

XÁC ĐỊNH CÁC CHỈ THỊ AFLP ĐẶC TRUNG CHO BẦY DÒNG CÁ RÔ PHI NUÔI Ở VIỆT NAM

Trần Thị Bích Hồng¹, Nguyễn Thị Tố Nga¹, Ngô Thị Kim¹, Quyền Đình Thi¹, Nguyễn Hữu Ninh², Phạm Anh Tuấn²

¹Viện Công nghệ sinh học

²Viện Nghiên cứu nuôi trồng Thủy sản I

TÓM TẮT

Bầy dòng cá rô phi nguyên liệu ngoại nhập từ các nước khác nhau thuộc 2 loài Rô phi xanh (*Oreochromis aureus*) và Rô phi vàng (*Oreochromis niloticus*) được sử dụng để nghiên cứu tính đa dạng di truyền, tìm marker AFLP phân biệt các dòng cá rô phi. DNA của 7 dòng được ghép với mục đích giảm số lượng mẫu mà không ảnh hưởng đến chất lượng, mục đích nghiên cứu. Sử dụng NTSYSpc cho thấy hệ số tương đồng giữa các dòng rất cao > 0,85, đặc biệt là giữa các dòng Rô phi xanh hoặc giữa các dòng Rô phi vàng (> 0,97). Có 13/16 tổ hợp mỗi đều thể hiện sự khác nhau giữa Rô phi vàng và Rô phi xanh về mặt di truyền và 6 tổ hợp mỗi xuất hiện băng đặc trưng cho một số dòng. Với tổng số 375 băng thu được (trung bình mỗi tổ hợp mỗi có 23,4 băng), chỉ có 64 kiểu băng đa hình trong đó 40 băng có thể dùng nhận dạng Rô phi xanh hoặc vàng và 12 băng đặc trưng có thể dùng nhận 7 dòng như: AF25/220, AF26/210, AF26/350, AF29/330, AF42/180, AF42/170, AF43/170, AF43/225, AF43/250, AF43/160, AF54/125, AF54/180. Đây là các băng đặc trưng có thể dùng làm nguyên liệu cho việc phát triển các chỉ thị phân tử trong chọn giống ở cá rô phi.

Từ khóa: AFLP, băng đặc trưng, *Oreochromis aureus*, *Oreochromis niloticus*, rô phi

MỞ ĐẦU

Cá rô phi ở Việt Nam có rất nhiều loài như Rô phi vàng (*O. niloticus*), Rô phi xanh (*O. aureus*), hay Rô phi đen (*O. mossambicus*). Do dòng Rô phi đen (nhập từ Philippines) đẻ quá dày, lại chậm lớn, kích thước cá thể bị giảm dần, nên dòng rô phi này không được phát triển. Trước đây, với điều kiện canh tác ở Việt Nam, việc lưu giữ giống thuần không bị tạp giao giữa các dòng là vấn đề rất khó khăn cho các nhà chọn giống cá rô phi. Hiện tượng tạp giao của giống gốc với các loài rô phi đại là một trong những nguyên nhân làm giảm năng suất và chất lượng của mùa vụ trong nuôi trồng thủy sản. Kinh nghiệm của các nhà nuôi trồng thủy sản cho thấy nếu muốn nuôi có hiệu quả thì phải giữ được chất lượng dòng thuần, đồng thời nghiên cứu tìm biện pháp nâng cao chất lượng di truyền của chúng và khả năng thích ứng với điều kiện nước ta thông qua quá trình chọn giống (Đỗ Đức Hạnh, 2006).

Các nhóm tác giả như Quyền Đình Thi, Nguyễn Thị Diệu Thúy, Nguyễn Văn Cường (Nguyễn Thu Thúy *et al.*, 2004; Quyền Đình Thi *et al.*, 2004; 2005), Nguyễn Hữu Ninh, Phạm Anh Tuấn (2003) mới chỉ sử dụng microsatellite, AFLP, RAPD bước đầu đánh giá đa hình hay mối quan hệ di truyền giữa các đàn cá nhằm tìm kiếm các marker liên kết giới tính, huyết thống và phả hệ (Quyền Đình Thi, Phạm

