

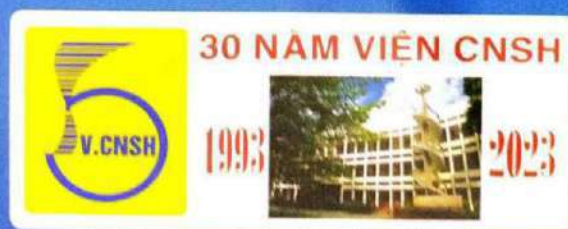
VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM
VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC

BÁO CÁO KHOA HỌC PROCEEDINGS

HỘI NGHỊ KHOA HỌC CÔNG NGHỆ SINH HỌC TOÀN QUỐC 2023
NATIONAL BIOTECHNOLOGY CONFERENCE 2023

TRUNG TÂM HỘI NGHỊ QUỐC GIA HÀ NỘI
06 THÁNG 10 NĂM 2023

Công nghệ Gen, Công nghệ Enzyme và Hóa sinh,
Công nghệ sinh học Y - Dược, Công nghệ sinh học Vi sinh môi trường
Công nghệ sinh học Thực vật, Công nghệ sinh học Động vật



NHÀ XUẤT BẢN KHOA HỌC TỰ NHIÊN VÀ CÔNG NGHỆ

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM
VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC

BÁO CÁO KHOA HỌC PROCEEDINGS

**HỘI NGHỊ KHOA HỌC CÔNG NGHỆ SINH HỌC TOÀN QUỐC 2023
NATIONAL BIOTECHNOLOGY CONFERENCE 2023**

**TRUNG TÂM HỘI NGHỊ QUỐC GIA HÀ NỘI
06 THÁNG 10 NĂM 2023**

**Công nghệ Gen, Công nghệ Enzyme và Hóa sinh,
Công nghệ sinh học Y - Dược, Công nghệ sinh học Vi sinh môi trường
Công nghệ sinh học Thực vật, Công nghệ sinh học Động vật**

HÀ NỘI 2023

BAN TỔ CHỨC

Đơn vị tổ chức

VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC, VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

Đơn vị đồng tổ chức

HỘI CÔNG NGHỆ SINH HỌC, HỘI CÁC NGÀNH SINH HỌC VIỆT NAM

Trưởng ban

GS.TS. Chu Hoàng Hà

Phó Chủ tịch Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Viện trưởng Viện Công nghệ sinh học

Phó Trưởng ban

1. GS.TS. Lê Trần Bình, *Chủ tịch Hội Các ngành sinh học Việt Nam*
2. GS.TS. Trương Nam Hải, *Chủ tịch Hội đồng Khoa học Viện Công nghệ sinh học*
3. TS. Nguyễn Trung Nam, *Phó Viện trưởng Viện Công nghệ sinh học*
4. GS.TS. Phan Tuấn Nghĩa, *Trưởng Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội*
5. GS.TS. Phạm Xuân Hội, *Viện trưởng Viện Di truyền Nông nghiệp*
6. PGS.TS. Phí Quyết Tiến, *Phó Viện trưởng Viện Công nghệ sinh học*
7. PGS.TS. Đồng Văn Quyền, *Phó Viện trưởng Viện Công nghệ sinh học*
8. GS.TS. Hoàng Nghĩa Sơn, *Viện trưởng Viện Sinh học nhiệt đới*
9. GS.TS. Trần Linh Thuốc, *Trưởng Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia TP.HCM*
10. GS.TS. Hà Thanh Toàn, *Hiệu trưởng Trường Đại học Cần Thơ*
11. GS.TS. Nguyễn Thị Lan, *Giám đốc Học viện Nông nghiệp Việt Nam*

Ủy viên

1. TS. Nguyễn Thị Thanh Thủy, *Vụ trưởng Vụ Khoa học, Công nghệ và Môi trường, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*
2. TS. Lưu Quang Minh, *Phó Vụ trưởng Vụ Khoa học và Công nghệ các ngành kinh tế - kỹ thuật, Bộ Khoa học và Công nghệ*
3. TS. Nguyễn Thị Thanh Hà, *Phó Vụ trưởng Vụ Khoa học xã hội & tự nhiên, Bộ Khoa học và Công nghệ*
4. PGS.TS. Dương Duy Đồng, *Phó Hiệu trưởng Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM*
5. GS.TS. Nông Văn Hải, *Chủ tịch Hội đồng Khoa học Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam*
6. GS.TS. Nguyễn Huy Hoàng, *Viện trưởng Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam*
7. TS. Trịnh Thành Trung, *Viện trưởng Viện Vi sinh vật và công nghệ sinh học, Đại học Quốc gia Hà Nội*
8. PGS.TS. Đỗ Hữu Nghị, *Phó Viện trưởng Viện Hóa học Các hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam*
9. GS.TS. Nguyễn Hoàng Lộc, *Đại học Huế*
10. GS.TS. Chu Hoàng Mậu, *Đại học Thái Nguyên*
11. PGS.TS. Vũ Nguyên Thành, *Viện trưởng Viện Công nghệ thực phẩm*

Ban Biên tập

1.	GS.TS. Chu Hoàng Hà	<i>Viện Công nghệ sinh học</i>	Trưởng ban
2.	TS. Nguyễn Trung Nam	<i>Viện Công nghệ sinh học</i>	Phó Trưởng ban
3.	GS.TS. Lê Trần Bình	<i>Hội Các ngành Sinh học Việt Nam</i>	Phó Trưởng ban
4.	PGS.TS. Đồng Văn Quyền	<i>Viện Công nghệ sinh học</i>	Ủy viên
5.	PGS.TS. Phí Quyết Tiến	<i>Viện Công nghệ sinh học</i>	Ủy viên
6.	TS. Đỗ Tiến Phát	<i>Viện Công nghệ sinh học</i>	Ủy viên
7.	PGS.TS. Đỗ Thị Huyền	<i>Viện Công nghệ sinh học</i>	Ủy viên
8.	PGS.TS. Phạm Bích Ngọc	<i>Viện Công nghệ sinh học</i>	Ủy viên
9.	TS. Bùi Văn Ngọc	<i>Viện Công nghệ sinh học</i>	Ủy viên
10.	TS. Nguyễn Kim Thoa	<i>Viện Công nghệ sinh học</i>	Ủy viên

