

TÌM HIỂU ĐA DẠNG DI TRUYỀN CÁ LĂNG CHẤM (*HEMIBAGRUS GUTTATUS* LACEPEDE, 1803) BẰNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ MICROSATELLITE

Bùi Hà My¹, Nguyễn Thị Hương², Nguyễn Hữu Đức¹, Trần Thị Thúy Hà²✉

¹Học viện Nông nghiệp Việt Nam

²Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I

✉ Người chịu trách nhiệm liên lạc. E-mail: thuyha@ria1.org

Ngày nhận bài: 20.02.2017

Ngày nhận đăng: 29.11.2017

TÓM TẮT

Cá Lăng chấm (*Hemibagrus guttatus* Lacepede, 1803) là loài cá hoang dã có giá trị kinh tế cao ở miền Bắc Việt Nam. Nhu cầu về nguồn cá giống chất lượng tốt đã thúc đẩy nghiên cứu sinh sản nhân tạo cá Lăng chấm phục vụ lưu giữ nguồn gen, hỗ trợ sản xuất giống và nuôi thương phẩm. Cá Lăng chấm đã và đang bị khai thác quá mức trong các thủy vực tự nhiên. Từ trước đến nay, các nghiên cứu trên cá Lăng chấm chủ yếu liên quan đến đặc điểm sinh học và sản xuất giống nhân tạo. Trong nghiên cứu này, ba chỉ thị microsatellite được sử dụng để tìm hiểu đặc điểm di truyền của 4 quần đàn cá Lăng chấm (3 quần đàn tự nhiên tại Tuyên Quang, Phú Thọ, Hà Giang và 1 quần đàn cá bố mẹ nuôi giữ tại Hải Dương). Các chỉ thị này có mã số truy cập lần lượt là KJ873116, KJ873117 và NC023976. Ba vị trí microsatellite đều thể hiện tính đa hình cao, với tổng số 16 allele trên cả 3 locus, lần lượt là 5, 5 và 6 allele tương ứng với vị trí locus HM7, HM8 và SS1. Quần đàn cá Lăng chấm thu ở Hà Giang có tổng số allele cao hơn so với ba quần đàn thu ở Tuyên Quang, Phú Thọ và Hải Dương. Số allele quan sát ($N_a = 3,83 \pm 0,24$) lớn hơn số allele hiệu quả ($N_e = 2,14 \pm 0,13$) trên tất cả các vị trí phân tích và tại mỗi locus đều xuất hiện những allele với tần số rất thấp ($< 0,1$). Mức dị hợp tử quan sát ($H_o = 0,51 \pm 0,25 - 0,71 \pm 0,17$) cho giá trị lớn hơn mức dị hợp tử kì vọng ($H_e = 0,38 \pm 0,06 - 0,63 \pm 0,03$). Chỉ số cận huyết (F_{IS}) ở mức thấp trên cả ba locus và sự sai khác di truyền giữa các 4 quần đàn cá Lăng chấm là không rõ rệt với hệ số sai khác di truyền F_{ST} ở mức nhỏ hơn 0,05. Kết quả nghiên cứu cung cấp thông tin khoa học cho các chương trình lai tạo và bảo tồn đa dạng nguồn gen cá Lăng chấm trong tương lai.

Từ khóa: Cá Lăng chấm, đa dạng di truyền, *Hemibagrus guttatus*, microsatellite

MỞ ĐẦU

Cá Lăng chấm (*Hemibagrus guttatus*, Lacepede 1803) là loài cá hoang dã có giá trị kinh tế cao. Trên thế giới, cá Lăng chấm phân bố tập trung ở Trung Quốc, Thái Lan, Việt Nam và Campuchia (Mai Đình Yên, 1978). Ở Việt Nam, cá Lăng chấm được tìm thấy chủ yếu ở các sông lớn ở các tỉnh phía Bắc như hệ thống sông Hồng, sông Đà, sông Thao, sông Chảy... Tuy nhiên, do sự khai thác quá mức của con người, hiện nay cá Lăng chấm đang nằm trong Sách đỏ Việt Nam ở mức nguy cấp bậc V. Trước tình trạng đó, nghiên cứu sinh sản nhân tạo cá Lăng chấm được tiến hành nhằm bảo vệ đa dạng nguồn gen, đồng thời phục vụ sản xuất. Vấn đề đảm bảo chất lượng di truyền cá giống được đặt ra cho các nhà quản lý cũng như người nuôi. Xét về mặt di truyền, sự giao phối cận huyết là nguyên nhân gây ra một số tác động tiêu cực như tăng tỉ lệ đồng hợp tử dẫn đến