Anh Tuấn, 2005). Các dòng thuần được lưu giữ chủ yếu ở các trung tâm giống. Rô phi canh tác là các dòng lai tạo có được từ các chương trình chọn giống Norway như NOVIT 1, 2, 3... được tạo từ dòng rô phi bố mẹ GIFT (Genetic Improvement of Farmed Tilapia, 1994) (Lê Thanh Lưu, 2000). Trong công tác chọn giống, chủ yếu nghiên cứu tìm kiếm rô phi sinh trưởng tốt trong các điều kiện Việt Nam theo hướng lai tạo các dòng hiện có để tìm công thức lai cho tỷ lệ giới tính đực cao (Phạm *et al.*, 2002) hay có tốc độ sinh trưởng tốt ở vùng nước lợ mặn (Phạm Anh Tuấn *et al.*, 2008), nâng cao sức sinh trưởng và khả năng chịu lạnh bằng chọn lọc gia đình (Nguyễn Công Dân *et al.*, 2003). Tuy nhiên, các nhà chọn giống vẫn không ngừng tìm kiếm các dòng rô phi mới cho hiệu quả sản xuất cao từ các dòng thuần sử dụng phương pháp lai khác loài.

Trên thế giới, các nghiên cứu AFLP tập trung chủ yếu ở mối quan hệ di truyền, đánh giá tính đa hình quần thể (Kocher *et al.*, 1998). Marker phân tử ra đời đã phân tích trực tiếp vật liệu di truyền DNA đem lại độ chính xác cao trong việc đánh giá và xác định các dòng, loài cá. Một số tác giả như Franck, Rutten, Penman và McAndrew... đã sử dụng microsatellite để nhận dạng, xác định loài và liệt kê một loạt các vị trí dự đoán liên quan chặt chẽ với các allele khác nhau giúp phân biệt giữa các loài chủ yếu và dòng lai (Franck *et al.*, 1992; Penman, McAndrew,

2000; Rutten *et al.*, 2004). Đối với marker AFLP, chỉ có 4 chi thị về giới tính trong đó có 3 chi thị liên kết NST Y (*OniY425*, *OniY382*, *OniY227*) và một liên kết NST X (*OniX420*) được tìm thấy (Ezaz, 2002; Ezaz *et al.*, 2004). Nghiên cứu chọn giống rô phi hiện nay đang được triển khai mạnh ở các nước điển hình như Ai Cập, Ecuador, Malaysia, Malawi, Norway, Philippines và Việt Nam thông qua các dự án NORAD (Norway). Những nghiên cứu về băng đặc trưng hay nhận dạng dòng bằng AFLP cũng là tiền đề cơ sở cho việc tìm kiếm chi thị phân tử đặc trưng cho các QTLs (Quantitative Trait Loci).

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Mẫu

189 mẫu vây cá của 7 quần đàn thuộc các dòng cá nhập từ các nước Thái Lan, Trung Quốc, Đài Loan, Philippines và Israel được lưu giữ tại Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I (Đình Bảng, Từ Sơn, Bắc Ninh). Do năm 2008 thời tiết khắc nghiệt nên dòng cá Rô phi vây Thái Lan bị chết chỉ còn 9 cá thể (Bảng 1).

Bảng 1. Tên và kí hiệu của 7 dòng cá rô phi.

Dòng cá	Kí hiệu	Số mẫu
<i>O. aureus</i> Philippines	Oa.PL	30
<i>O. aureus</i> Trung Quốc	Oa.TQ	30
<i>O. aureus</i> Israel	Oa.Is	30
<i>O. niloticus</i> Thái Lan	Oni.TL	9
<i>O. niloticus</i> Israel	Oni.Is	30
<i>O. niloticus</i> Trung Quốc	Oni.TQ	30
<i>O. niloticus</i> Đài Loan	Oni.ĐL	30

Phương pháp ghép mẫu

Để giảm số lượng mẫu nghiên cứu, các mẫu DNA của 1/3 số lượng cá thể trong từng dòng được trộn lại thành các mẫu DNA. Cách ghép như sau: (1) DNA của 7 dòng cá rô phi được ghép theo 10 cá thể thành 1 mẫu kí hiệu là *Oni.TL.1*, *Oa.PL.1*, *Oa.PL.2*, *Oa.PL.3*, *Oa.TQ.1*, *Oa.TQ.2*, *Oa.TQ.3*, *Oa.Is.1*, *Oa.Is.2*, *Oa.Is.3*, *Oni.Is.1*, *Oni.Is.2*, *Oni.Is.3*, *Oni.TQ.1*, *Oni.TQ.2*, *Oni.TQ.3*, *Oni.ĐL.1*, *Oni.ĐL.2*, *Oni.ĐL.3*. (2) DNA ghép được đo OD và pha loãng với nồng độ thích hợp cho phản ứng AFLP (25 ng). (3) Tiến hành AFLP trên các tổ hợp mẫu chọn lọc. Như vậy, mỗi dòng rô phi cho 3 mẫu DNA ghép, riêng dòng *Oni.TL* chỉ có 1 sản phẩm ghép.

