



## DNA BARCODING MỘT SỐ LOÀI CÁ NƯỚC NGỌT Ở ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

Vũ Đăng Hạ Quyên<sup>1</sup>, Đặng Thúy Bình<sup>1</sup>, Trương Thị Oanh<sup>2</sup> và Thái Thị Lan Phương<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Viện Công nghệ sinh học và Môi trường, Trường Đại học Nha Trang

<sup>2</sup> Sinh viên ngành Công nghệ sinh học, Trường Đại học Nha Trang

### Thông tin chung:

Ngày nhận: 10/6/2014

Ngày chấp nhận: 04/8/2014

### Title:

DNA barcoding of freshwater fishes in the Mekong Delta

### Từ khóa:

DNA barcoding, cá nước ngọt, hình thái, Đồng bằng sông Cửu Long, Việt Nam

### Keywords:

DNA barcoding, freshwater fish, morphology, the Mekong Delta, Vietnam

### ABSTRACT

The Mekong Delta in Vietnam is known as a very rich area supplied with rich alluvial deposits from the Mekong flows, known in high biodiversity of fishes. Our study focuses on identification of freshwater fish species in this area. Based on morphological characteristics, this study found 22 species belonging to 17 genus, 15 families, 8 orders. Sequences of 16S rRNA in mitochondrial DNA were used to test the reliability of classification as well as examine phylogenetic relationships among species. The phylogram showed the monophyly of studied fish genera, however, genetic difference of 16S rRNA sequences has been found between current species and species reported in genbank. These data can be used as data sources for studies on biodiversity and management of fisheries resources in the Mekong Delta in Vietnam.

### TÓM TẮT

Đồng bằng sông Cửu Long được biết đến là một vùng đất trù phú nhờ phù sa bồi đắp từ dòng chảy của sông Mekong, đồng thời rất đa dạng về các loài cá. Nghiên cứu của chúng tôi tập trung vào phân loại một số loài cá nước ngọt ở khu vực này. Dựa vào đặc điểm hình thái, nghiên cứu phát hiện được 22 loài cá thuộc 17 giống, 15 họ, 8 bộ. Sử dụng trình tự gen 16S rRNA của DNA ty thể để kiểm chứng phân loại dựa vào hình thái và xây dựng mối quan hệ phát sinh chủng loại của các loài cá nghiên cứu. Cây phân loại cho thấy sự đồng dạng của các giống cá nghiên cứu, tuy nhiên, có sự khác biệt trình tự gen 16S giữa các loài trong nghiên cứu hiện tại và loài tương tự trên Genbank. Dữ liệu này có thể được sử dụng như nguồn dữ liệu đầu vào cho các nghiên cứu đa dạng sinh học và quản lý nguồn lợi thủy sản Đồng bằng sông Cửu Long.

## 1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá là nhóm động vật có xương sống với số loài tương đối lớn, có ý nghĩa quan trọng trong tự nhiên, góp phần làm tăng độ đa dạng sinh học, tạo sự phát triển bền vững cho môi trường. Mặt khác, cá còn là một nguồn lợi thực phẩm quan trọng đối với con người.

Nằm ở hạ lưu sông Mekong, Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) có tổng diện tích là 40 553,1 km<sup>2</sup> (Tổng cục Thống kê, 2012), với hệ thống sông ngòi dày đặc, các loại hình thủy vực khác nhau như sông, kênh rạch, vùng cửa sông, rừng ngập mặn và bãi bồi ven biển. Vì vậy, nơi đây rất phong phú về nguồn lợi thủy sản, đặc biệt là các loài cá. Trần Đức Định và ctv. (2013) đã mô tả được 322 loài cá

ở ĐBSCL, trong đó có 186 loài cá nước ngọt. Nguyễn Thanh Tùng và *ctv.* (2005) xác định 252 loài cá phân bố ở tỉnh Vĩnh Long.

Tuy nhiên, việc khai thác quá mức đã làm giảm thiểu nguồn lợi thủy sản và tác động đến mức độ đa dạng sinh học trong khu vực. Thêm vào đó, các chương trình, dự án phát triển đập thủy điện trên dòng chính ở phía thượng nguồn đã và đang tác động mạnh đến lưu vực sông Mekong trong việc giảm thiểu nguồn lợi và biến động đa dạng sinh học do các tác động kép của việc giảm lưu lượng nước trong các dòng chảy từ việc xây đập và đồng thời sự xâm nhập của nước biển do biến đổi khí hậu gia tăng.

Kỹ thuật di truyền mã vạch DNA (DNA barcoding) được ứng dụng rộng rãi trong nghiên cứu đa dạng di truyền, mối quan hệ phát sinh loài và kiểm chứng phân loại các loài có đặc điểm hình thái học dễ gây nhầm lẫn (Herbert *et al.* 2003). Dữ liệu di truyền sử dụng kỹ thuật DNA barcoding được xây dựng cho 14 loài cá nước ngọt hồ Laut Tawar, Indonesia (Muchlisin *et al.* 2013), phân định giữa hai loài cá da trơn *Pterygoplichthys suckermouth* sailfin - *P. pardalis* và *P. disjunctivus* tại hệ thống sông Marikina, Philippines (Jumawan *et al.* 2011), phân loại các loài cá biển của Trung Quốc (Zhang, 2011) và đa dạng khu hệ cá nước ngọt ở khu vực cận nhiệt đới (Pereira *et al.* 2013).