tăng cơ hội biểu hiện gen lặn gây chết, suy thoái cận huyết và giảm biến dị di truyền (Falconer, 1989). Tất cả những biểu hiện trên đều dẫn đến sự sụt giảm chất lượng giống. Vì vậy, việc tiến hành đánh giá đa dạng di truyền cho cá Lăng chấm cung cấp nguồn thông tin hữu hiệu về mặt di truyền cho công tác chọn giống có ý nghĩa vô cùng quan trọng.

Gần đây, nhiều phương pháp và chỉ thị DNA đã được sử dụng để nghiên cứu về đa dạng di truyền của các loài khác nhau như Tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) (Freitas và Galetti., 2005; Perez-Enriquez *et al.*, 2009), cá Tra (*Pangasianodon hypophthalmus*)... Trong đó, chỉ thị microsatellite là một công cụ phân tích hiệu quả để tìm hiểu đặc điểm và đánh giá đa dạng di truyền tạo cơ sở hỗ trợ cho việc triển khai các chương trình lai tạo cũng như lưu giữ nguồn gen. Đối với cá Lăng chấm, các nghiên cứu trước đây

chủ yếu tập trung vào tìm hiểu đặc điểm sinh học, sinh sản và sản xuất giống. Cho đến hiện nay chưa có nghiên cứu nào liên quan đến đa dạng di truyền của cá Lăng chấm. Việc tìm hiểu đa dạng di truyền đối tượng này bằng chỉ thị phân tử microsatellite giúp cung cấp thông tin khoa học cho các chương trình lai tạo và bảo tồn đa dạng nguồn gen cá Lăng chấm trong tương lai.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Mẫu vây ngực của cá Lăng chấm (> 1 kg/con) thuộc 4 quần đàn có nguồn gốc khác nhau: Tuyên Quang, Phú Thọ, Hà Giang, Hải Dương được thu về phục vụ nghiên cứu. Cụ thể, cá được thu tại Tuyên Quang thu ở sông Lô – Thái Long; tại Phú Thọ thu ở sông Chảy đoạn thuộc xã Quế Lâm – huyện Đoan Hùng; tại Hà Giang thu ở sông Lô thuộc xã Thanh Thủy – huyện Vị Xuyên; tại Hải Dương thu ở Trung tâm Quốc gia giống thủy sản nước ngọt miền Bắc – Phú Tào.

Phương pháp thu mẫu

Mẫu vây ngực của 30 cá thể/ quần đàn được thu

Bảng 1. Thông tin các cặp mồi microsatellite sử dụng trong nghiên cứu.

Mồi	Trình tự mồi (5'-3')	Trình tự lặp	Mã truy cập
HM7	F: ATGGATCCTGAGTAAATTAAGAAGAATGT R: GTCCTGAGTAACGCGAGGTTGA	(CA)15	KJ873116
HM8	F: CTGGACGAGGTTGACAGAGGCTAT R: CTGAGTAACCTCGTCCACCATCC	(AG)17	KJ873117
SS1	F: CACCATTAGCAAAAACCCCC R: ACCTTGAAGTTTGGTGGAGG	(T)12	NC_023976

Thực hiện phân tích đoạn

Sản phẩm PCR được phân tích trên máy GenomeLab GeXP: 242 μ L dung dịch phân tích mẫu (240 μ L SLS (Solution Loading Sample) và 2 μ L SS (Size Standard 600)) được chia đều vào 8 giếng trên đĩa và bổ sung 1 μ L sản phẩm PCR (đã được pha loãng 1/3 bằng nước tinh khiết) vào mỗi giếng của đĩa mẫu. Cuối cùng, dầu khoáng được cho lên trên hỗn hợp của mỗi giếng chứa mẫu. Đĩa mẫu sau đó được đưa vào máy GenomeLab GeXP và phân tích bởi phần mềm GenomeLab System.