Phương pháp AFLP

Phương pháp AFLP (Vos *et al.*, 1995) cải biến từ phương pháp của Van Eck và đồng tác giả (1995). Sau khi gắn adapter *EcoRI* (adapter E) và *MseI* (adapter M) adapter vào sản phẩm cắt hạn chế DNA. PCR chọn lọc sử dụng mồi dựa trên trình tự của *EcoRI* và *MseI* và thêm các nucleotide chọn lọc từ sản phẩm tiền PCR (PCR không chọn lọc). Kết quả của PCR chọn lọc được hiển thị trên gel polyacrylamid 5%.

Phân tích số liệu

Sự có mặt của 1 băng được mã hóa bằng số 1, sự không xuất hiện được mã hóa là số 0. Số liệu của từng cặp mồi được đưa vào excel đánh giá và sau đó xử lý bằng NTSYSpc.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Ba mươi mẫu DNA của từng dòng cá rô phi được ghép lại với nhau trong nội bộ dòng để giảm số lượng mẫu nghiên cứu. Các băng DNA đặc trưng cho dòng không chỉ dùng để nhận dạng dòng mà còn có thể kết hợp với các đặc tính kiểu hình ưu việt của dòng để tìm kiếm mối liên hệ và phát triển thành chi thị phân tử.

Phương pháp ghép mẫu (bulked segregant analysis) được các nhà nghiên cứu sử dụng phổ biến trong việc tìm kiếm marker phân tử. Ở rô phi, nhiều tác giả cũng sử dụng phương pháp ghép mẫu ở microsatellite để phát hiện một số chi thị liên quan đến cơ chế xác định giới tính (Lee *et al.*, 2003; Ezaz *et al.*, 2004) và nghiên cứu mối quan hệ di truyền (Hussain *et al.*, 2005).

Sau khi khảo sát AFLP với 64 tổ hợp mồi (Bảng 3) với mẫu *Oa.TQ.1* và DNA chuẩn của hãng Invitrogen và tham khảo các kết quả của Kocher trong việc xác định bản đồ liên kết (Kocher *et al.*, 1998) chúng tôi chọn được 16 tổ hợp mồi cho nhiều sản phẩm nhất.

Phân tích đa hình

Với 16 tổ hợp mồi đã chọn lọc thu được 375 kiểu băng (Bảng 5), trong đó chỉ có 64 kiểu băng đa hình (chiếm 16,58%) và tổng số băng là 7033. Tổ hợp mồi AF42 cho nhiều nhất 42 kiểu băng, AF36 cho ít nhất với 15 kiểu băng.

Phân tích NTSYS cho thấy hệ số tương đồng giữa các dòng rất cao 0,852 - 0,981. Hệ số tương đồng giữa các dòng Rô phi xanh là 0,976 - 0,987 và

giữa các dòng Rô phi vân dao động 0,971 - 0,981 (Bảng 4). Hệ số tương đồng giữa các dòng Rô phi xanh với các dòng Rô phi vân thấp hơn 0,852 - 0,873. Điều này phù hợp với nguồn gốc di truyền với các dòng.

Bardakci và Skibinski (1994), Dinesh và đồng tác giả (1996), Sherif và đồng tác giả (2009) sử dụng RAPD ước lượng độ tương đồng di truyền giữa *O. niloticus* và *O. aureus* là 0,698, 0,46 và 0,612. Nghiên cứu của Sodsuk and McAndrew (1991) trên chỉ thị isozyme cho độ tương đồng là 0,744. Độ tương đồng cao trong kỹ thuật AFLP giúp người nghiên cứu dễ dàng nhận ra các băng đặc trưng.

