

GHI NHẬN ĐẦU TIÊN CỦA 4 LOÀI SÁN LÁ ĐƠN CHỦ (MONOGENEA) TRÊN CÁ DA TRƠN (CÁ TRÊ ĐEN *CLARIAS FUSCUS*, CÁ LĂNG *HEMIBAGRUS SPILOPTERUS* VÀ CÁ SÁT SỌC *PANGASIUS MACRONEMA*) THU ĐƯỢC TẠI ĐẮK LẮK, VIỆT NAM

Trần Quang Sáng[✉], Trần Thị Thanh Huyền, Đặng Thúy Bình

Viện Công nghệ Sinh học & Môi trường, Trường Đại học Nha Trang

[✉]Người chịu trách nhiệm liên lạc. E-mail: sangtq@ntu.edu.vn

Ngày nhận bài: 30.12.2020

Ngày nhận đăng: 22.3.2021

TÓM TẮT

Cá da trơn (Bộ Siluriformes) là một bộ cá rất đa dạng trong nhóm cá xương (khoảng 4100 loài trên thế giới). Cá da trơn có tầm quan trọng về kinh tế, sinh thái, được nuôi hoặc đánh bắt để làm thực phẩm hoặc làm cảnh. Sán lá đơn chủ (Monogenea, Dactylogyridea) là ngoại ký sinh trùng phổ biến trên cá da trơn với hơn 379 loài được ghi nhận. Nghiên cứu đã tiến hành thu 77 cá thể của 03 loài cá da trơn gồm cá trê đen *Clarias fuscus* (n = 21), cá lăng *Hemibagrus spilopterus* (n = 17) và cá sát sọc *Pangasius macronema* (n = 39) tại Đắk Lắk năm 2016–2017. Dựa trên đặc điểm hình thái và di truyền (gen 18S rRNA), nghiên cứu này đã ghi nhận mới 4 loài sán lá đơn chủ ở Đắk Lắk, Việt Nam, trong đó, loài *Thaparocleidus armillatus* và *Mizelleus siamensis* trên cá sát sọc; loài *Bychowskyella tchangi* trên cá trê đen, và loài *Cornudiscoides longicirrus* trên cá lăng. Cây phát sinh loài được xây dựng từ 4 trình tự gen 18S rRNA của nghiên cứu hiện tại và 7 trình tự trên Genbank cho thấy các loài *Bychowskyella* spp. tạo thành nhánh đồng dạng và có mối quan hệ họ hàng với các loài còn lại. Loài *Cornudiscoides longicirrus* tách thành nhánh riêng biệt, trong khi các loài *Mizelleus siamensis*, *M. indicus* thể hiện sự đa ngành khi được nhóm chung với các loài thuộc giống *Thaparocleidus*.

Từ khóa: Cá da trơn, 18S rRNA, sán lá đơn chủ, Tây Nguyên, Việt Nam.

GIỚI THIỆU

Cá da trơn (Bộ Siluriformes) là một trong những nhóm cá nước ngọt với khoảng hơn 4100 loài phân bố trên thế giới, đại diện cho 12% trên tổng số các nhóm cá lớn và 6,3% trên tất cả các loài động vật có xương sống (Mendoza-Palmero *et al.*, 2015; Jin *et al.*, 2016). Hầu hết các loài cá da trơn có thân hình trụ và bụng phẳng làm cho chúng thích nghi với môi trường sống đáy để dễ dàng săn mồi và kiếm thức ăn trong tự nhiên (Bruton, 1996). Cá da trơn có tầm quan trọng về kinh tế và sinh thái; nhiều loài cá lớn được nuôi hoặc đánh bắt để làm thực phẩm, cá nhỏ được nuôi làm cảnh (Verma *et al.*, 2017a).

Cũng như ở các loài cá khác, sán lá đơn chủ (Monogenea) là ngoại ký sinh trùng phổ biến gây bệnh trên nhiều loài cá da trơn thuộc Bộ Siluriformes (Verma *et al.*, 2017a). Theo nghiên cứu của Lim *et al.* (2001) và Verma *et al.* (2017a), hơn 379 loài sán lá đơn chủ thuộc bộ Dactylogyridea được ghi nhận trên cá da trơn với các loài thuộc giống *Thaparocleidus* là nhóm có số

lượng loài đa dạng nhất. Hiện nay, có khoảng 102 loài *Thaparocleidus* spp. được mô tả từ các loài cá nước ngọt khác nhau trên thế giới, trong đó hơn 18 loài được tìm thấy trên vật chủ cá da trơn thuộc giống *Pangasius* (Pariselle *et al.*, 2006; Verma *et al.*, 2017b).

Nghiên cứu về sán lá đơn chủ trên cá da trơn dựa trên đặc điểm hình thái và di truyền được tiến hành ở hầu hết các châu lục: Châu Á như Thái Lan (Lim, Lerssutthichawal, 1996), Ấn Độ (Agrawal *et al.*, 2016; Verma *et al.*, 2016a, 2017a, 2017b; Pandey, Agrawal, 2017; Gusev, 1976; Rizvi, 1971), Indonesia (Pariselle *et al.*, 2001, 2002, 2003, 2004, 2006), ở Châu Âu như Nga (Lim *et al.*, 2001) và Nam Mỹ như Peru (Mendoza-Palmero *et al.*, 2012) và Brasil (Negreiros *et al.*, 2019).

Ở Việt Nam, các nghiên cứu chủ yếu được tiến hành trên một số vật chủ bao gồm cá lóc (*Channa striata*), cá trê trắng (*Clarias batrachus*), cá lăng nha (*Hemibagrus wyckioides*), và cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) ở nhiều vùng trong nước (Hà Ký,

Bùi Quang Tề, 2007; Vũ Đăng Hạ Quyên *et al.*, 2014; Nguyễn Thị Thu Hằng, Đặng Thị Hoàng Oanh, 2012, 2015, 2018; Nguyễn Thị Thu Hằng, 2017), tuy nhiên chưa có nghiên cứu về các loài sán lá đơn chủ ở khu vực Đăk Lăk.

Nghiên cứu hiện tại tiến hành khảo sát và định loại các loài sán lá đơn chủ trên ba loài cá da trơn sông hoang dã tại Đăk Lăk, Việt Nam gồm cá trê đen *Clarias fuscus*, cá lăng *Hemibagrus spilopterus* và cá sát sọc *Pangasius macronema* dựa trên đặc điểm hình thái và di truyền, xác định vị trí phân loại thông qua khảo sát mối quan hệ phát sinh loài của các loài sán lá đơn chủ.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Địa điểm, thời gian và phương pháp thu mẫu

Tổng cộng 77 cá thể của 3 loài cá da trơn gồm cá trê đen *C. fuscus* (n = 21; chiều dài (cm): $15,24 \pm 4,14$, khối lượng (g): $59,79 \pm 19,77$), cá lăng *H. spilopterus* (n = 17; chiều dài: $22,75 \pm 2,38$, khối lượng: $129,05 \pm 17,25$) được thu mua ở chợ Tân Quỳnh và chợ Buôn Ma Thuột thuộc tỉnh Đăk Lăk từ 3/2016–10/2017. Riêng cá sát sọc *P. macronema* (n = 39; chiều dài: $17,56 \pm 2,94$, khối lượng: $71,51 \pm 23,6$) chỉ thu mua được một lần duy nhất vào tháng 3/2016 tại chợ Buôn Tráp, Đăk Lăk. Các thông tin được phỏng vấn qua ngư dân và cán bộ quản lý thủy sản địa phương cho thấy các mẫu này có nguồn gốc tự nhiên và chủ yếu được đánh bắt trên sông Serepok, Đăk Lăk. Mẫu cá thu trong tình trạng tươi sống, ít bị tổn thương do đánh bắt và được vận chuyển lạnh về phòng thí nghiệm để kiểm tra ký sinh trùng.

