

NGHIÊN CỨU TRÌNH TỰ ĐOẠN DNA CHỈ THỊ TRÊN GEN RIBOSOME 18S CỦA MỘT SỐ LOÀI HẢI MIỀN (Porifera: Demospongiae) TẠI KHU BẢO TỒN BIỂN ĐẢO CỒN CỎ, TỈNH QUẢNG TRỊ

Trần Mỹ Linh^{1*}, Nguyễn Chi Mai², Lê Quang Trung², Vũ Hương Giang¹, Lê Quỳnh Liên¹, Lê Thành Long², Phan Minh Tuấn², Nguyễn Tường Vân³, Ninh Khắc Bản¹

¹Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam, *tmlinh@imbc.vast.vn

²Trung tâm Phát triển công nghệ cao, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam

³Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam

TÓM TẮT: Rất ít công trình nghiên cứu về hải miên ở vùng biển Việt Nam liên quan tới thành phần loài, phân bố và tiềm năng sử dụng, đặc biệt, chưa có nghiên cứu nào ở mức độ sinh học phân tử. Các chỉ thị phân tử như gen ribosome 18S và 28S đã được lựa chọn để phân tích sự phát sinh chủng loại, phân loại và đa dạng sinh học của hải miên. Trong nghiên cứu này, đoạn DNA kích thước 559-561 bp trên gen ribosome 18S được phân lập từ 6 mẫu hải miên *Biemna variantia*, *Niphates* sp., *Erylus* sp., *Mycale laevis*, *Dictyonella pelligera* và *Hyrtios erectus* thu thập tại khu bảo tồn biển Đảo Cồn Cỏ. Kết quả phân tích trình tự nucleotide của các đoạn rDNA 18S cho thấy 6 mẫu hải miên có độ tương đồng từ 88,2-96,8% và từ 99,3-100% giữa mẫu hải miên với trình tự thuộc loài tương ứng đã đăng ký trên Ngân hàng Gen quốc tế, đồng thời thể hiện sự đa hình nucleotide giữa các loài nghiên cứu với 96 điểm sai khác.

Từ khóa: Hải miên, chỉ thị phân tử, rDNA 18S, đảo Cồn Cỏ.

MỞ ĐẦU

Ngành động vật Thân lỗ (Porifera), hay thường gọi là hải miên, là một trong những loài động vật biển có sự đa dạng cao [12]. Hải miên cũng là nhóm sinh vật biển rất có giá trị do chứa nhiều hợp chất mới mang các hoạt tính sinh học liên quan tới y-dược như hoạt tính kháng sinh, ức chế thần kinh hay miễn dịch, giảm đau, kháng u và kháng virus [4]. Van et al. (2013) [12] đã ghi nhận khoảng hơn 8.400 loài hải miên, chia thành 4 lớp, trong đó, lớp Demospongiae (Sollas, 1885) là lớp đa dạng nhất, chiếm tới 80% số loài hải miên được biết cho tới nay.

Phần lớn hệ thống phân loại hải miên được xây dựng dựa vào đặc điểm hình thái bộ khung skeleton trên cơ sở các công trình được xuất bản từ những thế kỷ trước [6]. Tuy nhiên, do hải miên có cấu trúc đơn giản nhưng rất đa dạng, thậm chí một loài có thể có nhiều dạng hình thái tùy theo môi trường sống, vì vậy, việc định loại theo hình thái vẫn gặp nhiều khó khăn. Gần đây, các nhà khoa học đã kết hợp các đặc điểm sinh học khác vào hệ thống phân loại hải miên như đặc điểm sinh học phân tử, hóa sinh... trong đó,

các chỉ thị sinh học phân tử (DNA markers) đã được sử dụng ở các mức độ khác nhau để tìm hiểu quá trình phát sinh chủng loại, nghiên cứu mối quan hệ trong và giữa các loài. Chỉ thị phân tử đã có nhiều đóng góp quan trọng trong việc phát hiện những loài mới, loài khó phân biệt về hình thái cũng như làm sáng tỏ mối quan hệ chủng loại của hải miên [11]. Nhìn chung, có ba nhóm chỉ thị phân tử như sau: i) trình tự trên ribosome DNA: 18S, 28S, vùng nối thứ nhất và thứ hai: ITS-1 và ITS-2 (internal transcribed spacer) giữa các gen 18S; 5,8 S và 28S rRNA; ii) trình tự DNA ty thể gồm gen COI (cytochrome oxidase subunit I) và toàn bộ hệ gen ti thể và iii) trình tự các gen giữ nhà (nuclear housekeeping genes) [8, 9].