Phân tích số liệu

Sử dụng phần mềm Gene marker v1.3 và GeAlEx 6.5 để phân tích các số liệu thu được. Cụ thể:

và bảo quản trong ethanol 98%. Các mẫu này được chuyển về phòng thí nghiệm Trung tâm Công nghệ sinh học Thủy sản, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản 1, Đình Bảng, Từ Sơn, Bắc Ninh.

Tách chiết DNA tổng số

DNA tổng số được tách chiết theo phương pháp kết tủa muối (Sambrook và Russel, 2001). Sau tách chiết, DNA được điện di kiểm tra định tính trên gel agarose 0,8% và kiểm tra định lượng trên máy Nanodrop 2000C (Thermo Scientific, Mỹ).

Thực hiện PCR

PCR được tiến hành để khuếch đại 3 vị trí microsatellite với ba cặp mồi HM7, HM8, SS1 (Ba *et al.*, 2015; Tian *et al.*, 2016) đánh dấu huỳnh quang trên máy Mastercycler Pro-S (Eppendorf, Đức) (Bảng 1). Thể tích mỗi phản ứng là 10 μ L bao gồm 1,0 μ L đệm Taq polymerase 10X; 0,1 μ L $MgCl_2$; 0,5 μ L dNTP 5mM; 0,5 μ L mỗi mồi xuôi và mỗi ngược nồng độ 10 μ M; 0,1 unit Taq Polymerase (Sigma); 1 μ L DNA khuôn nồng độ 200 – 400 ng/ μ L. Chu kỳ nhiệt được thực hiện như sau: biến tính ban đầu 94°C trong 3 min; khuếch đại (94°C trong 40 s; 55°C trong 45 s, 72°C trong 50 s) với 32 chu kỳ; kết thúc đoạn khuếch đại ở 72°C trong 10 min.

- Số lượng allele/locus (N_a) và số allele hiệu quả (N_e)
- Mức dị hợp tử quan sát (H_o) và mong đợi (H_e)
- Hệ số cận huyết (F_{IS}) và hệ số sai khác di truyền (F_{ST}) theo công thức:

$$F_{IS} = \frac{\bar{H}_o - \bar{H}_e}{\bar{H}_e} \quad F_{ST} = \frac{H_t - \bar{H}_e}{H_t}$$

Trong đó: \bar{H}_o là mức dị hợp tử quan sát trung bình, \bar{H}_e là mức dị hợp tử mong đợi trung bình, $H_t = 1 - \sum p_i^2$ là mức dị hợp tử mong đợi toàn phần (p_i là tần số allele thứ i).

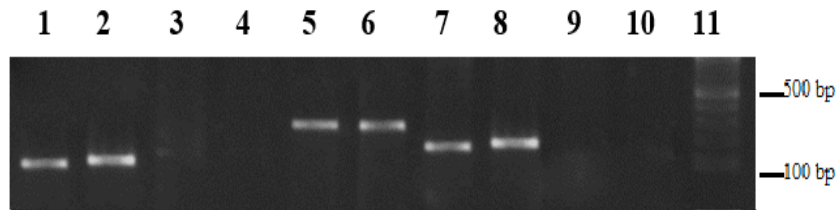
- Kiểm định cân bằng Hardy-Weinberg: bằng phương pháp “Chi bình phương” (Chi-square method).