Nghiên cứu này xác định sự đa dạng khu hệ cá nước ngọt ĐBSCL dựa trên đặc điểm hình thái và di truyền (kỹ thuật di truyền mã vạch), đồng thời xây dựng mối quan hệ phát sinh chủng loại của các loài cá nghiên cứu. Dữ liệu này có thể được sử dụng như nguồn dữ liệu đầu vào cho các nghiên cứu đa dạng sinh học và quản lý nguồn lợi thủy sản ĐBSCL.

## 2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Đối tượng và phương pháp thu mẫu

Các loài cá nước ngọt được thu vào tháng 9 và 12/2013 dựa trên phương pháp thu mẫu ngẫu nhiên ngoài thực địa; địa điểm thu mẫu là các chợ cá địa phương thuộc các tỉnh Cần Thơ, An Giang, Đồng Tháp, Vĩnh Long, Trà Vinh, Bến Tre, Tiền Giang của ĐBSCL. Mẫu sau khi thu được rửa sạch bằng nước ngọt và mã hóa. Tiến hành phân loại bằng hình thái ngay khi mẫu còn tươi. Mô cơ cá được cố định trong cồn 96° và bảo quản lạnh ở - 20°C cho các nghiên cứu di truyền.

### 2.2 Phương pháp nghiên cứu hình thái

Quan sát sơ bộ bên ngoài cơ thể, đo các chỉ tiêu

hình thái (mm), cân khối lượng (g) cơ thể cá, phân loại cá theo các khóa phân loại và mô tả của Rainboth (1996), Nguyễn Văn Hào (2005), Trần Đức Định và *ctv.* (2013). Xây dựng bộ mẫu cá và sắp xếp theo họ, giống. Mẫu được bảo quản ở phòng thí nghiệm trường Đại học Nha Trang.

### 2.3 Phương pháp nghiên cứu di truyền

DNA tổng số được tách chiết từ mẫu cơ của từng cá thể cá bằng bộ kit Thermo Scientific Dream Taq DNA Polymerase (Thermo Scientific) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Phân đoạn 16S rRNA của DNA ty thể được khuếch đại với cặp mồi 16SF (5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3') và 16SR (5'-CCGGTCTGAAGTCAGATCACGT-3') (Palumbi *et al.* 1991). Phản ứng PCR được tiến hành với tổng thể tích 25 µL bao gồm 2,5µL Buffer (1X), 5 µL mẫu DNA, 1 µL mỗi mồi (10µM), 0,5 µL dNTP (10µM), 0,125 µL Dream Taq Polymerase (5U/µL) và H<sub>2</sub>O cho đủ thể tích. Chu trình nhiệt của phản ứng PCR: Biến tính ban đầu tại 94°C trong 7 phút; sau đó là 38 chu kỳ của 92°C trong 30 giây, nhiệt độ lai 48°C trong 30 giây, 72°C trong 1 phút; cuối cùng là bước kéo dài tại 72°C trong 7 phút.

Sản phẩm của phản ứng PCR được điện di trên gel agarose 1,5% được nhuộm Ethidium bromide. Kết quả được ghi nhận bằng hệ thống phân tích hình ảnh tự động GelDoc và phần mềm Quantity One (Bio-rad). Sản phẩm PCR được tiến hành phản ứng giải trình tự theo nguyên tắc Dye – labelled dideoxy terminator (Big Dye Terminator v.3.1, Applied Biosystems) với các đoạn mồi tương tự như phản ứng PCR theo chương trình luân nhiệt như sau: 96°C trong 20 giây, 50°C trong 20 giây, cuối cùng là 60°C trong 4 phút. Sản phẩm sau đó được phân tích bằng thiết bị ABI Prism 3.700 DNA Analyser (Applied Biosystems).

Các trình tự được kết nối bằng chương trình Geneious ver 7 ([www.support.geneious.com/](http://www.support.geneious.com/)), và kiểm chứng với dữ liệu từ GenBank bằng chương trình BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>). Các trình tự được đóng hàng bằng phần mềm BioEdit 7.0.1 (Hall, 1999). Phân tích di truyền được tiến hành với trình tự gen 16S rRNA của DNA ty thể. Phân tích mối quan hệ phát sinh loài được tiến hành dựa trên thuật toán Maximum Likelihood sử dụng phần mềm MEGA 6 (Tamura và *ctv.* 2013) với độ lặp lại 1000 lần. Giá trị bootstrap (BT) được tính toán để xác định tính chính xác của thuật toán. Cây đa dạng loài được hiệu chỉnh bằng phần mềm MEGA 6.

**3 KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN**

**3.1 Phân loại hình thái**

Sau khi phân tích hình thái, nghiên cứu phân

loại được 22 loài cá thuộc 17 giống, 15 họ, 8 bộ. Đa dạng nhất là bộ cá Vược (Perciformes) với 6 loài, tiếp đến là bộ cá Da trơn (Siluriformes) với 5 loài và bộ cá Chép (Cypriniformes) với 5 loài. Danh sách các loài cá được trình bày ở Bảng 1.

