

**ĐỊNH DANH VÀ ĐÁNH GIÁ ĐA DẠNG DI TRUYỀN CÁ CHIM VÂY VÀNG BẰNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ**

Trần Thị Thúy Hà\*, Lưu Thị Hà Giang, Vũ Thị Trang, Phạm Hồng Nhật, Phan Thị Vân

*Viện Nghiên cứu nuôi trồng thủy sản I**\*Tác giả liên hệ: thuyha@ria1.org*

Ngày nhận bài: 05.04.2019

Ngày chấp nhận đăng: 14.06.2019

**TÓM TẮT**

Nghiên cứu này nhằm định danh loài và đa dạng di truyền bốn quần đàn cá chim vây vàng thu ở Nha Trang, Vũng Tàu, Hải Phòng và Quảng Ninh. Phương pháp sinh học phân tử dựa vào trình tự gen COI và chỉ thị microsatellite được áp dụng. Kết quả cho thấy trình tự vùng gen COI cá chim vây vàng thu được có độ tương đồng cao (99-100%) so với các trình tự COI của cá chim vây vàng *Trachinotus ovatus* đã được công bố với mã hiệu genbank KF356397.1, HQ127346.1 và 10 KJ642220.1. Đa dạng di truyền bằng chỉ thị phân tử microsatellite thể hiện mức đa hình alen cao (trung bình từ 8-15,33 alen) và mức độ đa hình của các microsatellite cao (chỉ số PIC trung bình đạt 0,685-0,839). Hệ số cận huyết Fis >0 được ghi nhận ở quần đàn cá chim Hải Phòng và Vũng Tàu, trong khi quần đàn cá Nha Trang và Quảng Ninh có hệ số cận huyết thấp với Fis <0. Mỗi quan hệ di truyền được phản ánh qua hệ số Fst cho thấy sai khác di truyền giữa các quần đàn ở mức trung bình, trong đó quần đàn Vũng Tàu có quan hệ di truyền gần gũi với các quần đàn còn lại hơn khi so với quần đàn Hải Phòng, Quảng Ninh và Nha Trang. Các quần đàn cá nghiên cứu đều không cho thấy cấu trúc quần thể rõ ràng theo kết quả phân tích AMOVA. Những kết quả này là cơ sở khoa học hỗ trợ công tác hình thành nguồn vật liệu ban đầu cho các chương trình chọn giống cá chim vây vàng.

Từ khóa: Cá chim vây vàng, COI, định danh, di truyền quần thể, microsatellite, *Trachinotus ovatus*.

**Identification and Genetic Assessment of the Pompano Based on the Molecular Markers****ABSTRACT**

This study aimed to identify species and assess genetic diversity of four pompano populations collected in Nha Trang, Vung Tau, Hai Phong and Quang Ninh. The molecular markers based on COI sequencing and microsatellite markers were applied. The results revealed that the sequences of the COI gene isolated from Vietnamese pompano were highly similar (99-100%) to the COI sequences of pompano *Trachinotus ovatus* (Genbank accession number: KF356397.1, HQ127346.1 and 10 KJ642220.1). Genetic diversity inferred from microsatellite markers indicated high allele polymorphism (average of 8-15.33 alleles) and high polymorphism information content (average of PIC values: 0.685-0.839). The coefficient of inbreeding Fis >0 was recorded in Hai Phong and Vung Tau populations, while Nha Trang and Quang Ninh fish populations contained low inbreeding coefficient with Fis <0. The genetic relationship reflected by Fst coefficient indicated the moderated level of genetic difference amongst four populations, in which the Vung Tau population is more closely related to the populations of Hai Phong, Quang Ninh and Nha Trang. The analysis revealed an unclear population structure according to the Analysis of Molecular Variance (AMOVA) results. This study might support for managing the stock of selective breeding program of the pompano.

Keywords: COI, microsatellite, *Trachinotus ovatus*, Pompano, identification, population genetics.

