

# Đa dạng loài và mối quan hệ tiến hoá các loài cá nước ngọt tại Tây Nguyên dựa trên chỉ thị phân tử

Vũ Đặng Hạ Quyên, Trương Thị Oanh, Trần Quang Sáng, Văn Hồng Cẩm, Đặng Thúy Bình\*

Viện Công nghệ Sinh học và Môi trường, Trường Đại học Nha Trang, 2 Nguyễn Đình Chiểu, phường Bắc Nha Trang, tỉnh Khánh Hòa, Việt Nam

Ngày nhận bài 28/8/2024; ngày chuyển phản biện 30/8/2024; ngày nhận phản biện 15/9/2024; ngày chấp nhận đăng 20/9/2024

## Tóm tắt:

Tây Nguyên gồm 5 tỉnh (trước sáp nhập), có sông Sê San và Srêpôk thuộc hệ thống sông 3S (Sê San - Sê Kông - Srêpôk) xuyên quốc gia, trong đó sông Srêpôk có 240 loài cá, sông Sê San có 133 loài. Nghiên cứu khảo sát sự đa dạng và mối quan hệ phát sinh loài của cá nước ngọt ở Tây Nguyên. Mẫu cá được thu tại sông Srêpôk và Sê San thuộc tỉnh Đắk Lắk, Đắk Nông, Gia Lai và Kon Tum (trước sáp nhập). Dựa trên đặc điểm hình thái, 68 loài được ghi nhận: bộ cá chép Cypriniformes (37 loài, 28 giống, 7 họ), bộ cá da trơn Siluriformes (17 loài, 10 giống, 6 họ), bộ cá rô đồng Anabantiformes (8 loài, 5 giống, 4 họ), bộ cá thát lát Osteoglossiformes và cá bống Gobiiformes (đều 2 loài, 2 giống, 1 họ); bộ cá hoàng đế Cichliformes và series Ovalentaria (đều 1 loài). Cây phát sinh loài được xây dựng dựa trên 4 tập dữ liệu gen Cytochrome b (*cytb*) của mtDNA bằng thuật toán neighbor-joining và Maximum Likelihood, với *Batrachomoeus trispinosus* (bộ cá cóc Batrachoidiformes) được sử dụng làm nhóm ngoại. Cây phát sinh của toàn bộ loài chia thành hai nhánh, nhánh 1 gồm 4 bộ (Cypriniformes, Siluriformes, Osteoglossiformes, Gobiiformes); nhánh 2 gồm Anabantiformes, Cichliformes và series Ovalentaria. Tình trạng đơn ngành và đa ngành ở các cấp độ phân loại (bộ, họ và giống) được thảo luận và so sánh. Phát hiện này cung cấp dữ liệu di truyền về sự đa dạng của cá sông Mê Kông, làm cơ sở khoa học cho bảo tồn và quản lý nguồn lợi thủy sản.

**Từ khóa:** bảo tồn, cá nước ngọt, chỉ thị phân tử, *cytb* mtDNA, đa dạng sinh học, nguồn lợi thủy sản, phát sinh loài, Tây Nguyên.

**Chỉ số phân loại:** 1.6, 4.6

## Species diversity and evolutionary relationships of freshwater fish in the Central Highlands, Vietnam, based on molecular markers

Dang Ha Quyen Vu, Thi Oanh Truong, Quang Sang Tran, Hong Cam Van, Thuy Binh Dang\*

Institute for Biotechnology and Environment, Nha Trang University, 2 Nguyen Dinh Chieu Street, Bac Nha Trang Ward, Khanh Hoa Province, Vietnam

Received 28 August 2024; revised 15 September 2024; accepted 20 September 2024

## Abstract:

The Central Highlands, encompassing five provinces before the administrative reorganisation, is traversed by the Se San and Srepok rivers, known as two main branches of the transboundary 3S river system (Se San - Se Kong - Srepok). There are 240 and 133 fish species recorded in the Srepok and Sesan rivers, respectively. This study aims to investigate the diversity and phylogenetic relationships of freshwater fish in the Central Highlands. The samples were collected at Se San and Srepok rivers in Dak Lak, Dak Nong, Gia Lai and Kon Tum provinces. Based on morphological characteristics, 68 species have been identified, including: Order Cypriniformes (7 families, 28 genera, 37 species); Order Siluriformes (6 families, 10 genera, 17 species); Order Osteoglossiformes (1 family, 2 genera, 2 species); Order Anabantiformes (4 families, 5 genera, 8 species); Order Gobiiformes (1 family, 2 genera, 2 species); Order Cichliformes (both of 1 species) and Ovalentaria series (1 species). The phylogenetic tree was constructed based on four different Cytochrome b (*cytb*) gene mitochondrial DNA datasets using the Neighbor-Joining and Maximum Likelihood approaches, with *Batrachomoeus trispinosus* used as the outgroup. The phylogram was divided into two main lineages, lineages 1 included Cypriniformes, Siluriformes, Osteoglossiformes, and Gobiiformes; while lineages 2 included Anabantiformes, Cichliformes, and series Ovalentaria (all previously belong to the order Perciformes). The monophyletic and polyphyletic status at different taxonomic levels (order, family, and genus) were discussed and compared. These findings provide genetic data on fish diversity in the Mekong river, serving as a scientific basis for conservation and management of freshwater fishery resources.

