

**BỘ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ
QUỸ PHÁT TRIỂN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ QUỐC GIA**



BÁO CÁO TỔNG HỢP

**KẾT QUẢ THỰC HIỆN ĐỀ TÀI NGHIÊN CỨU CƠ BẢN
TRONG KHOA HỌC TỰ NHIÊN**

**Tên đề tài: Nghiên Cứu Đa Dạng Di Truyền Của Các Loài Cá Bộ Cá Đa
Trơn Siluriformes Ở Đồng Bằng Sông Cửu Long**

Mã số đề tài: 106.05-2019.44

Chủ nhiệm đề tài: PGS.TS Dương Thúy Yên

Hà Nội, tháng 05 năm 2023



Mã nhận hồ sơ	
Ngày nhận báo cáo	
(Do cơ quan điều hành Quỹ ghi)	

PHẦN I. THÔNG TIN CHUNG

- Tên đề tài: Nghiên Cứu Đa Dạng Di Truyền Của Các Loài Cá Bộ Cá Da Trơn Siluriformes Ở Đồng Bằng Sông Cửu Long
- Mã số: **106.05-2019.44**
- Danh sách chủ nhiệm, thành viên tham gia thực hiện đề tài

STT	Họ và tên	Đơn vị công tác	Chức danh trong đề tài
1	Dương Thúy Yên	Trường Đại học Cần Thơ	Chủ nhiệm đề tài
2	Lê Thanh Hoà	Viện công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam	Thành viên nghiên cứu chủ chốt
3	Trần Đắc Định	Trường Đại học Cần Thơ	Thành viên nghiên cứu chủ chốt
4	Siti Azizah Mohd Nor	Trường Đại học Sains Malaysia	Thành viên nghiên cứu chủ chốt
5	Nguyễn Thị Ngọc Trân	Trường Đại học Cần Thơ	Kỹ thuật viên
6	Phạm Thị Cẩm Lài	Trường Đại học Cần Thơ	Kỹ thuật viên

- Tổ chức chủ trì: Trường Đại học Cần Thơ
- Thời gian thực hiện:
 - Theo hợp đồng: **36** tháng, từ 05/09/2019 đến 05/09/2022
 - Gia hạn nếu có: **12** tháng
 - Thực hiện thực tế: **44** tháng, từ 05/09/2019 đến 15/05/2023
- Tổng kinh phí được phê duyệt của đề tài: **1.017** triệu đồng

PHẦN II. NỘI DUNG VÀ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Mục tiêu

Mục tiêu tổng quát của đề tài nhằm xây dựng cơ sở dữ liệu về chỉ thị di truyền của các loài cá da trơn (bộ Siluriformes) và cung cấp thông tin về đa dạng di truyền và hệ gen ty thể của một số loài cá da trơn quan trọng để phục vụ cho công tác chọn giống trong nuôi trồng và quản lý, bảo tồn nguồn lợi các loài cá này ở ĐBSCL nói riêng và Việt Nam nói chung.

Mục tiêu cụ thể của đề tài nhằm: (i) Xây dựng bộ cơ sở dữ liệu di truyền của các loài cá thuộc bộ cá da trơn phân bố ở ĐBSCL, (ii) Đánh giá được mức độ đa dạng di truyền của một số loài cá da trơn quan trọng về giá trị kinh tế và bảo tồn, (iii) Giải mã bộ gen ty thể của một số loài cá kinh tế quan trọng để phục vụ cho các nghiên cứu phân loại và di truyền quần thể.

2. Nội dung và phạm vi nghiên cứu

1) Nghiên cứu thành phần loài, chỉ thị di truyền dựa trên gen Cytochrome C oxidase subunit I (COI) và mối quan hệ di truyền của các loài cá thuộc bộ cá da trơn phân bố ở ĐBSCL

Nội dung này bao gồm:

- Thu thập và định danh (bằng phương pháp hình thái) các loài cá thuộc bộ cá da trơn phân bố ở ĐBSCL.
- Xác định chỉ thị di truyền dựa trên gen COI và mối quan hệ di truyền của các loài cá thuộc bộ cá da trơn.

2) Nghiên cứu mức độ đa dạng di truyền của một số loài cá da trơn quan trọng

Năm loài (so với thuyết minh là 4 loài) cá da trơn được chọn có giá trị kinh tế cao, đang bị khai thác quá mức song có tiềm năng nuôi thủy sản, gồm: cá hú *Pangasius conchophilus*, cá sát sọc *Pangasius macronema*, cá bông lau *Pangasius krempfi* thuộc họ cá tra; cá ngát *Plotosus canius* (họ cá ngát) và cá trê vàng *Clarias macrocephalus* (họ cá trê).

3) Giải mã toàn bộ hệ gen ty thể của ba loài (theo thuyết minh là hai loài) cá kinh tế quan trọng phân bố trên sông Mekong là cá bông lau (*Pangasius krempfi*), tra bần (*Pangasius mekongensis*) và cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*)

Nội dung này tập trung vào một số công việc chính như sau:

- Giải mã toàn bộ hệ gen ty thể của 3 loài có giá trị cao ở Việt Nam là cá tra, cá bông lau và cá tra bần (theo thuyết minh là hai loài cá tra, và cá bông lau)
- Phân tích cấu trúc hệ gen ty thể, đặc điểm gen học và so sánh với các loài cá khác trong vùng thuộc bộ Siluriformes để tìm hiểu về di truyền tiến hóa và mối quan hệ phả hệ của chúng.

