

ĐA DẠNG DI TRUYỀN QUẦN THỂ CÁ CHÌNH HOA (*Anguilla marmorata*) TẠI QUẢNG TRỊ

Nguyễn Anh Tuấn^{1*}, Võ Đức Nghĩa¹, Trần Thị Thúy Hằng¹, Đào Tấn Học², Đặng Thanh Long³

¹ Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế, 102 Phùng Hưng, Huế, Việt Nam

² Viện Hải Dương Học Việt Nam, 01 Cầu Đá, Nha Trang, Việt Nam

³ Viện Công nghệ Sinh Học, Đại học Huế, Tỉnh Lộ 10, Huế, Việt Nam

* Tác giả liên hệ Nguyễn Anh Tuấn <nguyenanhtuanthuysan36@gmail.com>

(Ngày nhận bài: 25-11-2021; Ngày chấp nhận đăng: 19-04-2022)

Tóm tắt. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá đa dạng di truyền của quần thể cá Chình hoa (*Anguilla marmorata*) tự nhiên tại tỉnh Quảng Trị dựa trên việc so sánh trình tự DNA của vùng gene điều khiển CR (control region) ty thể với các quần thể cá Chình hoa trên thế giới. Kết quả cho thấy khoảng cách di truyền giữa các cá thể trong quần thể dao động từ 0 đến 0,261, đạt trung bình 0,024. Trong 31 cá thể, 203 vị trí đa hình tách biệt (S) đã tạo ra 209 vị trí đột biến (*Eta*) với 31 kiểu haplotype khác nhau. Số lượng các nucleotide khác biệt trung bình là 29.299 (*k*); hệ số đa dạng nucleotide chiếm $26,09 \times 10^{-3}$ (*Pi*); số lượng tối thiểu để xảy ra quá trình tái tổ hợp (*Rm*) trong quần thể tương ứng với 51 sự kiện. Phần lớn cá thể thu được tại Quảng Trị có quan hệ di truyền gần gũi với quần thể cá Chình hoa Bắc Thái Bình Dương (27/31 cá thể) và 4 cá thể có mối quan hệ di truyền gần gũi với quần thể Nam Thái Bình Dương. Việc phát hiện các cá thể Chình hoa tại Quảng Trị có di truyền gần gũi với các cá thể thuộc Nam Thái Bình Dương được xem như một điểm đáng chú ý trong nghiên cứu này.

Từ khóa: vùng gene điều khiển, chình hoa

Population genetic diversity of giant mottled eels (*Anguilla marmorata*) in Quang Tri

Nguyen Anh Tuan^{1*}, Vo Duc Nghia¹, Tran Thi Thuy Hang¹, Dao Tan Hoc², Dang Thanh Long³

¹ University of Agriculture and Forestry, Hue University, 102 Phung Hung St., Hue, Vietnam

² Vietnam Academy of Science and Technology, Institute of Oceanography, 01 Cau Da St., Nha Trang, Vietnam

³ Institute of Biotechnology, Hue University, Provincial Highway 10, Hue, Vietnam

* Correspondence to Nguyen Anh Tuan <nguyenanhtuanthuysan36@gmail.com>

(Received: 25 November 2021; Accepted: 19 April 2022)

Abstract. This study was conducted to evaluate the population genetic diversity of the wild *Anguilla marmorata* in Quang Tri province by comparing the DNA sequences of the mitochondrial control region (CR) gene with those of other giant mottled eel populations in the world. The results indicate that the genetic distance between individuals in the Quang Tri population ranged from 0 to 0.261, with an average of 0.024. Among 31 individuals, there were 203 distinct polymorphism sites (S), which led to 209 mutation sites (*Eta*) and 31 different haplotypes. The average number of distinct nucleotides (*k*) was 29,299. The nucleotide diversity factor (*Pi*) accounted for 26.09×10^{-3} , and the minimum number of

recombination processes (Rm) in the population was 51 events. The majority of eel samples collected at the site had close genetic relationships with those of the North Pacific population (27/31 individuals), and four eel samples had close genetic relationships with those of the South Pacific population. The finding of the four giant mottled eels in Quang Tri belonging to the South Pacific population is considered a significant result of this study.

Keywords: mitochondrial control region, giant mottled eels

1 Đặt vấn đề

Cá Chình nước ngọt sống tại nhiều nơi trên thế giới ngoại trừ phía Nam Đại Tây Dương và bờ biển phía Tây của Bắc và Nam Mỹ [1, 2]. Tuy nhiên, quần thể các loài cá chình đang sụt giảm nghiêm trọng trong những thập niên gần đây [3]. Sự sụt giảm này được dự đoán sẽ trở nên nghiêm trọng trong tương lai gần do nhu cầu không ngừng tăng cao của việc sử dụng giống các loài cá chình nhiệt đới nhằm thay thế các loài cá chình ôn đới trong hoạt động nuôi trồng thủy sản [4]. Trong số các loài cá chình nhiệt đới, cá Chình hoa (*Anguilla marmorata*) từ các quốc gia Đông Nam Á hiện đang được đánh bắt khai thác để cung cấp cho các trại nuôi cá chình tại nhiều quốc gia Đông Á [5]. Ngoài ra, nguồn giống cá chình cung cấp cho hoạt động nuôi trồng thủy sản hiện nay phụ thuộc hoàn toàn vào đánh bắt tự nhiên.

