

GENETIC DIVERSITY OF *SPINIBARBUS DENTICULATUS* POPULATIONS USING MOLECULAR MAKER

Vu Thi Trang^{1*}, Vu Thi Huyen¹, Pham Hong Nhat¹, Luu Thi Ha Giang¹, Cao Thi Linh Chi¹, Dang Thi Lua^{1,2}, Le Van Khoi¹

¹Research Institute for Aquaculture No.1 (RIA1), ²Vietnam National University of Agriculture (VNUA)

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 13/8/2021 Revised: 20/9/2021 Published: 06/10/2021	Three populations of <i>Spinibarbus denticulatus</i> collected in Ha Giang, Tuyen Quang, and Hoa Binh were analyzed for genetic diversity based on COI gene sequence analysis. Results showed that the studied populations have relatively high haplotype diversity (Hd) and moderate nucleotide diversity (π). Eleven haplotypes were detected out of a total of 90 analyzed sequences. All haplotypes sequences were deposited in the GenBank database, with accession numbers from MW446147 to MW446157. In terms of genetic differentiation, F_{ST} presented that there was a large genetic difference among three populations, in which F_{ST} values between Ha Giang and Tuyen Quang was the largest (0.80807). Analysis of molecular variance (AMOVA) indicated that three studied fish populations were different among others because most of the genetic variation occurred between populations (64.83%). The populations had a relatively large genetic distance and a clear population structure. Analytical data revealed a lack of migration or gene flow between populations.
KEYWORDS COI Genetic diversity <i>Spinibarbus denticulatus</i> Haplotype Population	

NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG DI TRUYỀN TRÊN MỘT SỐ QUẦN THỂ CÁ BỔNG (*SPINIBARBUS DENTICULATUS*) BẰNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ

Vũ Thị Trang^{1*}, Vũ Thị Huyền¹, Phạm Hồng Nhật¹, Lưu Thị Hà Giang¹, Cao Thị Linh Chi¹, Đặng Thị Lua^{1,2}, Lê Văn Khôi¹

¹Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I, ²Học Viện Nông nghiệp Việt Nam

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 13/8/2021 Ngày hoàn thiện: 20/9/2021 Ngày đăng: 06/10/2021	Ba quần thể cá Bống thu tại các tỉnh Hà Giang, Tuyên Quang, Hòa Bình đã được đánh giá đa dạng di truyền dựa trên phân tích trình tự gen COI. Kết quả chỉ ra rằng, 3 quần thể nghiên cứu có mức đa dạng haplotype (Hd) tương đối cao và đa dạng nucleotide (π) ở mức trung bình. Đã phát hiện được 11 haplotype khác nhau trong tổng số 90 trình tự được phân tích. Tất cả trình tự của các haplotype này đã được công bố trên cơ sở dữ liệu NCBI, với số hiệu GenBank từ MW446147 đến MW446157. Về giá trị sai khác di truyền F_{ST} cho thấy, giữa 3 quần thể cá Bống có sự khác biệt di truyền lớn, trong đó sự sai khác giữa Hà Giang và Tuyên Quang là lớn nhất (0,80807). Kết quả phân tích phương sai phân tử (AMOVA) chỉ ra có sự khác biệt về di truyền của cá Bống ở 3 vùng nghiên cứu do phần lớn biến dị di truyền là xảy ra giữa các quần thể (64,83%). Các quần thể có khoảng cách di truyền tương đối lớn và có cấu trúc quần thể rõ ràng. Các dữ liệu phân tích đã cho thấy thiếu sự di cư hoặc dòng chảy gen giữa các quần thể.
TỪ KHÓA COI Đa dạng di truyền Cá Bống Haplotype Quần thể	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.4890>

* Corresponding author. Email: vttrang@ria1.org

1. Mở đầu

Trong những năm gần đây, thông qua các hoạt động khuyến nông, khuyến ngư và các chương trình phát triển thủy sản, các tiến bộ kỹ thuật đã được áp dụng nhiều vào sản xuất giúp thúc đẩy nghề nuôi trồng thủy sản nước ngọt ở nước ta ngày càng phát triển. Với chính sách thay đổi cơ cấu vật nuôi theo hướng đa dạng hóa thì nhu cầu của người dân lại tăng lên. Trong đó, cá Bống được coi là một trong số các đối tượng nuôi có giá trị của khu vực trung du miền núi phía Bắc. Đây là loài cá bản địa quý hiếm thường thấy trên sông Hồng tập trung từ Yên Bái trở lên, trên sông Lô từ Tuyên Quang trở lên và trên sông Lam phân chảy qua huyện Tương Dương, Con Cuông. Cá Bống gặp ở sông Thu Bồn và sông Trà Khúc [1].