3. Cách tiếp cận và phương hướng nghiên cứu

(Mô tả chi tiết cách tiếp cận, phương pháp nghiên cứu đã thực hiện để giải quyết vấn đề đặt ra, các bước tiến hành)

3.1. Cách tiếp cận

Đề tài được thực hiện dựa trên yêu cầu cấp bách vừa mang tính khoa học, vừa mang tính thực tiễn về việc cần có cơ sở dữ liệu đa dạng di truyền và chỉ thị phân tử của các loài cá nước ngọt phân bố ở vùng ĐBSCL, ưu tiên trước hết cho bộ cá da trơn Siluriformes, đồng thời dựa trên xu hướng thế giới định danh loài bằng chỉ thị DNA, được áp dụng trong nhiều lĩnh vực. Đề tài áp dụng các phương pháp điều tra thu mẫu hiện trường kết hợp với ứng dụng những kỹ thuật di truyền phân tử, giải mã bộ gen ty thể trong định danh và nghiên cứu đa dạng di truyền của cá. Hướng tiếp cận về chọn chỉ thị di truyền phân tử và phân tích hệ gen ty thể một số gen trên ty thể (mtDNA) đã và đang được sử dụng trong phân loại và định danh loài cá như gen Cytochrome c oxidase subunit 1 (COI) (Hebert et al., 2003; Ward, 2009; Puckridge et al., 2013), CYTB (Sevilla et al., 2007), 16s rRNA (Vences et al., 2005),... Trong số đó, gen COI được chọn là DNA mã vạch chuẩn cho nhiều lớp động vật bao gồm lớp cá. Do đó, gen COI được chọn cho nghiên cứu này. Bên cạnh đó, một gen khác, gen CYTB (có tỉ lệ đột biến cao hơn các gen khác) cũng sẽ được phân tích trong trường hợp những loài giống nhau có sự tương đồng cao về gen COI. Hệ gen ty thể có giá trị quan trọng trong di truyền tiến hóa và kiểm định hệ thống phân loại. Cá bông lau và cá tra của Việt Nam, có giá trị kinh tế quan trọng và phân bố đặc hữu vùng sông Mekong được chọn để nghiên cứu phân tích toàn bộ hệ gen ty thể, so sánh đặc điểm di truyền và đa dạng sinh học với cá cùng và khác loài hiện có trong bộ Siluriformes. Phương pháp thực hiện được dựa trên những nghiên cứu trước trên nhiều loài cá khác.

3.2. Phương pháp nghiên cứu

1) Nội dung 1: Nghiên cứu thành phần loài, chỉ thị di truyền dựa trên gen COI và mối quan hệ di truyền của các loài cá thuộc bộ cá da trơn phân bố ở ĐBSCL

(i) Phương pháp chọn địa điểm nghiên cứu: Theo các nghiên cứu trước (Trương Thủ Khoa và Trần Thị Thu Hương (1993); Tran Dac Dinh et al. (2013)), đa số các loài cá da trơn nằm trong số này, phân bố dọc các tuyến sông Tiền và sông Hậu. Vì vậy, trong phạm vi của đề tài, chúng tôi tập trung chọn 4 điểm thu mẫu ở dọc tuyến sông Tiền và sông Hậu và ba điểm khác đại diện cho 3 hệ sinh thái khác nhau. Bốn điểm thu dọc các nhánh sông Mekong gồm:

Điểm 1 – Vàm Nao (An Giang): đây là điểm đầu nguồn sông Mekong chảy vào địa phận Việt Nam và là nơi hai nhánh sông Tiền và sông Hậu giao nhau.

Điểm 2 – Cần Thơ - Vĩnh Long: đoạn sông Hậu qua Tp Cần Thơ và Bình Minh (Vĩnh Long) là đoạn giữa của sông Hậu được chọn là điểm thu thứ hai.

Điểm 3 – Cù Lao Dung (Sóc Trăng): đây là cù lao nằm giữa hai nhánh của sông Hậu khi đổ ra biển. Do đó, cá ở vùng này sẽ đại diện cho cá vùng hạ lưu sông Hậu và vùng cửa sông ven biển.

Điểm 4 – Chợ Lách (Bến Tre): vùng này nằm giữa các nhánh (sông Hàm Luông và sông Cổ Chiên) của sông Tiền trước khi đổ ra biển, đại diện cho vùng hạ lưu của sông Tiền. Ba điểm thu mẫu khác đại diện cho 2 hệ sinh thái đặc trưng ở ĐBSCL

Điểm 5 – Khu đất ngập nước Láng Sen, đại diện cho hệ sinh thái đất ngập nước ở vùng trũng Đồng Tháp Mười

Điểm 6 – Xung quanh Vườn quốc gia U Minh Thượng (tỉnh Kiên Giang)

Điểm 7 – Khu nước ngọt vùng U Minh Hạ (Cà Mau). Hai địa điểm 6 và 7 đại diện cho hệ sinh thái rừng tràm phía Nam.

(ii) Thời gian thu mẫu: Thời gian thu mẫu được thực hiện 2 tháng/lần và trong 20 tháng, từ tháng 08/2019 -04/2021 (sau đó tiếp tục thu mẫu một số loài đến tháng 12/2022) để đảm bảo thu được nhiều loài và đủ lượng mẫu cần thiết cho mỗi loài.

(iii) Kích cỡ mẫu và bảo quản mẫu cá: Mẫu cá thu là mẫu tươi, mỗi loài cá với nhiều kích cỡ khác nhau. Mẫu cá sau khi thu được bảo quản lạnh hoặc trong ethanol 70% và chuyển về phòng thí nghiệm để định danh, phân tích. Số mẫu thu dao động từ 1 đến 100 mẫu, tùy vào mức độ phong phú của loài. Tổng cộng có 2050 được thu. Các thông tin về vị trí điểm thu, thủy vực và các thông số sinh thái khác cũng được ghi nhận.

(iv) Định danh loài bằng phương pháp hình thái: Mẫu được định danh trước tiên bằng phương pháp hình thái, dựa vào các tài liệu mô tả phân loại hình thái của Mai Đình Yên và ctv. (1992); Trương Thủ Khoa và Trần Thị Thu Hương (1993); Tran Dac Dinh et al. (2013); Rainboth (1996); Kottelat (2001), và Fishbase.org (Froese & Pauly., 2016).

(v) Phân tích gen COI và mối quan hệ di truyền của các loài cá thuộc bộ cá da trơn:

Thu mẫu di truyền: Các mẫu cá sau khi định danh được thu mẫu vi đuôi (khoảng 0,2-0,3g) của mỗi cá thể và giữ mẫu trong ethanol 95% trong tuýp 1,5 mL đến khi phân tích di truyền.