**Keywords:** aquatic resources, biodiversity, Central Highlands, conservation, *cytb* mtDNA, freshwater fish, molecular markers, phylogenetic tree.

**Classification numbers:** 1.6, 4.6

\*Tác giả liên hệ: Email: nhubinh2510@gmail.com

## 1. Đặt vấn đề

Lưu vực sông Mê Kông chảy qua địa phận 6 nước châu Á (Trung Quốc, Myanmar, Thái Lan, Lào, Campuchia và Việt Nam), đặc trưng bởi sự đa dạng sinh học các loài cá, đứng thứ hai sau sông Amazon, với hơn 1000 loài được ghi nhận [1]. Sông Mê Kông ở Việt Nam phân bố ở Đồng bằng sông Cửu Long - ĐBSCL (sông Tiền và sông Hậu), Bắc Trung Bộ (sông Sê Kông) và Tây Nguyên (sông Sê San và Srêpôk). Lưu vực sông Sê San và Srêpôk bắt nguồn từ dãy núi cao phức tạp, được hợp thành từ nhiều nhánh sông nơi có các thác ghềnh và suối nhỏ, trải dài 5 tỉnh gồm Kon Tum, Gia Lai, Đắk Lắk, Đắk Nông và Lâm Đồng (trước sáp nhập) với tổng diện tích khoảng 29500 km<sup>2</sup> [2]. Hiện nay, nhiều đập thủy điện đã, đang và sẽ được xây dựng tại khu vực phía trên thượng nguồn, phục vụ nhu cầu cuộc sống của con người, điều này tác động không nhỏ đến môi trường và đa dạng sinh học khu vực Tây Nguyên nói riêng và lưu vực sông Mê Kông nói chung [2].

Đa dạng loài cá ghi nhận tại sông Sê San là 133 loài và Srêpôk là 204 loài [2]. Một số nghiên cứu công bố đa dạng thành phần loài cá nước ngọt ở lưu vực các nhánh sông, suối ở Tây Nguyên dựa trên đặc điểm hình thái. T.T.H. Nguyen (2000) [3] ghi nhận 160 loài thuộc 84 giống, 28 họ và 10 bộ. H.A. Le và cs (2013) [4] xác định được 179 loài thuộc 93 giống, 32 họ và 11 bộ, trong đó, bộ cá chép Cypriniformes chiếm ưu thế với 98 loài. Ngoài ra, đa dạng thành phần loài cá ở một số hồ chứa thuộc lưu vực sông Mê Kông ở Tây Nguyên cũng được ghi nhận, như hồ Yaly (17 loài), Easoup (40 loài), Eakao (14 loài), Eakar (7 loài), Buôn Triếp (23 loài), Yang Reh (10 loài) [5].

Bên cạnh phương pháp định loại hình thái, định loại phân tử dựa trên di truyền mã vạch (DNA barcoding) đang được ứng dụng rộng rãi. Di truyền mã vạch là kỹ thuật sử dụng một hoặc một vài trình tự DNA ngắn nằm trong hệ gen của sinh vật để khuếch đại đoạn gen mục tiêu, rồi dựa trên dữ liệu di truyền thu được để kiểm chứng định loại và khảo sát mối quan hệ phát sinh loài một cách nhanh chóng và chính xác [6]. Trong những thập niên gần đây, DNA mã vạch được ứng dụng rộng rãi như một công cụ hỗ trợ trong các nghiên cứu về phân loại cá nước ngọt ở Việt Nam như bộ cá chép Cypriniformes [7, 8], cá nước ngọt ở ĐBSCL [9], cá da trơn Siluriformes [10], cá bản địa ở các phụ lưu sông Mê Kông [11], góp phần bổ sung dữ liệu phân tử cho khu hệ cá Việt Nam.