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

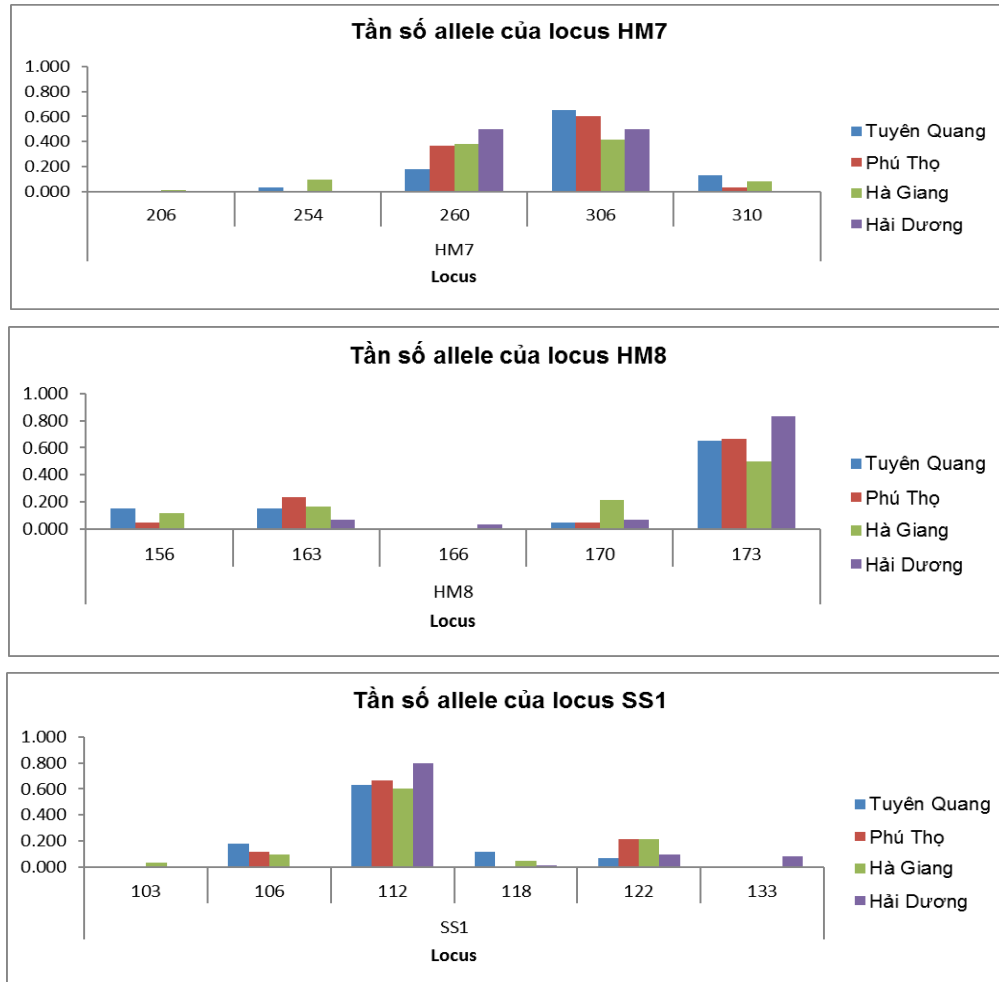
Đặc điểm di truyền của các quần đàn cá Lăng chấm

Kết quả thực hiện khuếch đại 3 chỉ thị microsatellite bằng phản ứng PCR được thể hiện ở hình 1. Các vạch băng sản phẩm sáng, rõ nét, có kích thước dao động trong khoảng từ 100 - 300 bp và không có sản phẩm phụ.

Ba locus microsatellite chọn lọc trong nghiên cứu đều thể hiện tính đa hình cao với tổng số 16 allele được xác định. Trong đó, locus SS1 có tính đa hình cao nhất với 6 allele, locus HM7 và HM8 đều cùng có 5 allele (Hình 2). Số lượng allele tìm được ở hai locus HM7 và HM8 có sự sai khác với số allele tìm được trong nghiên cứu trước đó trên cá Lăng chấm *Hemibagrus macropterus*, cụ thể HM7 – 4 allele và HM8 – 11 allele (Ba et al., 2015).



Hình 1. Sản phẩm PCR với mỗi huỳnh quang trên gel agarose 2% (giếng 1-3: mỗi SS1; giếng 4-6: mỗi HM7, giếng 7-10: mỗi HM8; giếng 11: Ladder).



Hình 2. Tần số allele tại 3 locus microsatellite trên các quần đàn cá Lăng chấm.

Ngoài các allele có tần số cao, ở cả 3 vị trí microsatellite đều xuất hiện những allele với tần số rất thấp ($< 0,1$) và các allele này có thể dễ dàng mất đi nếu không tiến hành lai tạo với các quần đàn khác có biến dị di truyền cao hơn. Sự xuất hiện của các allele có tần số thấp ở tất cả các locus phân tích cũng xuất hiện trong nghiên cứu đánh giá đa dạng di truyền trên đối tượng cá Anh Vũ (Trần Thị Thúy Hà *et al.*, 2016) và Tôm thẻ

chân trắng (Trần Thị Thúy Hà *et al.*, 2013).