**1. ĐẶT VẤN ĐỀ**

Cá chim vây vàng (*Trachinotus ovatus*) là đối tượng nuôi biển ngày càng thu hút được sự quan tâm của người nuôi cũng như các nhà nghiên cứu khoa học. Đây là loài cá biển có tiềm

năng kinh tế cao, tốc độ sinh trưởng khá nhanh và dễ nuôi trong lồng nuôi với mật độ cao. Trên thế giới cá chim được nuôi ở phía Nam Trung Quốc, Đài Loan, Singapore và Malaysia (Sun *et al.*, 2013); với quy mô công nghiệp cho sản lượng hàng trăm nghìn tấn cá mỗi năm (Zhenzhen *et*

al., 2014). Tuy nhiên cho đến nay, các công bố về đa dạng di truyền hay chỉ thị phân tử cá chim vây vàng được thực hiện chủ yếu ở Trung Quốc, như nghiên cứu phát triển chỉ thị microsatellite trong phân tích đa dạng di truyền hay nghiên cứu hệ Transcriptome trong sinh sản, sinh trưởng và miễn dịch đã được công bố (Xie *et al.*, 2014), hay nghiên cứu so sánh đa dạng di truyền sử dụng chỉ thị microsatellite trên cá *Trachinotus ovatus* đã cho thấy các quần đàn cá tự nhiên có đa dạng di truyền cao hơn so với quần đàn cá nuôi (Gou *et al.*, 2017). Tại Việt Nam các nghiên cứu trên loài cá chim vây vàng hầu hết tập trung vào phương pháp nuôi, mật độ nuôi và kích cỡ thả. Nghiên cứu ứng dụng chỉ thị phân tử đánh giá đa dạng di truyền, ứng dụng chỉ thị microsatellite nhằm lựa chọn vật liệu hình thành quần đàn ban đầu phục vụ chọn tạo giống ở Việt Nam cũng đã được thực hiện trên nhiều đối tượng thủy sản nuôi chủ lực (Phạm Anh Tuấn và cs., 2008; Trần Thị Thúy Hà và cs., 2013a; 2013b; Nguyễn Thị Hoa và cs., 2013; Trịnh Quốc Trọng và cs., 2013). Gần đây, nghiên cứu chọn lựa và tối ưu thành công 15 chỉ thị microsatellite sử dụng công nghệ PCR đa môi cho hai đối tượng cá chim vây vàng và cá chim vây ngắn đã được báo cáo (Lưu Thị Hà Giang và cs., 2018). Mặc dù vậy cho đến thời điểm này, chưa có công trình nào nghiên cứu về đa dạng di truyền cá chim vây vàng bằng chỉ thị microsatellite được thực hiện ở nước ta.

Vùng gen Cytochrome c oxidase subunit I (COI) là đoạn trình tự ngắn, có thể giải trình tự một cách nhanh chóng và trật tự nucleotide trong đoạn COI có tính bảo tồn và tỷ lệ tiến hóa tương đối cao. Việc định danh loài sử dụng trình tự gen ty thể COI cũng bước đầu được tiến hành trên cá chim vây vàng. Keskin *et al.* (2013) đã định danh nhiều loài cá thương mại trong đó có cá chim vây vàng. Ở Việt Nam, Nguyễn Thị Hương và cs. (2016) cũng đã bước đầu sử dụng COI để định danh và phân biệt hai loài cá chim vây vàng là *Trachinotus blochii* và *Trachinotus ovatus*.

Việc sử dụng các chỉ thị phân tử microsatellite để đánh giá đa dạng di truyền các quần đàn cá chim là cần thiết để hỗ trợ chương

trình chọn giống trong tương lai. Thêm vào đó, để đảm bảo chắc chắn quần đàn cá được đánh giá đa dạng di truyền thuộc cùng một loài, việc định danh loài bằng phương pháp sinh học phân tử là rất quan trọng. Trong nghiên cứu này, định danh và đa dạng di truyền quần thể của cá chim vây vàng thu ở Quảng Ninh, Hải Phòng, Nha Trang, Vũng Tàu được thực hiện dựa trên việc phân tích trình tự gen ty thể đoạn COI và chỉ thị phân tử microsatellite.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1. Thu mẫu thí nghiệm