Phương pháp định loại hình thái

Sán lá đơn chủ ngoại ký sinh được kiểm tra bằng cách lấy mẫu nhót trên da và vây, ép tiêu bản tươi. Sau đó, tách các cung mang, cho vào đĩa Petri có sẵn nước cất. Mẫu sán lá phát hiện từ các cung mang bằng kính hiển vi soi nổi SZ61 (Olympus) được làm tiêu bản tươi, cố định bằng ethanol 70%, và làm trong bằng acid lactic. Mẫu tiêu bản tươi và cố định được quan sát hình thái ngoài và cấu tạo cơ thể dưới kính hiển vi quang học BX41 (Olympus).

Sán lá đơn chủ được định loại dựa vào các đặc điểm hình thái bao gồm đầu, sự phân bố của các hạt sắc tố, hình dạng buồng trứng, số lượng tinh hoàn, hình dạng cơ quan sinh sản (cơ quan giao cấu đực và cái), đĩa bám, kích thước cơ thể, thanh nối lưng và bụng, móc lưng và bụng, số lượng và hình dạng các móc rìa. Các chỉ tiêu được theo một số khóa phân

loại cơ bản của Yamaguti (1963), Hà Ký, Bùi Quang Tề (2007), Gusev (1976), Lim, Lerssutthichawal (1996), Agrawal *et al.* (2016), Verma *et al.* (2016a; 2017a; 2017b). Hình thái sán lá đơn chủ được minh họa và xử lý trên phần mềm Photoshop CS6.

Phương pháp định loại phân tử

DNA của từng cá thể được tách chiết bằng bộ kit DNeasy® Blood & Tissue (Qiagen) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Một phần của đoạn gen 18S rRNA được khuếch đại sử dụng cặp mồi thiết kế (18SpF: 5' CTG AGA AAC GGC TAC CAC ATC 3' và 18SpR: 5' GGC AGG GAC GTA ATC AGC AC 3') từ 45 trình tự (28 giống thuộc bộ Dactylogyridea) trên Genbank. Đoạn gen mã hóa thu được có chiều dài dự kiến là 1350 bp thuộc vùng V2-V3 của gen 18S rRNA. Chu trình nhiệt bao gồm 95°C trong 4 phút; 35 chu kỳ của 92°C trong 1 phút, 56°C trong 1 phút, 72°C trong 1 phút; chu kỳ cuối 72°C trong 10 phút.

Trình tự nucleotide được xử lý và kết nối bằng phần mềm Vector NTI 11.5.0 (Huang, 1996), sau đó kiểm chứng bằng chương trình BLAST (ncbi.nlm.nih.gov/Blast). Các trình tự được đóng hàng (alignment) bằng phần mềm Bioedit 7.0 (Hall, 1999), sau đó được kiểm tra, chỉnh sửa bằng mắt thường, đăng ký mã số và so sánh độ tương đồng với các loài trên Genbank.

Khảo sát mối quan hệ phát sinh loài

Cây phát sinh chủng loại (hoặc cây phát sinh loài) được xây dựng dựa trên trình tự gen 18S rRNA bao gồm 4 trình tự từ nghiên cứu hiện tại và 7 trình tự từ Genbank. Phân tích mối quan hệ phát sinh loài của sán lá đơn chủ được tiến hành dựa trên phần mềm MEGA 6.06 (Kumar *et al.*, 2009), sử dụng thuật toán Maximum likelihood (ML) và Neighbor joining (NJ) với giá trị Bootstrap (BT) 1000 lần lặp lại. Mô hình tiến hóa đối với thuật toán ML được kiểm tra bằng chương trình Modeltest dựa trên 92 mô hình, sử dụng gói dữ liệu “ape” và “vegan” của phần mềm R-studio (R core team, 2018) trước khi xây dựng cây phát sinh loài. Đối với thuật toán NJ, cây phát sinh loài sử dụng mô hình thay thế mặc định (Maximum composite Likelihood) kết hợp phương pháp thuật toán trao đổi nhanh (NNI). Loài *Euzetrema knoeffleri* (Dactylogyridea, Lagotrematidae, AJ564212) được sử dụng làm nhóm ngoại hợp.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Định loại hình thái các loài sán lá đơn chủ

Kết quả nghiên cứu đã ghi nhận mới 4 loài sán lá

đơn chủ trên cá da trơn ở Đắc Lắc, Việt Nam thuộc bộ Dactylogyridea, họ Ancylo-discoididae và gồm 4 giống.

Loài *Thaparocleidus armillatus* Verma, Chaudhary, Singh (2017b) (n=2)

Vật chủ: Cá sát sọc (*Pangasius macronema* Bleeker, 1851)

Vị trí ký sinh: Mang

Mã số Genbank: MT809109

Đặc điểm hình thái (Hình 1A-H): Cơ thể sán lá nhỏ, thon dài có kích thước 440–500 x 80–90 μm (dài x rộng) (Hình 1A). Hầu hình ovan, dưới điểm mắt. Sắc tố phân bố đều 2 bên cơ thể. Buồng trứng (48–51 x 23–26 μm) và tinh hoàn (52–53 x 24–25 μm) hình ovan, nằm ở vị trí 1/2 cơ thể từ điểm mắt (Hình 1A). Cơ quan giao cấu đực bao gồm phần ống đực nối với mảnh phụ hình móng ngựa, đế hình núp, ống có dạng xoắn ốc, thành dày và giảm dần về sau (Hình 1B). Cơ quan giao cấu cái dạng ống có mảnh phụ hình đế dày (Hình 1C). Đĩa bám hình chữ nhật bao gồm 9 cặp móc, trong đó 2 cặp móc chính gồm móc lưng chứa phần gốc với móc nhọn ngược chiều ra ngoài (Hình 1D) và móc bụng không có gốc (Hình 1F), và 7 cặp móc rìa (Hình 1H). Thanh nối lưng có phần đầu nhọn và to dần ở giữa (Hình 1E), thanh nối bụng bao gồm 2 thanh mảnh kết hợp, hơi cong về phía đầu (Hình 1G).

Nhận xét: Loài sán lá đơn chủ *T. armillatus* rất giống với loài *T. wallagonius* Jain (1952) về hình thái như đĩa bám và cơ quan giao cấu đực. Tuy nhiên, ở loài *T. wallagonius* cơ quan giao cấu cái cuộn xoắn thành nhiều vòng và phức tạp hơn (Verma *et al.*, 2017b). Verma *et al.* (2017b) mô tả 3 loài thuộc giống *Thaparocleidus* (*T. indicus*, *T. wallagonius*, *T. armillatus*), trong đó loài *T. armillatus* được phát hiện trên vật chủ thuộc họ cá leo (*Wallago attu*) ở Ấn Độ. Đây là lần đầu tiên loài *T. armillatus* được ghi nhận ở Việt Nam và trên cá sát sọc *Pangasius macronema*.