Những nghiên cứu về hải miên ở biển Việt Nam còn rất ít. Cho đến nay, chỉ có một số công trình mô tả về thành phần loài hải miên khảo sát tại khu vực biển, đảo thuộc vịnh Hạ Long và vịnh Nha Trang [1-3]. Hooper et al. (2000) [5] đã xác định có khoảng 161 loài hải miên ở bờ biển của Việt Nam, trong đó, có 106 loài được xác định tên khoa học ở mức độ loài. Dựa trên cơ sở các tài liệu đã công bố từ năm 1952 đến nay, Thai Minh Quang (2013) [7] đã thống kê

tổng cộng 299 loài hải miên thuộc 124 giống, 65 họ, 18 bộ và 4 lớp được ghi nhận có mặt tại Việt Nam, chủ yếu khảo sát ở khu vực biển vịnh Hạ Long và vịnh Nha Trang. Lớp Demospongiae chiếm 94% với 281 loài thuộc 46 họ, 12 bộ, trong đó 181 loài được định tên khoa học ở mức độ loài [7].

Vùng biển xung quanh Đảo Cồn Cỏ (tỉnh Quảng Trị), với hệ sinh thái điển hình của vùng biển nhiệt đới với các rạn san hô được đánh giá là một trong những vùng có mức độ đa sinh học cao của Việt Nam. Trong nghiên cứu này, 6 loài hải miên phân tích đã được thu thập ở khu vực biển Đảo Cồn Cỏ, xác định thuộc 6 giống (họ), 5 bộ và đều thuộc lớp Demospongiae. Đoạn DNA trên gen ribosome 18S (rDNA18S) của 6 mẫu hải miên được phân lập, xác định trình tự nucleotide và so sánh mức độ đa hình. Đây cũng là nghiên cứu đầu tiên về sinh học phân tử đối với hải miên tại khu vực biển đảo Cồn Cỏ và ở Việt Nam. Kết quả nghiên cứu góp phần đánh

giá đa dạng sinh học hải miên tại khu biển Đảo Cồn Cỏ và tạo cơ sở để định loại hải miên bằng chỉ thị phân tử tại Việt Nam.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Mẫu hải miên nghiên cứu

Các mẫu hải miên được thu thập sử dụng hệ thiết bị lặn SCUBA ở độ sâu từ 5-8 m vào tháng 5/2012 tại khu bảo tồn biển Đảo Cồn Cỏ, tỉnh Quảng Trị. Các mẫu nghiên cứu được các chuyên gia thuộc Viện Tài nguyên và Môi trường biển, Viện Hải dương học Nha Trang, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam xác định tên khoa học dựa vào phân tích hình thái; các tiêu bản được lưu giữ tại Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam. Danh sách các mẫu nghiên cứu và tọa độ nơi khảo sát thu mẫu được liệt kê ở bảng 1. Các mẫu được rửa sạch với nước cất và bảo quản trong đá lạnh trên tàu, sau đó bảo quản lâu dài ở -80°C.

Bảng 1. Danh sách mẫu hải miên nghiên cứu và tọa độ thu mẫu

STT	Tọa độ thu mẫu	Tên và ký hiệu mẫu
1	17°09'07"N-107°19'35"E	<i>Mycale laevis</i> (CC12), <i>Erylus formolus</i> (CC48)
2	17°09'29"N-107°20'53"E	<i>Biemna</i> sp. (CC13)
3	17°09'04"N-107°20'39"E	<i>Hyrtios eretus</i> (CC34), <i>Niphates</i> sp. (CC46), <i>Dictyonella pelligera</i> (CC40)

Phương pháp tách chiết DNA

Phương pháp tách chiết DNA được tiến hành theo Tran et al. (2013) [10]. Chất lượng DNA tổng số được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 0,8%.

Phương pháp nhân bản đoạn DNA đích và xác định trình tự DNA

Nhân bản vùng DNA đích trên 18S rDNA bằng kỹ thuật PCR với cặp mồi thiết kế trên cơ sở trình tự 18S rDNA của các loài nghiên cứu đã được đăng ký trên ngân hàng Gen quốc tế. Thành phần phản ứng PCR như sau: 2 µl (ca. 10-20 ng) DNA tổng số; 2,5 mM MgCl₂, 1 mM dNTPs, 10 pmol mỗi mỗi loại và 1 Unit *Taq* DNA polymerase, tổng thể tích 25 µl. Chu kỳ nhiệt: 94°C/3 phút; 30 chu kỳ (94°C/30 giây, 55°C/30 giây và 72°C/1 phút); 72°C/8 phút. Sản phẩm PCR được điện di kiểm tra trên gel

agarose 1,5%, tinh sạch sử dụng QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen, CHLB Đức) và được xác định trình tự hai chiều xuôi/ngược (Macrogen Inc., Hàn Quốc).