**Bảng 1: Danh sách các loài cá nước ngọt thu tại ĐBSCL, Việt Nam**

Bộ	Họ/ Phân họ	Giống	Tên khoa học	Tên thường gọi
Synbranchiformes	Mastacembelidae	<i>Mastacembelus</i>	<i>Mastacembelus faves</i>	Cá chạch bông
	Toxotidae	<i>Toxotes</i>	<i>Toxotes chatareus</i>	Cá mang rô
Perciformes	Osphronemidae	<i>Trichopodus</i>	<i>Trichopodus trichopterus</i>	Cá sặc chám
			<i>Trichopodus microlepis</i>	Cá sặc điệp
			<i>Trichopodus pectoralis</i>	Cá sặc rằn
			<i>Datnioides polota</i>	Cá hương vện
	Lobotidae	<i>Datnioides</i>	<i>Datnioides polota</i>	Cá hương vện
	Pristolepididae	<i>Pristolepis</i>	<i>Pristolepis fasciata</i>	Cá rô biển
Siluriform	Bagridae	<i>Mystus</i>	<i>Mystus mysticetus</i>	Cá chột sọc Mitti
			<i>Ompok bimaculatus</i>	Cá trên bầu
			<i>Pangasius macronema</i>	Cá sát sọc
			<i>Pangasius krempfi</i>	Cá bông lau
			<i>Pangasius sp.</i>	Cá tra bản
Clupeiformes	Clupeidae	<i>Clupeoides</i>	<i>Clupeoides borneensis</i>	Cá cơm trích
	Engraulidae/ Coiliinae	<i>Coilia</i>	<i>Coilia reventischi</i>	Cá lòng tong
Cypriniformes	Cobotidae /Botiinae	<i>Syncrossus</i>	<i>Syncrossus helodes</i>	Cá heo rừng
			<i>Yasuhikotakia modesta</i>	Cá heo vạch
	Cobotidae/Cobitinae	<i>Acantopsis</i>	<i>Acantopsis sp.</i>	Cá khoai
			<i>Henicorhynchus lobatusi</i>	Cá linh
	Cyprinidae/Cyprinidae	<i>Paralaubuca</i>	<i>Paralaubuca typus</i>	Cá thiếu mẫu
Pleuronectidae	Cynoglossidae	<i>Cynoglossus</i>	<i>Cynoglossus feldmanni</i>	Cá bơn phen
Osteoglossiformes	Notopteridae	<i>Notopterus</i>	<i>Notopterus notopterus</i>	Cá thát lát
Pleuronectiformes	Soleidae	<i>Brachirus</i>	<i>Brachirus panoides</i>	Cá lưỡi mè

**3.2 Phân loại các loài cá nước ngọt phổ biến ở ĐBSCL dựa trên gen 16S rDNA**

Sản phẩm PCR của gen 16S rRNA được khuếch

đại thành công với kích thước khoảng 600bp. Sau khi kết nối các trình tự gen 16S rRNA thu được bằng chương trình Geneious và so sánh với dữ liệu từ GenBank (GB), kết quả được thể hiện ở Bảng 2.

**Bảng 2: Kết quả độ tương đồng của các trình tự 16S rRNA từ 22 loài cá thu tại ĐBSCL, Việt Nam với dữ liệu từ GenBank**

STT	Loài	Loài tương đồng	Độ tương đồng	Mã số GenBank
1	<i>Pangasius krempfi</i>	<i>Pangasius krempfi</i>	100%	HM355773.1
2	<i>Pangasius macronema</i>	<i>Pangasius macronema</i>	100%	HM355776.1
		<i>Pangasius krempfi</i>	99%	HM355773.1
3	<i>Pangasius sp.</i>	<i>Pangasius sanitwongsei</i>	99%	HM355780.1
		<i>Pangasius larnaudii</i>	98%	HM355775.1
		<i>Pangasius pangasius</i>	99%	GQ411088.1