Loài *Mizelleus siamensis* Lim, Lerssutthichawal (1996) (n=2)

Vật chủ: Cá sát sọc (*Pangasius macronema* Bleeker, 1851)

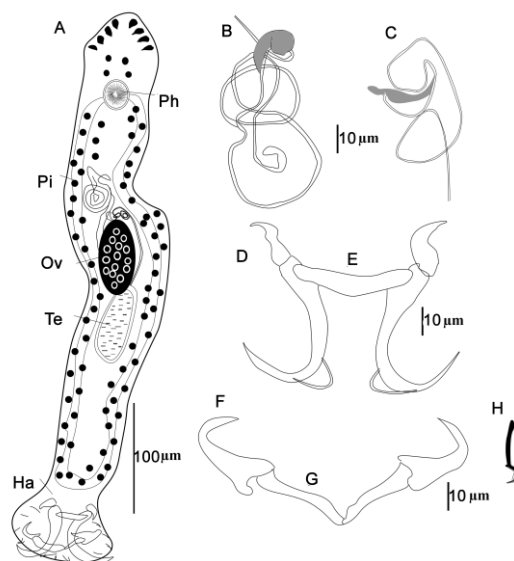
Vị trí ký sinh: Mang

Mã số Genbank: MT809110

Đặc điểm hình thái (Hình 2A-H): Cơ thể sán lá nhỏ, thon dài có kích thước 672–860 x 134–160 μm (dài x rộng) (Hình 2A). Hầu hình ovan, dưới điểm mắt. Sắc

tố phân bố đều 2 bên cơ thể. Buồng trứng (59–60 x 22–24 μm) và tinh hoàn (57–60 x 25–26 μm) hình ovan, nằm ở vị trí 2/3 cơ thể từ điểm mắt (Hình 2A). Cơ quan giao cấu đực (Hình 2B) dạng thanh cứng, ống hình trụ phía đỉnh và xoắn cong nhẹ gần phần mảnh phụ. Cơ quan giao cấu cái (Hình 2C) dạng ống nhỏ và hẹp, phần gốc đực nối với đế hình núp, xoắn hình chữ S và hẹp dần về phía sau. Đĩa bám hình tam giác bao gồm 9 cặp móc, trong đó 2 cặp móc chính gồm móc lưng chứa phần gốc với móc nhọn, nằm đối chiều vào trong (Hình 2D) và móc bụng có phần gốc chứa móc nhỏ (Hình 2F), và 7 cặp móc rìa (Hình 2H). Thanh nối lưng thẳng hình chữ I, đều 2 đầu (Hình 2E). Thanh nối bụng dạng chữ V, lõm ở giữa (Hình 2G).

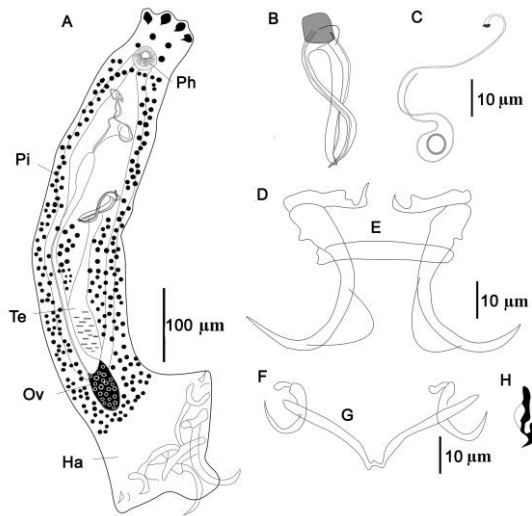
Nhận xét: Loài *M. siamensis* trong nghiên cứu hiện tại có đặc điểm gần giống với loài *Mizelleus indicus* Jain, 1957 trong mô tả của Gusev (1976), Jain (1957), Pandey, Agrawal (2008) và Verma *et al.* (2016a). Tuy nhiên, các tác giả ghi nhận sự khác biệt về số lượng cặp móc rìa như 1 cặp (Gusev, 1976), 4 cặp (Jain, 1957), và 3 cặp (Pandey, Agrawal, 2008), và 3 cặp (Verma *et al.*, 2016a).



Hình 1. Đặc điểm hình thái loài *Thaparocleidus armillatus*. A. Cơ thể (Ph. Hầu, Pi. Sắc tố, Ov. Buồng trứng, Te. Tinh hoàn, Ha. Đĩa bám), B. Cơ quan giao cấu đực, C. Cơ quan giao cấu cái, D. Móc lưng, E. Thanh nối lưng, F. Móc bụng, G. Thanh nối bụng, H. Móc rìa.

Lim, Lerssutthichawal (1996) phát hiện loài *M. siamensis* ký sinh trên mang của vật chủ thuộc họ cá leo (*Wallago attu*). Nghiên cứu mô tả *M. siamensis* có kích thước cơ thể 1047 x 169 μm (dài x rộng), lớn hơn kích thước của mẫu thu được (672–860 x

134–160 μm) trong nghiên cứu hiện tại. Verma *et al.* (2016a) ghi nhận 2 loài *M. indicus* và *M. longicirrus* trên mang của vật chủ thuộc họ cá leo (*Wallago attu*) ở Ấn Độ, mô tả đặc điểm hình thái và phân tích di truyền dựa trên trình tự gen 18S rRNA. Dựa trên đặc điểm hình thái của đĩa bám và cơ quan giao cấu có thể phân biệt 2 loài này với loài *M. siamensis* trên cá sặt sọc ở Việt Nam và loài *M. siamensis* được ghi nhận mới ở Việt Nam và trên cá sặt sọc *Pangasius macronema*.



Hình 2. Đặc điểm hình thái loài *Mizelleus siamensis*. A. Cơ thể (Ph. Đầu, Pi. Sắc tố, Te. Tinh hoàn, Ov. Buồng trứng, Ha. Đĩa bám), B. Cơ quan giao cấu đực, C. Cơ quan giao cấu cái, D. Móc lưng, E. Thanh nổi lưng, F. Móc bụng, G. Thanh nổi bụng, H. Móc rìa.

Loài *Bychowskyella tchangi* Gusev (1976) (n=2).

Vật chủ: Cá trê đen (*Clarias fuscus* Lacepède, 1803)

Vị trí ký sinh: Mang

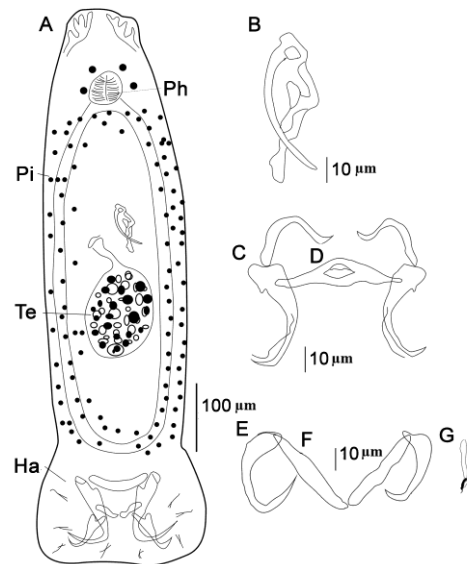
Mã số Genbank: MT809111

Đặc điểm hình thái (Hình 3A-G): Cơ thể sán lá nhỏ, thon dài kích thước 550-570 x 130–138 μm (dài x rộng) (Hình 3A). Đầu hình ovan, gần điếm mắt. Sắc tố phân bố đều 2 bên cơ thể. Buồng trứng nằm phía sau tinh hoàn, tinh hoàn lớn (103–110 x 89–92 μm) hình ovan, nằm ở vị trí 1/2 cơ thể từ điếm mắt (Hình 3A). Cơ quan giao cấu đực bao gồm 1 gai cứng hình bán nguyệt và một thanh phụ nối với núm hình bầu dục phía đầu, cấu trúc hình kéo được tạo ra từ 2 nhánh (Hình 3B). Không quan sát thấy cơ quan giao cấu cái. Đĩa bám hình chữ nhật bao gồm 7 cặp móc, trong đó 2 cặp móc chính gồm móc lưng chứa phần

gốc với móc nhỏ, dài, cong chữ U, nằm đối vào trong (Hình 3C) và móc bụng không có gốc (Hình 3E), và 5 cặp móc rìa (Hình 3G). Thanh nổi lưng dạng thanh ngang, rộng ở giữa và nhỏ dần về 2 bên, phần giữa thanh có núm hình bầu dục chiếm khoảng 1/4 chiều dài (Hình 3D). Thanh nổi bụng bao gồm 2 thanh mảnh kết hợp với nhau, hơi rộng ở giữa và hẹp phía đầu (Hình 3F).