Phân tích trình tự

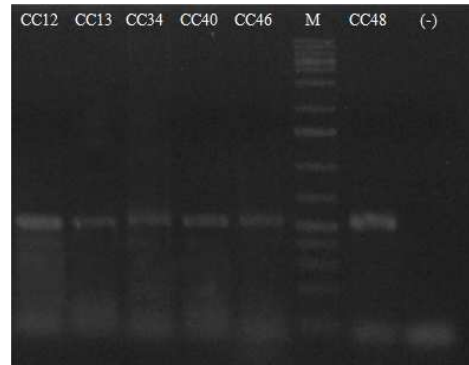
Các trình tự đoạn DNA nghiên cứu được phân tích và so sánh với các trình tự rDNA 18S của hải miên đã công bố trên ngân hàng gen quốc tế (GenBank) bằng công cụ BLAST, xác định mức độ tương đồng (%) bằng phần mềm Lasergene 7.0 và DNAMAN 4.1.5 (Lynnon BioSoft, Hoa Kỳ).

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Phân lập và xác định trình tự đoạn DNA trên gen ribosome 18S của các mẫu hải miên nghiên cứu

Dựa vào cơ sở dữ liệu về trình tự nucleotide trên GenBank, cặp mồi 18S-F (5'-GGCAGC

AGGCGCGCAAATTAC-3’)/18S-R (5’-AACT TTCGTTCTTGATTAAT G-3’) đã được thiết kế đặc hiệu để nhân bản đoạn DNA có kích thước khoảng 560 bp trên gen ribosome 18S ở hải miên. Kết quả kiểm tra sản phẩm PCR cho thấy, các băng DNA đều có độ đặc hiệu và có kích thước khoảng hơn 500 bp, tương tự như tính toán lý thuyết (hình 1). Như vậy, các đoạn DNA đích trên gen ribosome 18S của 6 mẫu hải miên đã được nhân bản thành công. Sau khi tinh sạch và xác định trình tự nucleotide, các đoạn DNA nhân bản có kích thước 559 bp hoặc 561 bp và có độ tương đồng từ 88,2% đến 96,8% (bảng 2).



Hình 1. Kết quả điện di sản phẩm nhân bản đoạn rDNA 18S từ các mẫu hải miên nghiên cứu

Bảng 2. Mức độ tương đồng (%) giữa trình tự nucleotide của các đoạn rDNA 18S phân lập từ 6 mẫu hải miên nghiên cứu và các trình tự tham khảo tương ứng