Thành phần các Tiểu ban

I. Tiểu ban CÔNG NGHỆ GEN

1.	GS.TS. Trương Nam Hải	<i>Viện Công nghệ sinh học</i>	Trưởng Tiểu ban
2.	GS.TS. Nông Văn Hải	<i>Viện Nghiên cứu hệ gen</i>	Phó Trưởng Tiểu ban
3.	PGS.TS. Đỗ Thị Huyền	<i>Viện Công nghệ sinh học</i>	Thư ký
4.	GS.TS. Trần Linh Thuộc	<i>ĐHKHTN, ĐHQG TP.HCM</i>	Ủy viên
5.	GS.TS. Nguyễn Hoàng Lộc	<i>Đại học Huế</i>	Ủy viên

II. Tiểu ban CÔNG NGHỆ ENZYME VÀ HOÁ SINH

1.	GS.TS. Phan Tuấn Nghĩa	<i>Trường ĐHKHTN</i>	Trưởng Tiểu ban
2.	PGS.TS. Phí Quyết Tiến	<i>Viện Công nghệ sinh học</i>	Phó Trưởng Tiểu ban
3.	PGS.TS. Đỗ Thị Tuyên	<i>Viện Công nghệ sinh học</i>	Thư ký
4.	PGS.TS. Vũ Nguyên Thành	<i>Viện Công nghệ thực phẩm</i>	Ủy viên
5.	PGS.TS. Nguyễn Hải Đăng	<i>Trường ĐHKHCN HN</i>	Ủy viên

III. Tiểu ban CÔNG NGHỆ SINH HỌC Y - DƯỢC

1.	GS.TS. Nguyễn Huy Hoàng	<i>Viện Nghiên cứu hệ gen</i>	Trưởng Tiểu ban
2.	GS.TS. Nguyễn Linh Toàn	<i>Học viện Quân y</i>	Phó Trưởng Tiểu ban
3.	PGS.TS. Nguyễn Phương Thảo	<i>ĐHQT, ĐHQG TP.HCM</i>	Thư ký
4.	PGS.TS. Đinh Đoàn Long	<i>Trường ĐH Y Dược, ĐHQG HN</i>	Ủy viên
5.	TS. Nguyễn Trung Nam	<i>Viện Công nghệ sinh học</i>	Ủy viên

IV. Tiểu ban CÔNG NGHỆ SINH HỌC VI SINH - MÔI TRƯỜNG

1.	GS.TS. Phạm Văn Toàn	<i>Học viện Nông nghiệp VN</i>	Trưởng Tiểu ban
2.	PGS.TS. Đồng Văn Quyền	<i>Viện Công nghệ sinh học</i>	Phó Trưởng Tiểu ban
3.	TS. Nguyễn Kim Thoa	<i>Viện Công nghệ sinh học</i>	Thư ký
4.	TS. Trịnh Thành Trung	<i>Viện VSV&CNSH, ĐHQG HN</i>	Ủy viên
5.	PGS.TS. Phạm Thế Hải	<i>Trường ĐHKHTN, ĐHQG HN</i>	Ủy viên

V. Tiểu ban **CÔNG NGHỆ SINH HỌC THỰC VẬT**

- | | | | |
|----|------------------------|-----------------------------------|---------------------|
| 1. | GS.TS. Lê Trần Bình | <i>Viện Công nghệ sinh học</i> | Trưởng Tiểu ban |
| 2. | GS.TS. Phạm Xuân Hội | <i>Viện Di truyền nông nghiệp</i> | Phó Trưởng Tiểu ban |
| 3. | TS. Đỗ Tiến Phát | <i>Viện Công nghệ sinh học</i> | Thư ký |
| 4. | GS.TS. Chu Hoàng Mậu | <i>Đại học Thái Nguyên</i> | Ủy viên |
| 5. | PGS.TS. Phạm Bích Ngọc | <i>Viện Công nghệ sinh học</i> | Ủy viên |

VI. Tiểu ban **CÔNG NGHỆ SINH HỌC ĐỘNG VẬT**

- | | | | |
|----|------------------------|--------------------------------|---------------------|
| 1. | GS.TS. Hoàng Nghĩa Sơn | <i>Viện Sinh học nhiệt đới</i> | Trưởng Tiểu ban |
| 2. | PGS.TS. Đỗ Thị Thảo | <i>Viện Công nghệ sinh học</i> | Phó Trưởng Tiểu ban |
| 3. | TS. Nguyễn Văn Hạnh | <i>Viện Công nghệ sinh học</i> | Thư ký |
| 4. | PGS.TS. Đặng Vũ Hoàng | <i>Viện Thú y</i> | Ủy viên |
| 5. | TS. Phạm Doãn Lân | <i>Viện Chăn nuôi</i> | Ủy viên |

196. ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC HỆ THỐNG NUÔI CÂY KHÁC NHAU ĐẾN KHẢ NĂNG SINH TRƯỞNG *IN VITRO* CỦA TẾ BÀO TRỨNG LỢN PHẦN LẬP TỪ NANG TIỀN HỌC. Nguyễn Liên Bội Linh, Lê Thị Chơn, Lê Bá Anh Mỹ, Lâm Đỗ Trúc Phương, Nguyễn Văn Thuận, Bùi Hồng Thủy 1258
197. TẠO BÒ LAI HƯỚNG THỊT F1 (BLANC BLUE BELGE X LAI ZEBU) NĂNG SUẤT CAO TẠI TỈNH QUẢNG BÌNH. Đỗ Văn Thu, Trần Xuân Khôi, Lê Thị Huệ..... 1264
198. NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA MELATONIN LÊN QUÁ TRÌNH NUÔI TĂNG TRƯỞNG *IN VITRO* CỦA TRỨNG HEO PHẦN LẬP TỪ NANG THỨ CẤP. Lâm Đỗ Trúc Phương, Lê Thị Chơn, Cao Đăng Sư Phạm, Nguyễn Thái Huy Bảo, Lê Nguyễn Thiên Trúc, Tạ Thị Minh Thu, Đỗ Tú Minh, Lê Bá Anh Mỹ, Nguyễn Liên Bội Linh, Nguyễn Văn Thuận, Bùi Hồng Thủy 1270
199. ĐÁNH GIÁ CẢM QUAN CHẤT LƯỢNG THỊT BÒ LAI GIỮA BÒ CÁI BRAHMAN VỚI ĐỰC GIỐNG BBB, CHAROLAIS VÀ RED ANGUS TRONG ĐIỀU KIỆN NUÔI Ở VIỆT NAM. Nguyễn Văn Hạnh, Lê Văn Ty 1276
200. ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG PHẦN LẬP TẾ BÀO GỐC TRUNG MÔ TỪ DÂY RÓN BẰNG PHƯƠNG PHÁP NUÔI CÂY MẢNH MÔ VÀ PHÂN TÁCH BẰNG ENZYME. Nguyễn Thị Ngọc Hà, Nguyễn Trung Nam, Phạm Đăng An, Trần Trung Kiên, Nguyễn Duy Ánh, Trần Trung Thành 1382
201. NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA NỒNG ĐỘ CHẤT BẢO QUẢN (DMSO) LÊN SỨC SỐNG VÀ BIỂU HIỆN CÁC GEN CHỈ THỊ CỦA TẾ BÀO MÀM GÀ ĐEN HỒNG. Nguyễn Văn Hạnh, Trần Thị Hương Giang 1287
202. CHARACTERISTIC OF PREIMPLANTATION DEVELOPMENT OF BIOPSIED BLASTOMERES DERIVED FROM DIFFERENT STAGES AND INTACT EMBRYOS IN THE MOUSE. Huynh Nguyen Loan Anh, Nguyen Thi Trang, Phan Hoang My Dung, Nguyen Ngoc Bao Han, Nguyen Phuong Thy, Duong Quy Hao, Bui Hong Thuy, Nguyen Van Thuan..... 1293
203. EFFECTS OF ACTIVATION SYSTEMS AND *IN VITRO* DEVELOPMENT MEDIA ON THE PREIMPLANTATION DEVELOPMENT OF INTERSPECIES EMBRYOS BETWEEN BOVINE AND PORCINE. Cao Thuy Khanh, Nguyen Thi Ly Na, Duong Diem Quynh, Bui Hong Thuy, Nguyen Van Thuan 1299
204. IMPROVE THE DEVELOPMENTAL COMPETENCE OF PORCINE OOCYTES FROM EARLY ANTRAL FOLLICLES (1-1.5MM) BY ASTAXANTHIN TREATMENT. Lam Chi Thien, Nguyen Le Uyen Vy, Tran Minh Thien Loc, Bach Ngoc Gia Bao, Nguyen Duong Hong Loan, Nguyen Van Thuan, Bui Hong Thuy 1305
205. ĐỊNH LOẠI LOÀI CÁ CHẠCH LỬA (*Leptobotia pellegrini* Fang, 1936) TẠI HUYỆN TƯƠNG DƯƠNG, NGHỆ AN, VIỆT NAM BẰNG TRÌNH TỰ GEN *COI* VÀ *12S*. Lê Đình Chắc, Hoàng Ngọc Thảo, Ông Vĩnh An, Nguyễn Thị Thu Hương 1311
206. PHÂN TÍCH PHÂN HỆ NGUỒN GỐC VIRUS DỊCH TẢ LỢN CHẤU PHI (ASFV) GÂY BỆNH TẠI TỈNH HƯNG YÊN NĂM 2022. Nguyễn Thị Thu Hiền, Đỗ Thị Roan, Nguyễn Thị Khuê, Phan Xuân Đọc, Lưu Minh Đức, Phạm Thị Khánh Linh, Lê Thị Huệ, Lê Thị Kim Xuyên, Lê Thanh Hòa, Đoàn Thị Thanh Hương 1318
207. ĐA HÌNH ĐỘT BIẾN INDEL 65-BP GEN *GOLGB1* Ở GÀ BẢN ĐỊA VIỆT NAM. Bùi Thị Diệu Mai, Đỗ Võ Anh Khoa, Phạm Doãn Lân, Nguyễn Trần Trung, Nguyễn Thị Thanh Lan, Đinh Thị Ngọc Thúy, Nguyễn Thị Diệu Thúy 1324
208. ĐẶC ĐIỂM ĐA DẠNG DI TRUYỀN CỦA CÁ DÍA *Siganus guttatus* (Bloch, 1787) Ở THỪA THIÊN HUỆ. Nguyễn Hoàng Nhật Minh, Nguyễn Thị Hiền, Nguyễn Thị Như Ý, Trần Văn Giang 1329

ĐỊNH LOẠI LOÀI CÁ CHẠCH LỬA (*Leptobotia pellegrini* Fang, 1936) TẠI HUYỆN TƯƠNG DƯƠNG, NGHỆ AN, VIỆT NAM BẰNG TRÌNH TỰ GEN COI VÀ 12S