Xét trên quy mô quần đàn (Bảng 2), quần đàn Hà Giang có tổng số allele nhiều nhất với 14 allele (trung bình 4,67 allele/locus), tiếp đến là quần đàn Tuyên Quang với 12 allele (trung bình 4,00 allele/locus); hai quần đàn Phú Thọ và Hải Dương đạt 10 allele mỗi quần đàn (trung bình 3,33 allele/ locus).

Bảng 2. Đặc điểm di truyền của 4 quần đàn cá Lăng chấm.

Quần đàn	Locus	R	N	Na	Ne	Ho	He
Tuyên Quang	HM7	198 – 222	30,00	4,00		0,60	0,53
	HM8	389 – 433	30,00	4,00	2,13	0,50	0,53
	SS1	110 – 115	30,00	4,00	2,21	0,47	0,55
Trung bình			30,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00	2,16 ± 0,03	0,52 ± 0,02	0,53 ± 0,01
Phú Thọ	HM7	198 – 222	30,00	3,00	2,02	0,73	0,50
	HM8	389 – 433	30,00	4,00	1,98	0,47	0,50
	SS1	110 – 115	30,00	3,00	1,98	0,40	0,50
Trung bình			30,00 ± 0,00	3,33 ± 0,33	1,99 ± 0,01	0,53 ± 0,10	0,50 ± 0,00
Hà Giang	HM7	198 – 222	30,00	5,00	2,96	0,93	0,66
	HM8	389 – 433	30,00	4,00	2,96	0,83	0,66
	SS1	110 – 115	30,00	5,00	2,38	0,37	0,58
Trung bình			30,00 ± 0,00	4,67 ± 0,33	2,77 ± 0,19	0,71 ± 0,17	0,63 ± 0,03
Hải Dương	HM7	198 – 222	30,00	2,00	2,00	1,00	0,50
	HM8	389 – 433	30,00	4,00	1,42	0,33	0,30
	SS1	110 – 115	30,00	4,00	1,52	0,20	0,34
Trung bình			30,00 ± 0,00	3,33 ± 0,67	1,65 ± 0,18	0,51 ± 0,25	0,38 ± 0,06

Ghi chú: R: khoảng dao động allele (bp); N: số mẫu nghiên cứu; Na: số allele trên locus; Ne: số allele hiệu quả; Ho: dị hợp tử quan sát; He: dị hợp tử mong đợi.

Số allele hiệu quả của các quần đàn nghiên cứu đều thấp hơn nhiều so với tổng số allele, dao động từ 1,65 (quần đàn Hải Dương) đến 2,77 (quần đàn Hà Giang). Kết quả tương tự cũng được báo cáo trong nghiên cứu của Hà Phước Hùng *et al.*, (2009) trên đối tượng cá Tra, tổng số allele quan sát ($N_a = 4,60 - 5,20$) cao hơn số allele hiệu quả ($N_e = 2,80 - 3,11$). Nghiên cứu của Phạm Thị Trang Nhung và Dương Thúy Yên (2014) trên cá rô đồng cũng tương tự ($N_a = 1,58 - 1,76$; $N_e = 1,31 - 1,43$). Sự khác biệt này được giải thích do quá trình đột biến, tái tổ hợp, lạc dòng gen, chọn lọc tự nhiên và quá trình di nhập gen (Eding, Laval, 1999).

Quan sát mức độ dị hợp tử, mức độ dị hợp tử quan sát dao động từ $0,51 \pm 0,25$ (quần đàn Hải Dương) đến $0,71 \pm 0,17$ (quần đàn Hà Giang). Tương ứng, mức dị hợp tử kì vọng cao nhất ở quần đàn Hà Giang ($0,63 \pm 0,03$) và thấp nhất ở quần đàn Hải Dương ($0,38 \pm 0,06$). Trừ quần đàn Tuyên

Quang, giá trị dị hợp tử quan sát lớn hơn giá trị dị hợp tử kì vọng ở ba quần đàn Phú Thọ, Hà Giang và Hải Dương. Kết quả này có sai khác so với nghiên cứu trên *H. macropterus* (Ba *et al.*, 2015) dù sử dụng cùng chỉ thị phân tử. Cụ thể, tại locus HM7, giá trị dị hợp tử quan sát thấp hơn kì vọng ($H_o = 0,39$; $H_e = 0,49$); trong khi tại locus HM8 mức dị hợp tử quan sát cho giá trị cao hơn ($H_o = 0,81$; $H_e = 0,70$).