Mặc dù là loài đem lại hiệu quả kinh tế tương đối cao cho người nuôi trồng thủy sản và được thị trường ưa chuộng bởi chất lượng thịt thơm ngon, giàu dinh dưỡng nhưng nguồn lợi cá Bống ở nước ta đang bị giảm sút nghiêm trọng. Nguyên nhân chính là do ảnh hưởng của biến đổi khí hậu thời gian gần đây và việc đập đập làm hồ thủy điện hoặc hồ thủy lợi đã làm cá Bống không di cư sinh sản được. Ngoài ra, việc khai thác quá mức như dùng xung điện, thuốc nổ... cũng góp phần làm cho sản lượng cá Bống sụt giảm nhanh chóng. Tuy là loài có nguồn gen quý và có giá trị kinh tế nhưng nghiên cứu và xuất bản về cá Bống ở nước ta là rất ít; trong số đó chỉ có xuất bản của Nguyễn Tất Đắc (2018) [2]. Theo tác giả này thì việc nghiên cứu sản xuất nhân tạo giống cá Bống và nuôi thương phẩm cá ở trong ao và trong lồng đã thành công với những kết quả nổi bật. Nghiên cứu cũng đưa ra luận điểm, các quần thể cá Bống ở các tỉnh miền núi phía Bắc nước ta có đa dạng di truyền thấp. Tuy nhiên, các thông số để đánh giá đa dạng di truyền thì không được đề cập đến. Trong khi đó, trên thế giới, nghiên cứu về cá Bống (*Spinibarbus denticulatus*) chủ yếu là ở Trung Quốc. Tại quốc gia này, các nhà nghiên cứu đã ứng dụng công nghệ sinh học phân tử để nghiên cứu định danh loài [3], [4], công bố trình tự gen hoàn chỉnh của mtDNA [5], hay nghiên cứu về sự biểu hiện của các hormon sinh dục ở cấp độ phân tử [6], [7].

Với sự tiến bộ của khoa học kỹ thuật, hiện nay có rất nhiều phương pháp khác nhau cho phép đánh giá đa dạng di truyền của một loài. Trong đó, chỉ thị phân tử là phương pháp được sử dụng phổ biến và cho kết quả đáng tin cậy. Việc nghiên cứu so sánh trình tự đoạn gen COI đóng vai trò quan trọng trong phân loại [8], xác định quan hệ di truyền [9], [10] và đánh giá đa dạng di truyền [11]. Do đó, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm đóng góp cơ sở dữ liệu nguồn gen về cá Bống tại Việt Nam. Kết quả nghiên cứu sẽ là nguồn dữ liệu căn cứ hữu ích trong việc đề xuất các biện pháp bảo vệ nguồn lợi, bảo tồn đa dạng nguồn gen, chọn giống, tái tạo và phát triển nguồn gen cá Bống ở nước ta trong thời gian tới.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Cá Bống được thu ở các tỉnh: Hà Giang, Tuyên Quang, Hòa Bình. Số lượng mẫu thu: 30 mẫu/tỉnh. Mẫu vây (vây ngực) của cá Bống, kích thước dài 2 cm, rộng 1 cm được cắt và bảo quản trong ethanol 99% và giữ ở 4°C cho đến khi phân tích.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tách chiết DNA

DNA tổng số của cá Bống được tách chiết theo phương pháp kết tủa muối [12].

Phản ứng PCR

Trong nghiên cứu này chúng tôi đã sử dụng chỉ thị khuếch đại gen COI (*Cytochrome c oxidase subunit I*) của cá Bống. Thông tin chi tiết về chỉ thị được trình bày ở bảng 1.

Thành phần và chu kỳ nhiệt của phản ứng PCR

Phản ứng được thực hiện với tổng thể tích 50μl bao gồm: 25μl MyTaq™ Mix 2× (Bioline), 2μl mỗi loại mỗi xuôi và mỗi ngược (nồng độ mỗi 10μM), 1-3μl DNA khuôn (~ 200 ng) và nước

đề ion. Điều kiện phản ứng đối với chu kỳ nhiệt nhân đoạn gen thuộc vùng COI là: giai đoạn khởi đầu ở 95°C trong 2 phút; tiếp đó là 30 chu kỳ bao gồm (giai đoạn biến tính ở 95°C trong 30 giây; giai đoạn gắn mồi ở 47°C trong 15 giây; giai đoạn kéo dài ở 72°C trong 30 giây); giai đoạn kết thúc kéo dài ở 72°C trong 5 phút và giữ ở 4°C. Sau khi phản ứng kết thúc lấy 3µl sản phẩm điện di trên gel 1,5% để kiểm tra kết quả sản phẩm PCR.