Bên cạnh việc khai thác quá mức, sự sụt giảm nguồn lợi tự nhiên cá chình (anguillid) còn do nhiều tác nhân khác bao gồm: xây dựng hệ thống đê, đập đã hủy hoại môi trường sống và ảnh hưởng đến quá trình di cư sinh sản của cá chình [6], biến động môi trường biển do biến đổi khí hậu [7], rủi ro dịch bệnh và ký sinh trùng [8], mối nguy từ những động vật săn mồi khác [9] và sự ô nhiễm môi trường [10]. Hiện nay, việc xác định nguyên nhân chính xác dẫn đến sự sụt giảm số lượng và kích thước quần thể các loài cá chình là rất khó khăn do sự phân bố rộng và vòng đời phức tạp của chúng. Đây được xem một trong những thách thức lớn đối với công tác bảo tồn nguồn lợi cá chình tự nhiên của các quốc gia trên thế giới. Theo Faulks và cs. [11], sự đa dạng di truyền quần thể thúc đẩy sự thích ứng của quần thể với biến động môi

trường, từ đó, duy trì sự cân bằng hệ sinh thái cũng như tiềm năng tiến hóa của quần thể. Do đó, ngoài việc xác định nguyên nhân chính của sự sụt giảm quần thể các loài cá chình, nghiên cứu về thành phần loài, sự phân bố, sự đa dạng di truyền và liên kết quần thể đóng vai trò quan trọng trong việc hoạch định và xây dựng chiến lược để bảo tồn nguồn lợi này.

Liên quan đến thành phần loài và sự phân bố các loài cá chình tại Việt Nam, ba loài cá chình đã được tìm thấy trong hệ sinh thái tự nhiên gồm: cá Chình hoa (*A. marmorata*), cá Chình mun (*A. bicolor pacifica*) và cá Chình nhật bản (*A. japonica*). Trong số ba loài này, cá Chình hoa có sự phân bố rộng nhất, gồm các tỉnh Quảng Bình, Quảng Trị, Thừa Thiên Huế, Bình Định và Phú Yên [12]. Trong các loài cá chình sống tại Việt Nam, cá Chình hoa được nuôi phổ biến nhất với nguồn giống thu vớt từ tự nhiên. Do đó, Việt Nam sẽ sớm phải đối mặt với sự cạn kiệt nguồn lợi cá Chình hoa trong tương lai nếu không có những chiến lược bảo tồn phù hợp. Nhiều nghiên cứu trước đây chỉ ra rằng việc hoạch định chiến lược quản lý và bảo tồn động vật tự nhiên cần phải dựa trên dữ liệu đa dạng di truyền và liên kết quần thể nhằm phân vùng bảo tồn, đặc biệt đối với các loài di cư sinh sản và phân bố rộng như cá chình [13-15]. Tuy nhiên, những dữ liệu này vẫn chưa được thu thập và nghiên cứu tại nhiều địa phương ở Việt Nam trong đó có tỉnh Quảng Trị.

Do đó, việc nghiên cứu về đa dạng di truyền quần thể trên cá Chình hoa tại Quảng Trị được xem rất cần thiết nhằm cung cấp nguồn thông tin quan trọng trong việc quản lý và bảo tồn nguồn lợi này

tại tỉnh Quảng Trị nói riêng và Việt Nam nói chung.

2 Phương pháp

2.1 Vật liệu

Cá Chình hoa (31 cá thể) với kích thước dao động từ $15,4 \pm 0,7$ đến $40,5 \pm 0,5$ cm được đánh bắt từ tự nhiên tại tỉnh Quảng Trị.

2.2 Thu mẫu

Mẫu cá Chình hoa được thu theo phương pháp của Nguyễn và cs. [12]. Cụ thể, đặt lừ từ 16:00 chiều đến 3:00 sáng hàng ngày. Cá được gây mê bằng dung dịch Aqui-S (10 mL/m^3 nước) trước khi lấy mẫu mô. Mẫu mô nhỏ với diện tích khoảng 5 mm^2 được cắt từ vây đuôi của cá và được bảo quản trong ống ly tâm ($1,5 \text{ mL}$) chứa ethanol (70%). Mẫu sau khi thu được giữ tại 4°C trong 48 h cho đến khi tách chiết DNA.

2.3 Tách chiết DNA và khuếch đại DNA

DNA tổng số từ các mẫu mô được chiết xuất theo phương pháp CTAB của Adamkewicz và Harasewych [16]. DNA sau khi chiết xuất được bảo quản trong dung dịch đệm TE (10 mM Tris-HCl , $\text{pH } 7,2$, 1 mM EDTA , $\text{pH } 8,0$) ở -20°C .

Toàn bộ vùng điều khiển (CR) của ty thể (có kích thước $1000\text{--}1200 \text{ bp}$) phục vụ phân tích đa dạng di truyền quần thể được khuếch đại bằng phản ứng PCR với cặp mồi đã được sử dụng trong nghiên cứu của Minegishi và cs. [16], đó là L15625-CR ($5' \text{ TTTGTAATCCGAAGATTGAAG } 3'$) và H84-CR ($5' \text{ CAGAAGTATGTTAAAGTCAG } 3'$).

Quá trình khuếch đại PCR được tiến hành trên máy luân nhiệt (Eppendorf EpGradient S PCR). Phản ứng PCR được thực hiện với tổng thể tích $50 \mu\text{L}$ bao gồm $10 \mu\text{L}$ dung dịch đệm, $0,2 \mu\text{L}$ MyTaq HS Polymerase (Bioline), $0,4 \mu\text{M}$ từng loại mồi và 5 ng DNA khuôn mẫu. Chu trình nhiệt sử dụng cho phản ứng PCR như sau: $95^\circ \text{C}/5 \text{ min}$, tiếp

đến là 30 chu kỳ: $95^\circ \text{C}/1 \text{ min}$, $52^\circ \text{C}/50 \text{ s}$, $72^\circ \text{C}/1 \text{ min}$, cuối cùng là $72^\circ \text{C}/10 \text{ min}$.