Nhận xét: Loài *B. tchangi* lần đầu được mô tả bởi Gusev (1976) từ loài cá trê vàng (*Clarias batrachus*) ở Ấn Độ và sau đó được báo cáo thêm trên vật chủ mới là loài cá trê trắng (*Clarias macrocephalus*) ở Malaysia (Lim, 1991). Loài này dễ dàng nhận dạng dựa trên 7 cặp móc (2 cặp móc chính và 5 cặp móc rìa) và cơ quan giao cấu hình cây kéo đặc trưng. Hình thái loài *B. tchangi* giống với loài *B. fossilisi* và *B. wallagonia*, tuy nhiên có sự khác biệt về cấu trúc của cơ quan giao cấu (Gusev, 1976; Verma *et al.*, 2017a).

Nghiên cứu của Hà Ký, Bùi Quang Tề (2007) phát hiện loài *B. tchangi* trên mang cá trê trắng và cá trê vàng. Verma *et al.* (2017a) cũng ghi nhận được 3 loài sán lá đơn chủ (*B. tchangi*, *B. fossilisi* và *B. wallagonia*) trên mang các loài cá da trơn (*Wallago attu*, *Heteropneustes fossilisi* và *Clarias batrachus*) ở Ấn Độ. Loài *B. tchangi* trong nghiên cứu hiện tại cho thấy sự tương đồng về đặc điểm hình thái như mô tả của Verma *et al.* (2017a) và đây là lần đầu tiên ghi nhận loài này trên cá trê đen *C. fuscus*.



Hình 3. Đặc điểm hình thái loài *Bychowskyella tchangi*. A. Cơ thể (Ph. Đầu, Pi. Sắc tố, Te. Tinh hoàn, Ha. Đĩa bám), B. Cơ quan giao cấu đực, C. Móc lưng, D. Thanh nổi lưng, E. Móc bụng, F. Thanh nổi bụng, G. Móc rìa.

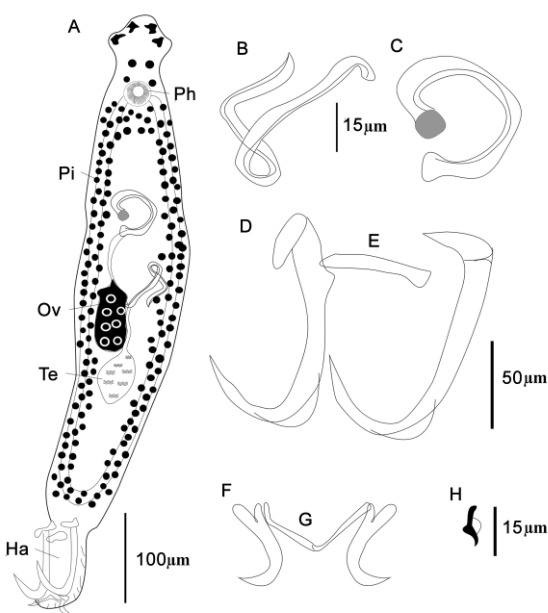
Loài *Cornudiscoides longicirrus* Agrawal, Rajvanshi, Verma (2016) (n=2)

Vật chủ: Cá lăng (*Hemibagrus spilopterus* Ng and Rainboth, 1999)

Vị trí ký sinh: Mang

Mã số Genbank: MT809108

Đặc điểm hình thái (Hình 4A-H): Cơ thể sán lá nhỏ, thon dài kích thước 522–752 x 127 μm (dài x rộng) (Hình 4A). Hầu hình ovan, dưới điểm mắt. Sắc tố phân bố đều 2 bên cơ thể. Buồng trứng (53–54 x 20–22 μm) và tinh hoàn (42–43 x 34–36 μm) hình ovan, nằm ở vị trí 1/2 cơ thể từ điểm mắt (Hình 4A). Cơ quan giao cấu đực bao gồm một phức hợp kitin dạng lõi có cấu trúc dày, cứng và uốn cong ở giữa (Hình 4B). Cơ quan giao cấu cái dạng ống cong kết hợp với núm nhỏ hình trụ phía đầu (Hình 4C). Đĩa bám hình chữ nhật bao gồm 9 cặp móc, trong đó 2 cặp móc chính gồm móc lưng chứa phần gốc với móc nhọn, ngắn (Hình 4D) và móc bụng không có gốc (Hình 4F), và 7 cặp móc rìa (Hình 4H). Thanh nối lưng thẳng, hẹp ở giữa (Hình 4E), thanh nối bụng kích thước nhỏ được kết hợp bởi 2 thanh mảnh tròn đều ở phía đầu (Hình 4G).



Hình 4. Đặc điểm hình thái loài *Cornudiscoides longicirrus*. A. Cơ thể (Ph. Hầu, Pi. Sắc tố, Te. Tinh hoàn, Ov. Buồng trứng, Ha. Đĩa bám), B. Cơ quan giao cấu đực, C. Cơ quan giao cấu cái, D. Móc lưng, E. Thanh nối lưng, F. Móc bụng, G. Thanh nối bụng, H. Móc rìa.

Nhận xét: Loài *C. longicirrus* được mô tả đầu tiên

bởi Agrawal *et al.* (2016). Loài này có đặc điểm hình thái gồm móc chính, móc rìa, và cơ quan giao cấu cái gần giống với loài *Cornudiscoides aor*.

Sự khác biệt chủ yếu ở cơ quan giao cấu đực và thanh nối bụng (Agrawal *et al.*, 2016).

Ở Việt Nam, Hà Ký, Bùi Quang Tề (2007) ghi nhận được loài *C. malayensis* ký sinh trên mang của cá lăng (*Hemibagrus nemurus*) ở Đồng bằng sông Cửu Long. Agrawal *et al.* (2016) phát hiện và mô tả 2 loài *C. aori* và *C. longicirrus* trên cá da trơn râu dài (*Sperata aor*). Nghiên cứu này cho thấy loài *C. longicirrus* có cơ quan giao cấu đực giống với mô tả của Agrawal *et al.* (2016), trong khi đó, đặc điểm của cơ quan giao cấu đực có thể phân biệt loài này với 2 loài *C. malayensis* và *C. aori*. Đây là lần đầu loài *C. longicirrus* được phát hiện trên cá lăng *H. spilopterus* ở Việt Nam.

Định loại phân tử các loài sán lá đơn chủ trên cá da trơn

Để kiểm chứng định loại các loài sán lá đơn chủ, trình tự gen 18S rRNA được so sánh với các trình tự có sẵn trên GenBank (Bảng 1). Hầu hết các loài (ngoại trừ loài *B. tchangi*) trong nghiên cứu hiện tại đều chưa có trình tự hoặc không có vùng gen phù hợp nên chỉ có thể so sánh với các loài cùng giống hoặc khác giống nhưng có trình tự tương đồng cao nhất.