Bảng 1. Thông tin về chỉ thị sử dụng trong nghiên cứu

Tên mồi	Trình tự mồi (5'-3')	Nhiệt độ gắn mồi (°C)	Tài liệu tham khảo
COI-L5956-F	CAC AAA GAC ATT GGC ACC CT	47	[3]
COI-H6855-R	AGT CAG CTG AAK ACT TTT AC		

Tinh sạch sản phẩm PCR

Sử dụng kit tinh sạch sản phẩm PCR, QIAquick PCR Purification Kit, Qiagen. Quy trình tinh sạch theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Giải trình tự đoạn gen COI

Sản phẩm PCR tinh sạch được gắn nhãn bigdye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit, trong tổng số hỗn hợp phản ứng 10µl có chứa: 4.94µl nước tinh khiết, 1.94µl BigDye buffer 5× (400mM Tris-HCl pH 9.0 và 10mM MgCl₂), 0.12µl BigDye Terminator và 1µl ExoSAP products và được giải trình tự trên thiết bị Genetic Analyzers. Phần mềm phân tích Genomelab system được sử dụng để tạo các file trình tự và đọc chiều dài liên kề. Trong nghiên cứu này, tổng số 90 mẫu cá Bống được giải trình tự đoạn gen COI theo chiều xuôi.

2.3. Xử lý số liệu

Để phân tích, đánh giá đa dạng di truyền của các quần thể cá Bống dựa trên trình tự đoạn gen COI, các phần mềm được sử dụng gồm: Finch TV 1.4.0 được sử dụng để kiểm tra trình tự gen; phần mềm MEGA 7 [13] được sử dụng để xác định mức độ tương đồng giữa các trình tự, tính khoảng cách di truyền và xây dựng sơ đồ mối quan hệ di truyền giữa các quần thể. Các chỉ số đa dạng di truyền kiểu đơn hay đa dạng haplotype (Haplotype diversity - Hd) và đa dạng nucleotide (Nucleotide diversity - π) được tính toán bằng cách sử dụng phần mềm DnaSP v6.10.01 [14]. Phần mềm Arlequin v.3.11 [15] được dùng để xác định giá trị sai khác di truyền F_{ST} , đánh giá mức độ khác biệt bên trong và giữa các quần thể qua phân tích phương sai phân tử AMOVA. Xây dựng mạng lưới haplotype bằng phần mềm Network [16]. Phần mềm này sử dụng kết nối mạng dữ liệu đầu vào được tạo ra bởi phần mềm DnaSP v6.10.01 và sử dụng thuật toán Median Joining (chức năng calculate network) để tính. Chức năng draw network cho phép tự động vẽ ra mạng lưới giữa các haplotype được xem xét.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Đa dạng haplotype và đa dạng nucleotide

Các mẫu nghiên cứu đã được giải trình tự đoạn gen COI thuộc DNA ty thể, sau khi loại bỏ các vùng có tín hiệu nhiễu (đoạn đầu và đoạn cuối) cho kích thước đoạn nghiên cứu là 884 bp. Các trình tự gen có tín hiệu các đỉnh cao, rõ nét không bị nhiễu. Tất cả các trình tự đoạn gen COI của cá Bống thu được trong nghiên cứu này có độ tương đồng cao so với trình tự COI của loài cá Bống có tên latin là *Spinibarbus denticulatus* đã được công bố trước đó [3], [4], [17] khi so sánh BLAST trên GenBank.

Đa dạng di truyền của các quần thể cá Bống dựa trên phân tích trình tự đoạn gen COI thể hiện ở bảng 2 và hình 1. Bảng 2 là thông tin về đa dạng haplotype và đa dạng nucleotide của các quần thể nghiên cứu. Hình 1 là mạng lưới haplotype của các quần thể nghiên cứu. Nhìn chung, 3 quần thể có mức đa dạng haplotype (Hd) cao (trung bình là 0,823) và đa dạng nucleotide (π) ở mức trung bình (giá trị π trung bình là 0,00922). 11 haplotype khác nhau đã được phát hiện, không có

haplotype chung cho cả 3 quần thể, có 1 haplotype chung cho Hòa Bình và Tuyên Quang, còn lại là 10 haplotype đặc trưng cho mỗi quần thể. Trong đó, Hòa Bình và Hà Giang đều có 3 haplotype đặc trưng, Tuyên Quang có 4 haplotype đặc trưng. Tất cả trình tự các haplotype này đã được công bố trên cơ sở dữ liệu NCBI với số hiệu genbank từ MW446147 đến MW446157. So sánh với nghiên cứu của Trần Thị Thúy Hà và cộng tác viên (2017) về mức độ đa dạng di truyền của một số quần đàn cá tra sử dụng chỉ thị phân tử *cytochrome b* thì các quần đàn cá Bống trong nghiên cứu này có Hd và π cao hơn. Theo đó, 6 quần đàn cá tra có giá trị trung bình về Hd là 0,713 và π là 0,00408 [18].