Sau khi kết thúc quá trình PCR, sản phẩm được điện di trên gel agarose 1% trong hệ đệm TAE (1X) với thuốc nhuộm DNA (Gelred 6X). Thước đo thang chuẩn DNA ($100\text{--}1500 \text{ bp}$, BioBase) được sử dụng để kiểm tra kích thước sản phẩm PCR. Sản phẩm PCR được phát hiện thông qua các vạch sáng bằng tia UV trên hệ thống phòng tối UV Transilluminator.

2.4 Giải trình tự và phân tích mối quan hệ di truyền

Các sản phẩm PCR của vùng gene CR được tinh sạch bằng bộ kit Isolate II PCR and Gel (Bioline). Sau đó, sản phẩm PCR được giải trình tự trực tiếp bằng phương pháp dideoxy terminator trên máy ABI PRISM® 3100 Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystems) tại Công ty Maccrogen, Hàn Quốc. Các trình tự nucleotide được sắp xếp dựa trên chương trình Clustals [17] và hiệu chỉnh bằng phần mềm BioEdit 7.0.5 [18].

Quá trình phân tích đa hình DNA và tái tổ hợp dựa trên bảy thông số bao gồm số lượng vị trí đa hình (S), tổng số đột biến (Eta), số lượng haplotype (h), đa dạng haplotype (Hd), số lượng các nucleotide khác biệt trung bình (k), đa dạng nucleotide (Pi) và số lượng tối thiểu để xảy ra quá trình tái tổ hợp (Rm) được xem như một phép đo đa hình trong quần thể [19] bằng phần mềm DNAsp 6.0 [20].

Cây phát sinh di truyền của các cá thể cá Chình hoa thu được ở tỉnh Quảng Trị với trình tự nucleotide của các cá thể cá Chình hoa thuộc các khu vực Nam Thái Bình Dương (Fiji, Tahiti, Papua New Guinea, New Caledonia), Bắc Thái Bình Dương (Nhật Bản, Đài Loan, Philippines, Sulawesi, Micronesia), Tây Ấn Độ Dương (Reunion, Madagascar), Đông Ấn Độ Dương (Sumatra), Ambon và Guam công bố trên ngân hàng gene DDBJ (Nhật Bản), ngân hàng gene EMBL (Châu

Âu) và ngân hàng gene NCBI (Mỹ) được xây dựng bằng phần mềm MEGA X (The Molecular Evolution Genetics Analysis), dựa trên phương pháp Maximum Likelihood (ML). Nhằm củng cố vị trí của các nhánh trong cây phát sinh chủng loại, chúng tôi sử dụng giá trị bootstrap 1000 lần [21].

3 Kết quả và thảo luận

3.1 PCR và đặc tính vùng gene CR của cá Chình hoa

Kết quả điện di sản phẩm PCR trên gel agarose 1% trong đệm TAE 1X cho thấy tất cả 31 mẫu cá Chình hoa thu được ở Quảng Trị đều cho một băng duy nhất với cặp mồi đặc hiệu (Hình 1). Các băng DNA rõ nét và nồng độ cao với kích thước xấp xỉ 1300 bp khi tính toán dựa trên kích thước thang chuẩn DNA (100–1500 bp, BioBase).

Kết quả thu được là vùng gene CR với kích thước 1134–1152 bp, tùy thuộc vào từng cá thể cá Chình hoa. Kích thước của vùng gene CR thu được trong nghiên cứu này tương đồng với kết quả của Minegishi và cs. [22] khi sử dụng cặp mồi L15625-CR và H84-CR. Kết quả BLAST trên NCBI nhằm kiểm chứng và so sánh với các trình tự vùng gene CR của loài *A. marmorata* cho thấy vùng gene CR của các cá thể cá Chình hoa ở Quảng Trị thuộc loài *A. marmorata* (mức độ bao phủ vùng gene đạt 100% với mức độ tương đồng 95,2% với loài *A. marmorata*, mã số đăng ký (HM802177.1)). Điều này chứng tỏ rằng 31 mẫu cá chình thu được tại tỉnh Quảng Trị thuộc loài *A. marmorata*.

Sự xuất hiện của từng loại nucleotide trong vùng gene CR cho thấy adenin (A) chiếm tỷ lệ cao nhất (39,005–39,633%); tiếp theo là timin (uracin, 27,098–27,972%). Guanidin (G) và cystein (C) chiếm tỷ lệ thấp nhất (13,103 và 20,007%) (Bảng 1). Tỷ lệ (G + C) trong vùng gene cao nhất là 33,566% và có sự khác nhau, dao động giữa các cá thể từ 32,118 đến 33,566% và đạt trung bình 33,110% (Bảng 1).



Hình 1. Điện di đồ sản phẩm PCR vùng gene region control của hệ gene ty thể từ cá Chình hoa (*A. marmorata*). Giếng Lad: kích thước thang chuẩn DNA (100–1500 bp, BioBase), giếng 201 đến 232 cho kết quả sản phẩm PCR từ khuôn mẫu DNA tổng số.