Kết quả so sánh cho thấy loài *B. tchangi* có mức độ tương đồng cao (99,22%) với trình tự cùng loài trên GenBank, và dao động từ 98,45–98,97% với các loài cùng giống. Loài *T. armillatus* thể hiện mức tương đồng trình tự từ 94,59–96,13%; *M. siamensis* là 97,06%. Đối với loài *C. longicirrus*, mới chỉ sơ bộ định loại dựa trên đặc điểm hình thái và dựa vào công bố dữ liệu di truyền trên GenBank.

Mối quan hệ phát sinh loài của các loài sán lá đơn chủ trên cá da trơn

Trình tự gen 18S rRNA của các loài sán lá đơn chủ (4 trình tự trong nghiên cứu hiện tại (NCHT), 7 trình tự từ Genbank) sau khi xử lý có chiều dài 778 bp. Mô hình tiến hóa tối ưu được lựa chọn là GTR+G+I (trong đó, tần số base A= 0.242748, T= 0.2897848, G= 0.2705, C= 0.1969671, thông số hình dạng Gamma (G) = 0.6025385, tỉ lệ các vị trí không biến đổi (I) = 0.6275361). Cây phát sinh loài được xây dựng dựa trên thuật toán ML và NJ thể hiện ở hình 5.

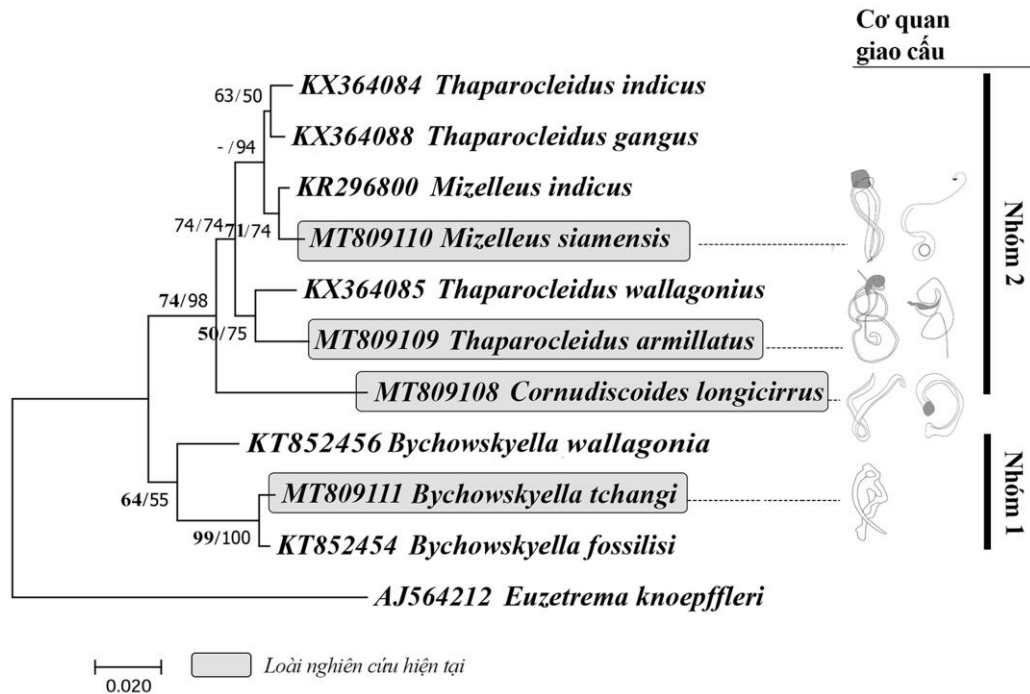
Hai nhóm chính được phát hiện trên cây phát sinh loài. Nhóm 1 là nhánh đơn ngành (monophyly) gồm 3 loài thuộc giống *Bychowskyella*

với giá trị BT thấp (ML 64%, NJ 55%), trong đó loài *B. wallagonius* thể hiện mối quan hệ gần gũi với 2 loài sắp xếp cùng nhánh (*B. tchangi* và *B. fossilisi*). Nhóm 2 gồm 7 loài thuộc giống *Cornudiscoides*, *Thaparocleidus* và *Mizelleus*. Loài *Cornudiscoides longicirrus* tạo thành nhánh họ hàng với các loài còn

lại. Các loài thuộc giống *Thaparocleidus* (1 loài từ nghiên cứu và 3 loài trên GenBank) thể hiện sự đa ngành (Paraphyly), chia thành 2 nhánh. Loài *T. armillatus* và *T. wallagonius* sắp xếp cùng một nhánh, tuy nhiên, *T. indicus* và *T. gangus* lại được nhóm cùng với hai loài thuộc giống *Mizelleus*.

Bảng 1. Trình tự tương đồng với các loài sán lá đơn chủ trên GenBank.

Tên loài	Loài trên GenBank	% tương đồng	Độ bao phủ	Mã số GenBank	Tài liệu tham khảo
<i>Thaparocleidus armillatus</i> (MT809109)	<i>Thaparocleidus gangus</i>	96,13	100%	KX364088	Verma <i>et al.</i> (2016b)
	<i>Thaparocleidus indicus</i>	95,88	100%	KX364084	Verma <i>et al.</i> (2017b)
	<i>Thaparocleidus wallagonius</i>	94,59	100%	KX364085	Verma <i>et al.</i> (2017b)
<i>Mizelleus siamensis</i> (MT809110)	<i>Mizelleus indicus</i>	97,06	100%	KR296800	Verma <i>et al.</i> (2016a), Lim, Lerssutthichawal (1999)
<i>Bychowskyella tchangi</i> (MT809111)	<i>Bychowskyella tchangi</i>	99,22	100%	KT852455	Verma <i>et al.</i> (2017a)
	<i>Bychowskyella fossilisi</i>	98,97	100%	KT852454	Verma <i>et al.</i> (2017a)
	<i>Bychowskyella wallagonia</i>	98,45	100%	KT852456	Verma <i>et al.</i> (2017a)
<i>Cornudiscoides longicirrus</i> (MT809108)	<i>Thaparocleidus wallagonius</i>	95,21	99%	KX364085	Verma <i>et al.</i> (2017b), Agrawal <i>et al.</i> (2016)
	<i>Thaparocleidus indicus</i>	94,44	99%	KX364084	Verma <i>et al.</i> (2017b)



Hình 5. Cây phát sinh loài dựa trên trình tự gen 18S rRNA của các loài sán lá đơn chủ. Giá trị bootstrap (1000) của phương pháp ML và NJ được hiển thị trên các nhánh, Khung in đậm - Các loài sán lá đơn chủ trong NCHT. Thước tiến hóa = 2%. Cơ quan giao cấu của các loài được hiển thị