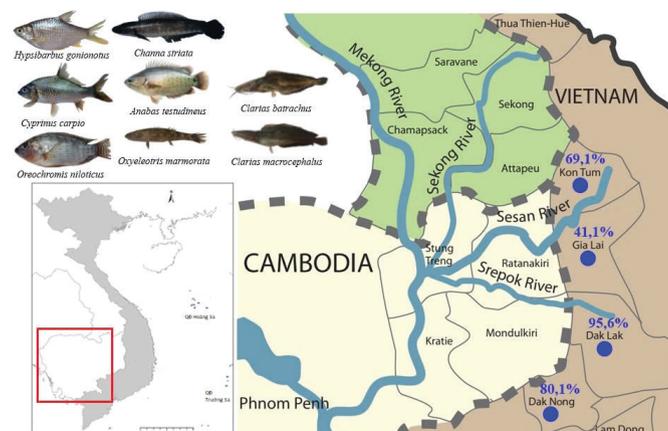
Nghiên cứu hiện tại khảo sát đa dạng thành phần loài cá nước ngọt phổ biến tại sông Sê San và Srêpôk dựa trên đặc điểm hình thái và di truyền, xây dựng cây phát sinh chủng loại và khảo sát mối quan hệ tiến hóa, góp phần bổ sung và hoàn thiện cơ sở dữ liệu di truyền ứng dụng trong bảo tồn và quản lý nguồn lợi thủy sản.

## 2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Địa điểm, thời gian và phương pháp thu mẫu

Mẫu cá được thu từ người dân địa phương ở các chợ và bến cá dọc 2 nhánh sông chính: sông Sê San - tỉnh Gia Lai và Kon Tum và sông Srêpôk (sông Krong Ana và sông Krong No) - tỉnh Đắk Lắk, Đắk Nông và Gia Lai (hình 1). Các mẫu cá được thu thập trong 3-5 ngày từ năm 2016-2019, với 1 lần/năm và riêng 2016, nghiên

cứ thực hiện 2 chuyến thu mẫu. Số lượng cá thể trên một loài thu thập tại mỗi địa điểm dao động từ 2 đến 8. Mẫu cá được mã hóa và cơ cá được cất và giữ trong ống eppendorf chứa ethanol 95%, bảo quản lạnh ở -20°C để tiến hành các phân tích di truyền tiếp theo.



Hình 1. Sơ đồ các địa điểm thu mẫu và thông tin về sự phân bố loài cá (%) tại các khu vực địa lý ở Tây Nguyên. Hình ảnh các loài cá phổ biến tại các địa điểm nghiên cứu được hiển thị.

### 2.2. Khảo sát thành phần loài dựa vào đặc điểm hình thái và di truyền

Mẫu cá được chụp ảnh và định loại dựa trên các đặc điểm hình thái như màu sắc cơ thể và vây, số lượng tia cứng và tia mềm ở vây lưng, vây hậu môn, vây bụng, vây ngực và vây đuôi và các đặc điểm đặc trưng theo các khóa phân loại [12, 13]. Mẫu cá được bảo quản trong cồn 96% và lưu giữ ở Phòng Thí nghiệm Sinh học phân tử, Trung tâm Thí nghiệm Thực hành, Trường Đại học Nha Trang.

Tổng số DNA được tách chiết từ 20 mg mẫu cơ của từng cá thể sử dụng bộ kit GeneJET Genomic DNA Purification (Thermo Scientific, Mỹ) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Phản ứng PCR khuếch đại đoạn gen Cytochrome b của DNA ty thể (*Cytb* mtDNA) sử dụng cặp mồi CytbF 5'-GGCTGATTCGGAATATGCAYGCANAYGG-3' và CytbR 5'-GGGAGGATCGTAGAATTGCRTANGCRAA-3' [14] được tiến hành theo quy trình của Q.D.H. Vu và cs (2018) [10] với nhiệt độ lai là 52°C. Sản phẩm PCR được tiến hành phân ứng giải trình tự theo nguyên tắc Dye-labelled dideoxy terminator (Big Dye Terminator v.3.1, Applied Biosystems), với các đoạn mồi tương tự như phản ứng PCR theo chương trình luân nhiệt như sau: 96°C trong 30 giây, 50°C trong 30 giây, cuối cùng là 60°C trong 4 phút. Sản phẩm sau đó được phân tích bằng thiết bị ABI Prism 3.700 DNA Analyser (Applied Biosystems).

Trình tự đoạn gen *Cytb* mtDNA các mẫu đã định loại hình thái được kết nối bằng tính năng ContigExpress của phần mềm Vector NTI 11.5 (Invitrogen, Mỹ). Sau đó, các trình tự được so sánh với cơ sở dữ liệu của Ngân hàng Gen (GenBank) bằng tính năng BLAST Nucleotide (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) để kiểm chứng. Kết hợp giữa đặc điểm hình thái và di truyền, các loài cá được định danh theo hệ thống phân loại cập nhật của R. Betancur và cs (2017) [15]. Thành phần loài được xác định và

khảo sát theo các khu vực thu mẫu. Các trình tự được đóng hàng bằng phần mềm BioEdit 7.2.5 sử dụng tính năng Clustal X, kiểm tra và chỉnh sửa bằng mắt thường. Các trình tự được đăng ký trên GenBank với mã số từ MN541305 đến MN541372 [16].