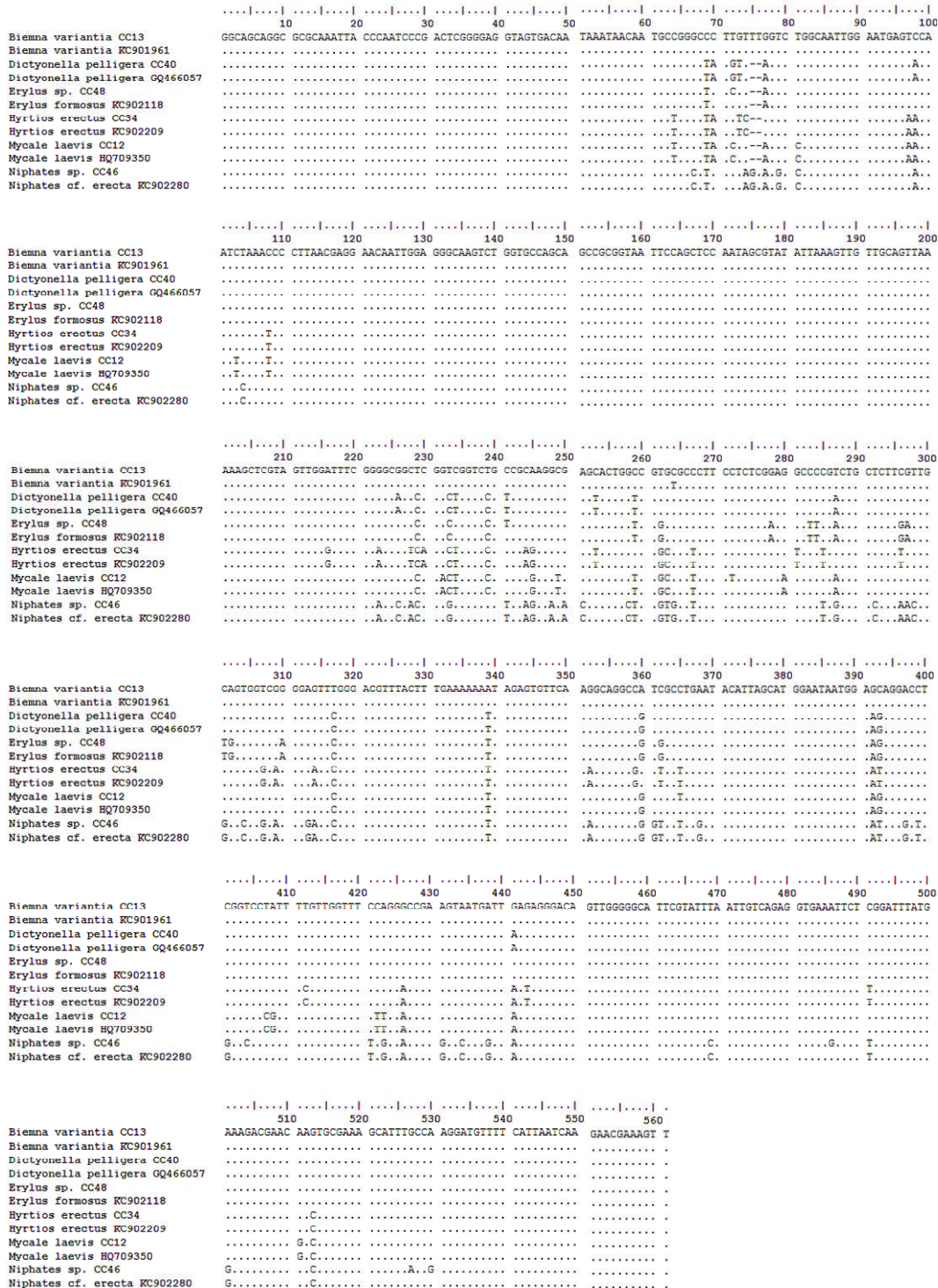
Trình tự	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1		99,8										
2												
3	96,2	96,1		100								
4	96,2	96,1										
5	95,7	95,5	96,8	96,8		99,6						
6	96,1	95,9	96,6	96,6								
7	92,5	92,3	93,6	93,6	91,6	91,9		100				
8	92,5	92,3	93,6	93,6	91,6	91,9						
9	93,2	93,0	95,3	95,3	93,9	93,9	93,4	93,4		99,6		
10	93,6	93,4	95,7	95,7	94,3	94,3	93,4	93,4				
11	88,9	88,9	90,0	90,0	89,8	89,8	90,7	90,7	89,3	89,3		99,3
12	88,2	88,2	89,3	89,3	89,1	89,1	90,0	90,0	88,6	88,6		

Ghi chú: 1. *Biemna variantia* C13; 2. *Biemna variantia* KC901961; 3. *Dictyonella pelligera* CC40; 4. *Dictyonella pelligera* GQ466057; 5. *Erylus* sp. CC48; 6. *Erylus formosus* KC902118; 7. *Hyrtios erectus* CC34; 8. *Hyrtios erectus* KC902209; 9. *Mycale laevis* CC12; 10. *Mycale laevis* HQ709350; 11. *Niphates cf. erecta* KC902280; 12. *Niphates* sp. CC46.

Phân tích trình tự đoạn DNA nghiên cứu và các trình tự tương ứng trên Ngân hàng Gen quốc tế (GenBank)

Phân tích trình tự nucleotide của đoạn rDNA 18S phân lập từ các loài hải miên nghiên cứu cho thấy các trình tự có độ tương đồng cao với trình tự tương ứng của các loài hải miên đã được công bố trên Genbank (99,3-

100%), điều này khẳng định sự phù hợp giữa phân tích hình thái và phân tích chỉ thị phân tử là trình tự DNA trên gen ribosome 18S (bảng 2). Tổng cộng có 96 điểm đa hình giữa 6 giống *Erylus*, *Hyrtios*, *Mycale*, *Biemna*, *Niphates* và *Dictyonella*, trong đó, có 2 đột biến thêm hoặc bớt nucleotide và 94 đột biến thay thế (hình 2).