Sán lá đơn chủ bộ Dactylogyridea là các loài lưỡng tính (Koyun, 2011), trong đó cấu tạo của cơ quan giao cấu đực và cái là một đặc điểm quan trọng trong hệ thống phân loại (Bouguerche *et al.*, 2020). Tuy nhiên, nghiên cứu hiện tại không phát hiện cơ quan giao cấu cái ở loài *B. tchangi* (nhóm 1). Kết quả này cũng được ghi nhận trong nghiên cứu của Majumdar, Agarwal (1989) và Gusev (1976) trên *B. tchangi* của Verma *et al.* (2017a) đối với các loài *Bychowskyella* spp.. Cùng với sự vắng mặt của cơ quan giao cấu cái, giống *Bychowskyella* thể hiện sự đơn ngành và nằm ở vị trí gần gốc cây tiến hóa (Nhóm 1, Hình 5). Verma *et al.* (2017b) ứng dụng trình tự gen 18S rRNA khảo sát mối quan hệ phát sinh loài của các giống *Bychowskyella*, *Dactylogyrus*, *Euryhaliotrema* và *Haliotrema* trên cá leo *Wallago attu* ở sông Hằng, Ấn Độ cũng ghi nhận sự đơn ngành của các loài thuộc giống *Bychowskyella*. Mendoza-Palmero *et al.* (2015) xây dựng cây phát sinh loài dựa trên trình tự 28S rRNA của 25 loài sán lá đơn chủ nghiên cứu và 42 trình tự trên GenBank thuộc 5 họ (Ancylo-discoididae, Diplectanidae, Monocotylidae, Pseudomurraytrematidae và Tetraonchidae). Nghiên cứu cho thấy, ở họ Ancylo-discoididae, các loài thuộc giống *Bychowskyella* nằm ở nhánh riêng biệt so với các loài thuộc giống *Thaparocleidus*. Sự phát triển chưa hoàn thiện của quan sinh sản (cơ quan giao cấu cái không hiện diện (Bouguerche *et al.*, 2020), hoặc giả thuyết chưa được kiểm chứng về phức hệ cơ quan sinh sản (Pandey, Agrawal, 2017; Bouguerche *et al.*, 2020) có thể là tính trạng ban đầu của quá trình tiến hóa hình thành cơ quan sinh sản, do đó vị trí của *Bychowskyella* nằm ở gốc cây tiến hóa. Tuy nhiên, giả thuyết này không được hỗ trợ khi các phân tích phát sinh loài cho thấy *Bychowskyella* được sắp xếp trên các loài thuộc giống họ Ancylo-discoididae (Verma *et al.*, 2017b) và thậm chí trên cả các loài thuộc giống *Thaparocleidus* (Mendoza-Palmero *et al.*, 2015).

Hiện nay, khoảng 32 loài *Bychowskyella* spp. được mô tả (Lim *et al.*, 2001). Chín trình tự thuộc giống này đăng ký trên GenBank được báo cáo chủ yếu trên cá da trơn phân bố ở Ấn Độ và Trung Quốc (Verma *et al.*, 2017a; Wu *et al.*, 2006). Nghiên cứu này ghi nhận sự tương đồng cao (99,22%) với trình tự 18S rRNA của loài *B. tchangi* (KT852455) phát hiện trên *Wallago attu* tại Ấn Độ. Nhóm nghiên cứu của Ciftci, Okumus (2003) cho thấy sự biến động di truyền có liên quan đến khoảng cách địa lý và thời gian di cư đối với quần thể cá trong khảo sát di truyền quần thể dựa trên phân tích chỉ thị phân tử

phụ thuộc vào giá trị phân tách di truyền fst. Ghi nhận tương tự về sự phân tách khu vực địa lý khảo sát trên các loài thực vật trong nghiên cứu Zhao *et al.* (2018) cũng cho thấy sự đa dạng di truyền và cấu trúc quần thể đối với 205 loài thực vật từ 9 tọa độ khác nhau bao gồm 84 khu vực Trung Quốc. Nhóm nghiên cứu phát hiện sự phân bố ở các khu vực địa lý ảnh hưởng rất lớn đến sự khác biệt di truyền của từng quần thể thực vật, cụ thể là phần trăm khác biệt trong quần thể là > 90%. Điều đó cho thấy rằng, đối với các loài trong nghiên cứu hiện tại, sự khác biệt di truyền có thể do phân bố địa lý (Việt Nam và Ấn Độ), và vật chủ (Cá trê đen và cá leo), trong khi Verma *et al.* (2017a) chỉ phát hiện sai khác di truyền nhỏ giữa các cá thể là 0,02%.

Các loài thuộc nhóm 2 có sự phân tách rõ ràng giữa cơ quan giao cấu đực và cái. *C. longicirrus* được sắp xếp gần với các loài thuộc giống *Thaparocleidus* và *Mezelleus* do sự tương đồng về số lượng móc của đĩa bám (móc chính: móc rìa (2:7)). *C. longicirrus* được báo cáo trong nghiên cứu của Agrawal *et al.*, (2016), ở Ấn Độ, tổng số 14 loài *Cornudiscoides* spp. được mô tả (Agrawal, Vishwakarma, 1996; Devak, Pandey, 2007), trong đó, có 13 loài được phát hiện trên 4 loài cá da trơn (*Mystus cavasius*, *M. vittatus*, *M. Bleekeri* và *M. tengara*) và loài còn lại trên *Sperata aor* (Rizvi, 1971; Dubey *et al.*, 1992). Về mặt hình thái, cơ quan giao cấu đực của *C. longicirrus* chưa hình thành cấu trúc phân mảnh phụ, chỉ xuất hiện dạng phần cứng và không có phần ống xoắn (Hình 5), trong khi đó cơ quan giao cấu của các loài *Thaparocleidus* phát triển khá hoàn chỉnh cả về phần cứng và phần mảnh phụ. Điều này có thể giải thích vị trí của *Cornudiscoides* nằm gần gốc hơn so với *Thaparocleidus*. Jyoti *et al.* (2018) khảo sát các đặc điểm di truyền của 6 loài sán lá đơn chủ gồm giống *Cornudiscoides* (4 loài) và *Thaparocleidus* (2 loài) trên loài cá nước ngọt *Sperata aor* ở Ấn Độ. Kết quả xây dựng cây phát sinh loài dựa trên gen 18S rRNA và 28S rRNA đều cho thấy 2 giống tạo thành các nhánh đồng dạng và có quan hệ gần gũi về mặt di truyền. Tuy nhiên, giả thuyết về cơ chế tiến hóa qua sự hình thành phần phụ không được ủng hộ khi *Cornudiscoides* sắp xếp trên *Thaparocleidus*.

Tình trạng phân loại của giống *Mezelleus* vẫn còn nhiều tranh cãi (Agrawal, Pandey, 1981; Venkatanarsaiah, Kulkarni, 1981; Singh, Sharma, 1992; Pandey *et al.*, 2003). Verma *et al.* (2016a) mô tả lại 2 loài *M. indicus* và *M. longicirrus*, cũng như xác định sự đơn ngành của *Mezelleus* khi khảo sát mối

quan hệ phát sinh loài với các loài thuộc họ Dactylogyridae. Sự tương đồng về đặc điểm hình thái (số lượng móc chính, móc rìa và phần ống xoắn cong nhẹ gần mảnh phụ đối với cơ quan giao cấu đực) của các loài *Mezelleus* spp (theo mô tả của Verma *et al.* 2016a) với *Thaparocleidus indicus* và *T. gangus* (theo mô tả Verma *et al.* (2017b)) đã được ghi nhận. Loài *M. siamensis* trong NCHT và *M. indicus* từ GenBank sắp xếp cùng nhánh, và thể hiện quan hệ chị em với *T. indicus* và *T. gangus*, dẫn đến kết quả là giống *Thaparocleidus* thể hiện sự đa ngành. Để xác định tình trạng phân loại của *Thaparocleidus* và *Mezelleus*, cần khảo sát thêm các chỉ thị phân tử, đặc biệt là hệ gen ty thể (Zhang *et al.*, 2019).

Đây là kết quả đầu tiên ghi nhận 4 loài sán lá đơn chủ (*T. armillatus*, *M. siamensis*, *B. tchangi*, *C. longicirrus*) trên 3 loài cá da trơn (*Clarias fuscus*, *Hemibagrus spilopterus*, *Pangasius macronema*) thu được ở Đắc Lắc, Việt Nam. Nghiên cứu này góp phần cung cấp dữ liệu về hình thái và di truyền của 4 loài sán lá đơn chủ trên các loài cá phân bố ở Việt Nam.