Xét chi tiết về Hd, các mẫu thu ở Tuyên Quang cho giá trị Hd cao nhất ($Hd \pm SD = 0,621 \pm 0,091$) sau đó đến Hòa Bình ($0,497 \pm 0,102$) và thấp nhất là Hà Giang ($0,398 \pm 0,101$). Tuy nhiên, Hòa Bình là quần thể có giá trị cao nhất khi xét về đa dạng nucleotide ($\pi \pm SD = 0,00620 \pm 0,00162$), tiếp đến Tuyên Quang ($0,00463 \pm 0,00150$) và cuối cùng là Hà Giang ($0,00137 \pm 0,00042$) (Bảng 2). Đa dạng haplotype (còn được gọi là đa dạng về gen) biểu thị xác suất mà hai alen được lấy mẫu ngẫu nhiên là khác nhau, trong khi đa dạng nucleotide được định nghĩa là số lượng nucleotide khác biệt trung bình trên mỗi vị trí trong so sánh từng cặp giữa các trình tự DNA. Trong các nghiên cứu đã được công bố trước đây ở trong và ngoài nước, chúng tôi chưa tìm thấy báo cáo nào đề cập đến hai giá trị Hd và π của loài *Spinibarbus denticulatus* dựa trên phân tích trình tự đoạn gen COI hay các đoạn gen khác. Trong khi đó, các chỉ số đa dạng được báo cáo phổ biến nhất trong các nghiên cứu giải trình tự đoạn gen COI cấp quần thể là Hd và π . Các số liệu này rất hữu ích cho việc đánh giá đa dạng sinh học vì chúng có thể bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố như tỷ lệ sinh sản vô tính và hữu tính, kích thước và tuổi của quần thể, mức độ kết nối giữa các quần thể, mức độ xâm nhập từ các loài liên quan, tỷ lệ đột biến cơ bản và tác động của chọn lọc [19]-[23].

Ba quần đàn cá Bống trong nghiên cứu này không có sự chia sẻ haplotype chung. Có 01 haplotype chung cho Hòa Bình và Tuyên Quang, còn lại là các haplotype đặc trưng cho từng vùng. Hình 1 thể hiện mạng lưới haplotype giữa các quần thể cá Bống cũng cho thấy các haplotype chia thành 2 cụm lớn (Cluster I và II), trong đó cụm I có sự hiện diện haplotype của cả 3 quần thể; trong khi cụm II chỉ xuất hiện haplotype của Hòa Bình và Tuyên Quang. Tổng hợp lại chúng tôi thấy, 3 quần thể cá Bống được sử dụng trong nghiên cứu này có đa dạng haplotype tương đối cao, không có haplotype chung xuất hiện ở tất cả các quần thể, mỗi quần thể có từ 3 - 4 haplotype đặc trưng.

Bảng 2. Tổng hợp đa dạng haplotype và đa dạng nucleotide của các quần thể cá Bống dựa trên phân tích gen COI

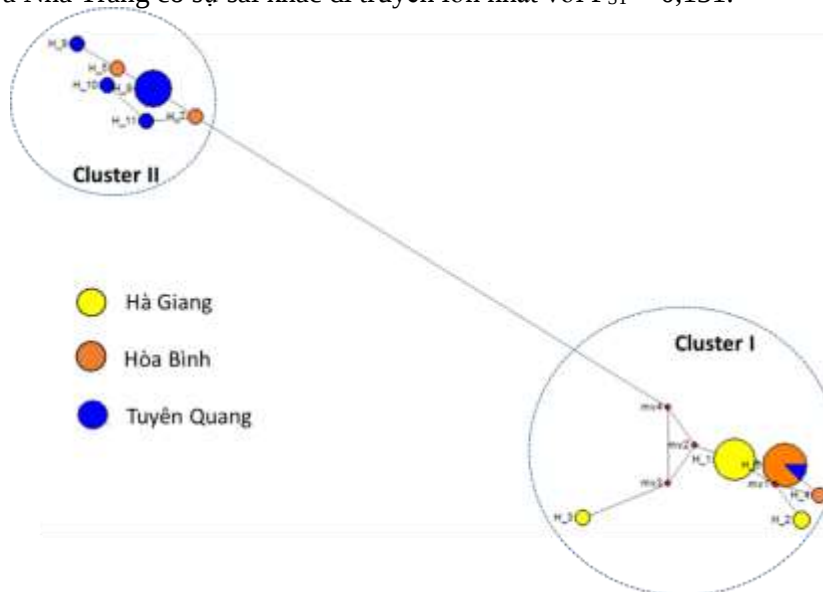
Điểm thu mẫu	Số lượng mẫu có trình tự đạt tiêu chuẩn	Số lượng haplotype	Đa dạng haplotype ($Hd \pm SD$)	Đa dạng nucleotide ($\pi \pm SD$)
Hà Giang	30	3	$0,398 \pm 0,101$	$0,00137 \pm 0,00042$
Hòa Bình	30	4	$0,497 \pm 0,102$	$0,00620 \pm 0,00162$
Tuyên Quang	30	5	$0,621 \pm 0,091$	$0,00463 \pm 0,00150$
Tổng/Trung bình	90	11	$0,823 \pm 0,021$	$0,00922 \pm 0,00050$