Lê Đình Chấn^{1*}, Hoàng Ngọc Thảo¹, Ông Vĩnh An², Nguyễn Thị Thu Hương¹

¹Trường Đại học Hồng Đức

²Trường Đại học Vinh

TÓM TẮT

Cá chạch lửa (*Leptobotia pellegrini* Fang, 1936) là loài có giá trị làm cảnh và thương mại. Ở Việt Nam, báo cáo về loài *Leptobotia elongata* ở Sông Lô bởi Kottelat (2001) và Sông Gám, Tuyên Quang bởi Nguyễn Văn Hào (2005) đã được định loại lại là *L. pellegrini* (Kottelat, 2012, 2013). Do đó việc phát hiện loài này ở Tương Dương, Nghệ An có ý nghĩa khoa học cao, nhằm góp phần bổ sung vùng phân bố của loài và đánh giá đa dạng sinh học của địa điểm nghiên cứu. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã phân lập 02 locus mã vạch DNA barcode là *COI* và *12S* để nhận diện và ghi nhận mới khu phân bố của loài *Leptobotia pellegrini* tại Việt Nam.

Từ khóa: *COI*, *12S*, *Leptobotia pellegrini*, cá chạch lửa.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá chạch lửa (*Leptobotia pellegrini* Fang, 1936) lần đầu tiên được công bố bởi Fang năm 1936 trên các mẫu vật thu tại khu vực thượng nguồn sông Dương Tử (Yangtze) thuộc tỉnh Tứ Xuyên (Szechuan), Tây Nam Trung Quốc. Đây là loài cá nước ngọt có giá trị để nuôi làm cá cảnh rất được ưa chuộng, do đó chúng còn có giá trị thương mại cao. Tuy nhiên, tại Việt Nam loài cá này chưa được nghiên cứu nhiều. Năm 2001, Kottelat là người đầu tiên đã thu được mẫu cá tương tự loài này ở Sông Lô (phụ lưu của Sông Hồng) (Kottelat, 2001). Năm 2005, Nguyễn Văn Hào đã phát hiện và ghi nhận *Leptobotia elongata* ở Sông Gám (phụ lưu của Sông Lô) thuộc tỉnh Tuyên Quang (Nguyễn VH, 2005). Các mẫu này sau đó đã được xác định lại là loài *Leptobotia pellegrini* (Kottelat, 2012, 2013). Do đó, cho đến nay ở Việt Nam, loài *Leptobotia pellegrini* được ghi nhận có khu phân bố tại Sông Hồng. Vì vậy, việc phát hiện và ghi nhận mới loài *Leptobotia pellegrini* có ở Khe Kiền, huyện Tương Dương, Nghệ An, Việt Nam là một phát hiện quan trọng, ghi nhận mới thêm khu vực phân bố mới của loài *Leptobotia pellegrini*. Trong nghiên cứu này, chúng tôi xác định loài *Leptobotia pellegrini* dựa trên phân tích quan hệ di truyền của 2 locus mã vạch DNA *COI* và *12S* chúng tôi thu được với các trình tự *COI* và *12S* đã công bố trên gen banks.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu nghiên cứu

25 mẫu cá thu tại Khe Kiền, huyện Tương Dương, Nghệ An, Việt Nam được sử dụng để phân tích hình thái, mẫu cơ được lấy từ các mẫu này để phân tích DNA. Thời gian thu mẫu: 15/9/2019. Tọa độ thu mẫu: 19°13'55,51"N, 104°17'10,95"E, độ cao 255 m so với mực nước biển.

Nơi lưu giữ mẫu: Phòng thí nghiệm Động vật học, Trường Đại học Hồng Đức.

Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp phân tích hình thái theo Kottelat (1990).

DNA bộ gen phân lập từ mô cơ, mô này đã được bảo quản trong 95 % ethanol, sau đó tiến hành tách chiết DNA bằng quy trình sau:

Một lượng nhỏ mô cơ 5 mg được làm khô và chuyển vào 500 μ L dung dịch đệm chiết xuất bao gồm 1 % SDS, 0,4 mg/mL proteinase K, 10 mM Tris HCl (pH 8,0), 1 mM EDTA, 100 mM NaCl, sau đó ủ ở 56 °C trong 2 giờ (đảo ngược ống 15 phút một lần), tiếp theo tiến hành ly tâm ở tốc độ 13.000 vòng/phút trong một phút. Thu 450 μ L phần nổi phía trên được chuyển vào ống 1,5 mL mới, trong đó bổ sung thêm 50 μ L dung dịch natri axetat 3M và 500 μ L isopropanol, trộn đều và ly tâm lần nữa ở tốc độ 13.000 vòng/phút trong 5 phút, phần nổi phía trên được loại bỏ, và trầm tích DNA được rửa bằng 500 μ L ethanol 70 %. Sau khi loại bỏ ethanol, DNA tổng số được làm khô ở 50 °C trong 8 phút và sau đó được tiếp tục lại với 50 μ L TE.