STT	Loài	Loài tương đồng	Độ tương đồng	Mã số GenBank
		<i>Pangasius nasutus</i>	98%	HM355778.1
		<i>Pangasius conchophilus</i>	98%	HM355772.1
		<i>Pangasius macronema</i>	98%	HM355776.1
		<i>Pangasius polyuranodon</i>	97%	HM355779.1
		<i>Pangasius bocourti</i>	97%	HM355770.1
4	<i>Mystus mysticetus</i>	<i>Mystus mysticetus</i>	100%	HQ257355.1
		<i>Mystus rhegma</i>	100%	JQ343984.1
		<i>Mystus multiradiatus</i>	98%	HQ257353.1
		<i>Mystus micracanthus</i>	97%	HQ257351.1
		<i>Mystus gulio</i>	96%	HQ257350.1
		<i>Mystus cavasius</i>	95%	HQ257349.1
		<i>Mystus wolffii</i>	95%	HQ257360.1
		<i>Mystus oculatus</i>	95%	FJ432685.1
		<i>Mystus atrifasciatus</i>	97%	JQ248054.1
		<i>Mystus bocourti</i>	94%	HQ257348.1
5	<i>Ompok bimaculatus</i>	<i>Ompok bimaculatus</i>	97%	GQ469642.1
		<i>Ompok malabaricus</i>	97%	FN811343.1
		<i>Ompok pabo</i>	96%	GQ469605.1
		<i>Ompok pabda</i>	96%	GQ469568.1
6	<i>Henicorhynchus lobatusi</i>	<i>Henicorhynchus lobatusi</i>	100%	AP012145.1
		<i>Henicorhynchus siamensis</i>	95%	JX074104.1
		<i>Henicorhynchus lineatus</i>	93%	AP011386.1
		<i>Henicorhynchus ornatipinnis</i>	93%	JX074122.1
7	<i>Paralaubuca typus</i>	<i>Paralaubuca typus</i>	99%	AP011211.1
8	<i>Acantopsis</i> sp.	<i>Acantopsis choirrhynchos</i>	98%	AB242161.1
9	<i>Syncrossus helodes</i>	<i>Sinibotia superciliaris</i>	95%	JX683724.1
		<i>Botia</i> sp.	93%	AY787979.1
		<i>Botia macracantha</i>	93%	AF357583.1
10	<i>Yasuhikotakia modesta</i>	<i>Sinibotia superciliaris</i>	95%	JX683724.1
		<i>Botia macracantha</i>	94%	AF357583.1
11	<i>Coilia rebentischii</i>	<i>Coilia ectenes</i>	95%	JX625133.1
		<i>Coilia nasus</i>	95%	AP009135.1
		<i>Coilia lindmani</i>	95%	AP011558.1
		<i>Coilia mystus</i>	95%	JX534238.1
		<i>Coilia grayii</i>	95%	KF938994.1
		<i>Coilia reynaldi</i>	95%	AP011559.1
12	<i>Clupeoides borneensis</i>	<i>Clupeoides borneensis</i>	99%	AP011586.1
		<i>Clupeoides</i> sp.	94%	AP011587.1
13	<i>Toxotes chatareus</i>	<i>Toxotes chatareus</i>	99%	AP006806.1
14	<i>Brachirus panoides</i>	<i>Achiroides leucorhynchos</i>	92%	AM182050.1
15	<i>Datnioides polota</i>	<i>Datnioides polota</i>	100%	EF120868.1
16	<i>Trichopodus trichopterus</i>	<i>Trichogaster trichopterus</i>	98%	AY763713.1
		<i>Trichogaster pectoralis</i>	97%	AY763712.1
		<i>Trichogaster microlepis</i>	96%	AY763711.1
		<i>Trichogaster leerii</i>	94%	AF519656.1
17	<i>Trichopodus microlepis</i>	<i>Trichogaster microlepis</i>	99%	AY763711.1
		<i>Trichogaster trichopterus</i>	96%	AY763713.1
		<i>Trichogaster pectoralis</i>	96%	AY763712.1
		<i>Trichogaster leerii</i>	94%	AF519656.1
18	<i>Trichopodus pectoralis</i>	<i>Trichogaster pectoralis</i>	100%	AY763712.1
19	<i>Pristolepis fasciata</i>	<i>Pristolepis rubripinnis</i>	97%	KC774738.1
		<i>Pristolepis fasciata</i>	97%	GQ478235.1

STT	Loài	Loài tương đồng	Độ tương đồng	Mã số GenBank
20	<i>Mastacembelus favus</i>	<i>Pristolepis marginata</i>	96%	KC774737.1
		<i>Mastacembelus favus</i>	96%	AP002946.1
		<i>Mastacembelus mastacembelus</i>	95%	GU174759.1
		<i>Mastacembelus armatus</i>	95%	KC774732.1
		<i>Mastacembelus erythrotaenia</i>	96%	JQ939046.1
		<i>Notopterus notopterus</i> Thai	99%	AP008925.1
21	<i>Notopterus notopterus</i>	<i>Notopterus notopterus</i> India	98%	AP008924.1
		<i>Chitala blanci</i>	96%	AP008921.1
		<i>Chitala ornata</i>	95%	AP008923.1
		<i>Chitala lopis</i>	95%	AP008922.1
		<i>Chitala chitala</i>	95%	JF300361.1
		<i>Notopterus chitala</i>	95%	U33531.1
22	<i>Cynoglossus feldmanni</i>	<i>Cynoglossus semilaevis</i>	87%	DQ112682.1
		<i>Cynoglossus lineolatus</i>	86%	JQ349004.1
		<i>Cynoglossus abbreviatus</i>	86%	DQ112681.1
		<i>Cynoglossus joyneri</i>	86%	HQ003908.1
		<i>Cynoglossus lighti</i>	85%	DQ112683.1
		<i>Cynoglossus purpureomaculatus</i>	85%	DQ112680.1
		<i>Cynoglossus sinicus</i>	85%	DQ112684.1
		<i>Cynoglossus robustus</i>	85%	HQ003913.1
		<i>Cynoglossus interruptus</i>	84%	JQ939061.1