Sự dư thừa dị hợp tử có thể do nhiều nguyên nhân khác nhau. Quần đàn sinh sản có kích thước nhỏ với ít cá thể bố mẹ có đóng góp vào vốn gen của thế hệ sau có thể dẫn đến hiện tượng này (Rasmussen, 1979; Pudovkin *et al.*, 1996). Một trong những giả thuyết khác lý giải cho sự dư thừa dị hợp tử là do tính siêu trội của kiểu gen dị hợp tử đã khiến mức dị hợp tử tăng lên nhờ sự chọn lọc theo chiều hướng loại bỏ các allele ở trạng thái đồng hợp (Milton, 1989). Sự đột biến duy trì qua các thế hệ

hoặc quần đàn chịu ảnh hưởng từ các dòng gen ngoại lai cũng đều có thể là nguyên nhân dẫn đến dư thừa dị hợp tử (Judson, Normakr, 1996; Welch, Meselson, 2000; Crawford, 2007).

Chỉ số cận huyết và hệ số sai khác di truyền

Xét trên từng locus, hệ số cận huyết F_{IS} đạt giá trị dương (+) tại vị trí SS1 ($F_{IS} = 0,270$) và giá trị âm (-) ở hai vị trí HM7 và HM8 (giá trị F_{IS} tương ứng là -0,490 và -0,076). Tuy nhiên xét về tổng thể, độ cận huyết có giá trị nhỏ ở các locus nghiên cứu cho thấy mức độ giao phối không ngẫu nhiên giữa các quần đàn là không lớn. Sự sai khác di truyền trong locus HM8 là cao nhất ($F_{ST} = 0,050$), hai locus HM7 và

SS1 cho mức sai khác di truyền thấp hơn, giá trị F_{ST} tương ứng lần lượt là 0,044 và 0,036.

Kiểm tra cân bằng Hardy-Weinberg

Kiểm tra cân bằng Hardy-Weinberg, kết quả phân tích cho thấy di truyền của 7/12 vị trí microsatellite trên các quần đàn nghiên cứu tuân theo Định luật ($P < 0,05$). Trong đó, quần đàn Phú Thọ đạt trạng thái cân bằng tại tất cả các locus, còn các quần đàn khác đều xuất hiện một hoặc hai vị trí không tuân theo Định luật Hardy-Weinberg (Bảng 3). Theo Nei (1978), lạc dòng di truyền, giao phối cận huyết, cách ly địa lý có thể là một trong những nguyên nhân dẫn đến không cân bằng di truyền của một quần đàn.

Bảng 3. Kết quả kiểm định cân bằng di truyền Hardy-Weinberg.

Locus	Tuyên Quang	Phú Thọ	Hà Giang	Hải Dương
HM7	0,443 ^{ns}	0,009 ^{**}	0,120 ^{ns}	0,000 ^{***}
HM8	0,022 [*]	0,027 [*]	0,268 ^{ns}	0,977 ^{ns}
SS1	0,251 ^{ns}	0,024 [*]	0,000 ^{***}	0,000 ^{***}

Ghi chú: ns=not significant, * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$.

Bảng 4. Hệ số sai khác di truyền giữa các quần đàn cá Lăng chấm.

Quần đàn	Tuyên Quang	Phú Thọ	Hà Giang	Hải Dương
Tuyên Quang	0,000			
Phú Thọ	0,017	0,000		
Hà Giang	0,026	0,017	0,000	
Hải Dương	0,048	0,035	0,043	0,000

Mối quan hệ di truyền giữa các quần đàn cá Lăng chấm

Sự sai khác di truyền giữa các quần đàn cá Lăng chấm được ước lượng theo giá trị F_{ST} quần đàn thể hiện ở bảng 4.