Hai locus ti thể bao gồm: *COI* và *12S* gen rRNA, được khuếch đại bằng cách sử dụng phản ứng chuỗi polymerase sợi kép (PCR) với các cặp mồi đặc hiệu (Bảng 1), trong các điều kiện sau: 1,0 μ L DNA bộ gen (10-30

µg), 1,0 µL sơn lót sợi nhẹ (nồng độ 10 µM), sơn lót sợi nặng 1,0 µL (nồng độ 10 µM), 15 µL Master Mix 2x (CWBI, Trung Quốc) và 12 µL H₂O siêu tinh khiết. Phản ứng PCR được thực hiện trên máy quay nhiệt độ dốc Bio-Rad T100™ trong các điều kiện sau: biến tính ban đầu ở 94 °C trong 5 phút, tiếp theo là biến tính cục bộ ở 94 °C trong 60 giây, bám mỗi ở 50 °C trong 60 giây, tổng hợp ở 72 °C trong 60 giây, trong 35 chu kỳ với bước kéo dài cuối cùng là 72 °C trong 10 phút. Để khuếch đại, chúng tôi sử dụng các đoạn mỗi tại Bảng 1. Tất cả các sản phẩm PCR được hình dung bằng cách điện di trên gel agarose 1,0 % và được tinh chế bằng kỹ thuật chiết xuất gel. Các sản phẩm PCR thành công đã được gửi đến Phòng thí nghiệm trọng điểm Quốc gia về Công nghệ gen (Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Việt Nam) để đọc trình tự bằng cách sử dụng các đoạn mỗi tương tự tại bước khuếch đại.

Trình tự nucleotide của các đoạn gen được xác định tại bằng máy giải trình tự ABI PRISM® 3100 Avant Genetic Analyzer, sử dụng bộ Kit BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing với cặp mỗi đặc hiệu. Trình tự gen đó được phân tích, so sánh và lập cây phát sinh chủng loại bằng các chương trình Bioedit, BLAST, MEGA XI.

Xử lý trình tự gen bằng phần mềm BioEdit.

Xây dựng cây phát sinh chủng loại di truyền bằng phần mềm MEGA XI

Trình tự của gen *COI* và *12S* rRNA đã được đăng ký trên Ngân hàng gen với các mã số lần lượt là OM417045 (*12S*), OM417047 (*COI*).

Bảng 1. Trình tự các cặp mỗi đặc hiệu sử dụng để thực hiện phản ứng PCR

Primer name mỗi	Sequence trình tự (5'-3')	Gen	Tài liệu tham khảo
12SAL	F- AAAGTGGGATTAGATACCCCACTAT	12S	Kocher et al., 1989; Hedges, 1994
16SH1	R: CTCCGGTCTGAACTCAGATCACGTAGG		
LCO1490	F: GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG	COI	Folmer et al., 1994
HCO2198	R: TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA		
F: Mỗi xuôi; R: Mỗi ngược			

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

Kết quả phân tích hình thái

Qua việc phân tích đặc điểm hình thái theo phương pháp của Kottelat (1990) của 25 mẫu cá chạch lửa thu được tại Khe Kiền, huyện Tương Dương, Nghệ An; kết quả cho thấy đặc điểm hình thái của 25 mẫu nói trên đều phù hợp với mô tả của Fang (1936), cụ thể: D 2, 8; A 2, 5,5; V 1, 7-8; P 1, 12-13; C 1,17,1. Mắt trung bình, đường kính mắt bằng 2,59-3,24 lần chiều dài thân; gai trên ổ mắt đơn, đạt đến mép sau của mắt. Cột sống có 4+35 đốt. Dài trước vây lưng bằng 53,44-57,50 % chiều dài tiêu chuẩn. Vây lưng ngắn, tia vây dài nhất ngắn hơn chiều dài đầu; vây bụng ngắn, mút không đạt đến vây hậu môn; vây đuôi khỏe; hậu môn ở giữa gốc vây hậu môn và gốc vây bụng. Vây hậu môn đạt đến 1/2 khoảng cách giữa gốc vây hậu môn và vây đuôi khi dẹp xuống. Vây lưng với hai vạch đứng màu đen, một ở gốc vây và một ở gần mút tia vây. Thân màu cam, với 6-8 vết đen ngang thân, từ chấm đến gốc đuôi. Do đó, có thể khẳng định các mẫu cá chạch lửa chúng tôi thu được tại Khe Kiền, huyện Tương Dương, Nghệ An là loài *Leptobotia pellegrini* Fang, 1936. Tuy nhiên, để khẳng định các mẫu cá này là loài *Leptobotia pellegrini* Fang, 1936, chúng tôi tiếp tục phân tích quan hệ di truyền của 02 trình tự DNA barcode là *COI* và *12S* làm cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo.

Kết quả phân tích di truyền

Chúng tôi tiến hành phân lập, phân tích, so sánh 2 trình tự DNA Barcode là *COI* và *12S* của mẫu cá thu được với các trình tự *COI* và *12S* đã công bố trên gen bank, kết quả thu được:

Kết quả nhân bản trình tự *COI* và *12S*

Sau khi thực hiện PCR, sản phẩm PCR sẽ được tiến hành điện di trên gel agarose và được chụp ảnh, kết quả được thể hiện trên Hình 1.

Kết quả trên Hình 1 cho thấy, sản phẩm PCR chúng tôi phân lập được với các cặp mỗi *COI* F/R và *12S* F/R đặc hiệu được thể hiện với các kích thước khác nhau, cụ thể:

Trình tự *COI* và trình tự *12S* đều có kích thước khoảng 600 bp. Cụ thể, theo tính toán lý thuyết kích thước phân tử đoạn gen *COI* và *12S* vào khoảng 600 bp. Do đó, kết quả trên phù hợp với trình tự các cặp mỗi tương ứng, đủ độ tin cậy làm cơ sở cho việc đọc trình tự *COI* và *12S* để phục vụ cho các nghiên cứu tiếp theo.