Cá chim vây vàng (800 g/con) được thu từ các trang trại nuôi khác nhau ở 4 vùng nuôi Hải Phòng, Quảng Ninh, Nha Trang (tỉnh Khánh Hòa) và Vũng Tàu (tỉnh Bà Rịa Vũng Tàu). Các cá thể cá chim được thu cùng vùng địa lý được coi là một quần đàn, mẫu vây ngực (5 g/mẫu) của các quần đàn cá (50 mẫu/quần đàn) được cất và bảo quản trong ethanol 90% ở 4°C cho đến khi tách chiết.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu định danh

DNA tổng số mẫu vây cá chim vây vàng (4 mẫu/quần đàn) được tách chiết sử dụng bộ kit Deasy Tissue của hãng Qiagen (Đức). DNA sau khi tách chiết sẽ được định lượng và định tính bằng phương pháp điện di kiểm tra trên gel agarose 0,8% và đo trên máy Nanodrop 200°C (Thermo Scientific).

Phản ứng PCR với tổng thể tích 25 µl trên máy PCR Mastercycler Pro S nhân đoạn COI của gen ty thể sử dụng cặp mồi Fish1 xuôi và ngược (F 5'-TCAACCAACCACAAAGACATTG GCAC-3' và R 5'-TAGACTTCTGGGTGGCCAAGAATCA-3') được thực hiện dựa theo nghiên cứu của Ward *et al.* (2005).

Phản ứng khuếch đại được thực hiện với tổng thể tích 25 µL bao gồm: 3 µL DNA khuôn (~ 100 ng/µL) được thêm vào hỗn hợp PCR chứa 100 mM Tris HCl (pH 8,3), 500 mM KCl (pH 8,3), 2,5 µL MgCl (25 mM), 1,0 µL dNTPs (5 mM), 0,5 µL mỗi ngược và mỗi xuôi (10 pm/µL mỗi mồi) và 1 u/µL Taq Polymerase, thêm H<sub>2</sub>O để ion sao cho thể tích cuối đạt 25 µL. Chu kỳ

nhệt: Biến tính ở 94°C trong 2 phút; 35 chu kỳ với 94°C trong 50 s, 56°C trong 50 s, 72°C trong 1 phút, kết thúc giai đoạn là kéo dài chuỗi ở 72°C trong 10 phút và giữ ở nhiệt độ 4°C.

Trước khi tiến hành giải trình tự, tất cả sản phẩm PCR được tinh sạch bởi kit Expin™ PCR SV của hãng GeneAll để đảm bảo chất lượng cho giải trình tự ở bước kế tiếp. Các sản phẩm PCR đạt chất lượng sẽ được gửi đi giải trình tự tại First BASE Laboratories, Taman Serdang Perdana - Seksyen 2 - 43300 Seri Kembangan - Selangor, Malaysia. Các trình tự gen sau khi nhận lại được kiểm tra chất lượng bằng phần mềm Finch TV 1.4.0 (<http://www.geospiza.com>). Đổi chiều trình tự ngược (3'-5'), loại bỏ các tín hiệu nhiễu và căn chỉnh trình tự được thực hiện trên công cụ ClustalW trong BioEdit (<http://www.mbio.ncsu.edu/Bioedit/bioedit.html>) nhằm để có được các trình tự đạt chất lượng cho phân tích và số liệu được so sánh với trình tự có sẵn trên ngân hàng gen để định danh loài cá trong nghiên cứu này.

### 2.3. Phương pháp đánh giá đa dạng di truyền

DNA tổng số của các mẫu cá chim vây vàng (50 mẫu/quần đàn) được tách chiết theo phương pháp kết tủa muối của Sambrook & Russell (2001). Sau đó, kết quả được điện di trên gel agarose 0,8% trong dung dịch đệm TBE 1×, dưới hiệu điện thế 120 V, 60 mA, 30 phút và kiểm tra trên máy Nanodrop 200°C. Lượng DNA mỗi lần đo là 1 µL. DNA được coi là sạch protein và RNA nếu có các chỉ số như sau:  $OD_{260/280} = 1,8-2,0$ ;  $OD_{260/230} = 1,8-2,2$ .