Trên cây di truyền có thể thấy rõ sự phân nhánh

của hai nhóm Rô phi vân và xanh (Hình 1), khoảng cách di truyền giữa các dòng rất thấp, cao nhất là giữa các dòng xanh với các dòng vân thấp nhất là giữa các dòng xanh với nhau (*Oa.TQ* với *Oa.Is* (0,013) hoặc giữa các dòng vàng với nhau. Tại giá trị 0,85, cây mới phân nhánh và chia thành hai nhóm Rô phi xanh (*Oa.PL*, *Oa.TQ*, *Oa.Is*) và Rô phi vân (*Oni.TL*, *Oni.Is*, *Oni.TQ*, *Oni.TQ*). Đây là hai loài có thể phân biệt bằng hình thái. Hệ số tương đồng giữa các dòng trong nhóm Rô phi vân thấp hơn hệ số tương đồng giữa các nhóm Rô phi xanh, cho thấy Rô phi vân đa hình hơn Rô phi xanh. Kết quả cũng lặp lại nghiên cứu của Agnese et al.(1997) và phù hợp với kết quả từ phân tích mtRFLP và microsatellite của nhóm tác giả.

Bảng 2. Trình tự các adapter và mỗi được sử dụng trong phân tích AFLP.

Enzyme hạn chế	<i>EcoRI</i> [5' - 3']	<i>MseI</i> [5' - 3']
Adapter	CTCGTAGACTGCGTACC AATTGGTACGCGATC	GACGATGAGTCCTGAG TACTCAGGACTCAT
Mỗi preselective	GACTGCGTACCAATTCA	GATGAGTCCTGAGTAAC
Mỗi selective	GACTGCGTACCAATTCANN	GATGAGTCCTGAGTAACNN

Bảng 3. Ký hiệu của các cặp mỗi chọn lọc

Mỗi chọn lọc	<i>M-CAA</i>	<i>M-CAC</i>	<i>M-CAG</i>	<i>M-CAT</i>	<i>M-CTA</i>	<i>M-CTC</i>	<i>M-CTG</i>	<i>M-CTT</i>
<i>E-AAC</i>	1	2	3	4	5	6	7	8
<i>E-AAG</i>	9	10	11	12	13	14	15	16
<i>E-ACA</i>	17	18	19	20	21	22	23	24
<i>E-ACC</i>	25	26	27	28	29	30	31	32
<i>E-ACG</i>	33	34	35	36	37	38	39	40
<i>E-ACT</i>	41	42	43	44	45	46	47	48
<i>E-AGC</i>	49	50	51	52	53	54	55	56
<i>E-AGG</i>	57	58	59	60	61	62	63	64

Ghi chú: * AF là kí hiệu chung cho tất cả các tổ hợp mỗi, in đậm là các tổ hợp mỗi được sử dụng trong nghiên cứu.

Bảng 4. Hệ số tương đồng giữa các dòng cá rô phi.

Dòng	<i>Oa.PL</i>	<i>Oa.TQ</i>	<i>Oa.Is</i>	<i>Oni.TL</i>	<i>Oni.Is</i>	<i>Oni.TQ</i>	<i>Oni.ĐL</i>
<i>Oa.PL</i>	1						
<i>Oa.TQ</i>	0,976	1					
<i>Oa.Is</i>	0,984	0,987	1				
<i>Oni.TL</i>	0,868	0,865	0,873	1			
<i>Oni.Is</i>	0,857	0,860	0,862	0,974	1		
<i>Oni.TQ</i>	0,860	0,852	0,855	0,971	0,981	1	
<i>Oni.ĐL</i>	0,862	0,855	0,857	0,974	0,974	0,981	1

Nhận dạng các dòng cá rô phi bằng AFLP

Băng đặc trưng được xác định là các băng chỉ xuất hiện ở dòng này mà không xuất hiện ở một số dòng khác hoặc băng không xuất hiện ở dòng phân biệt nhưng xuất hiện ở các dòng khác.