Hình 1. Kết quả PCR 2 mẫu với cặp mồi *COI* và *12S*

Kết quả đọc trình tự 2 gen *COI* và *12S* của cá

Sau khi điện di, chúng tôi tiến hành đọc trình tự 2 gen *COI* và *12S*, kết quả thu được như sau:

Trình tự gen *COI*

GTTGGAAGTGCCTCAGCCTTTAATCCGTGCTGAGCTAAGCCAACCCGGGTCGCTTCTAGGTGACGACCAGATTTATAAT
 GTCATCGTCACTGCCCATGCCTTCGTTATAATTTCTTTATAGTAATGCCAATCCTTATTGGAGGCTTTGGGAAGTCACTTGT
 TCCACTAATAATTGGGGCCAGACATGGCATTCCCTCGAATAAACAACATAAGCTTTGACTCCTTCCTCCCTCCTTTCTTC
 TCCTCTGGCCTCTCCGGGGTTGAAGCCGGGGCCGGAACAGGATGAACGGTATATCCACCCTTGCAGGAAACCTTGCC
 CACGCAGGGGCATCCGTAGACCTTACCATCTTTCCCTACACCTAGCAGGTGTGTCATCCATCCTTGGGGCAATTAATTTA
 TTAACAACCATTAACATAAAACCCAGCCATCTCTCAATACCAGACACCCCTCTTCGTGTGGCCGTGCTCGTAACAGC
 TGTTTTACTACTTCTGCTCTCCAGTACTAGCCGCCGCGCATTACAATACTATTAACAGACCGTAATTTAAATACAACATTCT
 CGACCCTGCAGGAGGAGGAGACCCAAATCCTTTATCAACACCTATTTTG

Trình tự gen *12S*

AACGTCGCCAGGGTACTACAAGCGTCAGCTTAAACCCAAAGGACTTGGCGGTGCCTTAGACCCCTAGAGGAGCCTG
 TTCTAGAACCATAACCCCGTTAAACCTCACCCTCCTGGTCACCCCGCTATATACCGCCGTCGTCAGCTTACCCTGT
 GAAGGACCAACAGTAAGCAAAATGGGCACAACCCAAACGTCGAGGTGAGGTGTAGCGTACGAAGTGGGAAGAAATGG
 GCTACATTTTCTACAATAGAATAACACGAACAGCACTATGAAAAGAGTGTCAAAGGAGGATTTAGTAGTAAAAGGAAATA
 GAGAGTCTTTTGAACCCGGCTCTGAGGCGGTACACACCGCCGTCCTCTCCCTGTCAAATAGCACAAACCGTACTT
 TTAACACCAGAGCATCGACAAGGGGAGGCAAGTGTAACTGGTAAGTGTACCGGAAGGTGCACCTGGACCAAAACCCAG
 GGCGTGGCTGAGATAGTTAAGCATCTCCCTTACACCGAGAAGACATCCATGCAAGTTGGATCGCCCTGAGCCAAACAGCTA
 GCTTAACCACTCAAATAACACAATAATAAAAATAACACAGCATAACCGCAACACACAAACCAACCATTTACCACCTTAGTA
 CGGGAGA

Bảng 2. Danh mục các trình tự *COI* và *12S* đã công bố trên gen bank sử dụng để so sánh với các trình tự *COI* và *12S* thu được

Tên loài	Trình tự gen	
	<i>COI</i>	<i>12S</i>
<i>L. pellegrini</i>	AP011350	
	JN177223	
	KC871141	
<i>L. tientainensis</i>	MF122434	
	MF122435	
	MF122436	
	MF122437	
	MF122438	
<i>L. rubrilabis</i>	KX307847	
<i>L. pellegrini</i>		AP011350
<i>L. rubrilabis</i>		KY307847
		KF534784
<i>L. taeniops</i>		AP103304
		KM386686
<i>L. lijiangensis</i>		MT323118
<i>L. elongata</i>		KY307845
		JX155734
		JQ230103



Hình 1. Kết quả PCR 2 mẫu với cặp mồi *COI* và *12S*

Kết quả đọc trình tự 2 gen *COI* và *12S* của cá

Sau khi điện di, chúng tôi tiến hành đọc trình tự 2 gen *COI* và *12S*, kết quả thu được như sau:

Trình tự gen *COI*

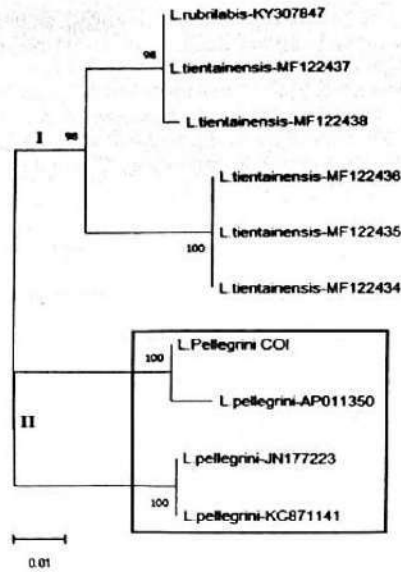
GTTGGAAGTGCCTCAGCCCTTTAATCCGTGCTGAGCTAAGCCAACCCGGGTCGCTTCTAGGTGACGACCAGATTTATAAT
 GTCATCGTCACTGCCCATGCCTTCGTTATAATTTCTTTATAGTAATGCCAATCCTTATTGGAGGCTTTGGGAAGTCACTTGT
 TCCACTAATAATTGGGGCCCCAGACATGGCATTCCCTCGAATAAACAACATAAGCTTTTGACTCCTTCCTCCCTCCTTTCTTC
 TCCTCTGGCCTCTCCGGGGTTGAAGCCGGGGCCGGAACAGGATGAACGGTATATCCACCACITTCAGGAAACCTTGCC
 CAGCAGGGGCATCCGTAGACCTTACCATCTTTCCCTACACCTAGCAGGTGTGTCATCCATCCTGGGGCAATTAATTTTA
 TACTACAACCATTAACATAAAACCCCGAGCCATCTCTCAATACCAGACACCCCTCTTCGTGTGGGGCCGTGCTCGTAACAGC
 TGTTTTACTACTTCTGTCCTCCAGTACTAGCCGCGGCATTACAATACTATTAACAGACCCTAATTTAAATACAACATTCTT
 CGACCTGCAGGAGGAGGAGACCCAAATCCTTTATCAACACCTATTTTG