Để thực hiện phản ứng PCR với thể tích 15 µl, sáu chỉ thị phân tử microsatellite được lựa chọn từ nghiên cứu phát triển chỉ thị microsatellite của Xie *et al.* (2014) và dựa trên nghiên cứu lựa chọn và tối ưu tổ hợp mỗi cho PCR đa môi của Lưu Thị Hà Giang và cs. (2018) trên cá chim vây vàng vây ngắn (Bảng 1). Các chỉ thị được lựa chọn dựa vào tính đa hình, không có sự sai khác với quy luật di truyền Hardy-Weinberg và theo khuyến cáo của các tác giả. Sau khi có sản phẩm PCR, phân tích đoạn được thực hiện trên hệ thống phân tích di truyền đa năng GenomeLab GeXP (Beckman

Coulter) tại phòng thí nghiệm trung tâm công nghệ sinh học thủy sản - Viện Nghiên cứu nuôi trồng thủy sản I.

Thành phần phản ứng PCR đa môi được thực hiện dựa theo hướng dẫn của bộ KIT Master mix (Thermo Scientific) với thể tích 15 µL gồm: 7,5 µL Mastermix 2X; 0,6 µL hỗn hợp mỗi xuôi và 0,6 µL hỗn hợp mỗi ngược (tỷ lệ các môi là 1:1:1), 1 µL DNA khuôn và H<sub>2</sub>O để ion. Chu trình nhiệt bước đầu như sau: 94°C trong 5 phút; sau đó là 35 chu kỳ (94°C trong 30 giây, 54-55°C trong 30 giây, 72°C trong 1 phút), cuối cùng ở 7°C trong 3 phút và giữ ở nhiệt độ 4°C.

Sau đó, phần mềm GeneMarker V.2.2.0 được áp dụng để ghi nhận các alen từ phân tích trên. Các thông số di truyền (tần số alen, số alen ở mỗi vị trí microsatellite, số alen hiệu quả, số dị hợp tử thực tế Ho, số dự hợp tử lý thuyết He) được phân tích bằng phần mềm GenAlex 6.5 - Genetic Analysis in Excel (Peakall và Smouse, 2006). Ước tính hệ số cận huyết cho từng vị trí microsatellite nghiên cứu trong quần đàn Fis sử dụng phần mềm FSTAT2.9.3.2 (Goudet, 1995). Phân tích AMOVA trên phần mềm Arlequin 3.1 (Excoffier *et al.*, 2005) được áp dụng để tính toán sai khác di truyền, kiểm định  $\chi^2$ , phân tích sai khác thống kê và nghiên cứu cấu trúc quần thể của các quần đàn.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Định danh loài

Đoạn gen COI thuộc vùng gen ty thể của các mẫu nghiên cứu được giải trình tự và sau khi loại bỏ các vùng có tín hiệu nhiễu cho kích thước đoạn nghiên cứu là 633 bp. Các trình tự gen cho tín hiệu các đỉnh cao, rõ nét không bị nhiễu. Các trình tự gen chiều xuôi (5'-3') và chiều ngược (3'-5') đều thống nhất, không có hiện tượng chèn hoặc xóa vị trí nucleotide trong vùng gen nghiên cứu. Các trình tự vùng gen COI cá chim vây vàng thu được có độ tương đồng cao (99-100%) so với các trình tự COI của cá chim vây vàng *Trachinotus ovatus* đã được công bố trước đó khi so sánh BLAST trên ngân hàng GenBank (Hình 1) với mã hiệu genbank KF356397.1, HQ127346.1 và KJ642220.1. Kết quả này cho thấy các cá thể cá chim vây vàng

ngiên cứu thuộc dòng cá chim vây vàng vây ngắn *Trachinotus ovatus* (Linnaeus, 1758), thuộc chi *Trachinotus* Lacépède, 1801 họ cá khế Carangidae. Các trình tự đại diện của mỗi quần đàn cá trong nghiên cứu này sau đó được được công bố trên ngân hàng gen (GenBank) với số hiệu từ MK227444 đến MK227447 (Hình 1).