### 2.3. Khảo sát mối quan hệ tiến hoá các loài cá nước ngọt

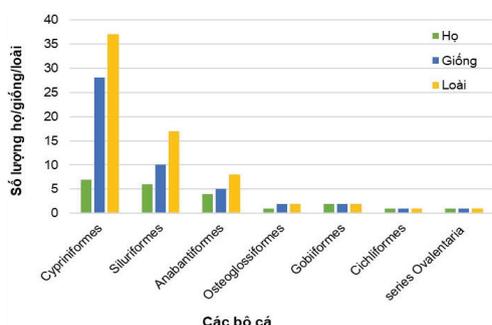
Mối quan hệ phát sinh loài của các loài cá nước ngọt được phân tích dựa trên 4 tập dữ liệu. Đầu tiên, cây phát sinh loài được xây dựng từ 68 trình tự trong nghiên cứu hiện tại và 44 trình tự từ GenBank để khảo sát mối quan hệ tiến hóa. Loài *Batrachomeus trispinosus* (Batrachoidiformes: Batrachoididae) mã số AP006738 được sử dụng làm nhóm ngoại. Sau đó, mối quan hệ phát sinh phả hệ của các bộ/tập hợp bộ lần lượt được xem xét, bao gồm: 59 trình tự thuộc bộ cá chép Cypriniformes (37 của nghiên cứu này và 22 từ GenBank); 25 trình tự thuộc bộ cá da trơn Siluriformes (17 của nghiên cứu này và 8 từ GenBank); 19 trình tự thuộc các bộ Anabantiformes, Cichliformes và series Ovalentaria (10 của nghiên cứu này và 9 từ GenBank). Các cây phát sinh loài được xây dựng sử dụng thuật toán Neighbor Joining (NJ) và Maximum Likelihood (ML) với độ lặp lại 1000 lần trên phần mềm MEGA X [17]. Trước khi tiến hành thuật toán ML, mô hình tiến hóa phù hợp của các tập dữ liệu được xác định sử dụng tính năng Find best model trong phần mềm MEGA X. Mô hình có giá trị Akaike Information Criterion - AIC thấp nhất được lựa chọn [18].

## 3. Kết quả và bàn luận

### 3.1. Thành phần loài cá nước ngọt ở Tây Nguyên

Từ năm 2016 đến 2019, qua các đợt thu mẫu tại các tỉnh Tây Nguyên, nghiên cứu ghi nhận 68 loài cá nước ngọt phổ biến dựa vào đặc điểm hình thái (7 bộ/series, 21 họ và 49 giống). Sử dụng chỉ thị *Cytb* của DNA ty thể, các loài cá được kiểm chứng định loại bằng tính năng BLAST. Theo đó, mức độ tương đồng với trình tự cùng loài trên GenBank dao động 98,9-100% (độ bao phủ 99-100%).

Xét về thành phần loài, bộ cá chép Cypriniformes được ghi nhận là đa dạng nhất với 37 loài, 28 giống, 7 họ; tiếp theo là bộ cá da trơn Siluriformes (17 loài, 10 giống, 6 họ), bộ cá rô đồng Anabantiformes (8 loài, 5 giống, 4 họ); bộ cá bống Gobiiformes (2 loài, 2 giống, 2 họ); bộ cá thát lát Osteoglossiformes (2 loài 2 giống, 1 họ); bộ cá hoàng đế Cichliformes (1 loài, 1 giống, 1 họ); và series Ovalentaria (1 loài, 1 giống, 1 họ) (hình 2).



Hình 2. Số lượng họ, giống, loài của các bộ cá nước ngọt ghi nhận được ở Tây Nguyên.

Sự phân bố của các loài theo khu vực thu mẫu cũng thể hiện sự khác nhau rõ rệt, với 65/68 loài (chiếm 95,6%) tập trung ở các tỉnh Đắk Lắk, thấp nhất là 28/68 loài (41,1%) thu được ở Gia Lai; trong khi đó, tỉnh Đắk Nông và Kon Tum lần lượt có số loài thu được là 55 (80,1%) và 47 (69,1%). Một số loài cá như *Cyprinus carpio*, *Oreochromis niloticus*, *Hypsibarbus gonionotus*, *Clarias macrocephalus*, *Clarias batrachus*, *Anabas testudineus*, *Oxyeleotris marmorata*, *Channa striata*... xuất hiện ở tất cả các tỉnh thu mẫu (hình 1). Đây là những loài được sản xuất nhân tạo thành công và trở thành đối tượng nuôi phổ biến. Điều này cũng phù hợp với nhận xét của T.T.H. Nguyen (2000) [3], đây là những loài có giá trị kinh tế ở khu vực sông suối Tây Nguyên. Một số loài như cá bống đá *Acantopsis dialuzona*, cá bống trơn *Schistura fasciolata* và cá chanh đục *Channa gachua* chỉ thu được ở Kon Tum; cá rô đá *Pristolepis fasciata* ở Đắk Lắk mà không ghi nhận ở các tỉnh khác.