Tách chiết DNA: mẫu vi cá được ly trích DNA bằng bộ kit ly trích DNA từ mô động vật (Thermo Scientific - Mỹ).

Phương pháp điện di: điện di trên gel agarose 1% được áp dụng để kiểm tra chất lượng DNA sau khi ly trích và kết quả khuếch đại gen. Những mẫu có chất lượng DNA tốt thể hiện vạch điện di sáng và rõ được chọn để thực hiện phản ứng chuỗi khuếch đại.

Phản ứng chuỗi khuếch đại (PCR) gen và giải trình tự gene ty thể: Gen COI được khuếch đại bằng một cặp mồi Fish F2-t1/R2-t1 và FishF1/R1 (Ward et al., 2005, Ivanova et al., 2007). Trong một số trường hợp hai loài khác nhau có tỉ lệ tương đồng gen COI cao $\geq 98\%$ thì sẽ được khuếch đại thêm với gen CYTB để có đủ cơ sở phân loại loài. Gen này được PCR với một trong cặp mồi L15803/H16461 (Briolay et al., 1998). Phản ứng PCR được thực hiện trên

máy PCR SwiftTM Maxpro với thể tích PCR là 30 μ L. Thành phần và chu kỳ phản ứng PCR được áp dụng như nguồn tham khảo. Các mẫu sau khi PCR được điện di (gel agarose 1%) để kiểm tra kết quả. Mẫu có kết quả khuếch đại rõ, kích thước đạt như mong muốn (COI ~ 700 bp; CYTB ~ 700 bp) được gửi đi giải trình tự theo phương pháp Sanger, tại First BASE Laboratories Sdn Bhd, Selangor, Malaysia. Số mẫu khuếch đại: từ 2 đến 20 mẫu tùy loài. Tổng cộng có 207 mẫu giải trình tự gen COI các loài, 87 mẫu giải trình tự CYTB.

Phương pháp phân tích số liệu trình tự gen và mối quan hệ di truyền của các loài cá:

Sử dụng nhiều phần mềm phân tích như: Sử dụng chương trình Finch TV 1.4.0 (<http://www.geospiza.com/>) để kiểm tra chất lượng và trình tự gen; Sử dụng chương trình BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/) để so sánh trình tự gen COI của các loài cá trong nghiên cứu so với cơ sở dữ liệu của GenBank và BOLD system để kiểm chứng định danh loài; Sử dụng chương trình MEGA 7.0 (Kumar et al., 2016) để ước tính khoảng cách di truyền giữa các đơn vị trong hệ thống phân loại (loài, giống, họ, bộ). Chương trình DnaSp 5.0 (Librado & Rozas, 2009) được dùng để xác định các kiểu gen đơn bội (Haplotype) của mỗi loài. Mối quan hệ di truyền giữa các loài và cấu trúc di truyền được phân tích theo phương pháp Kết nối liên kề (Neighbor-Joining) bằng chương trình MEGA 7.0 và phương pháp Mạng lưới (Network) bằng chương trình NETWORK (Bandelt et al., 1999).

2) Nội dung 2: Nghiên cứu mức độ đa dạng di truyền của một số loài cá da trơn quan trọng:

Năm loài (so với thuyết minh là 4 loài) có giá trị kinh tế cao, là đối tượng nuôi mới hoặc có tiềm năng nuôi thủy sản được ưu tiên chọn gồm: (a) cá hú *Pangasius conchophilus*, (b) cá sát sọc *Pangasius macronema*, (c) cá bông lau *Pangasius krempfi* thuộc họ cá tra (Pangasiidae); (d) cá ngát *Plotosus canius* (họ cá ngát Plotosidae) và (e) cá trê vàng *Clarias macrocephalus* (họ cá trê Clariidae).

Mỗi loài được đánh giá di truyền trên chỉ thị phân tử khác nhau. Địa điểm thu và số mẫu khác nhau tùy loài.

(a) Cá hú (dùng chỉ thị CYTB): số mẫu thu là 75, gồm 2 điểm ở Việt Nam (Cần Thơ 22 mẫu, An Giang 26 mẫu) và 2 điểm ở Lào (Pakse 8 mẫu và Paksan 19 mẫu), đều nằm trên sông Mekong.

(b) Cá xác sọc (dùng chỉ thị ISSR, inter-simple sequence repeat): thu 72 mẫu từ 3 địa điểm (An Giang 20 mẫu, Sóc Trăng 29 mẫu và Đồng Tháp 23 mẫu). Sáu chỉ thị ISSR được sử dụng. Chi tiết phân tích được nêu trong bài báo Le and Duong, 2022.

(c) Cá bông lau (dùng chỉ thị Dloop và CYTB): 91 mẫu được thu ở An Giang (n=13), Bến Tre (n=20), Sóc Trăng (n=31), Trà Vinh (n=21) và Cà Mau (n=6) cùng với 3 mẫu ở Lào. Chi tiết phương pháp được nêu trong bài báo Duong et al., 2023.

(d) Cá ngát (dùng chỉ thị Dloop): số mẫu thu là 84 mẫu từ 4 quần thể ở An Giang (n=20), Sóc Trăng (n=21), Bạc Liêu (n=19) và Trà Vinh (20). Dloop là vùng điều khiển, có biến dị cao, được khuếch đại bằng cặp mồi D-loop-Thr-F/ D-loop-Phe-R (Cheng et al., 2012). Các bước phân tích tương tự như COI và CYTB.

(e) Cá trê vàng (dùng chỉ thị ISSR): cá được thu từ hai dòng và 4 quần thể: dòng cá nuôi thu ở Cần Thơ và Long An; dòng cá tự nhiên thu ở ven khu bảo tồn U Minh (Cà Mau) và Lung Ngọc Hoàng (Hậu Giang). Mỗi quần thể thu từ 27-29 mẫu và được phân tích với 6 chỉ thị ISSR (Chi tiết có trong bài báo Nguyen and Duong, 2022).