KẾT LUẬN

Dựa trên đặc điểm hình thái và di truyền, nghiên cứu hiện tại đã ghi nhận mới 4 loài sán lá đơn chủ (*T. armillatus*, *M. siamensis*, *B. tchangi*, *C. longicirrus*), trong đó, loài *Thaparocleidus armillatus* và *Mizelleus siamensis* trên cá sặt sọc (*Pangasius macronema*); loài *Bychowkyella tchangi* trên cá trê đen (*Clarias fuscus*), và loài *Cornudiscooides longicirrus* trên cá lăng (*Hemibagrus spilopterus*) ở Đắc Lắc, Việt Nam. Cây phát sinh loài cho thấy 2 nhóm chính được phát hiện, nhóm 1 (*Bychowkyella* spp.) thể hiện sự đồng dạng đơn ngành giữa các loài với nhau, trong khi đó, nhóm 2 lại thể hiện sự đồng dạng đa ngành giữa các loài *Thaparocleidus* spp. và *Mezelleus* spp.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn dự án EU (ID: 312068) “Đánh giá mức độ nhiễm ký sinh trùng bằng các phương pháp kết hợp trong các sản phẩm cá nhập vào EU” đã hỗ trợ kinh phí thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Agrawal N, Rajvanshi S, Verma J (2016) Two New Species of the Monogenoid Genus *Cornudiscooides* Kulkarni, 1969 from Naked Catfish *Sperata aor* (Hamilton, 1822): Specialist or Generalist?. *Pakistan J Zool* 48(6): 1687–1693.

Agrawal N, Pandey KC (1981) On a new monogenean, *Wallagotrema chauhanin* sp., from *Wallago attu* Schneider. *Indian J Parasitol* 9: 75–76.

Agrawal N, Vishwakarma P (1996) Six new species and redescription of two known species of the genus *Cornudiscooides* Kulkarni, 1969 (Monogenea) from Lucknow U.P. *Indian J Helminth* 13: 10–31.

Bouguerche C, Tazerouti F, Gey D, Justine JL (2020) No vagina, one vagina, or multiple vaginae? An integrative study of *Pseudaxine trachuri* (Monogenea, Gastrocotylidae) leads to a better understanding of the systematics of *Pseudaxine* and related genera. *Parasites* 27(50): 1–16.

Bruton MN (1996) Alternative life-history strategies of catfishes. *Aquat Living Resour* 9: 35 – 41.

Ciftci Y, Okumus, C. (2003) Fish Population Genetics and Molecular Markers: II-Molecular Markers and Their Applications in Fisheries and Aquaculture. *Turk J Fish & Aquat Sci* 2: 51–79.

Devak A, Pandey KC (2007) A new species of *Cornudiscooides* Kulkarni, 1969 (Monogenoidea: Dactylogyridae) its locomotion, mode of attachment and distribution. *Indian J Helminth* 25: 41–58.

Dubey A, Gupta AK, Agrawal SM (1992) Studies on monogenean parasites in freshwater fishes at Raipur IX. Two new species of the genus *Cornudiscooides* Kulkarni, 1969 and a taxonomic discussion on species included in it. *Indian J Helminth* 44: 109–115.

Gusev AV (1976) Freshwater Indian Monogenoidea. Principles of systematics, analysis of the world faunas and their evolution. *Indian J Helminth* 26: 1–241.

Hall TA (1999) BioEdit: A User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp Ser* 41: 95–98.

Huang X (1996) An Improved Sequence Assembly Program. *Genomics* 33: 21–31.

Jain SL (1957) *Mizelleus indicus* n. g., n. sp. (subfamily Tetraonchinae) from the gill filaments of *Wallagonia attu* (Bloch). *Ann Zool* 2: 57 – 64.

Kumar S, Nei M, Dudley J, Tamura K (2009) MEGA: A biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences. *Brief Bioinform* 9(4): 299–306.

Koyun M (2011) First record of *Dogielius forceps* (Monogenea) on *Capoeta umbla* (Pisces, Cyprinidae) to Turkey, from Murat River. *AAFL Bioflux* 4(4): 469–473.

Hà Ký, Bùi Quang Tề (2007) *Ký sinh trùng trên cá nước ngọt ở Việt Nam*. NXB Khoa học và Công nghệ, Hà Nội.

Jin Y, Liu S, Yuan Z, Yang Y, Tan S, Liu Z (2016) Catfish genomic studies: progress and perspectives. *Genomics*

Aquacult: 73–104.

Jyoti V, Saroj R, Nirupama A (2018) Genetic Characterization of Three Species of the Genus *Cornudiscoides* Kulkarni, 1969 (Monogeneoidea: Dactylogyridae), Parasitizing Long Whiskered Cat Fish *Sperata aor* (Ham) Using Ribosomal and Mitochondrial DNA. *Res Rev: J Zool Sci* 6(1): 30–37.

Lim LHS, Lerssutthichawal T (1996) Monogeneans from *Wallago attu* (Bloch & Schneider, 1802) of Thailand. *Raffles Bull Zool* 44: 287–300.

Lim LHS (1991) Three new species of *Bychowskyella* Achmerow, 1952 (Monogenea) from Peninsular Malaysia. *Syst Parasitol* 19: 33–41.

Lim LHS, Timofeeva TA, Gibson DI (2001) Dactylogyridean monogeneans of the siluriform fishes of the old world. *Syst Parasitol* 50: 159–197.

Majumdar S, Agarwal SM (1989) Studies on monogenean parasites in freshwater fishes of Raipur II. *Indian J Helminth* 40: 93 - 108.

Mendoza-Palmero CA, Scholz T, Mendoza-Franco EF, Kuchta R (2012) New Species and Geographical Records of Dactylogyrids (Monogenea) of Catfish (Siluriformes) from the Peruvian Amazonia. *J Parasitol* 98(3): 484–497.

Mendoza-Palmero CA, Blasco-Costa L, Scholz T (2015) Molecular phylogeny of Neotropical monogeneans (Platyhelminthes: Monogenea) from catfishes (Siluriformes). *Parasites Vectors* 8: 164.

Negreiros LP, Tavares-Dias M, Pereira FB (2019) Monogeneans of the catfish *Pimelodus blochii* Valenciennes (Siluriformes: Pimelodidae) from the Brazilian Amazon, with a description of a new species of *Ameloblastella* Kritsky, Mendoza-Franco & Scholz, 2000 (Monogenea: Dactylogyridae). *Syst Parasitol* 96(4-5): 399–406.

Nguyễn Thị Thu Hằng (2017) Xác định mầm bệnh ký sinh trùng trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) tự nhiên. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ* 52b: 131-139.

Nguyễn Thị Thu Hằng, Đặng Thị Hoàng Oanh (2012) Xác định nhóm ký sinh trùng tạo bào nang trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ* 22c: 155-164.

Nguyễn Thị Thu Hằng, Đặng Thị Hoàng Oanh (2015) Xác định thành phần giống loài ký sinh trùng trên cá lóc (*Channa striata*) giai đoạn giống đến nuôi thương phẩm. *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ* 40(1): 60-66.

Nguyễn Thị Thu Hằng, Đặng Thị Hoàng Oanh (2018) Tác động của thuốc albendazole và fumagillin lên vi bào tử trùng *Kabatana* sp. gây nhiễm trong tế bào thận và cơ cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ* 54(2): 116-124.

Pandey KC, Agrawal N (2008) *An encyclopaedia of Indian*

Monogeneoidea. New Delhi, Vitasta Publishing.

Pandey A, Agrawal N (2017) A new species of monogenean parasite genus, *Bychowskyella* achmerow, 1952 from the fishes of *Clarias*. *Int J Pure Appl Res* 3(1): 57–61.