3.2. Sai khác di truyền và khoảng cách di truyền

Trong nghiên cứu này, sự sai khác di truyền giữa các quần thể cá Bống được ước lượng theo giá trị F_{ST} [24] và khoảng cách di truyền [13], [25] được thể hiện ở bảng 3 và bảng 4. Theo Nei (1978), nếu $F_{ST} < 0,05$ thì được cho là sai khác nhỏ; nếu $0,05 < F_{ST} < 0,15$ là trung bình; nếu $F_{ST} > 0,15$ là lớn [26].

Căn cứ vào đó, theo kết quả sai khác di truyền (Bảng 3) cho thấy, giữa 3 quần thể cá Bống được khảo sát có sự sai khác di truyền lớn và sự sai khác này đều có ý nghĩa thống kê. So sánh về sự sai khác di truyền giữa các quần thể với nhau thường được sử dụng trong di truyền học quần thể ứng dụng. Các giá trị này nằm trong khoảng từ 0 đến 1. Giá trị 0 có nghĩa là hai quần thể giao phối tự do với nhau. Giá trị bằng 1 có nghĩa là hai quần thể không chia sẻ bất kỳ alen nào với

nhau, tức là không sinh sản với nhau, chúng hoàn toàn bị cô lập với nhau. Trong nghiên cứu này, sự sai khác di truyền giữa quần thể cá Bổng Hà Giang và Tuyên Quang là lớn nhất ($F_{ST} = 0,80807$), giữa Hà Giang và Hòa Bình là nhỏ nhất ($F_{ST} = 0,24697$). Giá trị này tương tự với kết quả của Baisvar và cộng tác viên (2019) khi nghiên cứu về sự biến đổi di truyền của 7 quần thể cá lóc (*Channa striata*) thu tại Ấn Độ thông qua phân tích trình tự gen Dloop thuộc mtDNA. Theo đó, quần thể cá lóc ở Chaliyar và Krishna có sự sai khác di truyền lớn nhất ($F_{ST} = 0,813$) và sự sai khác di truyền nhỏ nhất là giữa 2 quần thể cá lóc thu tại Gomti và Betwa ($F_{ST} = 0,273$), tất cả các sự sai khác này đều có ý nghĩa thống kê [27]. Kết quả F_{ST} trong nghiên cứu này là cao hơn so với giá trị F_{ST} của các quần đàn cá chim vây vàng trong nghiên cứu về định danh và đánh giá đa dạng di truyền cá chim vây vàng bằng chỉ thị phân tử [28]. Theo đó, quần đàn cá chim thu ở Hải Phòng và Nha Trang có sự sai khác di truyền lớn nhất với $F_{ST} = 0,131$.



Hình 1. Mạng lưới haplotype của các quần thể cá Bổng

(Ghi chú: Kích thước của các vòng tròn tỷ lệ thuận với tần số haplotype và độ dài của các đường kết nối tỷ lệ thuận với số bước đột biến giữa các haplotype. Thông tin bên ngoài được liên kết với các kiểu gen (Hà Giang, Hòa Bình, Tuyên Quang) được nhóm nghiên cứu chỉ định để các vòng tròn được thay thế bằng các màu hiển thị tần số của từng nhóm. Mạng haplotype tích hợp các màu cho biết sự phân bố của các nhóm hay quần thể trong mỗi haplotype).