Nhận dạng các dòng rô phi *O. niloticus* và *O. aureus*

Trong 16 tổ hợp môi có 14 tổ hợp môi cho phép phân biệt hai dòng Rô phi xanh và vàng với tổng số 40 băng chỉ có trên dòng xanh hoặc vàng như như băng AF3/19,26, băng AF42/21, 27, băng AF43/24, băng AF54/12,13. Sử dụng các băng đặc trưng cho loài Rô phi xanh hoặc vàng đánh giá sự di truyền kết hợp với các đặc tính của mỗi loài để nghiên cứu ứng dụng trong các phép lai xa giữa hai loài rô phi, các phép lai này đang được các nhà chọn giống rô phi áp

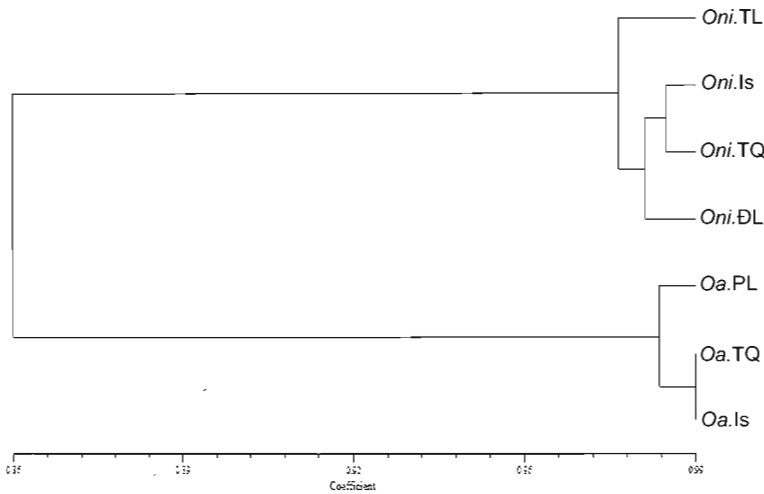
dụng (Kocher *et al.*, 1998).

Nhận dạng các dòng Rô phi xanh *O. aureus*

Băng AF43/17/170bp (E-ACT/M-CAG) chỉ xuất hiện ở dòng *Oa.PL*, đặc trưng cho dòng rô phi *Oa.PL* (Hình 3). Băng AF29/16/330bp (E-ACC/M-CTA) xuất hiện ở dòng Rô phi xanh *Oa.PL* và các dòng Rô phi vàng khác.

Băng AF26/17/350bp (E-ACC/M-CAC) xuất hiện ở dòng *Oa.TQ* và các dòng Rô phi vàng. Băng AF43/16/160 (E-ACT/M-CAG) chỉ xuất hiện ở dòng *Oa.TQ*, đặc trưng cho dòng *Oa.TQ*.

Băng AF43/28/250bp (E-ACT/M-CAG), xuất hiện ở tất cả các dòng rô phi trừ dòng *Oa.PL*. Có thể dùng băng này để nhận dạng dòng *Oa.PL* với các dòng Rô phi xanh khác.



Hình 1. Cây di truyền của 7 dòng cá rô phi.

Bảng 5. Số lượng băng cụ thể của từng tổ hợp môi.

Tổ hợp môi	Số băng	Tổ hợp môi	Số băng	Tổ hợp môi	Số băng	Tổ hợp môi	Số băng
AF3	30	AF22	26	AF29	18	AF45	16
AF7	24	AF25	23	AF36	15	AF49	23
AF15	18	AF26	23	AF42	42	AF54	27
AF16	17	AF28	21	AF43	35	AF58	17
Tổng số băng							375

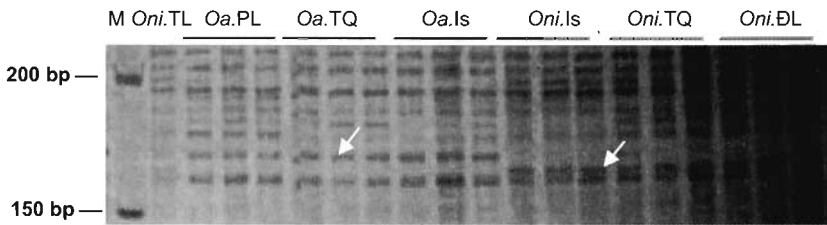
Nhận dạng các dòng Rô phi xanh *O. niloticus*

Nhóm Rô phi vẫn có tính đa hình cao hơn, có nhiều băng đặc trưng hơn như: băng AF42/17/180bp (E-ACT/M-CAC) xuất hiện ở các dòng vẫn trừ dòng *Oni.Is* (Hình 3.17), đặc trưng cho dòng *Oni.Is*; băng AF25/19/220 bp (E-ACC/M-CAA) chỉ xuất hiện ở dòng *Oni.TQ*. Băng AF54/6/125 (E-AGC/M-CTC), băng AF42/18/170 (E-ACT/M-CAC), băng AF43/25/225bp (E-ACT/M-CAG) chỉ xuất hiện ở dòng *Oni.TQ*.