Kết quả xử lý số liệu cho thấy sự sai khác di truyền giữa các quần đàn ở mức nhỏ ($F_{ST} < 0,05$). Tương quan di truyền thấp nhất là giữa quần đàn Tuyên Quang – Phú Thọ và Phú Thọ – Hà Giang ($F_{ST} = 0,017$), tiếp theo là quần đàn Tuyên Quang – Hà Giang, Phú Thọ - Hải Dương và Hà Giang – Hải Dương với khoảng cách di truyền tương ứng lần lượt là 0,026; 0,035 và 0,043. Sai khác di truyền lớn nhất được tìm thấy là giữa hai quần đàn Tuyên Quang – Hải Dương (0,048).

Như vậy quần đàn cá Lăng chấm thu ở Hải Dương sai khác di truyền lớn nhất với các quần đàn

tự nhiên thu ở Tuyên Quang, Hà Giang và Phú Thọ. Điều này có thể giải thích bởi quần đàn Hải Dương là quần đàn cá bố mẹ nuôi giữ với số cá thể không lớn và giữa các cá thể có mối quan hệ gần gũi. Sự sai khác di truyền giữa quần đàn cá Lăng chấm ở Hà Giang và Tuyên Quang cao hơn Hà Giang và Phú Thọ. Mặc dù vậy, sự sai khác giữa 4 quần đàn cá Lăng chấm không rõ rệt, chỉ số sai khác di truyền đều nhỏ hơn 0,05.

KẾT LUẬN

Các vị trí microsatellite HM7, HM8, SS1 thể hiện tính đa hình cao với tổng số 16 allele tuy nhiên đều xuất hiện những allele với tần số rất thấp và cần được duy trì, có thể bằng tiến hành lai chéo giữa các quần đàn với nhau hoặc lai với các quần đàn có mức đa dạng di truyền cao hơn. Chỉ số cận huyết ở cả 3

locus đều ở mức nhỏ. Các quần đàn có sai khác di truyền không rõ với hệ số tương quan di truyền ở mức thấp. Nghiên cứu góp phần cung cấp thông tin khoa học cho các chương trình nghiên cứu sinh sản nhân tạo và bảo vệ nguồn gen cá Lăng chấm trong tương lai.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được thực hiện bởi sự hỗ trợ nguồn kinh phí từ nhiệm vụ quỹ gen cấp nhà nước “Khai thác và phát triển nguồn gen cá Anh vũ (*Semilabeo notabilis* Peters, 1881), cá Lăng chấm (*Hemibagrus guttatus* Lacepede, 1803)”.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ba J, Li S, Li Y, Wang D, Duan X, Chen D (2015) Characterization and cross-species amplification of 19 polymorphic microsatellite loci of *Hemibagrus macropterus* (Bleeker) in the Yangtze River. *Conserv Genet Resour* 7: 5 - 8. doi:10.1007/s12686-014-0295-4.
- Crawford MH (2007) *Anthropological Genetics: Theory, Methods and Applications*. Cambridge University Press: 190-197.
- Eding H, Laval G (1999) *Measuring the genetic uniqueness in Livestock*. In Oldenbroek JK, eds. *Genebanks and the conservation of farm animal genetic resources*. DLO Institute of Animal Science and Health The Netherlands: 33-55.
- Falconer DS (1989) *Introduction to Quantitative Genetics*. 3rd edn. John Wiley and Sons, NY.
- Freitas PD, Galetti Jr PM (2005) Assessment of the genetic diversity in five generations of a commercial broodstock line of *Litopenaeus vannamei* shrimp. *Afr J Biotechnol* 4: 1362-1367.
- Hà Phước Hùng, Nguyễn Thị Thu Thủy, Supawadee Poompuang, Uthairat Nanakorn (2009) Biến động di truyền các quần đàn cá Tra *Pangasianodon hypophthalmus*, Sauvage 1878) ở Việt Nam. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*: 371-384.
- Judson OP, Normark BB (1996) Ancient asexual scandals. *Trends Ecol Evol* 11: A41-A46.
- Mai Đình Yên (1978) *Định loại cá nước ngọt các tỉnh phía Bắc Việt Nam*. NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
- Mitton JB (1989) *Physiological and demographic variation associated with allozyme variation*. In: Soltis DE, Soltis PS, eds. *Isozymes in Plant Biology*. Dioscorides Press, Portland, Oregon: 87-105.
- Nei M (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* (89)3: 583-590.
- Rasmussen DI (1979) Sibling clusters and genotypic frequencies. *Amer Nat* 113: 948-951.
- Phạm Thị Trang Nhung, Dương Thúy Yên (2014) Đánh giá sự đa dạng di truyền của các dòng cá rô đồng (*Anabas testudineus*, Bloch 1972) bằng các chỉ thị phân tử RAPD và ISSR. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ* 1: 101-108.
- Perez-Enriquez R, Hernandez-Martinez F, Cruz P (2009) Genetic diversity status of White shrimp *Penaeus (Litopenaeus vannamei)* broodstock in Mexico. *Aquaculture* 297: 44-50.
- Pudovkin AI, Zaykin DV, Hedgecock D (1996) On the potential for estimating the effective number of breeders from heterozygote excess in progeny. *Genetics* 144: 383-387.
- Tian H, Que Y, Zhao N, Chen F, Zhu B, Huang D, Chang J, Liao X (2016). The complete mitochondrial genome of the spotted longbarbel catfish, *Hemibagrus guttatus* (Siluriformes, Bagridae). *Mitochondrial DNA A DNA. Mapp Seq Anal* 27(1): 467-468.
- Trần Thị Thúy Hà, Nguyễn Thế Việt, Nguyễn Thị Hương, Nguyễn Hữu Đức (2013) Tìm hiểu đặc điểm di truyền một số quần đàn tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) nuôi tại Việt Nam bằng chỉ thị microsatellite. *Tạp chí Khoa học và Phát triển* 11(6): 797-803.
- Trần Thị Thúy Hà, Nguyễn Thị Hương, Vũ Thị Hương, Nguyễn Ngọc Sơn (2016) *Tìm hiểu đa dạng di truyền của các quần đàn cá Anh vũ (Semilabeo obscurus Lin, 1981) bằng chỉ thị phân tử microsatellite*. *Sách tuyển tập Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản 1*.
- Sambrook J, Russel DW (2001) *Molecular cloning: A laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY.
- Welch DM, Meselson M (2000) Evidence for the evolution of bdelloid rotifers without sexual reproduction or genetic exchange. *Science* 288: 1211-1215.