Trong tổng số 68 loài trong nghiên cứu hiện tại, cá mương *Toxabramis* sp. thu mẫu tại Đắk Lắk chỉ định loại được đến giống. Về mặt hình thái, *Toxabramis* sp. tương tự với loài *T. houdemeri*, tuy nhiên, loài *Toxabramis* sp. có một số đặc điểm khác như hình dáng cơ thể thon dài hơn, viền lưng phía trước vây lưng có màu xanh xám, viền cuống đuôi màu xanh đậm. So sánh với cơ sở dữ liệu GenBank, trình tự *Toxabramis* sp. thể hiện sự tương đồng 98,9% với trình tự của loài *T. houdemeri* ở Trung Quốc (mã số KT959236).

### 3.2. Mối quan hệ tiến hoá các loài cá nước ngọt dựa trên chỉ thị *Cytb* mtDNA

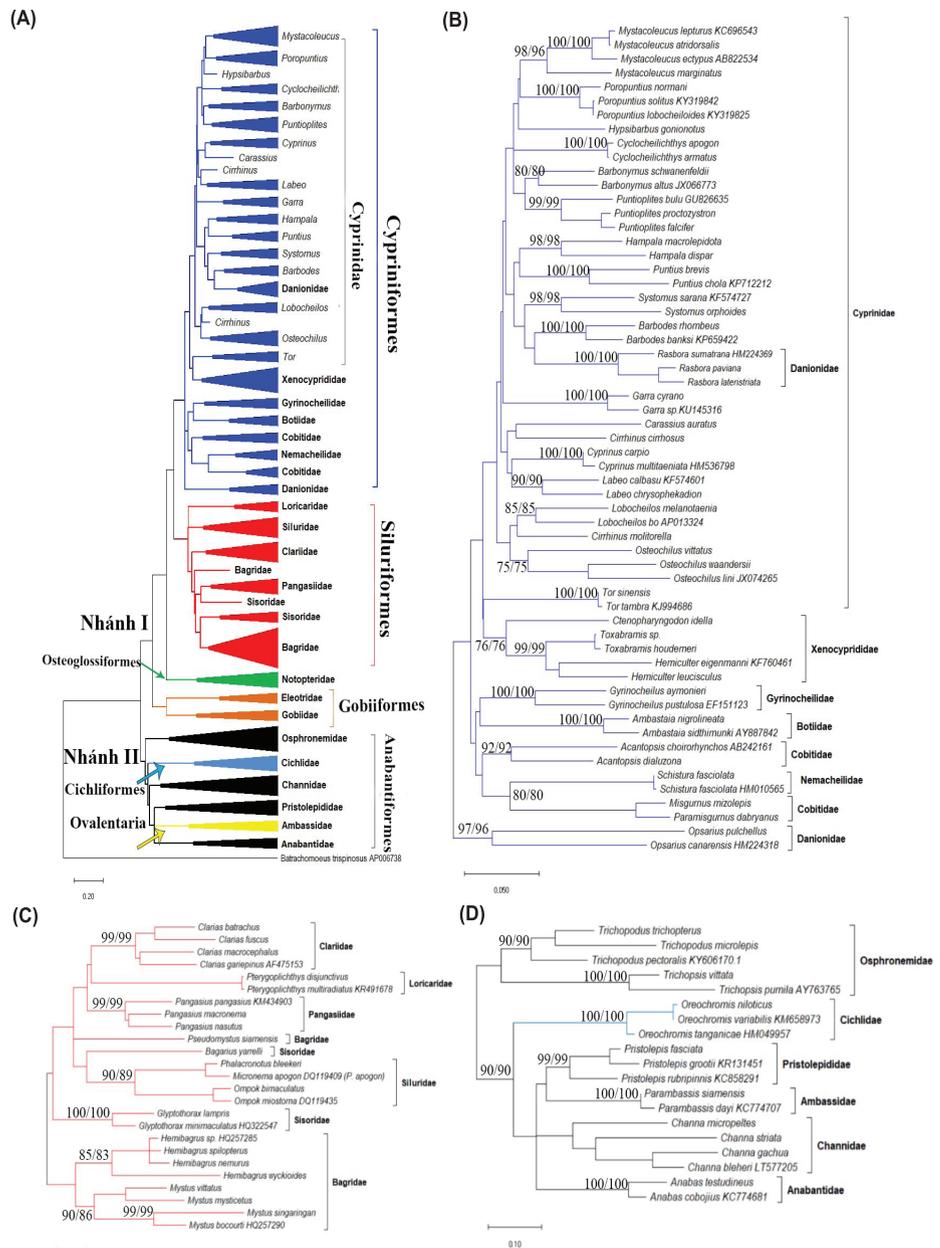
Trình tự *Cytb* mtDNA của 68 loài cá nước ngọt sau khi đóng hàng và hiệu chỉnh có chiều dài là 577 bp, trong đó 255 nucleotide không đổi (constant character), 25 nucleotide không mang thông tin (parsimony-uninformative character) và 297 nucleotide mang thông tin (parsimony-informative character). Mô hình tiến hóa tối ưu được lựa chọn cho các tập dữ liệu là GTR+G+I.