Bảng 1. Thành phần nucleotide vùng gene CR của các cá thể cá Chình hoa

Cá thể	T(U)	C	A	G	(G+C)%	(bp)
mar201	27,162	20,349	39,476	13,013	33,362	1145
mar202	27,336	20,262	39,301	13,100	33,362	1145
mar203	27,511	20,000	39,301	13,188	33,188	1145
mar204	27,273	20,192	39,161	13,374	33,566	1144
mar205	27,472	19,948	39,458	13,123	33,071	1143
mar206	27,448	20,105	39,510	12,937	33,042	1144
mar208	27,951	19,705	39,931	12,413	32,118	1152
mar209	27,948	19,563	39,301	13,188	32,751	1145
mar210	27,661	19,895	39,965	12,478	32,373	1146
mar211	27,376	20,139	39,058	13,426	33,566	1147
mar212	27,647	19,860	39,633	12,861	32,721	1143
mar213	27,424	20,000	39,476	13,100	33,100	1145
mar214	27,972	19,580	39,336	13,112	32,692	1144
mar215	27,622	19,930	39,598	12,850	32,780	1144
mar216	27,425	19,841	39,594	13,139	32,981	1134
mar217	27,574	19,983	39,180	13,264	33,246	1146
mar218	27,249	20,349	39,127	13,275	33,624	1145
mar219	27,860	19,913	39,301	12,926	32,838	1145
mar220	27,574	19,983	39,616	12,827	32,810	1146
mar221	27,511	20,000	39,214	13,275	33,275	1145
mar222	27,098	20,455	39,598	12,850	33,304	1144
mar223	27,598	20,000	39,389	13,013	33,013	1145
mar224	27,360	20,192	39,510	12,937	33,129	1144
mar225	27,511	20,000	39,214	13,275	33,275	1145
mar226	27,312	20,244	39,092	13,351	33,595	1146
mar227	27,472	19,948	39,195	13,386	33,333	1143
mar228	27,511	20,000	39,301	13,188	33,188	1145
mar229	27,574	19,983	39,005	13,438	33,421	1146
mar230	27,574	19,983	39,267	13,176	33,159	1146
mar231	27,574	19,895	39,005	13,525	33,421	1146
mar232	27,686	19,913	39,214	13,188	33,100	1145
Trung bình	27,525	20,007	39,365	13,103	33,110	1144,8

Khoảng cách di truyền giữa các cá thể trong quần thể cá Chình hoa dao động từ 0,0044 đến 0,0663 và đạt trung bình 0,0277. Trong đó, khoảng cách di truyền cao nhất là giữa cặp cá thể với ký

hiệu mar210 và mar219 (0,0663); khoảng cách di truyền thấp nhất là giữa cặp cá thể với ký hiệu mar229 và mar230 (0,00438) (Hình 2).