Bảng 3. Bảng thể hiện sự sai khác di truyền (F_{ST}) giữa các quần thể cá Bổng qua phân tích trình tự gen COI

	Hà Giang	Tuyên Quang	Hòa Bình
Hà Giang			
Tuyên Quang	0,80807*		
Hòa Bình	0,24697*	0,60815*	

(*Sai khác có ý nghĩa, $P < 0,05$)

Mối quan hệ di truyền giữa các quần thể cá Bổng trong nghiên cứu này được đánh giá dựa trên kết quả phân tích khoảng cách di truyền (Bảng 4). Trong nghiên cứu này, khoảng cách di truyền giữa các quần thể là tương đối cao (0,001 – 0,018), cho thấy 3 quần thể cá Bổng có quan hệ di truyền xa. Giá trị này thể hiện sự phân kỳ điển hình giữa các quần thể đặc thù. Ngược lại, theo Trần Thị Thúy Hà và cộng tác viên (2017) khi nghiên cứu về khoảng cách di truyền giữa các quần đàn cá Tra cho thấy giá trị này là thấp (0,00164 – 0,00687). Điều đó có nghĩa là 6 quần đàn cá Tra đã được nghiên cứu có quan hệ di truyền khá gần gũi. Bên cạnh đó, nhóm tác giả này cũng tìm ra rằng, khoảng cách di truyền giữa quần đàn cá Tra nuôi và cá Tra tự nhiên nằm trong

khoảng 0,002 đến 0,007, thể hiện không có sự khác biệt đặc trưng giữa đàn cá Tra nuôi và cá Tra tự nhiên [18].

Bảng 4. Bảng thể hiện khoảng cách di truyền (phía dưới đường chéo) và sai số chuẩn (phía trên đường chéo) giữa các quần đàn cá Bống nghiên cứu

	Hà Giang	Tuyên Quang	Hòa Bình
Hà Giang		0,005	0,001
Tuyên Quang	0,017		0,005
Hòa Bình	0,001	0,018	

3.3. Phân tích phương sai phân tử (AMOVA)

AMOVA là một phương pháp để phát hiện mức độ khác biệt di truyền giữa các quần thể khác nhau sử dụng các chỉ thị phân tử [29]. Kết quả phân tích AMOVA (Bảng 5) cho thấy phần lớn là biến dị di truyền giữa các quần thể (64,83%); trong khi đó biến dị di truyền xảy ra giữa các cá thể bên trong quần thể là 35,17%. Kết quả đó chỉ ra rằng, sự biến đổi di truyền xảy ra giữa các vùng (giữa các khu vực địa lý) khác nhau hay có sự khác biệt về di truyền của cá Bống ở ba vùng được nghiên cứu. Điều này đồng thời cũng cho thấy, ba quần thể cá Bống thu tại Hà Giang, Tuyên Quang, Hòa Bình có cấu trúc quần thể rõ ràng và chỉ thị phân tử dùng trong nghiên cứu này có mức độ đa hình cao. Giá trị F_{ST} là 0,64826 cho thấy sự biến đổi di truyền tổng thể giữa 3 quần thể ở mức độ lớn. Kết quả này cũng tương tự như nghiên cứu của Baisvar và cộng tác viên (2019) khi phân tích AMOVA cho thấy, phần lớn biến dị di truyền là xảy ra giữa các quần thể cá lóc (56,45%), biến dị di truyền xảy ra giữa các cá thể trong quần thể là (43,55%), giá trị F_{ST} tổng thể là 0,56 [27].

Bảng 5. Phân tích phương sai phân tử (AMOVA) của các quần thể cá Bống qua phân tích trình tự gen COI

Nguồn biến động	Độ tự do	Tổng bình phương	Thành phần biến động	Phần trăm biến động
Giữa các quần thể	2	207,344	3,39435 Va	64,83
Giữa các cá thể trong một quần thể	87	160,233	1,84176 Vb	35,17
Tổng	89	367,578	5,23611	
F_{ST}		0,64826*		

(* $P < 0,0001$)

3.4. Mối quan hệ di truyền của các quần thể cá Bống

Kết quả xây dựng sơ đồ mối quan hệ di truyền của 3 quần đàn cá Bống nghiên cứu được thể hiện ở hình 2, trong đó trình tự gen COI của cá Bống (*Spinibarbus denticulatus*) thu ở Trung Quốc (số hiệu GenBank KJ994631.1) [4] được lấy từ ngân hàng gen để đưa vào xây dựng sơ đồ mối quan hệ di truyền cùng 3 quần thể nghiên cứu. Kết quả thể hiện ở hình 2 cho thấy, các nhóm cá nghiên cứu có khoảng cách di truyền tương đối lớn. Dựa trên chiều dài của các nhánh nằm ngang và phân đoạn dòng với giá trị 0.10 (Hình 2) cho thấy có sự biến đổi di truyền đáng kể giữa 3 quần thể dựa trên phân tích trình tự gen COI. Sơ đồ chia thành hai nhánh lớn, nhánh 1 chỉ có đại diện mẫu cá Bống thu ở Trung Quốc [4]. Nhánh 2 gồm ba quần thể cá Bống nghiên cứu, trong đó nhánh 2 chia thành 2 nhánh phụ, nhánh phụ thứ nhất chỉ có Tuyên Quang, nhánh phụ thứ 2 bao gồm cả Hà Giang và Hòa Bình. Kết quả này bổ sung cho dữ liệu đã được trình bày ở bảng 3, nghĩa là sự sai khác di truyền giữa quần thể cá Bống Hà Giang và Tuyên Quang là lớn nhất trong khi giữa Hà Giang và Hòa Bình là nhỏ nhất. Xét về vị trí địa lý, Hà Giang và Tuyên Quang là những tỉnh lân cận nhau, trong khi Hà Giang và Hòa Bình là những tỉnh có khoảng cách địa lý tương đối lớn. Vậy tại sao quần thể cá Bống thu tại Hà Giang và Tuyên Quang lại có sự sai khác di truyền lớn. Điều này có thể được lý giải là do nguồn gốc cá Bống đã thu. Cá Bống thu ở Hà Giang và Hòa Bình là cá Bống thu ở một số trung tâm và trại sản xuất giống. Theo thông tin do các trung tâm và trại sản xuất giống này cung cấp, trước đây họ thu gom cá bố mẹ từ tự nhiên về thuần hóa và cho đẻ, giữa hai khu vực này đã có sự trao đổi cá bố mẹ cũng như cá giống để phục vụ công tác sản xuất và cung ứng giống cho người dân địa phương. Trong khi đó, cá Bống