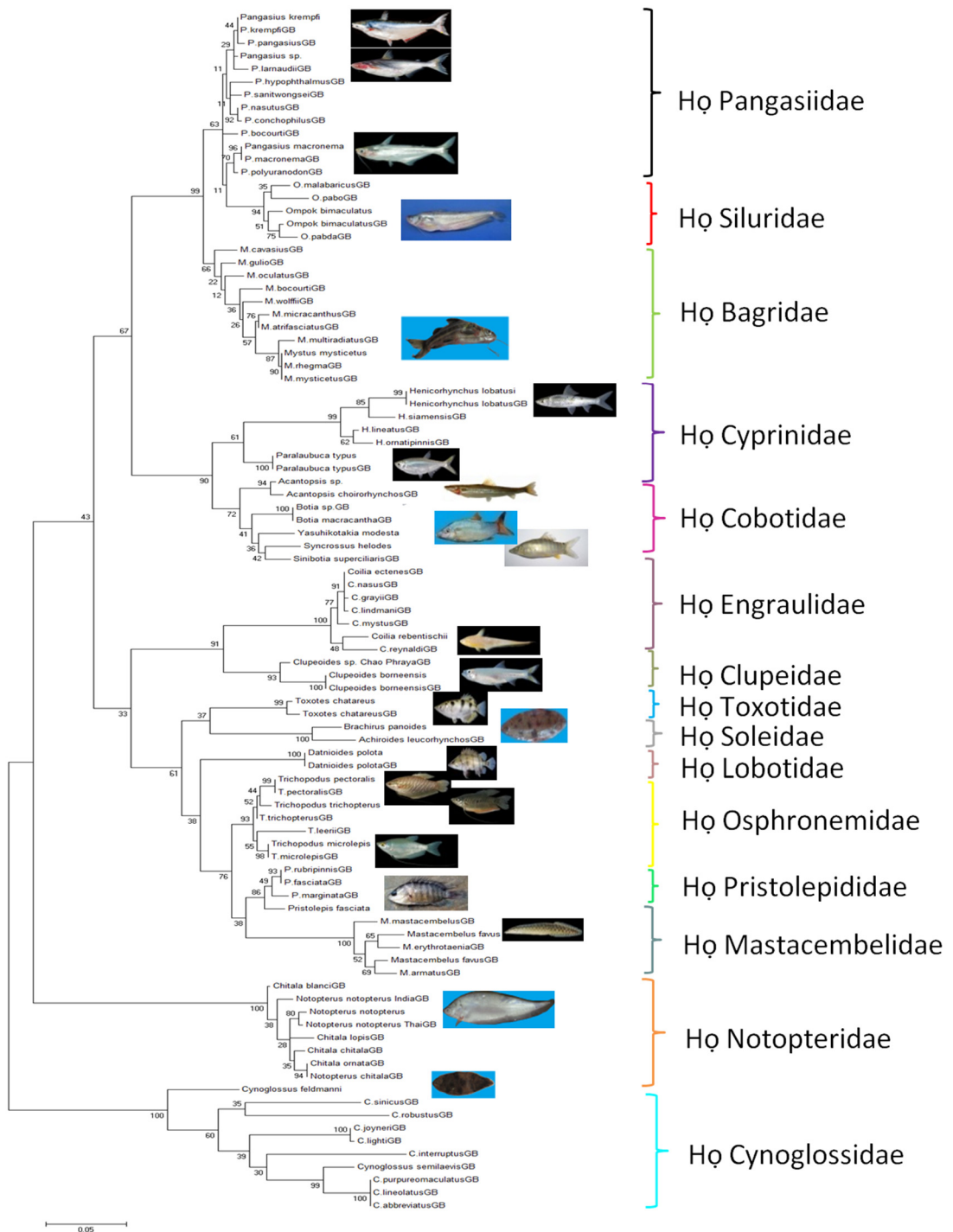
Kết quả của Bảng 2 cho thấy sự tương đồng có giá trị tương đối cao giữa các loài cá thu được ở ĐBSCL với trình tự tương tự trên GenBank. Sáu loài *Pangasius krempfi*, *Pangasius macronema*, *Mystus mysticetus*, *Henicorhynchus lobatusi*, *Datnioides polota*, *Trichopodus pectoralis* có độ tương đồng chính xác 100% với trình tự của các loài này từ GenBank. Các loài *Paralaubuca typus*, *Clupeoides borneensis*, *Toxotes chatareus*, *Trichopodus microlepis*, *Notopterus notopterus* có độ tương đồng 99%; loài *Trichopodus trichopterus* có độ tương đồng 98%, loài *Ompok bimaculatus*, *Pristolepis fasciata* có độ tương đồng 97%; *Mastacembelus favus* có độ tương đồng 96% so với các trình tự tương ứng trên GenBank. *Syncrossus helodes*, *Yasuhikotakia modesta*, *Coilia rebenitischii*, *Cynoglossus feldmanni* và *Brachirus panoides* chưa có trình tự cập nhật trên GenBank, độ tương đồng của các loài này được thể hiện qua mối quan hệ với các loài cùng giống và cùng họ.

*Mystus mysticetus* có độ tương đồng với *Mystus mysticetus*GB và *Mystus rhegma*GB đều là

100%. Cần kết hợp các chỉ tiêu phân loại về mặt hình thái để tránh nhầm lẫn giữa 2 loài này. *Mystus mysticetus* có vi mỡ ngắn, sọc đậm dọc thân, đốm tròn đen ở sau đầu (Trần Đức Định và ctv., 2013), còn *Mystus rhegma* có vi mỡ dài hơn chiều dài đầu (Rainboth, 1996), sọc nhạt dọc thân.