	mar201	mar202	mar203	mar204	mar205	mar206	mar208	mar209	mar210	mar211	mar212	mar213	mar214	mar215	mar216	mar217	mar218	mar219	mar220	mar221	mar222	mar223	mar224	mar225	mar226	mar227	mar228	mar229	mar230	mar231	mar232		
mar201	**																																
mar202	0,01241	**																															
mar203	0,01419	0,01061	**																														
mar204	0,01330	0,01152	0,01510	**																													
mar205	0,02339	0,02340	0,02524	0,02249	**																												
mar206	0,01333	0,01244	0,01603	0,01423	0,02438	**																											
mar208	0,05102	0,05298	0,05297	0,05206	0,05320	0,05211	**																										
mar209	0,02609	0,02795	0,03979	0,02703	0,01789	0,02709	0,05802	**																									
mar210	0,05897	0,03895	0,05496	0,05796	0,06124	0,06004	0,05400	0,06101	**																								
mar211	0,01509	0,01151	0,01508	0,01061	0,02523	0,01603	0,05494	0,02886	0,05694	**																							
mar212	0,01511	0,01152	0,01492	0,01241	0,02065	0,01604	0,05008	0,02333	0,05396	0,01420	**																						
mar213	0,01061	0,01062	0,01061	0,01153	0,01973	0,01154	0,05008	0,02426	0,05011	0,01330	0,01332	**																					
mar214	0,02332	0,02332	0,02515	0,02242	0,01882	0,02245	0,05108	0,02056	0,03907	0,02059	0,01694	0,01694	**																				
mar215	0,02518	0,02518	0,02332	0,02427	0,01974	0,02617	0,05114	0,02067	0,05310	0,02608	0,02244	0,01969	0,01785	**																			
mar216	0,02168	0,01984	0,02168	0,02077	0,01531	0,02173	0,05061	0,01889	0,05657	0,02260	0,01893	0,01801	0,01615	0,01801	**																		
mar217	0,01329	0,01152	0,01509	0,01240	0,02248	0,01243	0,05194	0,02701	0,05589	0,01419	0,01421	0,00972	0,02240	0,02426	0,02075	**																	
mar218	0,02332	0,02149	0,02332	0,02242	0,01699	0,02338	0,05066	0,02055	0,06002	0,02407	0,02059	0,01967	0,01782	0,01968	0,00354	0,02240	**																
mar219	0,06195	0,06203	0,05594	0,05601	0,06030	0,05906	0,06239	0,05408	0,06633	0,06388	0,05705	0,05307	0,05610	0,06415	0,05763	0,05388	0,05908	**															
mar220	0,01239	0,01240	0,01598	0,01329	0,02153	0,01512	0,04904	0,02237	0,05297	0,01507	0,00493	0,01239	0,02146	0,02330	0,01981	0,01508	0,02146	0,05791	**														
mar221	0,00882	0,00884	0,01240	0,00793	0,02156	0,01152	0,04907	0,02809	0,05694	0,00616	0,01151	0,00883	0,02149	0,02334	0,01800	0,00972	0,02149	0,05897	0,01239	**													
mar222	0,02607	0,02792	0,02605	0,02700	0,02424	0,02706	0,05601	0,03332	0,05996	0,02882	0,02516	0,02240	0,02241	0,01151	0,02076	0,02699	0,02241	0,05901	0,02421	0,02607	**												
mar223	0,02249	0,02068	0,02493	0,01973	0,03195	0,01978	0,06231	0,03657	0,06235	0,02157	0,02344	0,01883	0,03184	0,03373	0,03024	0,01974	0,03184	0,06431	0,02431	0,01700	0,03654	**											
mar224	0,02608	0,02425	0,02608	0,02334	0,02156	0,02244	0,05406	0,02330	0,05901	0,02700	0,02334	0,02059	0,01874	0,02059	0,00800	0,02316	0,00971	0,05709	0,02421	0,02241	0,02517	0,05279	**										
mar225	0,05204	0,05202	0,04616	0,05105	0,05824	0,05308	0,05400	0,06202	0,03834	0,05795	0,05105	0,04325	0,05207	0,05019	0,05556	0,05000	0,05703	0,05922	0,05006	0,05199	0,05399	0,05727	0,05406	**									
mar226	0,01509	0,01151	0,01509	0,01060	0,02429	0,01513	0,05582	0,02885	0,05994	0,00881	0,01601	0,01329	0,02607	0,02794	0,02075	0,01419	0,02423	0,06189	0,01688	0,00616	0,03068	0,02156	0,02515	0,05692	**								
mar227	0,01966	0,01786	0,01966	0,01874	0,02807	0,01877	0,05593	0,03171	0,05101	0,01874	0,01694	0,01603	0,02891	0,02894	0,02730	0,01875	0,02891	0,06007	0,01783	0,01602	0,03170	0,02810	0,02983	0,05605	0,02056	**							
mar228	0,01060	0,00883	0,01238	0,00971	0,01788	0,00973	0,04904	0,02239	0,05496	0,01149	0,01151	0,00704	0,01782	0,01966	0,01615	0,00793	0,01782	0,05398	0,01237	0,00704	0,02237	0,01698	0,02056	0,04809	0,01148	0,01601	**						
mar229	0,01329	0,01151	0,01508	0,01061	0,02246	0,01242	0,05191	0,02700	0,05783	0,01239	0,01420	0,00971	0,02239	0,02424	0,02074	0,00703	0,02239	0,05786	0,01507	0,00793	0,02467	0,01790	0,02331	0,05095	0,00881	0,01874	0,00792	**					
mar230	0,01060	0,00883	0,01239	0,00972	0,01972	0,00974	0,04900	0,02423	0,05292	0,01149	0,01151	0,00705	0,01965	0,02149	0,01799	0,02263	0,01965	0,05389	0,01238	0,00704	0,02421	0,01699	0,02240	0,04707	0,01149	0,01602	0,00527	0,00438	**				
mar231	0,01510	0,01151	0,01690	0,01241	0,02524	0,01604	0,05398	0,02888	0,05798	0,00351	0,01421	0,01330	0,02609	0,02796	0,02261	0,01420	0,02609	0,06398	0,01508	0,00616	0,03071	0,02158	0,02702	0,05698	0,00882	0,01873	0,01149	0,01240	0,01150	**			
mar232	0,01892	0,01516	0,01874	0,01422	0,02713	0,01788	0,05401	0,05284	0,06004	0,01061	0,01788	0,01512	0,02797	0,02983	0,02262	0,01421	0,02611	0,06199	0,01873	0,00794	0,03261	0,02180	0,02704	0,05701	0,01240	0,02058	0,01330	0,01240	0,01151	0,01062	**		

Hình 2. Khoảng cách di truyền giữa các cá thể trong quần thể cá Chình hoa thu tại tỉnh Quảng Trị, Việt Nam

Bảng thông số bao gồm số lượng vị trí đa hình (S), tổng số đột biến (Eta), số lượng haplotype (h), đa dạng haplotype (Hd), số lượng các nucleotide khác biệt trung bình (k), đa dạng nucleotide (Pi) và số lượng tối thiểu để xảy ra quá trình tái tổ hợp (Rm) được sử dụng để đánh giá đa dạng DNA của 31 cá thể cá Chình hoa thu được. Kết quả phân tích trình tự sau khi được hiệu chỉnh và giống hàng thực hiện bằng phần mềm MEGA X là vùng bảo tồn với 949/1152 vị trí nucleotide và vùng biến đổi với 203/1152 vị trí nucleotide (Bảng 2). Trong 31 cá thể, 203 vị trí đa hình tách biệt (S) đã tạo ra 209 vị trí đột biến (Eta) và chia 31 cá thể thành 31 kiểu haplotype khác nhau với hệ số đa dạng haplotype chiếm tỷ lệ cao (Hd = 1); số lượng các nucleotide khác biệt trung bình là 29,299 (k); hệ số đa dạng nucleotide chiếm 26,09 × 10⁻³ (Pi). Số lượng tối thiểu

để xảy ra quá trình tái tổ hợp (Rm) trong quần thể là 51 sự kiện. Tất cả các chỉ số được xử lý với mức ý nghĩa thống kê p < 0,05 (Bảng 2).

Kết quả phân tích tỉ lệ xuất hiện của từng loại nucleotide trong vùng gene CR (Bảng 1), khoảng cách di truyền giữa các cá thể (Hình 2) và kết quả phân tích đa dạng DNA trong quần thể (Bảng 2) của nghiên cứu này đã phản ánh đúng đặc tính của vùng gene CR của cá Chình hoa như đã được công bố trong các nghiên cứu trước đây. Cụ thể, vùng gene CR của DNA ty thể có tỉ lệ đột biến cao nhất khi so sánh với các gene khác thuộc DNA ty thể. Do đó, vùng gene CR được xác định rất phù hợp để đánh giá sự đa dạng di truyền quần thể trong cùng một loài như trong nghiên cứu này [23-25].