Cây phát sinh loài của 68 loài cá nước ngọt trong NCHT và 44 trình tự trên GenBank xây dựng bằng thuật toán ML (hình 3A) thể hiện sự tương đồng cao với thuật toán NJ (dữ liệu không trình bày), ngoại trừ vị trí của bộ cá bống Gobiiformes. Đối với thuật toán NJ, bộ cá bống Gobiiformes được sắp xếp cùng nhóm với các bộ cá rô đồng Anabantiformes, bộ cá hoàng đế Cichliformes và series Ovalentaria (tất cả trước đây đều thuộc bộ cá vược Perciformes), trong khi đó, bộ này phân tách thành nhánh riêng biệt trên cây phát sinh loài khi sử dụng thuật toán ML. Trong khi NJ suy luận cây phát sinh loài dựa trên ma trận khoảng cách, thuật toán ML sử dụng một mô hình tiến hóa cụ thể (GTR+G+I). Mô hình tiến hóa trong ML có thể đã phát hiện ra những đặc điểm tiến hóa đặc trưng của bộ cá bống Gobiiformes, dẫn đến việc phân loại nó vào một nhánh riêng biệt. Ở hình 3A, hai nhánh chính được thể hiện trên cây phát sinh loài. Nhánh I gồm 37 loài thuộc bộ cá chép Cypriniformes, 17 loài thuộc bộ cá da trơn Siluriformes, 2 loài thuộc bộ cá thát lát Osteoglossiformes (họ Notopteridae), 2 loài của bộ cá bống Gobiiforme (họ Eleotridae và Gobiidae); trong khi Nhánh II gồm 8 loài thuộc bộ cá rô đồng Anabantiformes, 1 loài thuộc bộ cá hoàng đế Cichliformes và 1 loài thuộc series Ovalentaria (cùng lớp cá vây tia Actinopterygii).

Khi xét các bộ/tập hợp bộ, bộ cá chép Cypriniformes thể hiện mức độ đa ngành cao nhất với 3 họ và 1 giống (hình 3B). Ở họ Danionidae, *Rasbora* spp. được xếp chung với các loài thuộc họ Cyprinidae. Tương tự, hai loài (*Paramisgurnus dabryanus* và *Misgurnus mizolepis*) ở họ Cobitidae xếp chung nhánh với các loài thuộc họ Nemacheilidae. Xét ở mức độ giống, *Cirrhinus cirrhosus* tạo thành nhánh chị em với loài *Carassius auratus*. Ở bộ cá da trơn Siluriformes, họ Bagridae và Sisoridae thể hiện sự đa ngành (hình 3C). Các loài thuộc Bagridae được xếp chung vào 1 nhóm, trong khi *Pseudomystus siamensis* nằm ở vị trí không xác định trên cây phát sinh loài. Ở họ Sisoridae, *Bagarius yarrelli* là loài chị em với các loài trong họ Siluridae. Bộ cá rô đồng Anabantiformes (gồm 4 họ Osphronemidae, Channidae, Anabantidae và Pristolepididae) cũng cho thấy sự đa ngành khi được sắp xếp cùng với họ Cichlidae (bộ cá hoàng đế Cichliformes) và họ Ambassidae (series Ovalentaria) (hình 3D).

Điều này có thể giải thích sự chưa thống nhất trong hệ thống định loại dựa vào hình thái cũng như mối quan hệ phát sinh loài dựa trên các chỉ thị phân tử giữa các phân họ trong họ cá chép Cyprinidae. Đây là họ cá nước ngọt đa dạng nhất, phân bố gần như trên toàn thế giới với ít nhất 367 giống và hơn 3006 loài. Theo hệ thống phân loại hiện nay, họ cá chép bao gồm 12 phân họ [13]. Các mối quan hệ phát sinh và hệ thống của các phân họ trong họ cá chép hiện vẫn còn nhiều tranh cãi [7, 8]. Sự đa ngành của các họ Cyprinidae, Cobitidae và Danionidae ghi nhận ở nghiên cứu hiện tại cũng phù hợp với các nghiên cứu khác khi sử dụng chỉ thị đơn [19], hay kết hợp các chỉ thị [7, 8, 20].