3) Nội dung 3: Giải mã toàn bộ hệ gen ty thể của một số loài cá kinh tế quan trọng phân bố trên sông Mekong

(i) *Phương pháp thu mẫu, bảo quản mẫu và ly trích DNA:* Ba loài cá bông lau, cá tra bản (không có trong đề cương) và cá tra được thu ở ĐBSCL, được kiểm tra hình thái và xác định loài bằng chỉ thị mtDNA trước. Mẫu dùng để ly trích DNA được lấy từ cơ cá tươi (đông

lạnh) để tránh tạp nhiễm và được bảo quản đúng kỹ thuật (bảo quản tươi đông lạnh hoặc trong cồn 70%). Ly trích DNA tương tự như mục trên (ở nội dung 1).

(ii) Các bước phân tích (chi tiết được trình bày trong bài Duong et al. Complete mitogenomes of pangasiid catfishes and their phylogeny for taxonomic implications for Pangasiidae and the suborder Siluroidei, đính kèm). Các bước chính như sau: Thiết kế mỗi đặc hiệu cho gen COI và ITS1/2 của hai loài cá - PCR đặc hiệu đơn loài thu nhận mtDNA - Xử lý chuỗi thô và thu nhận chuỗi cuối cùng - Phương pháp phân tích hệ gen ty thể - Phương pháp thiết lập cây phả hệ và xác nhận giá trị quan hệ loài.

4. Kết quả nghiên cứu

(Mô tả các kết quả nghiên cứu đạt được. Đánh giá về các kết quả nghiên cứu bao gồm tính mới, giá trị khoa học, giá trị thực tiễn và khả năng ứng dụng kết quả nghiên cứu)

(Mô tả các kết quả nghiên cứu đạt được. Đánh giá về các kết quả nghiên cứu bao gồm tính mới, giá trị khoa học, giá trị thực tiễn và khả năng ứng dụng kết quả nghiên cứu)

Nội dung 1: Nghiên cứu thành phần loài, chỉ thị di truyền dựa trên gen Cytochrome C oxidase subunit I (COI) và mối quan hệ di truyền của các loài cá thuộc bộ cá da trơn phân bố ở ĐBSCL (đã xuất bản 1 bài ISI uy tín [Le and Duong, 2023, Journal of Fish Biology] và 1 bài báo quốc tế [Chhorn and Duong, 2022]).

Kết quả nghiên cứu thành phần loài cá thuộc bộ cá da trơn Siluriformes phân bố ở ĐBSCL đã thu được tổng cộng 34 loài, thuộc 6 họ và 17 giống. Khi xét về số lượng loài trong cùng một họ, họ cá tra Pangasidae có nhiều loài nhất với 11 loài, tiếp theo là họ cá ngạnh Bagridae với 9 loài, họ cá úc Ariidae 6 loài và ít nhất là họ cá ngát Plotosidae với chỉ 1 loài. Theo nghiên cứu trước đây của Tran Duc Dinh et al. (2013), bộ cá da trơn ở ĐBSCL có 36 loài. Như vậy, kết quả hiện tại giảm 2 loài: cá úc nghệ (*Arius venosus*) và cá chột cò (*Mystus bocourti*). Hai loài này đang trở nên khan hiếm ở vùng ĐBSCL. Cá chột cò đã được xếp vào nhóm sắp nguy cấp từ năm 2007 (IUCN, 2022).

Kết quả phân tích gen COI: Tổng cộng 207 trình tự COI thuộc 34 loài cá trên đã được phân tích. Khoảng cách di truyền (K2p) trong cùng một họ cá dao động từ 6,46 – 14,7%. Trong đó, họ cá ngạnh Bagridae có giá trị K2p cao nhất với 14,7% (SD=1,10%) và thấp nhất là họ cá úc Ariidae với 6,46% (SD=0,72%). Khi xét khoảng cách di truyền giữa các họ cá thì giá trị K2p dao động từ 17,7 đến 21,7%. Trong đó, họ cá tra Pangasidae có khoảng cách di truyền gần với họ cá nheo Siluridae (17,7% với SD=1,5%). Khoảng cách di truyền giữa họ cá ngạnh Bagridae so với họ cá trê Clariidae là lớn nhất với 21,7% (SD=1,7%).

Nhìn chung, đa số các loài định danh bằng phương pháp hình thái phù hợp với kết quả COI khi so sánh với ngân hàng gen (GenBank, GB). Tuy nhiên, một vài loài không có sự thống nhất giữa hai phương pháp phân tích và chưa thống nhất giữa các kết quả công bố trình tự cùng loài trên ngân hàng gen. Trong nghiên cứu này, sự kết hợp giữa hai phương pháp đã giúp định danh được loài cá kết, có tên khoa học là *Phalacronotus bleekeri*. Trước đây, loài này chưa xác định tên khoa học (*Phalacronotus* sp.). Kết quả đã được xuất bản ở tạp chí Asian fisheries Science (Chhorn and Duong, 2022). Nghiên cứu này cũng chỉ ra những điểm khác biệt về hình thái của các quần thể cá kết ở sông Tiền và sông Hậu.

Bên cạnh đó, loài cá ngát trước đây ghi nhận ở ĐBSCL chỉ có một loài và được định danh là *Plotosus canius*. Tuy nhiên, kết quả phân tích COI cho thấy có thể có hai loài cá ngát. Chúng rất giống nhau về hình dạng bên ngoài và các chỉ tiêu đếm: vi lưng có 1 gai cứng và 4 tia mềm, 22-26 lược mang, 247-281 tia mềm vi lưng 2, vi đuôi và vi hậu môn dính liền, 73-80 đốt xương sống (số mẫu đếm n= 30). Các chỉ tiêu này được mô tả cho loài *Plotosus canius*.

