm he (Penaeidae) dựa trên chỉ thị gene 16S-rRNA nêu trong Bảng 3. Khoảng cách di truyền của nhóm III và nhóm V gần nhất 0,272. Khoảng cách di truyền của nhóm IV và nhóm VII xa nhất 1,645. Khoảng cách di truyền của nhóm VII và nhóm VIII gần nhau 0,342. Khoảng cách di truyền giữa nhóm VII, nhóm VIII và các nhóm còn lại đều lớn từ 1,153 đến 1,645. Điều này cho thấy các loài tôm thuộc nhóm VII hoặc nhóm VIII có quan hệ tiến hóa di truyền xa đối với hầu hết các loài tôm thuộc họ Penaeidae từ nhóm I đến nhóm VI.

Bảng 3. Khoảng cách di truyền giữa các nhóm thuộc họ Penaeidae dựa trên chỉ thị gene 16S-rRNA

Nhóm	Khoảng cách di truyền							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
I	0,000							
II	0,316	0,000						
III	0,299	0,302	0,000					
IV	0,414	0,382	0,366	0,000				
V	0,319	0,323	0,272	0,370	0,000			
VI	0,330	0,333	0,283	0,381	0,285	0,000		
VII	1,317	1,590	1,547	1,645	1,549	1,496	0,000	
VIII	1,251	1,255	1,203	1,301	1,206	1,153	0,342	0,000

3. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Tách chiết và thu nhận được DNA tổng số của ba mẫu tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vannamei*) Việt Nam T1, T2 và T3. Thiết kế và sàng lọc được cặp mồi 16Lvan-f và 16Lvan-r đặc hiệu trong việc khuếch đại và giải trình tự gene 16S-rRNA của ba mẫu tôm thẻ chân trắng trên. Kiểm tra điện di kết quả PCR thu được sản phẩm band sáng rõ, đúng kích thước ở vị trí 550 bp và không bị tạp nhiễm. Sắp hàng trình tự gene 16S-rRNA với cơ sở dữ liệu GenBank cho thấy tất cả ba trình tự gene 16S-rRNA đều thuộc

loài *Penaeus vannamei* Việt Nam với tỷ lệ tương đồng 99 % và độ bao phủ từ 98 đến 99 %.

Giải thành công bài toán sắp hàng nhiều trình tự bằng thuật toán ClustalW, ước lượng được ma trận khoảng cách di truyền theo mô hình Kimura 2 – Parameter, xác định được các loài có quan hệ di truyền gần nhau và các loài có quan hệ di truyền xa nhau. Xây dựng thành công cây phát sinh loài theo thuật toán Neighbor – Joining Tree.

Dựa vào cây phát sinh loài phân loại các loài tôm he thuộc họ Penaeidae thành 8 nhóm: Nhóm I có 5 loài, Nhóm II có 4 loài, nhóm III có 5 loài,

nhóm IV có 6 loài, nhóm V có 1 loài, nhóm VI có 1 loài, nhóm VII có 3 loài và nhóm VIII có 1 loài.

Khoảng cách di truyền của nhóm III và nhóm V gần nhất 0,272. Khoảng cách di truyền của nhóm IV và nhóm VII xa nhất 1,645. Khoảng cách di truyền của nhóm VII và nhóm VIII gần nhau 0,342. Khoảng cách di truyền giữa nhóm VII, nhóm VIII và các nhóm còn lại đều lớn từ 1,153 đến 1,645. Điều này cho thấy các loài tôm thuộc nhóm VII hoặc nhóm VIII có quan hệ tiến hóa di truyền xa đối với hầu hết các loài tôm thuộc họ Penaeidae từ nhóm I đến nhóm VI.

Mở rộng phạm vi nghiên cứu thu thập thêm nhiều mẫu tôm he của Việt Nam và thế giới để xây dựng hệ thống phân loại sinh học phân tử chính xác hơn. Thiết kế mỗi đặc hiệu để khuếch đại vùng gene ty thể 16S-rRNA và giải trình tự cho tất cả các loài thuộc họ tôm he (Penaeidae). Cần phải nghiên cứu giải trình tự thêm các vùng gene COI, COII, COIII, NADH, 18S-rRNA và kết hợp với hình thái để có thể định danh chính xác tên loài và xây dựng hệ thống DNA barcode cho các loài tôm he thuộc họ Penaeidae.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Trần Thị Thúy Hà và các cộng sự (2013), *Tìm hiểu đặc điểm di truyền một số quần đàn tôm thẻ chân trắng nuôi tại Việt Nam bằng chỉ thị Microsatellite*, *Tạp chí khoa học và phát triển* 11(6).
- [2] Trương Thế Quang (2018), *Tin sinh học (Bioinformatics)*, Nxb Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.
- [3] Trương Thế Quang, Trần Thị Kim Khánh (2018), *Sử dụng mã vạch DNA định loại một số loài tôm thuộc họ Penaeidae dựa trên trình tự vùng gene ty thể 16S-rRNA*, Trường Đại học Văn Lang.
- [4] Felsenstein J. (1985), *Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap*, *Evolution* 39.
- [5] 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.
- [6] Saitou N., Nei M. (1987), *The neighbor - joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees*, *Molecular Biology and Evolution* 4.
- [7] Trương Thế Quang (2020), *Penaeus vannamei isolate LVAN1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial*, Title: Genetic diversity of the Penaeus shrimp using 16S ribosomal RNA mitochondrial gene, Version MK390356.1, GenBank, The National Center for Biotechnology Information, USA, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/MK390356.1>.
- [8] Trương Thế Quang (2020), *Penaeus vannamei isolate LVAN2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial*, Version MK390357.1, GenBank, The National Center for Biotechnology Information, USA, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/MK390357.1>.
- [9] Trương Thế Quang (2020), *Penaeus vannamei isolate LVAN3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial*, Version MK390358.1, GenBank, The National Center for Biotechnology Information, USA, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/MK390358.1>.

Ngày nhận bài: 13-5-2020. Ngày biên tập xong: 07-7-2020. Duyệt đăng: 24-7-2020