thu ở Tuyên Quang là cá thu tự nhiên ở hồ Na Hang. Về ngoại hình cá Bổng Tuyên Quang có ngoại hình đẹp hơn và màu sắc đỏ hơn so với cá Bổng thu tại Hà Giang và Hòa Bình. Như vậy, có thể nói rằng, sự sai khác di truyền được quan sát thấy giữa các quần thể cá Bổng trong nghiên cứu của chúng tôi có thể là do thiếu sự di cư hoặc dòng chảy gen giữa các quần thể này.



Hình 2. Sơ đồ mối quan hệ di truyền của các quần thể cá Bổng tại Hà Giang, Tuyên Quang, Hòa Bình

4. Kết luận

Ba quần thể cá Bổng thu tại Hà Giang, Tuyên Quang, Hòa Bình có tính đa dạng di truyền tương đối cao và có sự sai khác di truyền lớn. Gen COI là ứng viên được lựa chọn làm chỉ thị phân tử trong nghiên cứu có mức độ đa hình cao ở cá Bổng (*Spinibarbus denticulatus*). Kết quả của nghiên cứu này đóng góp cơ sở khoa học về dữ liệu nguồn gen của cá Bổng ở nước ta, có ý nghĩa tham chiếu ở trong và ngoài nước cho các nghiên cứu sau này liên quan đến cá Bổng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] V. H. Nguyen and S. V. Ngo, *Vietnamese freshwater fish*, vol. 1 - Carp family (Cyprinidae), Agriculture Publishing House, 2001, pp. 318-320.
- [2] T. D. Nguyen, "National Gene Fund Program: Contributing to the development of *Spinibarbus denticulatus* genetic resources," (in Vietnamese), *Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering*, no. 9, pp. 30-32, 2018.
- [3] L. P. Zheng, J. X. Yang, X. Y. Chen, and W. Y. Wang, "Phylogenetic relationships of the Chinese Labeoninae (Teleostei, Cypriniformes) derived from two nuclear and three mitochondrial genes," *Zoologica Scripta*, vol. 39, no. 6, pp. 559-571, 2010.
- [4] L. P. Zheng, J. X. Yang, and X. Y. Chen, "Molecular phylogeny and systematics of the Barbinae (Teleostei: Cyprinidae) in China inferred from mitochondrial DNA sequences," *Biochemical Systematics and Ecology*, vol. 68, pp. 250-259, 2016.
- [5] G. X. Tong, Y. Y. Kuang, L. W. Geng, J. S. Yin, and W. Xu, "The Complete mitochondrial genome of *Spinibarbus denticulatus* (Oshima)," *Mitochondrial DNA*, vol. 25, no. 5, pp. 363-364, 2014.
- [6] P. Zhu, Y. Zhang, Q. Zhuo, D. Lu, J. Huang, X. Liu, and H. Lin, "Discovery of four estrogen receptors and their expression profiles during testis recrudescence in male *Spinibarbus denticulatus*," *General and Comparative Endocrinology*, vol. 156, no. 2, pp. 265-276, 2008.
- [7] X. Liu, H. Su, P. Zhu, Y. Zhang, J. Huang, and H. Lin, "Molecular cloning, characterization and expression pattern of androgen receptor in *Spinibarbus denticulatus*," *General and Comparative Endocrinology*, vol. 160, no. 1, pp. 93-101, 2009.
- [8] N. Hubert, R. Hanner, and E. Holm, "Identifying Canadian freshwater fishes through DNA barcodes," *PLoS one*, vol. 3, no. 6, p. e2490, 2008.