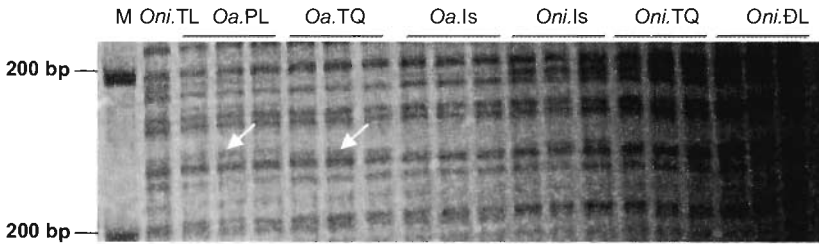
Một số băng tuy không đặc trưng cho một dòng

nào nhưng có thể kết hợp với các tổ hợp mỗi khác để *Oni.ĐL*; băng AF26/12/210bp (E-ACC/M-CAC) nhận biết các dòng như băng AF54/12/180bp (E-AGC/M-CTC) chỉ xuất hiện ở dòng vẫn *Oni.TQ* và xuất hiện ở *Oni.TL* và các dòng Rô phi xanh, không xuất hiện ở *Oni.Is* và *Oni.TQ*.

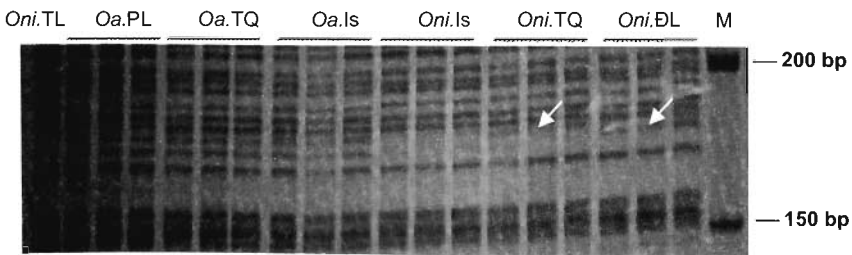
Trong một nghiên cứu của Kocher và đồng tác giả (1998), một số băng đặc trưng chúng tôi phát hiện đã được định vị trên các nhóm liên kết như: AF43/225 (thuộc nhóm liên kết số 16), AF43/250 (thuộc nhóm liên kết số 7).



Hình 2. Băng đặc trưng AF54/12 và AF54/13 cho dòng *O. niloticus* và *O. aureus*.



Hình 3. Băng đặc trưng của tổ hợp mỗi AF43. Băng AF43/17 của dòng *Oa.PL*, băng AF43/16 của dòng *Oa.TQ*.



Hình 4. Băng đặc trưng của tổ hợp mỗi AF42. Băng AF42/17/180bp của dòng *Oni.Is* và băng AF42/18/170 bp của dòng *Oni.ĐL*. M. Marker.

Bảng 6. Một số băng đặc trưng cho dòng.

Thứ tự	Tổ hợp môi	Kích thước băng (bp)	Đặc trưng cho dòng	Kí hiệu
1	E-ACC/M-CTA	~330	Oa.PL	AF29/330
2	E-ACT/M-CAG	~160	Oa.TQ	AF43/160
3	E-ACT/M-CAG	~170	Oa.PL	AF43/170
4	E-ACT/M-CAG	~250	Oa.PL ¹	AF43/250
5	E-AGC/M-CTC	~180	Oni.TQ, Oni.ĐL	AF54/180
6	E-AGC/M-CTC	~125	Oni.ĐL	AF54/125
7	E-ACC/M-CAC	~350	Oa.TQ	AF26/350
8	E-ACC/M-CAC	~210	Oni.TL	AF26/210
9	E-ACC/M-CAA	~220	Oni.TQ	AF25/220
10	E-ACT/M-CAC	~170	Oni.ĐL	AF42/170
11	E-ACT/M-CAC	~180	Oni.ls ¹	AF42/180
12	E-ACT/M-CAG	~225	Oni.ĐL	AF43/225

Ghi chú: ¹Không xuất hiện ở dòng, nhưng đặc trưng cho dòng, AF54180 là băng có kích thước khoảng 180 bp của tổ hợp môi AF54.