Pandey KC, Agrawal N, Vishwakarma P, Sharma J (2003) Redescription of some new Indian species of *Thaparocleidus* Jain, 1952, (monogenea) with aspects of the developmental biology and mode of attachment of *T. pusillus* (Gusev, 1976). *Syst Parasitol* 54: 207–221.

Pariselle A, Lim LHS, Lambert A (2001) Monogeneans from Pangasiidae (Siluriformes) in Southeast Asia: II. Four new species of *Thaparocleidus* Jain, 1952 (Ancylo-discoidinae) from *Pangasius humeralis*. *Parasite* 8(4): 317–324.

Pariselle A, Lim LHS, Lambert A (2002) Monogeneans from Pangasiidae (Siluriformes) in Southeast Asia: III. Five new species of *Thaparocleidus* Jain, 1952 (Ancylo-discoididae) from *Pangasius bocourti*, *P. djambal* and *P. hypophthalmus*. *Parasite* 9(3): 207–217.

Pariselle A, Lim LHS, Lambert A (2003) Monogeneans from Pangasiidae (Siluriformes) in Southeast Asia: V. Five new species of *Thaparocleidus* Jain, 1952 (Ancylo-discoididae) from *Pangasius nasutus*. *Parasite* 10(4): 317–323.

Pariselle A, Lim LHS, Lambert A (2004) Monogeneans from Pangasiidae (Siluriformes) in Southeast Asia: VII. Six new host-specific species of *Thaparocleidus* Jain, 1952 (Ancylo-discoididae) from *Pangasius polyuranodon*. *Parasite* 11(4): 365–372.

Pariselle A, Lim LHS, Lambert A (2006) Monogeneans from Pangasiidae (Siluriformes) in Southeast Asia: X. Six new species of *Thaparocleidus* Jain, 1952 (Ancylo-discoididae) from *Pangasius micronema*. *Parasite* 13(4): 283–290.

Vũ Đăng Hạ Quyên, Đặng Thúy Bình, Đào Thị Hàn Ly, Phạm Thị Diệu Anh (2014) Nghiên cứu thành phần ký sinh trùng trên cá tra *Pangasianodon hypophthalmus* Sauvage, 1878 bằng phương pháp hình thái và di truyền. *Tạp chí Sinh học* 36:138-144.

R Core Team (2018) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Rizvi SSH (1971) Monogenea of Pakistan fishes I. *Ancylo-discoides mystusi*, New species and *A. aori*, New species, from the gills of *Mystus aor* (Ham.). *Pak J Zool* 3: 87–92.

Singh HS, Sharma M (1992) *Wallagotrema indicus* n. sp., a new monogenean from the freshwater sheatfish *Wallago attu* Bloch and Schneider. *Funct Dev Morphol* 2: 85–88.

Verma C, Chaudhary A, Singh HS (2016a) Morphology

- and molecular analysis of *Mizelleus indicus* Jain (1957) and *M. longicirrus* Tripathi (1959) Venkatanarasaiah & Kulkarni 1981 (Monogenea, Dactylogyridae) from the freshwater shark *Wallago attu* in the Ganga River, India. *J Helminthol* 90(5): 596–606. DOI:10.1017/s0022149x15000814
- Verma C, Chaudhary A, Singh HS (2016b) *Thaparocleidus gangus* sp. nov. (Monogenea: Dactylogyridae) from gill filaments of *Wallago attu* Bloch and Schn., 1801, India. *Turk J Zool* 40: 758–764. DOI:10.3906/zoo-1507-31
- Verma C, Chaudhary A, Singh HS (2017a) Morphology, molecular and systematic analyses of *Bychowkyella* (Monogenea: Dactylogyridae) in siluriform fish from India. *J Helminthol* 91(2): 197–205. DOI: 10.1017/S0022149X16000122
- Verma C, Chaudhary A, Singh HS (2017b) Redescription of two species of *Thaparocleidus* (Monogenea: Dactylogyridae), with the description of *T. armillatus* sp. n. from *Wallago attu* and a phylogenetic analysis based on 18S rDNA sequences. *Acta Parasitol* 62(3): 652–665. DOI:10.1515/ap-2017-0079
- Venkatanarasaiah J, Kulkarni T (1981) A new combination of *Wallagotrema longicirrus* Tripathi, 1959, *Proc Indian Acad Parasitol* 2: 117–118.
- Wu XY, Wang JQ, Li AX (2006) A molecular assessment of phylogenetic relationships within the suborder Dactylogyrynea Bychowsky, 1937 (Platyhelminthes: Monogenea), Unpublished NCBI.
- Yamaguti S (1963) *Systema Helminthum - Monogenea and Aspidocotylea*. The Quarterly Review of Biology 4, London.
- Zhang D, Zou H, Jakovlić I, Wu SG, Li M, Zhang J, Chen R, Li WX, Wang GT (2019) Mitochondrial Genomes of Two *Thaparocleidus* Species (Platyhelminthes: Monogenea) Reveal the First rRNA Gene Rearrangement among the Neodermata. *Int J Mol Sci* 20(17): 4214. DOI:10.3390/ijms20174214
- Zhao H, Wang Y, Xing F, Liu X, Yuan C, Qi G, Guo J, Dong Y (2018) The Genetic Diversity and Geographic Differentiation of the Wild Soybean in Northeast China Based on Nuclear Microsatellite Variation. *Int J Genomics* 2018: 1–9.

THE FIRST RECORD OF 4 SPECIES OF MONOGENEAN FLATWORM ON CATFISH (*CLARIAS FUSCUS*, *HEMIBAGRUS SPILOPTERUS* AND *PANGASIUS MACRONEMA*) IN THE DAK LAK, VIETNAM

Tran Quang Sang, Tran Thi Thanh Huyen, Dang Thuy Binh

Institute for Biotechnology and Environment, Nha Trang University

SUMMARY

Catfish (Order Siluriformes) is one of the largest orders of teleosts containing about 4,100 species with highly diverse and distributed worldwide, representing about 12% of all teleosts and ~6.3% of all vertebrates. Catfish are of economic and ecological importance; many large fish species are raised or caught for food, and small fish are cultured as ornamental. Like other fish species, monogenean is a common ectoparasites on catfish with more than 379 species recorded. The current study collected 77 individuals of three catfish species, including Hong Kong catfish *Clarias fuscus* (n = 21), black spotted catfish *Hemibagrus spilopterus* (n = 17) and long barbels pangasiid catfish *Pangasius macronema* (n = 39) in Dak Lak in 2016 - 2017. Based on morphological and genetic (18S rRNA gene) characters, this study recorded four new dactylogyrid monogenean species on the hosts and in Vietnam, in which, *Thaparocleidus armillatus* and *Mizelleus siamensis* on *P. macronema*; *Bychowkyella tchangi* on *C. fuscus*, and *Cornudiscoides longicirrus* on *H. spilopterus*. Phylogenetic tree constructed of four 18S rRNA sequences from the current study and six sequences on Genbank showed *Bychowkyella* spp. species formed monophyletic clusters and is sisterly related to the remaining of the species. *C. longicirrus* species was clustered in the separate clade, while *M. siamensis* species exhibited paraphyly when grouped with species of the genus *Thaparocleidus*. There is a need for further analysis of taxonomic characteristics and molecular markers diversity (e.g. Cytochrome oxidase subunit (COI mtDNA), 16S rRNA) to determine the taxonomic position of monogenean species.

Keywords: Catfish, central highlands, 18S rRNA, monogeneana, Vietnam.