Bảng 2. Kết quả phân tích đa dạng DNA dựa trên vùng gene CR của quần thể cá Chình hoa (*A. marmorata*)

Quần thể	<i>n</i>	<i>S</i>	<i>Eta</i>	<i>h</i>	<i>Hd</i>	<i>k</i>	<i>Pi</i> × 10 ³	<i>Rm</i>
Quảng Trị	31	203	209	31	1,000	29,299	26,09	51

Ghi chú: Số mẫu phân tích (*n*), Số lượng vị trí đa hình (*S*), tổng số đột biến (*Eta*), số lượng haplotype (*h*), đa dạng haplotype (*Hd*), số lượng các nucleotide khác biệt trung bình (*k*), đa dạng nucleotide (*Pi*) và số lượng tối thiểu để xảy ra quá trình tái tổ hợp (*Rm*).

3.2 Phân tích mối quan hệ di truyền

Dựa trên kết quả so sánh trình tự nucleotide của 31 cá thể Chình hoa trong nghiên cứu với trình tự nucleotide của các cá thể cá Chình hoa thuộc các khu vực Nam Thái Bình Dương, Bắc Thái Bình Dương, Tây Ấn Độ Dương, Đông Ấn Độ Dương, Ambon và Guam (Hình 3 và Bảng 3), chúng tôi nhận thấy phần lớn các cá thể cá Chình hoa thu ở tỉnh Quảng Trị có mối quan hệ gần gũi với các cá thể ở Bắc Thái Bình Dương. Cụ thể, 27 trên tổng số 31 cá thể Chình hoa tại Quảng Trị có mối quan hệ di truyền gần gũi với các cá thể thuộc quần thể cá Chình hoa thuộc khu vực Bắc Thái Bình Dương. Trong đó, Đài Loan có 13 cá thể, Nhật Bản 7, Sulawesi 3, Philippines 2 và Ambon 2 cá thể. Bốn cá thể Chình hoa còn lại trong nghiên cứu này có mối quan hệ di truyền gần gũi với các cá thể Chình hoa thuộc khu vực Nam Thái Bình Dương (Fiji 2 cá thể và Tahiti 2 cá thể).

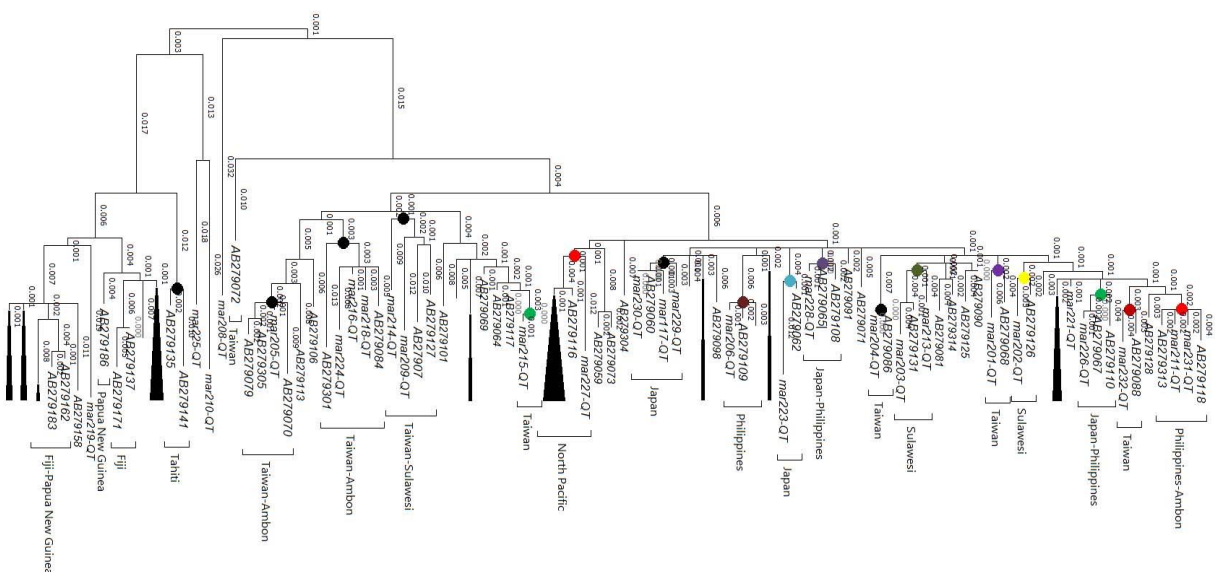
Theo Ishikawa và cs. [26], cá Chình hoa về cơ bản được chia thành bốn quần thể với sự khác biệt về di truyền (Nam Thái Bình Dương, Bắc Thái Bình Dương, Ấn Độ Dương và Guam) với ít nhất bốn khu vực sinh sản khác nhau (hai khu vực ở Bắc Thái Bình Dương, một hoặc hơn hai khu vực ở Nam Thái Bình Dương và Ấn Độ Dương). Kết quả nghiên cứu này cho thấy phần lớn các cá thể thu được tại Quảng Trị có quan hệ di truyền gần gũi với quần thể cá Chình hoa thuộc quần thể Bắc Thái Bình Dương. Điều này chứng tỏ rằng phần lớn