Hình 2. Kết quả phân tích đa hình trình tự nucleotide của các đoạn rDNA 18S phân lập từ các mẫu hải miên nghiên cứu với trình tự tương ứng công bố trên GenBank (tên loài và mã số trình tự kèm theo)

Bảng 3. Danh sách các trình tự tham khảo trên ngân hàng GenBank

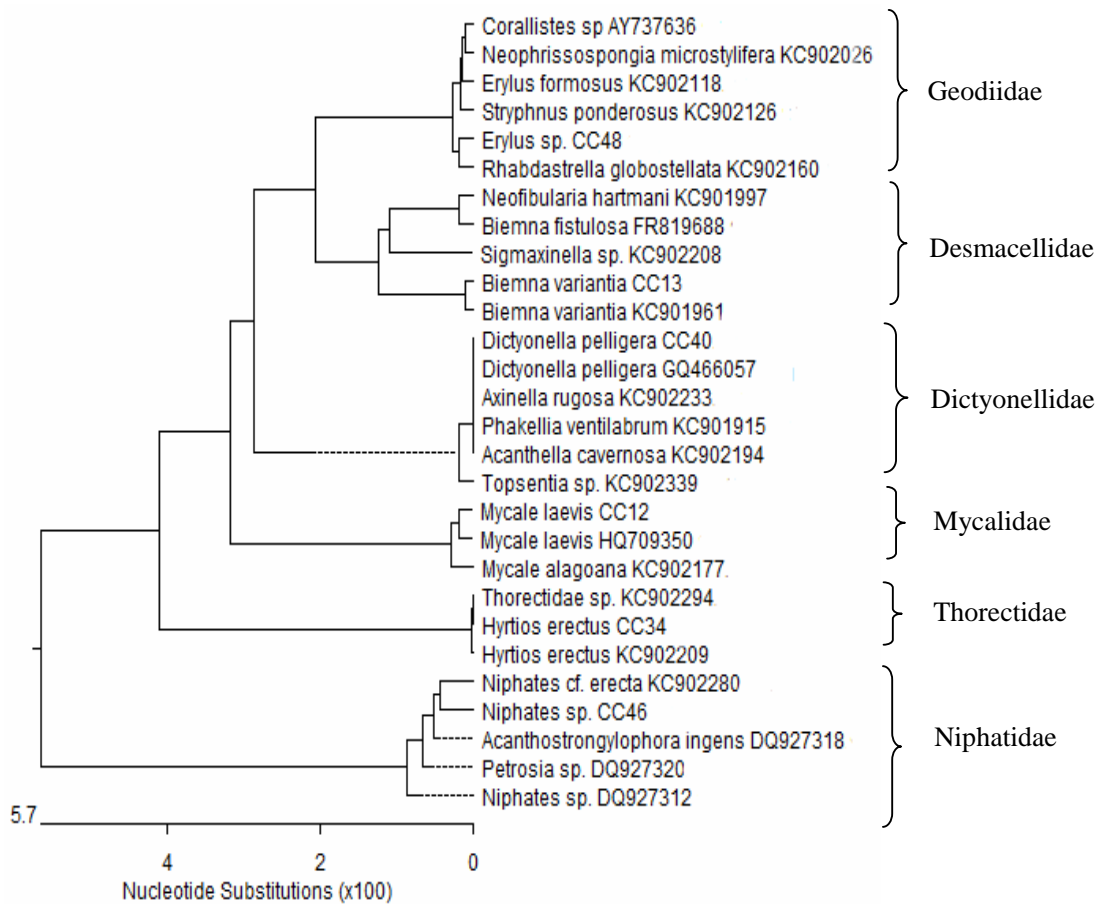
STT	Tên loài	Mã số trên GenBank
1	<i>Acanthella cavernosa</i>	KC902194
2	<i>Acanthostrongylophora ingens</i>	DQ927318
3	<i>Axinella rugosa</i>	KC902233
4	<i>Biemna fistulosa</i>	FR819688
5	<i>Biemna variantia</i>	KC901961
6	<i>Corallistes</i> sp.	AY737636
7	<i>Dictyonella pelligera</i>	GQ466057
8	<i>Erylus formosus</i>	KC902118
9	<i>Hyrtios erectus</i>	KC902209
10	<i>Mycale alagoana</i>	KC902177
11	<i>Mycale laevis</i>	HQ709350
12	<i>Neofibularia hartmani</i>	KC901997
13	<i>Neophrissospongia microstylifera</i>	KC902026
14	<i>Niphates cf. erecta</i>	KC902280
15	<i>Niphates</i> sp.	DQ927312
16	<i>Petrosia</i> sp.	DQ927320
17	<i>Phakellia ventilabrum</i>	KC901915
18	<i>Rhabdastrella globostellata</i>	KC902160
19	<i>Sigmaxinella</i> sp.	KC902208
20	<i>Stryphnus ponderosus</i>	KC902126
21	<i>Thorectidae</i> sp.	KC902294
22	<i>Topsentia</i> sp.	KC902339