Bộ cá da trơn Siluriformes là một trong những bộ cá quan trọng nhất về mặt sinh thái và kinh tế ở lưu vực sông Mê Kông. Bagridae là một trong số các họ với đa dạng loài cao thuộc bộ Siluriformes, trong đó có 210 loài được ghi nhận. Một số nghiên cứu cũng ghi nhận sự đa ngành của họ Bagridae [10, 21]. Hơn nữa, phức hợp loài (cryptic species) của giống *Hermibagrus* đã được phát hiện sử dụng các chỉ thị phân tử của DNA ty thể [22], cũng như các chỉ thị SNPs [23].



**Hình 3.** Mối quan hệ tiến hoá các loài cá nước ngọt tại Tây Nguyên sử dụng thuật toán Maximum Likelihood dựa trên trình tự gen *Cytb* thuộc DNA ty thể. Giá trị độ tin cậy (>70%) của thuật toán ML/NJ được hiển thị trên các nhánh. (A) Cây phát sinh loài của các loài cá trong nghiên cứu hiện tại; (B) Bộ cá chép Cypriniformes; (C) Bộ cá da trơn Siluriformes; (D) Các bộ/tập hợp bộ Anabantiformes, Cichliformes và series Ovalentaria.

Bộ cá rô đồng Anabantiformes được phân tách từ bộ cá vược Perciformes - vốn bao gồm cả bộ cá hoàng đế Cichliformes và series Ovalentaria - bởi R. Betancur và cs (2017) [15]. D.H. Hoang và cs (2022) [11] sử dụng đa chỉ thị (3 gen ty thể và 2 gen nhân) phát hiện bộ cá rô đồng Anabantiformes xếp cùng nhánh với bộ cá mang liềm Synbranchiformes, trong khi đó series Ovalentaria nằm cùng nhánh với bộ cá kim Beloniformes. Nghiên cứu hiện tại cũng cho thấy sự không đơn ngành của bộ cá rô đồng khi sử dụng riêng lẻ một chỉ thị, do đó, các phân tích đa chỉ thị cũng như hệ gen cần được áp dụng để làm rõ các mối quan hệ phát sinh này.

Nghiên cứu ứng dụng giải trình tự đoạn gen *Cytb* thuộc DNA ty thể kết hợp với các đặc điểm hình thái để khảo sát thành phần loài và xây dựng cây phát sinh chủng loại của các loài cá nước ngọt phổ biến ở Tây Nguyên. Hầu hết các nghiên cứu trước đó chỉ dựa vào hình thái để định loại cá ở khu vực này. Tuy nhiên, để có cơ sở chính xác cho việc phân loại cần khảo sát thêm một số chỉ thị phân tử khác để so sánh sự tiến hoá cũng như mối quan hệ phát sinh chủng loại, đồng thời xây dựng cơ sở dữ liệu di truyền phục vụ bảo tồn đa dạng sinh học và nguồn lợi thủy sản.

#### 4. Kết luận

Dựa vào đặc điểm hình thái và di truyền, nghiên cứu ghi nhận 68 loài cá nước ngọt phổ biến tại Tây Nguyên, Việt Nam, trong đó, 1 loài (*Toxabramis* sp.) chỉ xác định được đến giống. Cây phát sinh loài được chia thành 2 nhánh chính, cho thấy sự đơn ngành ở một số bộ cá. Trong bộ Cypriniformes, họ Cyprinidae, Cobitidae, Datnionidae và giống *Cirrhinus* thể hiện sự đa ngành. Trong bộ Siluriformes, sự đa ngành được ghi nhận ở họ Bagridae và Sisoridae. Bộ Anabantiformes thể hiện sự đa ngành khi được sắp xếp cùng nhánh với bộ Cichliformes và series Ovalentaria.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] D.J. Allen, K.G. Smith, W.R.T. Darwall (2012), *The Status and Distribution of Freshwater Biodiversity in Indo-Burma*, Cambridge, UK and Gland, Switzerland: IUCN, 158pp.

[2] E. Baran, S. Saray, S.J. Teoh, et al. (2011), *Fish and Fisheries in The Sesan River Basin: Catchment Baseline, Fisheries Section*, The WorldFish Center, 61pp.

[3] T.T.H. Nguyen (2000), *Investigation of Fish Fauna of Rivers and Streams in The Central Highlands*, Doctoral Thesis in Biology, University of Science, Vietnam National University-Hanoi, 149pp (in Vietnamese).

[4] H.A. Le, D.T. Nguyen, V.T. Do, et al. (2013), "Macroinvertebrate and fish diversity in the Western Highland with the threatened species", *The 5<sup>th</sup> National Scientific Conference on Ecology and Biological Resources*, pp.360-363 (in Vietnamese).

[5] P.L. Tuong, X.L. Dinh (2012), "Current status of fisheries in Mekong river basin - Central Highlands", *International Collaborating Centre for Aquaculture and Fisheries Sustainability (ICAFIS)*, 18pp (in Vietnamese).

[6] P.D.N. Hebert, A. Cywinska, S.L. Ball, et al. (2003), "Biological identifications through DNA barcodes", *Proceedings of The Royal Society B: Biological Sciences*, **270**, pp.96-99, DOI: 10.1098/rspb.2002.2218.