Trình tự gen *12S*

AACGTCGCCAGGGTACTACAAGCGTCAGCTTAAACCCAAAGGACTTGGCGGTGCCTTAGACCCCCCTAGAGGAGCCTG
 TTCTAGAACCGATAACCCCGTTAAACCTCACCCTCCTGGTACCCCCGCTATATACCGCCGTCGTCAGCTTACCCTGT
 GAAGGACCAACAGTAAGCAAATGGGCACAACCCAAAACGTGTGAGGTGAGGTGTAGCGTACGAAGTGGGAAGAAATGG
 GCTACATTTTCTACAATAGAATAACACGAACAGCACTATGAAAAGAGTGTCAAAGGAGGATTTAGTAGTAAAAAGGAAAAA
 GAGATCCTTTTGAACCCGGCTCTGAGGCGGTACACACCCGCGTCACTCTCCCTGTCAAATAGCACCACAAACGGTACTT
 TTTAACACCAGAGCATCGACAAGGGGAGGCAAGTGTAACTGTTAAGTGTACCGGAAGGTGCACTTGGACCAACCCAG
 GCGGTGGCTGAGATAGTTAAGCATCTCCCTTACACCGAGAAGACATCCATGCAAGTTGGATCGCCCTGAGCCAAACAGCTA
 GCTTAACCACTCAAATAACACAATAATAAAAAAACAACAGCATAACCGCAACACACAAACCAAACCATTTTACCACCTTAGTA
 CGGGAGA

Bảng 2. Danh mục các trình tự *COI* và *12S* đã công bố trên gen bank sử dụng để so sánh với các trình tự *COI* và *12S* thu được

Tên loài	Trình tự gen	
	<i>COI</i>	<i>12S</i>
<i>L. pellegrini</i>	AP011350	
	JN177223	
	KC871141	
<i>L. tientainensis</i>	MF122434	
	MF122435	
	MF122436	
	MF122437	
	MF122438	
<i>L. rubrilabis</i>	KX307847	
<i>L. pellegrini</i>		AP011350
<i>L. rubrilabis</i>		KY307847
		KF534784
<i>L. taeniops</i>		AP103304
		KM386686
<i>L. lijiangensis</i>		MT323118
<i>L. elongata</i>		KY307845
		JX155734
		JQ230103



Hình 2. Sơ đồ cây phát sinh chủng loài dựa trên trình tự COI thu được với các trình tự COI đã công bố trên gen bank bằng phần mềm MEGA XI

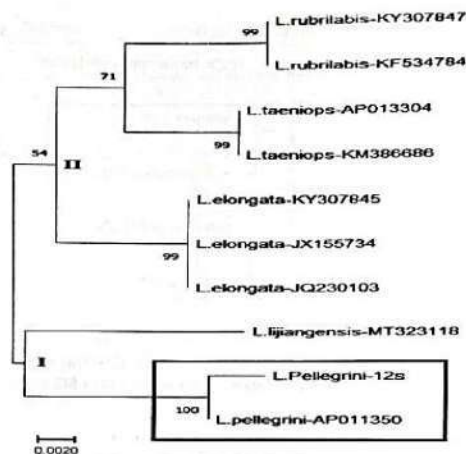
Kết quả phân tích trình tự 12S

Sau khi thu được trình tự 12S, chúng tôi tiến hành phân tích, so sánh và xác định quan hệ di truyền của các trình tự 12S thu được và trình tự 12S đã được công bố trên gen bank, kết quả được trình bày tại Bảng 4.

Bảng 4. Kết quả so sánh trình tự 12S thu được và trình tự 12S đã công bố trên gen bank bằng phần mềm MEGA XI

		12S									
	<i>L. pellegrini</i> -12s	<i>L. pellegrini</i> -AP011350	<i>L. rubrilabris</i> -KY307847	<i>L. rubrilabris</i> -KF534784	<i>L. taeniops</i> -AP013304	<i>L. taeniops</i> -KM386686	<i>L. lijiangensis</i> -MT323118	<i>L. elongata</i> -KY307845	<i>L. elongata</i> -JX155734	<i>L. elongata</i> -JQ230103	
<i>L. pellegrini</i> -12s											
<i>L. pellegrini</i> -AP011350	0.0031										
<i>L. rubrilabris</i> -KY307847	0.0236	0.0204									
<i>L. rubrilabris</i> -KF534784	0.0236	0.0204	0.0000								
<i>L. taeniops</i> -AP013304	0.0253	0.0221	0.0140	0.0140							
<i>L. taeniops</i> -KM386686	0.0253	0.0221	0.0140	0.0140	0.0000						
<i>L. lijiangensis</i> -MT323118	0.0253	0.0221	0.0270	0.0270	0.0221	0.0221					
<i>L. elongata</i> -KY307845	0.0236	0.0204	0.0188	0.0188	0.0172	0.0172	0.0205				
<i>L. elongata</i> -JX155734	0.0236	0.0204	0.0188	0.0188	0.0172	0.0172	0.0205	0.0000			
<i>L. elongata</i> -JQ230103	0.0236	0.0204	0.0188	0.0188	0.0172	0.0172	0.0205	0.0000	0.0000		