Hai loài chi phân loại đến giống là *Acantopsis* sp. và *Pangasius* sp. cũng thể hiện được mối quan hệ gần gũi với các loài cùng giống. Sự sai khác về trình tự của *Acantopsis* sp. với *Acantopsis hoiorrhynchus*GB là 1,6%. Sự sai khác về trình tự của *Pangasius* sp. với các loài *Pangasius pangasius*GB, *Pangasius krempfi*GB, và *Pangasius larnaudii*GB lần lượt là 1,2%, 1,4% và 1,6%.

Dựa trên các thông số ở Bảng 2, các trình tự sau khi so sánh và đóng hàng được sử dụng cho việc phân tích mối quan hệ tiến hóa. Kết quả được trình bày ở Hình 1 với cây đa dạng loài cùng các giá trị BT và giá trị tin cậy được thể hiện trên các nhánh.



**Hình 1: Cây phát sinh loài từ phương pháp Maximum Likelihood với độ lặp lại 1000 lần dựa trên gen 16S rRNA của các loài cá thu tại ĐBSCL, Việt Nam**

Ký hiệu các giống thuộc các họ cá nghiên cứu. Giá trị bootstrap được thể hiện trên các nhánh. Hình ảnh các loài cá nghiên cứu được minh họa.

**Hình 1** cho thấy các giống cá nghiên cứu thể hiện sự đồng dạng (monophyletic) trên cây phân loại và phù hợp với hệ thống phân loại dựa trên đặc điểm hình thái. Cây phát sinh loài dựa trên gen 16S rRNA chia làm 4 nhóm chính. **Nhóm 1** phân thành 2 nhóm phụ: **Nhóm 1.1** gồm 29 loài (5 loài trong nghiên cứu hiện tại và 24 loài từ Genbank) thuộc 3 họ Pangasiidae, Siluridae, Bagridae của bộ cá Da trơn – Siluriformes; **Nhóm 1.2** gồm 14 loài (5 loài trong nghiên cứu hiện tại và 9 loài thuộc GB) thuộc 2 họ Cyprinidae, Cobotidae của bộ cá Chép – Cypriniformes. **Nhóm 2** phân thành 2 nhóm phụ: **Nhóm 2.1** gồm 10 loài (2 loài trong nghiên cứu hiện tại và 8 loài thuộc GB) thuộc 2 họ Engraulidae, Clupeidae của bộ cá Trich - Clupeiformes; **Nhóm 2.2** gồm 22 loài (8 loài trong nghiên cứu hiện tại và 14 loài thuộc GB) thuộc 6 họ Soleidae (bộ cá Bơn – Pleuronectiformes), Toxotidae, Lobotidae, Osphronemidae, Pristolepididae (bộ cá Vược – Perciformes), Mastacembelidae (bộ cá Mang liềm – Synbranchiformes). **Nhóm 3** bao gồm 8 loài (1 loài trong nghiên cứu hiện tại và 7 loài thuộc GB) thuộc họ Notopteridae, bộ cá Thát lát – Osteoglossiformes. **Nhóm 4** bao gồm 10 loài (1 loài trong nghiên cứu hiện tại và 9 loài thuộc GB) thuộc họ Cynoglossidae, bộ cá Bơn – Pleuronectidae.

Ở **nhóm 1.1**, vị trí *Pangasius macronema* thể hiện mối quan hệ gần gũi về mặt di truyền với *Pangasius polyuranodon*; loài *Pangasius nasutus* có mối quan hệ gần gũi với *Pangasius conchophilus*. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Pouyaud *et al.* (1998). Karinthanyakit và Jondeuung (2012) xác định *Pangasius krempfi* thuộc nhóm gần gũi với *Pangasius nasutus*, *Pangasius conchophilus*; *Pangasius sanitwongsei* gần gũi với *Pangasius larnaudii*. Tuy nhiên, vị trí của *Pangasius krempfi* trong **nhóm 1.1** lại gần gũi với *Pangasius pangasius* hơn, và *Pangasius sanitwongsei* lại nằm ở nhánh riêng biệt với *Pangasius larnaudii*. Cũng ở **nhóm 1.1**, loài *Ompok bimaculatus* có sự khác biệt về trình tự với *Ompok bimaculatus*GB là 3%. Nhưng theo cây phát sinh loài, loài này lại nằm cùng một nhánh với *Ompok pabda*GB, sự khác biệt trình tự là 4,3%. Theo nghiên cứu dựa trên trình tự gen CO1 mtDNA của Malakar và *ctv* (2012), loài *O. bimaculatus* có mối quan hệ gần gũi với *O. pabo* hơn là *O. pabda*. Verma và Serajuddin (2012) dựa trên trình tự gen 28S rDNA xác định *O. pabo* và *O. pabda* gần gũi với nhau hơn là với *O. bimaculatus*. Có thể thấy mối quan hệ giữa các loài trong giống

*Ompok* có sự thay đổi đối với các chi thị phân tử khác nhau.

Ở **nhóm 1.2**, loài *Syncrossus helodes* (tên trước đây *Botia helodes*) và *Yasuhikotakia modesta* (tên trước đây *Botia modesta*) thể hiện mối quan hệ gần gũi với các loài *Sinibotia superciliaris* (tên trước đây *Botia superciliaris*) và *Botia macracantha*. Những loài này theo hệ thống phân loại trước đây đều thuộc giống *Botia*, nhưng hiện nay đã được phân về các giống khác nhau. Sự sai khác về mặt di truyền của các loài này được thể hiện trên cây phát sinh loài đã khẳng định lại tính đúng đắn của hệ thống phân loại hiện tại.