Tuy nhiên, kết quả phân tích COI cho thấy có hai nhóm khác biệt nhau (K2p) 8,34%, đây là mức khác biệt giữa hai loài. Nhóm 1 gồm những mẫu thu ở vùng nước lợ ở tỉnh Sóc Trăng, Trà Vinh và Bạc Liêu. Nhóm 2 được thu ở vùng nước ngọt ở An Giang, Sóc Trăng và Trà Vinh. Đối chiếu với dữ liệu COI của GB cho thấy nhóm 2 có trình tự COI tương đồng 100% với loài *Plotosus canius*, cùng với kết quả về hình thái có thể kết luận nhóm 2 là loài

Plotosus canius, như các tài liệu phân loại đã công bố. Trong khi đó, trình tự COI của nhóm 1 tương đồng 100% với cả hai loài *Paraplotosus albilabris* và *Plotosus canius*. Theo Fishbase (Froese & Pauly, 2022), loài *Pa. albilabris* phân bố ở quần đảo Ấn-Úc nhưng có rất ít thông tin về hình thái. Các tài liệu phân loại thành phần loài cá ở Việt Nam cũng như sông Mekong không đề cập đến loài này. Vấn đề này cần được tiếp tục nghiên cứu trong tương lai.

Đặc điểm hình thái và sinh sản của cá úc mím *Cephalocassis borneensis* (Nội dung thêm, đã xuất bản tạp chí ISI uy tín: Journal of Fish Biology)

Cá úc mím là một trong những loài cá nhỏ nhất của họ cá úc (Ariidae). Chúng phân bố ở lưu vực sông Mekong. Tuy nhiên trong quá trình thu mẫu, loài này chỉ thấy xuất hiện ở sông Hậu, đoạn giáp Cần Thơ và Hậu Giang (Hình 1, trong bài báo). Cá úc được biết có tập tính mang con trong miệng cá đực nhưng thông tin chi tiết về đặc điểm sinh sản cũng như sự khác biệt hình thái giữa con đực và con cái chưa được mô tả. Vì vậy, nghiên cứu về nội dung này đã được thực hiện. Cá úc mím được thu mẫu định kỳ hàng tháng và trong hơn một năm (n=1092). Các phân tích hình thái cho thấy có sự khác biệt hình thái giữa con đực và con cái trưởng thành nhưng chúng giống nhau ở cá thể chưa trưởng thành. Chiều dài thành thực lần đầu (Lm) ở con đực (11,5 cm) nhỏ hơn ở con cái (12,5 cm). Những con đực trưởng thành có chiều dài đầu và khoảng cách trước ngực lớn hơn so với những con cái trưởng thành, làm tăng không gian cho trứng và ấu trùng đã thụ tinh được áp trong miệng của con đực. Ngược lại, con cái lớn hơn ở ba thông số đầu (góc đầu, chiều rộng đầu và chiều cao đầu) và ba thông số phần bụng có liên quan đến mang trứng. Tập tính ấp trứng trong miệng của cá đực là một chiến lược sinh sản quan trọng ở cá úc mím, để tăng khả năng sống sót của thế hệ con. Sự thay đổi hàng tháng về hệ số thành thực (GSI), hệ số điều kiện (K) và sự hiện diện của các giai đoạn trưởng thành cho thấy cá úc mím sinh sản quanh năm, chủ yếu vào mùa mưa từ tháng 6 đến tháng 10. Khả năng sinh sản của loài này tương đối thấp, từ 10 đến 31 trứng/con cái với kích thước khá lớn (đường kính khoảng $7,30 \pm 0,68$ mm). Bên cạnh đó, các tế bào trứng không hoạt động (trứng hyaline) có kích thước nhỏ hơn (<3 mm) đã được tìm thấy trong buồng trứng của con cái. Khả năng sinh sản thấp với trứng lớn và sự chăm sóc của con cái cho thấy loài này là đại diện của nhóm sinh vật có chiến lược cân bằng (equilibrium strategist). Những đặc điểm này rất quan trọng trong việc phát triển các kế hoạch bảo tồn các loài cá úc, như thiết lập thời gian và kích thước mắt lưới để đánh bắt và các chương trình gia hóa cá úc để nuôi trong điều kiện nhân tạo.

Nội dung 2: Nghiên cứu mức độ đa dạng di truyền của một số loài cá da trơn quan trọng (1 bài ISI [Duong et al., 2023, Ecology and Evolution], 1 bài báo quốc tế [Nguyen and Duong, 2022, Journal of Fisheries and Environment], 1 bài báo trong nước [Le and Duong, 2022, VNUHCM Journal of Science and Technology Development])

a) Đa dạng di truyền của cá hú dựa trên chỉ thị CYTB

Các quần thể cá hú tự nhiên được thu trên sông Mekong, gồm 2 quần thể ở Lào: Pakse (PE, n=8) và Paksan (PA, n=19) và hai quần thể ở Việt Nam An Giang (AG, n=26) và Cần Thơ (CT, n=22). Mức độ đa dạng di truyền của cá hú được đánh giá thông qua hệ số đa dạng haplotype (Hd) và đa dạng nucleotide (Pi). Nhìn chung, bốn quần thể cá hú trên sông Mekong có mức độ đa dạng di truyền trung bình, hệ số đa dạng di truyền chung $Hd=0,91$ ($SD=0,02$) và $pi=0,0062$ ($SD=0,004$). Ngoài ra, tổng cộng 38 kiểu gen đa bội (haplotype) được tìm thấy ở 4 quần thể với 16 kiểu gen là đặc trưng cho từng quần thể riêng biệt. So sánh giữa 4 quần thể thì quần thể cá hú ở Pakse ($Hd=0,96$, $SD=0,08$) và Paksan ($Hd=0,95$, $SD=0,03$) cao hơn so với hai quần thể ở An Giang ($Hd=0,88$, $SD=0,04$) và Cần Thơ ($Hd=0,84$, $SD=0,05$).