Kết quả Bảng 4 cho thấy, trình tự 12S của mẫu cá chạch lửa chúng tôi thu được tại Khe Kiền, huyện Tương Dương, Nghệ An, Việt Nam có sự sai khác không đáng kể (0,31 %) so với các trình tự 12S loài *Leptobotia pellegrini*, mã số AP011350 của tác giả Miya, M công bố năm 2009 tại Nhật Bản. Và có sự sai khác với các trình tự 12S đã công bố trên gen bank lần lượt là 2,36 % mã số KY307847 của Wan, Q., et al. năm 2016; KF534784 của Tian, H.W., et al. năm 2013; KY307845 của Wan, Q., et al. năm 2016; JX155734 của Huang, Y., et al. năm 2012; JQ230103 của Li, P., et al. năm 2011; 2,53 % mã số AP013304 của Miya, M. năm 2013; KM386686 của Wei, M., et al. năm 2014; MY323118 của Feng, Y.J. and Wang, G.X. năm 2020. Mỗi quan hệ di truyền này còn được thể hiện trên Hình 3



Hình 3. Sơ đồ cây phát sinh chủng loài dựa trên trình tự 12S thu được với các trình tự 12S đã công bố trên gen bank bằng phần mềm MEGA XI

Kết quả trên Hình 3 cho thấy, cây phát sinh chia làm 2 nhánh, trong đó nhánh I thể hiện quan hệ di truyền của trình tự 12S chúng tôi thu được tại Khe Kiền, huyện Tương Dương, Nghệ An, Việt Nam cùng loài *Leptobotia pellegrini* với trình tự 12S đã công bố trên gen bank mã số AP011350. Tại nhánh II, quan hệ di truyền của các trình tự 12S đã công bố trên gen banks được chia làm 3 nhóm loài là *L. rubrilabis*, *L. taeniops* và *L. elongata*, quan hệ này khác loài với *Leptobotia pellegrini* mà chúng tôi thu được.

Như vậy, qua việc phân tích di truyền của 02 locus *COI* và 12S của mẫu cá chạch lửa chúng tôi thu được tại Khe Kiền, huyện Tương Dương, Nghệ An, Việt Nam với các trình tự *COI* và 12S đã công bố trên gen bank, cho thấy mẫu cá chúng tôi thu được là loài *Leptobotia pellegrini*. Đây là một ghi nhận mới về khu phân bố của loài *Leptobotia pellegrini* tại Việt Nam. Điều này đã góp phần khẳng định cho việc phân tích, mô tả đặc điểm hình thái và ghi nhận mới cho loài *Leptobotia pellegrini* tại Việt Nam.

KẾT LUẬN

Các trình tự *COI* và 12S chúng tôi thu được có kích thước lần lượt là 624 bp và 655 bp. Các trình *COI* và 12S đã công bố trên genbank với các mã số lần lượt là: OM417045 (12S), OM417047 (*COI*).

Các trình tự này là loài *Leptobotia pellegrini*, đây là ghi nhận mới khu phân bố của loài này tại Việt Nam.

Trình tự *COI* và trình tự 12S có độ tin cậy cao trong việc sử dụng để xác định quan hệ di truyền của các mẫu cá thuộc loài *Leptobotia pellegrini*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Fang PW (1936). Study on the bolid fishes of China. Sinensia 7 (1): 1-49.

Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Molecular Marine Biology and Biotechnology 3: 294-299.

Hedges SB (1994). Molecular evidence for the origin of birds. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 91(7): 2621-2624.

Kottelat M (1990). Indochinese nemacheilines. A revision of nemacheiline loaches (Pisces: Cypriniformes) of Thailand, Burma, Laos, Cambodia, and southern Viet Nam. Pfeil, Munich, Germany, 262 pp.

Kottelat M (2001). Freshwater fishes of northern Vietnam. A preliminary checklist of the fishes known or expected to occur in northern Vietnam with comments on systematics and nomenclature. The World Bank, Washington, iii+140 pp., 15 pls.

Kottelat M (2012). Conspectus Cobitidum*: An inventory of the loaches of the world (Teleostei: Cypriniformes: Cobitoidei). The Raffles Bulletin of Zoology, No. 26: 1-199.

Kottelat M (2013). The fishes of the inland waters of Southeast Asia: a catalogue and core bibliography of the fishes known to occur in freshwaters, mangroves and estuaries. The Raffles Bulletin of Zoology 27: 1-663.

Kocher TD, Thomas WK, Meyer A, Edwards SV, Pääbo S et al. (1989). Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. Proc Natl Acad Sci USA 86: 6196-6200.

Nguyen VH (2005). Freshwater fishes of Vietnam, Volume 2. Agriculture Publishing House, Hanoi, 759 pp. [in Vietnamese]

www.DNAbarcodeoflife.org; www.NCBI.nlm.nih.gov.

IDENTIFICATION OF *Leptobotia pellegrini* Fang, 1936 AT TUONG DUONG DISTRICT, NGHE AN PROVINCE, VIETNAM BY *COI* and *12S* DNA SEQUECE

Le Dinh Chac^{1,*}, Hoang Ngoc Thao¹, Ong Vinh An², Nguyen Thi Thu Huong¹

¹Hong Duc University

²Vinh University

SUMMARY

Leptobotia pellegrini Fang, 1936 this species of ornamental and commercial value. In Vietnam, a report of *Leptobotia elongata* in the Lo River by Kottelat (2001) and the Gam River, Tuyen Quang province by Nguyen (2005) was re-identified as *L. pellegrini* by Kottelat (2012, 2013). Therefore, the discovery of this species in Tuong Duong, Nghe An has high scientific significance, in order to contribute to determining the distribution area of the species and assessing the biodiversity of the study area. In this study, we isolation 02 locus DNA barcode was *COI* and *12S* for identified and new record of distribution area of *Leptobotia pellegrini* species in Vietnam.

Keywords: *COI*, *12S*, *Leptobotia pellegrini*.

* Author for correspondence: Tel: +84-918278811; Email: ledinhchac@hdu.edu.vn

ISBN: 978-604-357-176-9



9 786043 571769

SÁCH KHÔNG BÁN