Cây phát sinh loài có sự không phù hợp ở nhóm 2.2 khi các loài *Brachirus panoides*, *Achiroides leucorhynchus*GB của bộ cá bơn – Pleuronectiformes, loài *Mastacembelus favus*, *Mastacembelus favus*GB, *Mastacembelus armatus*GB và *Mastacembelus mastacembelus*GB thuộc bộ cá mang liềm – Synbranchiformes lại nằm ở vị trí của bộ cá vược – Perciformes.

Loài *Pristolepis fasciata* trong nghiên cứu hiện tại có sự khác biệt về trình tự với *Pristolepis fasciata*GB là 3,6%, với *Pristolepis rubripinnis*GB là 3,4% và với *Pristolepis marginata* là 3,8%. Trong cây phát sinh loài, *Pristolepis fasciata* nằm ở một nhánh riêng so với *Pristolepis fasciata*GB. Có thể giải thích điều này do *Pristolepis fasciata* của nghiên cứu hiện tại được thu tại Việt Nam, trong khi đó trình tự từ Genbank có nguồn gốc từ Ấn Độ, khoảng cách địa lý và điều kiện tự nhiên có thể dẫn đến hình thành biến dị di truyền trong loài.

Ở **nhóm 2.2**, *Trichopodus trichopterus* nằm ở một nhánh riêng biệt với *Trichopodus trichopterus*GB, sự khác biệt về trình tự là 1,6%. Sự khác biệt của loài này so với các loài cùng giống lần lượt là 2,8%; 4,1% và 6,3%. Theo cây phát sinh loài, loài *Trichopodus pectoralis* và *Trichopodus microlepis* có vị trí 2 nhánh gần nhau, cho thấy mối quan hệ gần gũi về mặt di truyền. Kết quả thể hiện trên cây phát sinh loài của các loài thuộc giống *Trichopodus* này phù hợp với cây phát sinh loài trong nghiên cứu của Rüber *et al.* (2006).

Ở **nhóm 4**, nghiên cứu sử dụng 2 trình tự *Notopterus notopterus* của Genbank, với một trình tự có nguồn gốc từ Thái Lan (ký hiệu: *Notopterus notopterus*Thai) và một trình tự có nguồn gốc từ Ấn Độ (ký hiệu: *Notopterus notopterus*India). Kết quả trên cây phát sinh loài thể hiện *N. notopterus* mà nghiên cứu hiện tại thu ở ĐBSCL có mối quan hệ gần gũi với *N. notopterus*Thai hơn là *N.*

*notopterus*India, sự khác biệt về trình tự lần lượt là 0,6% và 2,2%. Sự gần gũi về mặt địa lý, điều kiện tự nhiên khi cùng thuộc hạ lưu sông Mekong dẫn đến sự tương đồng về mặt di truyền giữa loài *N. notopterus* thu ở ĐBSCL với *N. notopterus* của Thái Lan. Các loài *Chitala blanci*GB, *Chitala ornata*GB và *Chitala lopis*GB thuộc phân giống *Chitala* của giống *Notopterus*, vì thế chúng cũng thể hiện mối quan hệ gần gũi với *Notopterus notopterus*, với sự khác biệt trình tự lần lượt là 4,5% ; 4,8% và 5%. Mối quan hệ giữa các loài trong nhóm 4 phù hợp với nghiên cứu của Inoue (2009).

#### 4 KẾT LUẬN

Dựa vào đặc điểm hình thái, nghiên cứu phát hiện được 22 loài cá thuộc 17 giống, 15 họ, 8 bộ thuộc các tỉnh Cần Thơ, An Giang, Đồng Tháp, Vĩnh Long, Trà Vinh, Bến Tre, Tiền Giang của ĐBSCL. Trong đó, chiếm ưu thế là bộ cá Vược (Perciformes) với 6 loài, tiếp đến là bộ cá Da trơn (Siluriformes) với 5 loài, và bộ cá Chép (Cypriniformes) với 5 loài. Có 2 loài chỉ phân loại được đến giống.

Dựa trên đặc điểm di truyền, 6 loài cá thuộc các giống *Pangasius*, *Henicorhynchus*, *Datnioides* và *Trichopodus* có độ tương đồng 100% với trình tự của các loài này từ GenBank. 9 loài có sự sai khác di truyền với trình tự tương ứng từ GenBank (từ 96% - 99%). Hai loài chỉ phân loại đến giống. Năm loài chưa có trình tự cập nhật trên GenBank nhưng có độ tương đồng được thể hiện qua mối quan hệ với các loài cùng giống và cùng họ. Trường hợp loài *Mystus mysticetus* có độ tương đồng 100% với 2 loài *Mystus mysticetus*GB và *Mystus rhegma*GB.