Đối với giống *Mycale*, đa hình trình tự của đoạn rDNA 18S từ các loài đã công bố thuộc giống này được phản ánh ở các điểm sai khác đặc trưng ở mức độ giống và mức độ loài khi so sánh trình tự rDNA 18S phân lập được từ mẫu *Mycale laevis* (CC12) với 34 trình tự tương ứng phân lập từ các loài thuộc giống *Mycale* (Genbank). Đoạn trình tự rDNA 18S phân lập từ mẫu *Mycale laevis* (CC12) và trình tự tương ứng ở loài *Mycale alagoana* có sai khác ở vị trí nucleotide 103 (T-C) so với các loài khác trong giống *Mycale* và các giống khác. Trình tự của giống *Mycale* có 7 điểm sai khác đặc trưng so với các giống *Erylus*, *Hyrtios*, *Biemna*, *Niphates*, *Dictyonella* tại các vị trí 232, 249, 280, 407, 408, 422 và 511 (hình 2). Xét về độ tương đồng trình tự nucleotide, mẫu *Mycale laevis* (CC12) gần gũi nhất với loài *Mycale laevis* HQ709350, với 2 điểm đột biến thay thế tại các vị trí 272 (T-C) và 365 (T-C), trong đó đột biến thay thế ở vị trí 272 tương tự ở *Mycale* sp. (KC762712), vị trí 365 tương tự ở giống *Hyrtios* và giống *Niphates*. Ngoài các điểm đa hình đặc trưng theo từng giống và loài,

các điểm đột biến khác xuất hiện ở trình tự của các mẫu phân lập được cho thấy có sự đa dạng sinh học của loài hải miên theo vùng địa lý phân bố. Loài *Hyrtios erectus* (CC34) có trình tự gen 18S phân lập được tương đồng 100% so với các loài *Hyrtios erectus* (KC902209), *Hyrtios altus* (KC902007), *Fasciospongia* sp. (KC901964) và *Thorectidae* sp. (KC902294) trong cùng họ Thorectidae. Tương tự, trình tự phân lập từ loài *Dictyonella pelligera* (CC40) tương đồng 100% so với các loài *Dictyonella pelligera* (GQ466057), *Axinella rugosa* (KC902233), *Acanthella cavernosa* (KC902194), *Phakellia ventilabrum* (KC901915) trong cùng họ Dictyonellidae, điều này cho thấy, đoạn rDNA 18S nghiên cứu có độ bảo thủ cao giữa các giống thuộc họ này. Các loài thuộc giống *Hyrtios* có 8 điểm sai khác đặc trưng so với các giống *Erylus*, *Mycale*, *Biemna*, *Niphates*, *Dictyonella* tại các vị trí 74, 215, 229, 281, 296, 359, 412 và 443 (hình 2). Tương tự, các trình tự thuộc giống *Biemna* có 7 điểm sai khác đặc trưng so với các giống còn lại ở vị trí 69, 229, 233, 317, 339, 392 và 393. Trong 6 mẫu nghiên

cứu, *Erylus* sp. (CC48) và *Dictyonella pelligera* (CC40) có độ tương đồng cao nhất (96,8%). Đồng thời hai mẫu này cũng có điểm sai khác đặc trưng thấp nhất so với các mẫu còn lại, giống *Erylus* có 5 điểm ở vị trí 278, 301, 302, 310 và 362; giống *Dictyonella* có 2 điểm ở vị trí 72 và 226 (hình 2). Trình tự các loài *Niphates* sp. có độ tương đồng thấp nhất về trình tự rDNA 18S so với các loài thuộc 5 giống *Erylus*, *Mycale*, *Biemna*, *Hyrtios*, *Dictyonella* (88,2-

90,7%), với 33 điểm sai khác đặc trưng (tại các vị trí: 67, 74, 79, 104, 226, 228, 233, 248, 250, 251, 258, 263, 264, 287, 292, 296, 298, 301, 304, 313, 361, 368, 397, 399, 401, 421, 422, 431, 434, 438, 469, 491 và 501) (hình 2). Trình tự các mẫu thuộc 4 giống *Dictyonella*, *Erylus*, *Hyrtios* và *Mycale* đều xuất hiện đột biến mất 2 nucleotide ở vị trí 75 và 76 khi so sánh với giống *Biemna* (mất 2 nucleotide T) và giống *Niphates* (mất nucleotide G và T).