KẾT LUẬN

Phân tích AFLP bằng 16 tổ hợp môi trên 19 mẫu DNA ghép của 7 dòng cá rô phi cho thấy 13 trong số 16 môi có băng đặc trưng cho dòng Rô phi xanh hoặc vàng, 6 môi cho 12 băng đặc trưng nhận dạng được 7/7 dòng.

Trong tổng số 64 băng đa hình AFLP, có 12 băng có khả năng dùng nhận dạng dòng; trong đó dòng Oni.TL có 1 băng (AF26/210); Oa.PL có 3 băng AF29/330, AF43/170, AF4/3250; dòng Oa.TQ có 2 băng AF26/350, AF43/160; Oni.TQ có 1 băng AF/25220; Oni.ĐL có 3 băng AF54/125, AF42/170, AF43/225. Các băng đặc trưng nhận dạng dòng là nguyên liệu cho quá trình tìm kiếm marker phân tử sau này

Lời cảm ơn: Công trình có sự hỗ trợ của đề tài "Nghiên cứu phát triển các marker phân tử phục vụ chọn giống và bảo tồn quỹ gen ở cá tra và cá rô phi", thuộc chương trình phát triển và ứng dụng công nghệ sinh học trong lĩnh vực thủy sản đến năm 2020, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn năm 2008 - 2010.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Đỗ Đức Hạnh (2006) Công trình KHCN của ngành thủy sản tham gia Giải thưởng Sáng tạo KHCN Việt Nam năm 2005. *Tạp chí Thủy sản* 6(3): 13-16.

Ezaz MT (2002) Analysis of sex determination in Nile

Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.): A molecular genetics approach. *PhD. Institute of Aquaculture, University of Stirling, Stirling, Scotland.*

Ezaz MT, Harvey SC, Boonphakdee C, Teale AJ, McAndrew BJ, Penman DJ (2004) Isolation and physical mapping of sex-linked AFLP markers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Mar Biotechnol* 6(5): 435-245.

Franck JPC, Wright JM, McAndrew BJ (1992) Genetic variability in a family of satellite DNAs from tilapia. *Genome* 35: 719-725.

Hussain A Elghobashy, Ashraf A Ramadan, Ibrahim H Ibrahim, Mohamed A Rashed (2005) Phylogenetic relationship for some Tilapia species using electrophoresis. *Egypt J Exp Biol* 1: 57-63.

Kocher TD, Lee WJ, Sobolewska H, Penman D, McAndrew B (1998) A genetic linkage map of a cichlid fish, the tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Genetics* 148(3): 1225-1232.

Lê Thanh Lựu (2000) Những tiến bộ khoa học công nghệ thủy sản của viện nghiên cứu NTTS I giai đoạn 2000 - 2006 có thể áp dụng tại đồng bằng Bắc Bộ. *Hội nghị KHCN 2006-07 các tỉnh miền Bắc*. <http://www.vnast.gov.vn/default.aspx?ChannelID=274>

Lee BY, Penman DJ, Kocher TD (2003) Identification of a sex-determining region in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) using bulked segregant analysis. *Anim Genet* 34(5): 379-383.

Nguyễn Công Dân, Phan Minh Quý, Trần Đình Luân (2003) Chọn giống cá rô phi (*Oreochromis niloticus*) dòng GIFT nhằm nâng cao sức sinh trưởng và khả năng chịu lạnh. *Tóm tắt Báo cáo Hội nghị Khoa học Toàn quốc về*

Nuôi trồng Thủy sản 24 - 25/11/2003: 39.

Nguyễn Thị Tố Nga, Ngô Thị Kim, Trần Thị Bích Hồng, Quyền Đình Thi, Nguyễn Hữu Ninh, Phạm Anh Tuấn (2009) Biệt hóa các dòng cá rô phi bằng các chỉ thị phân tử vệ tinh. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn* 134(5): 64-68.

Nguyễn Thu Thủy, Nguyễn Thị Diệu Thúy, Nguyễn Văn Cường (2004) So sánh đa hình AFLP giữa hai nhóm cá tra (*Pangasius hypophthalmus*) có trọng lượng phân biệt. *Tạp chí Di truyền và Ứng dụng* 3(4): 17-20.

Penma DJ, McAndrew BJ (2000) Genetics for the management and improvement of cultured tilapias. *Tilapias: biology and exploitation* 227-266.