nguồn lợi cá Chình hoa tại Quảng Trị được bổ sung từ các bãi đẻ thuộc khu vực Bắc Thái Bình Dương. Giả thiết này phù hợp với các kết quả nghiên cứu trước đây. Theo Han và cs. [27], cá Chình nhật bản (*A. japonica*) và cá Chình hoa (*A. marmorata*) có sự trùng lặp về vị trí bãi đẻ ở khu vực Bắc Thái Bình Dương. Dòng chảy “North Equatorial Current và Kuroshio” được xem là hai dòng chảy chính, vận chuyển ấu trùng cá chình đến lục địa [28-30] và hai phân nhánh của dòng chảy Kuroshio có thể đi vào bờ biển miền Trung Việt Nam [31]. Hơn nữa, Nguyễn và cs. [12] đã tìm thấy sự có mặt của cá Chình nhật bản tại Việt Nam. Do vậy, mối quan hệ di truyền gần gũi giữa cá Chình hoa tại Quảng Trị và quần thể cá Chình hoa thuộc Bắc Thái Bình Dương là kết quả hợp lý.

Việc phát hiện mối quan hệ di truyền gần gũi giữa bốn cá thể tại Quảng Trị với các cá thể thuộc quần thể Nam Thái Bình Dương được xem như một điểm đáng chú ý trong nghiên cứu này. Hiện nay, vị trí bãi đẻ của quần thể cá Chình hoa và con đường di cư của ấu trùng cá Chình hoa tại khu vực này vẫn chưa được làm rõ [32]. Tuy nhiên, Ambon gần với bờ biển Việt Nam hơn so với Fiji và Tahiti, cho thấy có sự pha trộn giữa hai quần thể cá Chình hoa Bắc và Nam Thái Bình Dương [22]. Vì vậy, việc xuất hiện các cá thể thuộc quần thể cá Chình hoa Nam Thái Bình Dương tại Quảng Trị có thể xuất phát từ các cá thể đi lạc từ vùng biển Ambon đến Việt Nam.

Bảng 3. Mối quan hệ di truyền giữa các cá thể trong quần thể cá Chình hoa thu tại Quảng Trị và một số cá thể cá Chình được công bố trên ngân hàng DDBJ/EMBL/GenBank Accession

Khu vực địa lý	Vị trí	Ký hiệu cá thể Quảng Trị	DDBJ/EMBL/GenBank Số nhận dạng	
Bắc Thái Bình Dương	Sulawesi	mar202; mar203 và mar213	AB279126; AB279131	
	Philippines	mar206; mar227	AB279109; AB279116	
	Taiwan	mar201; mar204; mar205; mar208; mar209; mar212; mar214; mar215, mar216, mar218; mar220; mar224 và mar232	AB279088; AB279068; AB279086; AB279075; AB279080; AB279102; AB279076; AB2279084; AB279070; AB279072	
		Japan	mar217; mar221; mar223; mar226; mar228; mar229 và mar230	AB279067; AB279065; AB279062; AB279060
		Ambon	mar211; mar231	AB279313
Nam Thái Bình Dương	Fiji	mar219; mar222	AB279158; AB2791753	
	Tahiti	mar210; mar225	AB279141	



Hình 3. Cây phát sinh di truyền của quần thể cá Chình hoa xây dựng dựa trên vùng gene CR của hệ gene ty thể bằng phương pháp Maximum Likelihood dựa trên mô hình Tamura-Nei với 1000 lặp lại trên phần mềm MEGA X

4 Kết luận

Quần thể cá Chình hoa tại Quảng Trị phần lớn có quan hệ di truyền gần gũi với quần thể cá Chình hoa thuộc khu vực Bắc Thái Bình Dương. Sự có mặt của các cá thể Chình hoa tại Quảng Trị có

mối quan hệ di truyền gần gũi với quần thể cá Chình hoa tại Nam Thái Bình Dương có thể được xem như một phát hiện quan trọng. Tuy nhiên, quá trình di cư của ấu trùng cá Chình hoa có nguồn gốc từ Nam Thái Bình Dương đến bờ biển Việt Nam

cần phải được làm rõ trong các nghiên cứu tiếp theo nhằm cung cấp những thông tin đáng tin cậy phục vụ cho công tác bảo tồn nguồn lợi này.

Thông tin tài trợ

Nghiên cứu này được Bộ Giáo dục và Đào tạo, Việt Nam, tài trợ trong đề tài mã số B2020-DHH-09.