Hình 3. Cây phát sinh loài dựa vào các trình tự đoạn rDNA 18S phân lập từ các mẫu hải miên nghiên cứu và trình tự tương ứng tham khảo trên Genbank (tên loài và mã số trình tự kèm theo)

Dựa trên đặc điểm hình thái, mẫu CC46 được xác định thuộc giống *Niphates* và mẫu CC48 thuộc giống *Erylus* (bảng 1), tuy nhiên, kết quả phân tích trình tự rDNA chỉ thị 18S ở đây cho thấy trình tự mẫu CC46 có độ tương đồng rất cao (99,3%) với trình tự tương ứng của

loài *Niphates cf. erecta* (KC902280), tương tự mẫu CC48 giống tới 99,6% với trình tự thuộc loài *Erylus formosus* (KC902209). Đây cũng là một cơ sở để tiếp tục phân tích và xác định tên khoa học của hai mẫu CC46 và CC48.

Nghiên cứu sự phát sinh chủng loại của các mẫu hải miên đã được tiến hành dựa trên trình tự rDNA 18S của 6 mẫu hải miên nghiên cứu và các trình tự tương ứng đã công bố trên Ngân hàng Gen quốc tế (bảng 3). Theo sơ đồ cây phát sinh loài (hình 3) có thể nhận thấy các trình tự phân tích được nhóm thành 6 nhánh riêng biệt tương ứng với 6 họ theo đặc điểm hình thái. Mỗi nhánh chứa một mẫu hải miên nghiên cứu nhánh 1: họ Geodiidae (*Erylus* sp. CC48), nhánh 2: họ Desmacellidae (*Biemna variantia* CC13), nhánh 3: họ Dictyonellidae (*Dictyonella pelligera* CC40), nhánh 4: họ Mycalidae (*Mycale laevis* CC12), nhánh 5: họ Thorectidae (*Hyrtios erectus* CC34) và nhánh 6: họ Niphatidae (*Niphatas* sp. CC46). Họ Desmacellidae và Mycalidae thuộc bộ Poecilosclerida, tuy nhiên theo sơ đồ cây phát sinh chủng loại, họ Desmacellidae có khoảng cách di truyền khá xa với Mycalidae và lại có vị trí gần hơn với họ Geodiidae thuộc bộ Astrophorida. Họ Niphatidae thuộc phân lớp Ceractinomorpha cùng với bốn họ Desmacellidae, Dictyonellidae, Mycalidae và Thorectidae. Mặc dù vậy, phân tích phát sinh chủng loại dựa vào trình tự rDNA 18S cho thấy họ Niphatidae nằm riêng biệt ở nhánh cuối cùng và có khoảng cách di truyền cách xa với cả 5 nhánh còn lại (hình 3). Kết quả phân tích phát sinh chủng loại dựa vào trình tự rDNA 18S trong nghiên cứu này phản ánh sự bảo thủ ở mức độ họ trong hệ thống phân loại. Tuy nhiên, để có thể tìm hiểu sâu hơn cần nghiên cứu thêm các DNA chỉ thị khác chẳng hạn như rDNA 28S hoặc DNA ty thể để phân tích chủng loại của các mẫu hải miên.

KẾT LUẬN

Các đoạn DNA chỉ thị có kích thước 559-561 bp trên gen ribosome DNA 18S đã được phân lập thành công từ 6 mẫu hải miên thu thập ở khu bảo tồn biển Đảo Cồn Cỏ tỉnh Quảng Trị. Phân tích trình tự DNA chỉ thị trên đã cho thấy các mẫu hải miên nghiên cứu đều có độ tương đồng cao với các loài tương ứng đã công bố trên GenBank, khẳng định trình tự đoạn DNA nghiên cứu có thể được sử dụng làm chỉ thị phân tử để đánh giá đa dạng di truyền và góp phần định loại loài hải miên bằng sinh học phân