Phạm Anh Tuấn, Lê Quang Hưng, Nguyễn Thị Tần. (2008) Đánh giá lựa chọn vật liệu chọn giống nâng cao tốc độ sinh trưởng cá rô phi nuôi vùng nước lợ mặn. *Tạp chí Khoa học và Phát triển* 6(2): 161-165.

Phạm Anh Tuấn, Nguyễn Hữu Ninh (2003). Nghiên cứu biến dị RFLPs một số quần đàn cá tra (*Pangasius hypophthalmus*). *Hội nghị Công nghệ Sinh học Toàn quốc*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật: 724-726.

Pham AT, Tran MT, Mair GC. (2002). Sex determination and the feasibility of YY male production in the Vietnamese strain of *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture* 173: 257-269.

Quyền Đình Thi, Đào Thị Tuyết, Phạm Anh Tuấn (2004) Đánh giá tính đa hình các quần đàn cá tra nuôi (*Pangasius hypophthalmus*) ở Việt Nam bằng 4 môi ngẫu nhiên chọn trước. *Báo cáo Khoa học, Hội nghị Khoa học Toàn quốc 2004. Những vấn đề NCCB trong KHSS định hướng Nông Lâm nghiệp miền núi*: 885-888.

Quyền Đình Thi, Đào Thị Tuyết, Phạm Anh Tuấn (2005) Sử dụng chỉ thị phân tử RAPD và mtDNA -RFLP để phân tích đa hình các quần đàn cá tra (*Pangasius hypophthalmus*) nuôi ở Việt Nam. *Hội thảo toàn quốc về nghiên cứu và ứng dụng khoa học công nghệ trong nuôi trồng thủy sản*: 919-939.

Quyền Đình Thi, Phạm Anh Tuấn (2005) Sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử trong chọn giống cá rô phi. *Hội thảo toàn quốc về nghiên cứu và ứng dụng khoa học công nghệ trong nuôi trồng thủy sản*: 841-865.

Rutten MJ, Komen H, Deerenberg RM, Siwek M, Bovenhuis H (2004) Genetic characterization of four strains of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) using microsatellite markers. *Anim Genet* 35(2): 93-97.

Vos Pieter, Rene Hogers, Marjo Bleeker, Martin Reijans, Theo van de Lee, Miranda Hornes, Adrie Friters, Jerina Pot, Johan Paleman, Martin Kuiper, Zabeau Marc (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucl Acids Res* 23(21): 4407-4414.

IDENTIFICATION OF SPECIFIC AFLP MARKERS FOR SEVEN TILAPIA BREEDS CULTURED IN VIETNAM

Tran Thi Bich Hong¹, Nguyen Thi To Nga¹, Ngo Thi Kim¹, Quyen Dinh Thi^{1*}, Nguyen Huu Ninh², Pham Anh Tuan²

¹Institute of Biotechnology

²Research Institute of Aquaculture No1

SUMMARY

Seven Tilapia breeds originated from different countries belonging to two species of *Oreochromis aureus* and *Oreochromis niloticus* were used to study the genetic diversity and find out the differences expressing in specific bands. AFLP technique and polyacrylamide 5% for screening were used. DNA of every breed was bulked so that 10 individuals made 1 sample. Bulked segregant analysis is a rapid mapping strategy suitable for monogenic qualitative traits. When DNA of ten individuals are pooled, all alleles must be present. Sixteen primer combinations were tested and bulked samples were established from each population and produced distinctive bands. Moreover, the complexity of DNA fingerprinting varied from one species to another, suggesting that the bulked sample can be particularly useful in breeding programs and hybridization. The results generated from the AFLP analysis were used for drawing the genetic relationships among the examined populations. The presence of band scored 1, the absence was 0. NTSYSpc revealed similarity level between 7 breeds was very high (> 85%), especially among *O. aureus* or *O. niloticus* (> 97%). In total 375 bands observed from 16 primer combinations, there were 64 polymorphic bands but only 12 specific bands for 7 breeds such as: AF25/220,

* Author for correspondence: Tel: 84-4-37568260; Fax: 84-4-38363144; E-mail: quyendt@ibt.ac.vn

AF26/210, AF26/350, AF29/330, AF42/180, AF42/170, AF43/170, AF43/225, AF43/250, AF43/160, AF54125, and AF54180. These specific bands are source of markers development for breeding selection.

Keywords: *AFLP, Oreochromis aureus, Oreochromis niloticus, special band, tilapia*