A STUDY ON GENETIC DIVERSITY OF BAGRID CATFISH (*HEMIBAGRUS GUTTATUS* LACEPEDE, 1803) USING MICROSATELLITE MARKERS

Bui Ha My¹, Nguyen Thi Huong², Nguyen Huu Duc¹, Tran Thi Thuy Ha²

¹Vietnam National University of Agriculture

²Research Institute for Aquaculture No.1

SUMMARY

Bagrid catfish (*Hemibagrus guttatus* Lacepede, 1803) is a wild species of high economic value in Northern Vietnam. Artificial reproduction of bagrid catfish requires sources of quality fingerlings in terms of genetics. In fact, bagrid catfish is endangered due to overhunting. Until now, studying on bagrid catfish was mainly focused on biology characteristics and artificial breeding. In this study, three microsatellite markers were used to assess the genetic characteristics of four bagrid catfish populations (three wild populations collected in Tuyên Quang, Phu Tho, Ha Giang and a cultured population in Hai Duong). These markers were registered Genbank with the code of KJ873116, KJ873117 and NC 023976 for HM7, HM8 and SS1, respectively. All of the loci showed high level of polymorphism with 16 alleles in total which were 5 at locus HM7, 5 at locus HM8, and 6 at locus SS1. Total allele number in population collected in Ha Giang was higher than that of Tuyên Quang, Phu Tho and Hai Duong populations. The mean of number of observed alleles ($N_a = 3,83 \pm 0,24$) was higher than the mean number of effective alleles ($N_e = 2,14 \pm 0,13$) and low frequency alleles ($< 0,1$) were observed in all loci. The value of the expected heterozygosity ($H_e = 0,38- 0,63$) was lower than that of the observed heterozygosity ($H_o = 0,51-0,71$). F_{IS} value was low and the genetic differences between four populations was insignificant as $F_{ST} < 0,05$. The results provide useful information for breeding program and conservation of the bagrid catfish in the future.

Keywords: Genetic diversity, *Hemibagrus guttatus*, microsatellite, polymorphism