Tài liệu tham khảo

1. Ege V. A revision of the genus *Anguilla* SHAW, a systematic, phylogenetic and geographical study. Dana Report. 1939;16:1-256.
2. Watanabe S. Taxonomy of the Freshwater Eels, Genus *Anguilla* Schrank, 1798. In: Aida K, Tsukamoto K, Yamauchi K, editors. Eel Biology. Tokyo: Springer Japan; 2003. p. 3-18.
3. IUCN. The IUCN red list of threatened species. Version 2014.3 [Internet]; 2014 [cited 17 Nov 2015]. Available from: <http://www.iucnredlist.org/>
4. Jacoby DM, Casselman JM, Crook V, DeLucia MB, Ahn H, Kaifu K, et al. Synergistic patterns of threat and the challenges facing global anguillid eel conservation. *Global Ecology Conservation*. 2015;4:321-333.
5. Crook V. Slipping away: International *Anguilla* eel trade and the role of the Philippines. Cambridge: TRAFFIC International and ZSL; 2014. p. 24-30.
6. Jansen HM, Winter HV, Bruijs MC, Polman HJ. Just go with the flow? Route selection and mortality during downstream migration of silver eels in relation to river discharge. *ICES Journal of Marine Science*. 2007;64:1437-1443.
7. Pacariz S, Westerberg H, Björk G. Climate change and passive transport of European eel larvae. *Ecology Freshwater Fish*. 2013;23:86-94.
8. Fazio G, Sasal P, Mouahid G, Lecomte-Finiger R, Moné H. Swim bladder nematodes (*Anguillicoloides crassus*) disturb silvering in European eels (*Anguilla anguilla*). *Journal of Parasitology*. 2012;98:695-705.
9. Wahlberg M, Westerberg H, Aarestrup K, Feunteun E, Gargan P, Righton D. Evidence of marine mammal predation of the European eel (*Anguilla anguilla* L.) on its marine migration. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 2014;86:32-38.
10. Robinet TT, Feunteun EE. Sublethal effects of exposure to chemical compounds: a cause for the decline in Atlantic eels?. *Ecotoxicology*. 2002;11:265-277.
11. Faulks LK, Kerezszy A, Unmack PJ, Johnson JB, Hughes JM. Going, going, gone? Loss of genetic diversity in two critically endangered Australian freshwater fishes, *Scaturiginichthys vermeilipinnis* and *Chlamydogobius squamigenus*, from Great Artesian Basin springs at Edgbaston, Queensland, Australia. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*. 2017;27(1):39-50.
12. Nguyen AT, Tsukamoto K, Lokman PM. Composition and distribution of freshwater eels *Anguilla* spp. in Vietnam. *Fisheries Science*. 2018;84(6):987-94.
13. Petit RJ, El Mousadik A, Pons O. Identifying populations for conservation on the basis of genetic markers. *Conservation biology*. 1998;12(4):844-855.
14. Borrell YJ, Piñera JA, Sánchez Prado JA, Blanco G. Mitochondrial DNA and microsatellite genetic differentiation in the European anchovy *Engraulis encrasicolus* L. *ICES Journal of Marine Science*. 2012;69(8):1357-1371.
15. Semeraro F, Cancarini A, dell'Omo R, Rezzola S, Romano RM, Costagliola C. Diabetic retinopathy: vascular and inflammatory disease. *Journal of Diabetes Research* 2015;58:20-60.
16. Adamkewicz S, Harasewych M. Systematics and biogeography of the genus *Donax* (Bivalvia: Donacidae) in eastern North America. *American Malacological Bulletin*. 1996;13(1):97-103.
17. Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG. The CLUSTAL_X Windows Interface: Flexible Strategies for Multiple Sequence Alignment Aided by Quality Analysis Tools. *Nucleic Acids Research*. 1997;25(24):4876-82.
18. Hall TA. BIOEDIT: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/ NT. *Nucleic Acids Symposium Series*. 1999;41:95-98.
19. Nei M, Kumar S. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. New York: Oxford University Press; 2000.
20. Rozas J, Ferrer-Mata A, Sánchez-DelBarrio JC, Guirao-Rico S, Librado P, Ramos-Onsins SE, et al. DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of

- Large Data Sets. *Molecular Biology and Evolution*. 2017;34(12):3299-302.
21. Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Molecular Biology and Evolution*. 2018;35(6):1547-1549.
 22. Minegishi Y, Aoyama J, Tsukamoto K. Multiple population structure of the giant mottled eel, *Anguilla marmorata*. *Molecular Ecology*. 2008;17: 3109-3122.
 23. Moritz C, Dowling TE, Brown WM. Evolution of animal mitochondrial DNA: relevance for population biology and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 1987;18:269-292.
 24. Stoneking M, Hedgecock D, Higuchi RG, Vigilant L, Erlich HA. Population variation of human mtDNA control region sequences detected by enzymatic amplification and sequencespecific oligonucleotide probes. *American Journal of Human Genetics*. 1991; 48:370-382.
 25. Avise JC. *Molecular Markers, Natural History, and Evolution*, 2nd edn. Massachusetts: Sinauer & Associates, Sunderland; 2004.
 26. Ishikawa S, Tsukamoto K, Nishida M. Genetic evidence for multiple geographic populations of the giant mottled eel *Anguilla marmorata* in the Pacific and Indian oceans. *Ichthyological Research*. 2004; 51(4):343-53
 27. Han Y-S, Yambot AV, Zhang H, Hung C-L. Sympatric Spawning but Allopatric Distribution of *Anguilla japonica* and *Anguilla marmorata*: Temperature- and Oceanic Current-Dependent Sieving. *PLOS ONE*. 2012;7(6):e37484
 28. Tesch FW. *The eel: biology and management of anguillid eels*, 5th edn. Oxford: Wiley-Blackwell; 2003.
 29. Aoyama J. Life history and evolution of migration in catadromous eels (genus *Anguilla*). *Aqua-BioScience Monographs*. 2009;2:1-42.
 30. Kuroki M, Aoyama J, Miller M, Yoshinaga T, Shinoda A, Hagihara S, et al. Sympatric spawning of *Anguilla marmorata* and *Anguilla japonica* in the western North Pacific Ocean. *Journal of Fish Biology*. 2009;74:1853-1865.
 31. Hu J, Kawamura H, Hong H, Qi Y. A review on the currents in the South China Sea: seasonal circulation, South China Sea warm current and Kuroshio intrusion. *Journal of Oceanography*. 2000;56:607-624.
 32. Kuroki M, Miller MJ, Feunteun E, Sasal P, Pikerling T, Han Y-S, et al. Corrigendum to "Distribution of anguillid leptocephali and possible spawning areas in the South Pacific Ocean" [Progr. Oceanogr. 180 (2020) 102234]. *Progress in Oceanography*. 2020;183: 102310.