tử. Đây cũng là công trình đầu tiên nghiên cứu về các loài hải miên tại Đảo Cồn Cỏ, kết quả cho thấy, hải miên ở khu biển đảo Cồn Cỏ đa dạng về thành phần loài và bậc trên loài mặc dù mới được khảo sát sơ bộ tại 3 điểm nghiên cứu quanh đảo.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu được thực hiện bằng kinh phí của Đề tài cấp Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam: “Nghiên cứu đa dạng sinh học và các chất có hoạt tính sinh học của hải miên (Porifera) tại đảo Cồn Cỏ, tỉnh Quảng Trị”, mã số VAST06.06/12-13. Nhóm nghiên cứu trân trọng cảm ơn TS. Đàm Đức Tiên và những người khác, Viện Tài nguyên và Môi trường biển, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam đã hỗ trợ thu thập mẫu hải miên và cung cấp một số tài liệu tham khảo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Azzini F., Calcinaï B., Cerrano C., Bavestrello G., Pansini M., 2007. Sponges of the marine karst lakes and of the coast of the islands of Ha Long Bay (North Vietnam). In Custodio M. R. et al. (ed.) Porifera Research: Biodiversity, Innovation and Sustainability.- Museo Nacional, Rio de Janeiro, 157-164.
2. Calcinaï B., Azzini F., Bavestrello G., Cerrano C., Pansini M., Thung DC., 2006. Boring sponges from the Ha Long bay (Tonkin gulf, Vietnam). Zool. Stud., 45(2): 201-212.
3. Chervyakova N. A., 2007. Porifera (Demospongia) of the Nhatrang bay. Benthic fauna of the bay of Nha Trang, Southern Vietnam. KMK Scientific Press Ltd., Moscow, 248.
4. Detmer S., Maurice C., Franssen R., Osinga R., Tramper J., Rene´ H. Wijffels, 2005. Marine sponges as pharmacy. Marine Biotechnology, 7(3): 142-162.
5. Hooper J. N. A., Kennedy J. A., van Soest R. W. M., 2000. Annotated checklist of sponges (Porifera) of the South China Sea region. The Rafles Bull. Zool., suppl. 8: 125-207.
6. Hooper J. N. A., van Soest R. W. M., 2002. Systema Porifera: A guide to the

- classification of Sponges. Kluwer Academic/Plenum Publishers, 1756p.
7. Thai Minh Quang, 2013. A review of the diversity of sponges (Porifera) in Vietnam: 109-115. Proceeding of the 2nd international workshop on marine bioresources in Vietnam. Hanoi.
 8. Hill M. S., Hill A. L., Lopez J., Peterson K. J., Pomponi S., 2013. Reconstruction of family-level phylogenetic relationships within Demospongiae (Porifera) using nuclear encoded housekeeping genes. PLoS ONE 8(1): e50437. doi:10.1371/journal.pone.0050437.
 9. Redmond N. E., Raleigh J., van Soest R. W. M., Kelly M., Travers S. A. A., 2011. Phylogenetic relationships of the marine Haplosclerida (phylum Porifera) employing ribosomal (28S rRNA) and mitochondrial (cox1, nad1) gene sequence data. PLoS ONE 6(9): e24344. doi:10.1371/journal.pone.0024344.
 10. Tran My Linh, Le Quynh Lien, Nguyen Chi Mai, Phan Minh Tuan, Le Thanh Long, Ninh Khac Ban, 2013. DNA extraction method from marine organisms for molecular analysis. Proceedings of VAST-IRD symposium on marine science. Publishing house for Science and Technology: 396-402.
 11. Uriz M. J., Turon X., 2012. Sponge ecology in the molecular era. Advances in marine biology, 61: 345-410. doi: 10.1016/B978-0-12-387787-1.00006-4.
 12. Van S. R. W. M., Boury-Esnault N., Hooper J. N. A., Rützler K., de Voogd N. J., Alvarez de Glasby B., Hajdu E., Pisera A. B., Manconi R., Schoenberg C., Janussen D., Tabachnick K. R., Klautau M., Picton B., Kelly M., Vacelet J., Dohrmann M., Cristina Díaz M., 2013. World Porifera database.

MOLECULAR MARKERS BASED ON 18S RIBOSOME GENE FRAGMENTS OF SPONGES (Porifera: Demospongiae) COLLECTED FROM CON CO ISLAND, QUANG TRI PROVINCE

Tran My Linh¹, Nguyen Chi Mai², Le Quang Trung², Vu Huong Giang¹, Le Quynh Lien¹, Le Thanh Long², Phan Minh Tuan², Nguyen Tuong Van³, Ninh Khac Ban¹

¹Institute of Marine Biochemistry, VAST
²Centre for High Technology Development, VAST
³Institute of Biotechnology, VAST

SUMMARY

Sponge diversity in Vietnam has not been evaluated at all levels from phylogenetics, species, and populations to ecosystems. In the present study, the polymorphism of 18S rDNA fragment sequences revealed phylogenetic variation of 6 demosponge samples (*Biemna variantia*, *Niphates* sp., *Erylus* sp., *Mycale laevis*, *Dictyonella pelligera* and *Hyrtilos erectus*) collected from Con Co island, Quang Tri province, Vietnam. High homology of DNA sequence between each studied samples and referred species in Genbank inferred six samples to be six different taxa as previously identified based on morphological characteristics, providing a potential utility of the DNA sequence for identification of sponges in Vietnam. So far, this study is the first molecular data of sponges collected from Vietnam seas. The obtained results also contribute to our better understanding of the sponge diversity in Con Co island.

Keywords: Porifera, Demospongiae, 18S ribosome DNA fragments, molecular markers, sponges, Con Co island.

Ngày nhận bài: 9-11-2013