- [9] K. Kohlmann and P. Kersten, "Deeper insight into the origin and spread of European common carp (*Cyprinus carpio carpio*) based on mitochondrial D-loop sequence polymorphisms," *Aquaculture*, vol. 376-379, pp. 97-104, 2013.
- [10] J. Zhou, Q. Wu, Z. Wang, and Y. Ye, "Molecular phylogeny of three subspecies of common carp *Cyprinus carpio*, based on sequence analysis of cytochrome b and control region of mtDNA," *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, vol. 42, pp. 266-269, 2004.
- [11] R. D. Ward, T. S. Zemlak, and B. H. Innes, "DNA barcoding Australia's fish species," *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol. 360, no. 1462, pp. 1847-1857, 2005.
- [12] J. Sambrook and D. Russell, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor, N.Y.: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.
- [13] S. G. Kumar, G. Stecher, and K. Tamura, "MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets," *Molecular Biology and Evolution*, vol. 33, no. 7, pp. 1870-1874, 2016.
- [14] J. Rozas, A. Ferrer-Mata, and J. C. Sánchez-DelBarrio, "DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets," *Molecular Biology and Evolution*, vol. 34, no. 12, pp. 3299-3302, 2017.
- [15] L. Excoffier, G. Laval, and S. Schneider, "Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis," *Evolutionary Bioinformatics*, vol. 1, pp. 47-50, 2005.
- [16] H. J. Bandelt, P. Forster, and A. Röhl, "Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies," *Molecular Biology and Evolution*, vol. 16, pp. 37-48, 1999.
- [17] M. Wang, J. X. Yang, and X. Y. Chen, "Molecular phylogeny and biogeography of percocypris (Cyprinidae, Teleostei)," *PloS one*, vol. 8, no. 6, pp. e61827-e61827, 2013.
- [18] T. T. H. Tran, T. H. Nguyen, P. T. Ngo, and N. A. H. Tran, "Genetic diversity of tra catfish populations in Vietnam using cytochrome b gene," *Scientific Journal - Vinh University*, vol. 46, no. 4A, pp. 21-31, 2017.
- [19] E. Bazin, S. Glémin, and N. Galtier, "Population size does not influence mitochondrial genetic diversity in animals," *Science*, vol. 312, no. 5773, pp. 570-572, 2006.
- [20] S. L. Boyer, J. M. Baker, G. Giribet, "Deep genetic divergences in *Aoraki denticulata* (arachnida, opiliones, cyphophthalmi): a widespread 'mite harvestman' defies DNA taxonomy," *Molecular Ecology*, vol. 16, pp. 4999-5016, 2007.
- [21] L. Cárdenas, J. C. Castilla, and F. Viard, "A phylogeographical analysis across three biogeographical provinces of the south-eastern Pacific: the case of the marine gastropod *Concholepas concholepas*," *Journal of biogeography*, vol. 36, pp. 969-981, 2009.
- [22] J. A. Haig, R. M. Connolly, and J. M. Hughes, "Little shrimp left on the shelf: the roles that sea-level change, ocean currents and continental shelf width play in the genetic connectivity of a seagrass-associated species," *Journal of biogeography*, vol. 37, pp. 1570-1583, 2010.
- [23] J. P. Wares, "Natural distributions of mitochondrial sequence diversity support new null hypotheses," *Evolution*, vol. 64, pp. 1136-1142, 2010.
- [24] B. S. Weir and C. C. Cockerham, "Estimating F-Statistics for the Analysis of Population Structure," *Evolution*, vol. 38, no. 6, pp. 1358-1370, 1984.
- [25] K. Tamura, M. Nei, and S. Kumar, "Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method," *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)*, vol. 101, pp. 11030-11035, 2004.
- [26] M. Nei, "Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals," *Genetics*, vol. 89, no. 3, pp. 83-90, 1978.
- [27] V. S. Baisvar, M. Singh, and R. Kumar, "Population structuring of *Channa striata* from Indian waters using control region of mtDNA," *Mitochondrial DNA A DNA Mapp Seq Anal*, vol. 30, no. 3, pp. 414-423, 2019.
- [28] T. T. H. Tran, T. H. G. Luu, T. T. Vu, H. N. Pham, and T. V. Phan, "Identification and Genetic Assessment of the Pompano Based on the Molecular Markers," *Vietnam Agricultural Science Journal*, vol. 17, no. 3, pp. 204-215, 2019.
- [29] L. Excoffier, P. E. Smouse, and J. M. Quattro, "Analysis of molecular variance inferred from metric distances among dna haplotypes: Application to human mitochondrial dna restriction data," *Genetics*, vol. 131, pp. 479-491, 1992.