Kết quả phân tích cho thấy khoảng cách di truyền K2p dựa trên gene CYTB của quần thể cá hú trên sông Mekong dao động từ 0,0054 đến 0,0070. Trong đó, thông qua hệ số K2p cho thấy quần thể cá hú ở An Giang có mối quan hệ gần với quần thể Pakse, và quần thể cá hú Cần Thơ thì xa với cả hai quần thể cá hú ở Lào. Phân tích sự phân bố của các haplotype thì

thấy chúng phân thành hai nhóm với khoảng cách di truyền là 0,0089 (cao hơn so với khác biệt giữa các quần thể), trong mỗi nhóm đều có đại diện của bốn quần thể. Kết quả này chứng tỏ không có sự khác biệt rõ ràng về di truyền theo khu vực địa lý, điều này nói lên khả năng di cư của cá hủ giữa vùng thượng nguồn sông Mekong (ở Lào) với vùng hạ nguồn (ĐBSCL).

b) Đa dạng di truyền của cá sát sọc dựa trên chỉ thị ISSR (đã xuất bản, Le and Duong, 2022)

Cá sát sọc được lựa chọn để đánh giá đa dạng di truyền vì đây là một loài cá có giá trị kinh tế và bắt đầu được tiến hành thử nghiệm sinh sản nhân tạo. Tuy nhiên, loài này bị đe dọa bởi các hoạt động khai thác quá mức, ô nhiễm môi trường cũng như cạn kiệt nguồn thức ăn. Tất cả các yếu tố trên rất cần thiết để đánh giá đa dạng di truyền của loài cá này.

Kết quả phân tích 6 mồi ISSR cho kết quả tạo ra tổng cộng 67 vạch, số vạch của mỗi mồi dao động từ 390 bp đến 3000 bp. Số vạch của mỗi quần thể dao động từ 65 vạch (An Giang) đến 66 vạch (Đồng Tháp và Sóc Trăng), trong đó, quần thể cá ở Sóc Trăng xuất hiện 1 vạch đặc trưng. Các chỉ tiêu đa dạng di truyền được tính toán và cho kết quả gồm tỉ lệ gen đa hình dao động từ 80,6% đến 95,03%. Số alen mong đợi (N_e) dao động từ 1,381 đến 1,454. Chỉ số Shannon (I) nằm trong khoảng từ 0,369 đến 0,435. Tỉ lệ dị hợp mong đợi (uHe) là 0,243 – 0,286. Từ các chỉ tiêu trên thì quần thể cá ở Sóc Trăng thể hiện sự đa dạng di truyền cao nhất và thấp nhất là ở quần thể An Giang. Ngoài ra, sự khác biệt di truyền giữa các quần thể (GST) cũng được phân tích và có giá trị là 0,053. Khoảng cách di truyền và mức độ tương đồng di truyền giữa 3 quần thể cá sát sọc dao động từ 0,015 – 0,035 và 0,996 – 0,985. Khoảng cách di truyền giữa quần thể cá ở Sóc Trăng và An Giang là lớn nhất so với các cặp quần thể khác, và thấp nhất là ở cặp An Giang – Đồng Tháp. Sự khác biệt di truyền cũng được thể hiện trong cây di truyền theo phương pháp UPGMA, quần thể An Giang và Đồng Tháp cho thấy sự tương đồng về mặt di truyền hơn so với cặp quần thể An Giang – Sóc Trăng. Kết quả phân tích biến động di truyền cấp phân tử (AMOVA) cho thấy sự biến động di truyền trong một quần thể là 97% và giữa các quần thể là 3%. Từ nghiên cứu trên có thể kết luận là sự khác biệt về di truyền giữa ba quần thể cá sát sọc ở ĐBSCL có thể bị ảnh hưởng bởi các sự di cư của loài và kết nối thủy văn.

c) Đa dạng di truyền của cá bông lau *Pangasius krempfi* (đã xuất bản, Duong et al., 2023, tạp chí ISI-Ecology and Evolution)

Cá bông lau là loài cá thuộc họ cá tra, có giá trị kinh tế cao và đang là đối tượng nuôi tiềm năng ở vùng nước lợ. Mặt khác, về khía cạnh sinh học, sinh thái, cá bông lau có những điểm đặc biệt, khác với những loài khác trong họ cá tra, đó là tập tính sống ở nước lợ ven biển và di cư sinh sản vào trong nước ngọt. Nguồn gốc di truyền của cá bông lau chưa được rõ ràng và con đường di cư của chúng ở hạ nguồn sông Mekong cũng chưa được biết rõ. Vì vậy, nhóm nghiên cứu đã chọn cá bông lau thay thế cho loài cá úc như dự kiến ban đầu. Nghiên cứu này xác định con đường di cư và nguồn gốc di truyền của cá bông lau thông qua phân tích đa dạng di truyền dựa trên chỉ thị Dloop và CYTB. Cá được lấy mẫu ($n = 91$) dọc theo các nhánh sông Mekong từ thượng nguồn đến cửa sông và vùng ven biển ĐBSCL và so sánh với ba mẫu ở Pakse (Lào). Kết quả cho thấy đa dạng di truyền của cá bông lau ở mức thấp khi dựa trên CYTB ($Hd < 0,50$ và $pi < 0,005$) nhưng ở mức cao nếu dựa trên Dloop (Hd từ 0,872 đến 0,953, pi từ 0,0072 đến 0,0098). Đánh giá chung và so sánh với các loài cá da trơn (với cùng loại chỉ thị) cho thấy đa dạng di truyền của cá bông lau ở mức trung bình. Kết quả phân tích cấu trúc quần thể cho thấy cá bông lau không khác biệt di truyền theo quần thể phân bố địa lý mà khác nhau theo ba nhóm kiểu đơn bội (từ 1,169% đến 1,552%, gấp 1,63 lần so với khác biệt giữa các quần thể). Kết quả trên chứng tỏ cá bông lau có thể có ba nguồn di truyền khác nhau và chúng có thể di cư dọc theo bờ biển, xa các cửa sông, cho thấy con đường di cư dài hơn so với báo cáo trước đây, điều này rất quan trọng trong việc bảo tồn nguồn gốc đa dạng và con đường di cư của cá bông lau.