[7] B.T. Thai, V.S. Ngo, P.D. Phan, et al. (2007), "Phylogenetic evaluation of subfamily classification of the Cyprinidae focusing on Vietnamese species", *Aquatic Living Resources*, **20(2)**, pp.143-153, DOI: 10.1051/alr:2007025.

[8] Q.D.H. Vu, O.T. Truong, T.L. Tran, et al. (2018a), "Molecular phylogeny of Cyprinidae and Cobitidae (Teleostei: Cypriniformes) - Implication for Mekong fish", *Proceedings of ISER 169<sup>th</sup> International Conference, Bangkok, Thailand*, pp.11-16.

[9] Q.D.H. Vu, B.T. Dang, O.T. Truong, et al. (2014), "DNA barcoding of freshwater fishes in the Mekong Delta", *CTU Journal of Science*, **1**, pp.123-131 (in Vietnamese).

[10] Q.D.H. Vu, O.T. Truong, T.L.P. Thai, et al. (2018b), "Molecular phylogeny of catfishes (Teleostei: Siluriformes) inferred from mitochondrial markers-implications for lower Mekong river basin", *European Journal of Advanced Research in Biological and Life Sciences*, **6(3)**, pp.1-12.

[11] D.H. Hoang, M.H. Pham, T.N. Tran (2022), "The phylogenetic relationship and distribution of indigenous freshwater fishes in the Mekong tributaries, Vietnam", *Science and Technology Development Journal - Natural Sciences*, **6(2)**, pp.1956-1969, DOI: 10.32508/stdjns.v6i2.1121 (in Vietnamese).

[12] D.D. Tran, K. Shibukawa, P.T. Nguyen, et al. (2013), *Fishes of The Mekong Delta, Vietnam*, Can Tho University Publishing House, Vietnam, 174pp (in Vietnamese).

[13] W.J. Rainboth, C. Vidhayanon, M.D. Yen (2012), *Fishes of The Greater Mekong Ecosystem with Species List and Photographic Atlas*, University of Michigan Museum of Zoology, 315pp.

[14] M. Kochzius, C. Seidel, A. Antoniou, et al. (2010), "Identifying fishes through DNA barcodes and microarrays", *PLOS ONE*, **5(9)**, DOI: 10.1371/journal.pone.0012620.

[15] R. Betancur, E.O. Wiley, G. Arratia, et al. (2017), "Phylogenetic classification of bony fishes", *BMC Evolutionary Biology*, **17(162)**, DOI: 10.1186/s12862-017-0958-3.

[16] T.A. Hall (1999), "BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows95/98/NT", *Nucleic Acids Symposium Series*, **41**, pp.95-98, DOI: 10.14601/Phytopathol\_Mediterr-14998u1.29.

[17] S. Kumar, G. Stecher, M. Li, et al. (2018), "MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms", *Molecular Biology and Evolution*, **35(6)**, DOI: 10.1093/molbev/msy096.

[18] D. Posada, K.A. Crandall (1998), "MODELTEST: Testing the model of DNA substitution", *Bioinformatics*, **14(9)**, pp.817-818, DOI: 10.1093/bioinformatics/14.9.817.

[19] L. Yang, T. Sado, M.V. Hirt, et al. (2015), "Phylogeny and polyploidy: Resolving the classification of cyprinine fishes (Teleostei: Cypriniformes)", *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **85**, pp.97-116, DOI: 10.1016/j.ympev.2015.01.014.

[20] K. Saitoh, T. Sado, M.H. Doosey, et al. (2011), "Evidence from mitochondrial genomics supports the lower Mesozoic of South Asia as the time and place of basal divergence of cypriniform fishes (Actinopterygii: Ostariophysii)", *Zoological Journal of The Linnean Society*, **161(3)**, pp.633-662, DOI: 10.1111/j.1096-3642.2010.00651.x.

[21] I. Kappas, S. Vitas, C.N. Pantartzis, et al. (2016), "A time-calibrated mitogenome phylogeny of catfish (Teleostei: Siluriformes)", **11(12)**, DOI: 10.1371/journal.pone.0166988.

[22] J.J. Dodson, F. Lecomte (2015), "A DNA barcode-based evaluation of the Southeast Asian catfish genus *Hemibagrus* Bleeker, 1862 (Teleostei: Siluriformes; Bagridae)", *Advances in Evolutionary Biology*, **2015**, pp.1-15, DOI: 10.1155/2015/490158.

[23] A.S. Ackiss, B.T. Dang, C.E. Bird, et al. (2019), "Cryptic lineages and a population dammed to incipient extinction? Insights into the genetic structure of a Mekong River catfish", *Journal of Heredity*, **110(5)**, pp.535-547, DOI: 10.1093/jhered/esz016.