Sự sai khác về trình tự của các loài cá thu được ở ĐBSCL với các trình tự tương ứng trên GenBank đòi hỏi phải có nhiều nghiên cứu tiếp theo nhằm cung cấp các chỉ tiêu phân loại các loài cá nước ngọt về mặt hình thái và di truyền một cách chính xác và thống nhất.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hall, T. A. (1999), "BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT", *Nucleic Acids Symposium Series*, 41, pp. 95-98.
2. Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L. and deWaard, J.R. 2003a. Biological identifications through DNA barcodes. Proceeding of Royal Society Part B:

- Biological Sciences 270 (1512): 313–322. doi: 10.1098/rspb.2002.2218.
3. Inoue, J. G., Kumazawa, Y., Miya, M. and Nishida, M. 2009, The historical biogeography of the freshwater knifefishes using mitogenomic approaches: a mesozoic origin of the Asian notopterids (Actinopterygii: Osteoglossomorpha), *Mol. Phylogenet. Evol.*, 51 (3), pp. 486-499.
4. Jumawan, J.C., Vallejo, B.M., Herrer, A.A., Buerano, C.C. and Fontanilla, I.K.C. 2011. DNA barcodes of the suckermouth sailfin catfish *Pterygoplichthys* (Siluriformes: Loricariidae) in the Marikina River system, Philippines: Molecular perspective of an invasive alien fish species. *Philippine Science Letters*, 4(2).
5. Karinthanyakit, W., Jondeung, A. 2012. Molecular phylogenetic relationships of Pangasiid and Schilbid catfishes in Thailand. *In: Journal of Fish Biology (Impact Factor: 1.83)* (2012) 80(7):2549-70. doi:10.1111/j.1095-8649.2012.03303.x
6. Muchlisin, Z.A., Thomy, Z., Fadli, N., Sarong, M.A. and Siti-azizah, M.N.. 2013. DNA barcoding of freshwater fishes from Lake Laut Tawar, Aceh Province, Indonesia. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 43(1): 21–29. doi: 10.3750/AIP2013.43.1.04
7. Nguyễn Thanh Tùng, Nguyễn Nguyễn Du và Lâm Ngọc Châu. 2005. Thành phần loài thủy sản trên các thủy vực tỉnh Vĩnh Long. *Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn tỉnh Vĩnh Long*. 165 trang.
8. Nguyễn Văn Hào, 2005. Cá nước ngọt Việt Nam. Tập II. Lốp cá sụn và bốn liên bộ của nhóm cá xương (Liên Bộ cá Thát lát, Liên Bộ cá dạng Trích, Tổng Bộ cá dạng Cháo và Liên Bộ cá dạng Chép). Nhà xuất bản Nông nghiệp. Hà Nội. 760 trang.
9. Nguyễn Văn Hào, 2005. Cá nước ngọt Việt Nam. Tập III. Ba Liên Bộ của Lốp cá Xương (Liên Bộ cá dạng Mang éch, Liên Bộ cá dạng Suốt và Liên Bộ cá dạng Vược). Nhà xuất bản Nông nghiệp. Hà Nội. 759 trang.
10. Palumbi, S., Martin, A., Romano, S., Mcmillan, W.O., Stice, L. and Grabowski, G., 1991. *The Simple Fool's Guide to PCR*, version 2. University of Hawaii Press Honolulu.



11. Pereira, L.H.G., Hanner, R., Foresti, F., and Oliveira, C. 2013. Can DNA barcoding accurately discriminate megadiverse Neotropical freshwater fish fauna? *BMC Genetics* (2013), 14:20. doi:10.1186/1471-2156-14-20.
12. Pouyaud, L., Gustiano, R. and Legendre, M., 1998. Phylogenetic relationships among pangasiid catfish species (Siluriformes, Pangasiidae) and new insights on their zoogeography. *In* : The biological diversity and aquaculture of Clariid and Pangasiid catfishes in South-East Asia. Proceedings of the mid-term workshop of the “Catfish Asia Project”, 11-15 May. Can Tho, Vietnam. Pages 49-56.
13. Rainboth, W.J., 1996. Fishes of the Cambodian Mekong. FAO Species Identification Field Guide for Fishery Purposes. FAO, Rome. 265 pages, 27 plates.
14. Rüber, L., Britz, R. and Zardoya, R. 2006. Molecular Phylogenetics and Evolutionary Diversification of Labyrinth Fishes (Perciformes: Anabantoidei). *In*: *Systematic Biology* (2006) 55 (3): 374-397. doi: 10.1080/10635150500541664.
15. Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., and Kumar, S. (2013), “MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0”, *Molecular Biology and Evolution*, 30, pp. 2725-2729.
16. Tổng cục Thống kê, 2012. Diện tích, dân số và mật độ dân số năm 2012 phân theo địa phương <<http://www.gso.gov.vn/default.aspx?tabid=387&idmid=3&ItemID=14632>>, truy cập ngày 30/04/2013.
17. Trần Đức Định, Shibukawa, K., Nguyễn, T.P., Hà, P.H., Trần, X.L., Mai, V.H., Utsugi, K.. 2013. Mô tả định loại cá Đổng bằng sông Cửu Long, Việt Nam. Nhà xuất bản Đại học Cần Thơ. Cần Thơ. 174 trang.
18. Zhang, J.. 2011. Species Identification of Marine Fishes in China with DNA barcoding. *In*: *Evidence – Based Complementary and Alternative Medicine*. Volume 2011, Article ID 978253, 10 pages. Hindawi Publishing Corporation. doi:10.1155/2011/978253.