d) Đa dạng di truyền của cá ngát dựa trên chỉ thị Dloop

Kết quả ở nội dung 1 cho thấy có hai nhóm cá ngát (chúng có thể là hai loài khác nhau nhưng cần có nghiên cứu tiếp theo để khẳng định): nhóm 1 chủ yếu sống ở nước lợ và nhóm 2 chủ yếu ở vùng nước ngọt. Vì vậy, hai nhóm cá ngát được đánh giá mức độ đa dạng di truyền riêng. Tổng cộng có 84 mẫu (42 mẫu/nhóm) được phân tích vùng điều khiển (Control region, CR hay D-loop). Đoạn CR có chiều dài 915 bp, trong đó nhóm 1 có 34 vị trí đa hình và 22 haplotypes, cao hơn so với nhóm 2 với 22 vị trí đa hình và 11 haplotypes. Đa dạng di truyền cao hơn ở nhóm 1 còn thể hiện ở thông số Hd và pi ($Hd=0,971\pm0,011$ và $pi=0,009\pm0,008$) so với nhóm 2 ($Hd=0,664\pm0,08$ and $pi=0,005\pm0,001$). Kết quả trên chứng tỏ rằng môi trường sống có ảnh hưởng đến đa dạng di truyền của cá. Khoảng cách di truyền K2p giữa hai nhóm 1 và 2 là $8,14\pm0,93\%$, tương đương với giá trị K2p dựa trên COI (nội dung 1) với độ khác biệt ở mức độ khác loài.

e) Đa dạng di truyền của cá trê vàng dựa trên chỉ thị ISSR (làm thêm so với đề cương, đã xuất bản, Nguyen and Duong, 2022)

Cá trê vàng (*Clarias macrocephalus*) là một đối tượng nuôi phổ biến ở vùng ĐBSCL. Tuy nhiên, loài cá này lại có tốc độ tăng trưởng chậm và chất lượng con giống thấp hơn so với các loài cá trê trong cùng họ Clariidae. Vì thế, các chương trình cải thiện di truyền nhằm nâng cao chất lượng cá trê vàng đã được áp dụng, trong đó việc chọn lựa quần thể cá bố mẹ với mức độ đa dạng di truyền cao là yếu tố hàng đầu. Từ các yếu tố trên, nghiên cứu nhằm đánh giá mức độ đa dạng di truyền của cá trê vàng, cụ thể là giữa quần thể cá tự nhiên và cá nuôi đã được thực hiện bằng chỉ thị ISSR. Kết quả phân tích từ 6 mồi ISSR đã tạo ra 61 vạch dao động từ 500 đến 3.000 bp. Nghiên cứu cho kết quả mức độ đa dạng di truyền của quần thể cá trê vàng ở ĐBSCL cao với số alen mong đợi từ 1,42 đến 1,50; chỉ số Shannon từ 0,381 đến 0,433 và tỉ lệ dị hợp mong đợi từ 0,257 đến 0,297. Ngoài ra, khi so sánh giữa quần thể cá nuôi và cá tự nhiên thì các chỉ số đa dạng di truyền ở cá nuôi thấp hơn cá tự nhiên. Hơn nữa, khoảng cách di truyền giữa các quần thể cá trê vàng là thấp, chứng tỏ có dòng chảy gene giữa các quần thể cá trê vàng phân bố ở ĐBSCL. Mặc dù sử dụng chỉ thị khác nhau, nhưng kết quả này (dùng ISSR) giống với nghiên cứu trước đây dựa trên chỉ thị microsatellite (Duong & Scribner, 2018).

Nội dung 3: Giải mã toàn bộ hệ gen ty thể của ba loài cá kinh tế quan trọng phân bố trên sông Mekong là cá bông lau (*Pangasius krempfi*), cá tra bần (*Pangasius mekongensis*) và cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) bổ sung của Việt Nam (bài báo được gửi tạp chí ISI Ecology and Evolution, hiện đang được phản biện).

Họ cá tra Pangasidae hiện có tổng cộng 29 loài, chia làm 4 nhóm chính. Hệ thống và mối quan hệ di truyền của họ cá này thường được xem xét và điều chỉnh vì có sự bổ sung của các loài mới được mô tả. Nghiên cứu đã giải trình tự hệ gen ty thể của 3 loài cá da trơn ở khu vực sông Mekong Việt Nam gồm cá cá bông lau, cá tra bần và cá tra. Hệ gen ty thể của chúng có chiều dài lần lượt là 16.462 bp, 16.475 bp, và 16.523 bp. Mỗi hệ gen bao gồm vùng 13 gen mã hóa protein (PCGs), 2 gen RNA ribosome (MRGs), 22 gen RNA vận chuyển amino acid (tRNA) và một vùng điều khiển (CR). Thứ tự gen trên cả ba loài cá trên là như nhau và tương tự như các loài cá xương khác. Vùng CR nằm giữa tRNAPro và tRNAPhe có sự khác biệt về chiều dài, cụ thể là 955 bp với cá tra bần, 887 bp với cá tra và 830 bp với cá bông lau. Vùng CR không chứa các đơn vị lặp lại riêng biệt nhưng có các trình tự bảo tồn khác biệt giữa 3 loài cá. Hai mươi một gen tRNAs tạo thành cấu trúc cấp thứ cấp dạng “cỏ ba lá”, trong khi đó gen tRNASer1(GCT) có cấu trúc đặc biệt với một nhánh DHU bị thiếu. Phân tích phả hệ di truyền của 51 trình tự gen ty thể của họ cá tra Pangasidae và 9 họ cá khác cho thấy họ cá tra là một nhánh đơn ngành trong họ phụ Siluroidei. Mối quan hệ di truyền giữa giống *Pangasius* và *Pangasianodon* đã được giải quyết rõ ràng. Kết quả về mối quan hệ phả hệ dựa trên hệ gen ty thể từ nghiên cứu này rất hữu ích cho việc đánh giá lại hệ thống

phân loại cá tra, DNA mã vạch, hệ thống và phát sinh loài, di truyền quần thể, dòng thời gian và phương thức nghiên cứu đa dạng các loài cá da trơn Siluriformes. Chi tiết kết quả được trình bày trong bài báo đang phản biện (file đính kèm).

5. Thay đổi so với thuyết minh ban đầu

(Về mục tiêu, nội dung, phương pháp, kết quả nghiên cứu và tổ chức thực hiện; Nguyên nhân)

Nội dung chính và phương pháp không thay đổi. Tuy nhiên, một số loài cá được phân tích thêm trong cả ba nội dung: - Nội dung 1: phân tích thêm đặc điểm hình thái và sinh sản của cá úc mím (đã xuất bản, Le and Duong, 2023)- Nội dung 2: phân tích thêm đa dạng di truyền của cá trê vàng (đã xuất bản, Nguyen and Duong, 2022); đa dạng di truyền của cá úc được thay thế bằng cá bông lau do tầm quan trọng của loài và sự cần thiết nghiên cứu (đã xuất bản Duong et al., 2023) - Nội dung 3: phân tích thêm hệ gen ty thể cá tra bản (Duong et al. đang phản biện, tạp chí Ecology and Evolution).

PHẦN III. KẾT QUẢ CÔNG BỐ VÀ ĐÀO TẠO

1. Kết quả công bố

STT	Công trình khoa học	ISSN/ ISBN	DOI	Tình trạng (Đã in/chấp nhận đăng)
1	Công trình công bố quốc tế trên tạp chí thuộc danh mục ISI			
1.1	Duong, T.Y., Nguyen, N.T. T., Tran, D.D., Le, T. H., Azizah, S., & Nor, M. (2023). Multiple genetic lineages of anadromous migratory Mekong catfish <i>Pangasius krempfi</i> revealed by mtDNA control region and cytochrome b. Ecology and Evolution, 13(2), e9845	2045-7758	https://doi.org/10.1002/ECE3.9845	đã đăng
1.2	Le, N., & Duong, T. (2023). Sexual dimorphism and reproductive biology of <i>Cephalocassis borneensis</i> (Siluriformes: Ariidae), a paternal mouthbrooding fish in the Mekong River. Journal of Fish Biology (Early view)	1095-8649	https://doi.org/10.1111/jfb.15378	Đã đăng
2	Công trình công bố quốc tế trên tạp chí không thuộc ISI			
2.1	Chhorn, M., & Duong, T. Y. (2022). Identification of <i>Phalacrodon</i> F-rom the Mekong Delta , Vietnam and Use of Morphological Analysis to Separate	0116-6514	https://doi.org/10.33997/j.afs.2022.35.2.005	đã in

	Populations. Asian Fisheries Science, 35, 139–148.			
2.2	Nguyen, T. N. T., & Duong, T. Y. (2022). High Genetic Diversity and Gene Flow among Cultured and Wild Populations of Bighead Catfish (<i>Clarias macrocephalus</i>) in the Mekong Delta of Viet Nam Inferred f-rom ISSR Markers. Journal of Fisheries and Environment, 46(2), 67–76.	2630-0826	https://li01.tci-thaijo.org/index.php/JFE/article/view/255346	đã in
3	Công trình công bố trên tạp chí khoa học chuyên ngành trong nước			
3.1	Le, N. M. T., & Duong, T. Y. (2022). Genetic diversity of the migratory Mekong endemic catfish species <i>Pangasius macronema</i> populating along the Hau and Tien Rivers. Science and Technology Development Journal, 25(1), 1–8.	1859-0128	https://doi.org/10.32508/stdj.v25i1.3881	đã in

Tổng hợp kết quả công bố ISI

- Số bài báo đề tài đăng ký: **2**
- Số bài báo ISI đề tài đã được công bố/ chấp nhận công bố: **2**

Ghi chú:

- Gửi kèm file toàn văn bản công bố trên tạp chí, hội nghị; sách chuyên khảo.
- Cột công trình khoa học:
 - Liệt kê các bài báo đăng trên tạp chí theo thứ tự <tên tác giả, tên công trình, tên tạp chí/nhà xuất bản, số phát hành, năm phát hành, trang đăng công trình, mã công trình đăng tạp chí/ sách chuyên khảo (DOI), loại tạp chí ISI (SCI/SCIE)>
 - Liệt kê các bài báo đăng tại hội nghị theo thứ tự <tên tác giả, tên công trình, tên hội nghị, địa điểm tổ chức, năm phát hành, trang đăng công trình>

2. Kết quả đào tạo

STT	Họ và tên	Thời gian tham gia đề tài (số tháng)	Công trình công bố
Học viên cao học			
2.1	C ^h horn Matine	9	Chhorn, M., & Duong, T. Y. (2022). Identification of Phalacrocorax F-rom the Mekong Delta , Vietnam and Use of Morphological Analysis to

Ghi chú:

- Gửi kèm bản photo trang bìa luận án/ luận văn và bằng hoặc giấy chứng nhận nghiên cứu sinh/ thạc sỹ nếu học viên đã bảo vệ thành công luận án/ luận văn;
- Cột công trình công bố ghi như mục III.1.

PHẦN IV. TÌNH HÌNH SỬ DỤNG KINH PHÍ

(Chi tiết sử dụng kinh phí theo phụ lục 1)

STT	Nội dung chi	Kinh phí được duyệt (triệu đồng)	Kinh phí thực hiện (triệu đồng)	Ghi chú
A	<i>Chi phí trực tiếp</i>			
1	Nhân công lao động khoa học	506.8134	456.683	
2	Nguyên, nhiên vật liệu	126.35	126.35	
3	Thiết bị, dụng cụ	0	0	
4	Đi lại, công tác phí	199.8	199.8	
5	Dịch vụ thuê ngoài	120.06	120.06	
6	Chi phí trực tiếp khác	13.1266	12.407	
B	<i>Chi phí gián tiếp</i>			
1	Chi phí quản lý của tổ chức chủ trì	50.85	50.85	
	Tổng số :	1017	966.15	

PHẦN IV. KIẾN NGHỊ

(Về phát triển các kết quả nghiên cứu của đề tài; về quản lý, tổ chức thực hiện ở các cấp)

Đề nghị nghiệm thu đề tài.

Tổ chức chủ trì đề tài
(Thủ trưởng đơn vị ký tên, đóng dấu)

Hà Thanh Toàn

Hà Nội, ngày 14 tháng 05 năm 2023
Chủ nhiệm đề tài
(Họ tên, chữ ký)



Dương Thùv Yên