### 3.2. Đánh giá đa dạng di truyền

#### 3.2.1. Kết quả khuếch đại PCR đa môi

Kết quả PCR đa môi của 2 tổ hợp môi (EC09, EC10, EC17) và (EC07, EC20, EC28) cho bằng vạch sáng, rõ nét, đúng với kích thước lý thuyết và không có sản phẩm phụ (Hình 2).

Sản phẩm khuếch đại PCR đa môi kiểm tra trên gel agarose 2% (Hình 2) cho thấy đã nhận được các đoạn có kích thước nằm trong khoảng 100-300 bp và phù hợp với kích thước lý thuyết

trong các nghiên cứu trước đây của Xie *et al.* (2014).

#### 3.2.2. Kết quả phân tích đoạn trên hệ thống GenomeLab GeXP

Nghiên cứu đã xác định được kích thước các alen của từng vị trí microsatellite mẫu phân tích và được biểu thị bằng hình ảnh tín hiệu đồ. Hình ảnh tín hiệu đồ rõ nét và ít nhiễu. Đối với các cá thể đồng hợp sẽ thực tế được duy nhất 1 đỉnh tín hiệu đồ. Ngược lại, với các cá thể dị hợp sẽ thực tế được 2 đỉnh của tín hiệu đồ riêng rẽ tương ứng với 2 alen tách biệt (Hình 3 và Hình 4).

#### 3.2.3. Đa hình các vị trí microsatellite

Tần số alen và độ đa dạng của alen:

Tần số alen tại 6 vị trí microsatellite EC07, EC09, EC10, EC17, EC20 và EC28 trên 4 quần đàn nghiên cứu được thể hiện ở hình 5.

**Bảng 1. Thông tin chỉ thị microsatellite trên cá chim vây vàng vây ngắn (*Trachinotus ovatus*)**

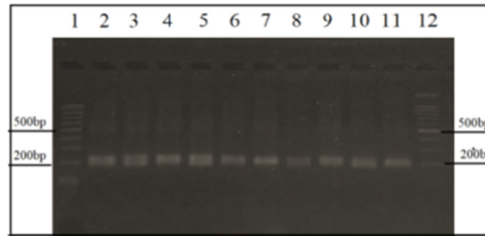
| Vị trí | Số hiệu genbank | Kiểu lặp                                | Trình tự môi  | Số alen* | Kích thước lý thuyết (bp) | Tổ hợp PCR đa môi | Màu huỳnh quang** | Nhiệt độ gắn môi |
|--------|-----------------|---|---|----------|---------------------------|-------------------|-------------------|------------------|
| EC-7   | KF623046        | (GT) <sub>18</sub>                      | F:ATATCAGCGTCCACCCAAAC<br>R:GACGACACACATCCTGCACT    | 10       | 182-202                   | PCR1              | D4                | 54°C             |
| EC-20  | KF623055        | (AC) <sub>6</sub><br>(AC) <sub>10</sub> | F:CCACCATCAATCAGCTGTCA<br>R:AGGTGCTCCACAGATGTTCC    | 8        | 171-201                   | PCR1              | D3                |                  |
| EC-28  | KF623058        | (CA) <sub>2</sub>                       | F:GACGTGTTCCACAGCAAGAA<br>R:AGGAATGGTCCCAAAGAATG    | 8        | 179-205                   | PCR1              | D2                |                  |
| EC-9   | KF623047        | (CA) <sub>19</sub>                      | F:GCTTGTGGAGACCATGACG<br>R:CTCCTGGAGGAAGTGTGGAG     | 7        | 127-158                   | PCR2              | D4                | 55°C             |
| EC-10  | KF623048        | (CA) <sub>32</sub>                      | F:CGTCTGATCCCATCTCTGTG<br>R:CTGGTCACTGGAGCTGTGTG    | 17       | 135-196                   | PCR2              | D3                |                  |
| EC-17  | KF623053        | (CAT) <sub>27</sub>                     | F:GGTCTGTAGAGAACCAGAACAGT<br>R:GCTCCTGTGGAGGACAGAGA | 14       | 154-203                   | PCR2              | D2                |                  |

Ghi chú: \*: Theo kết quả nghiên cứu của Xie *et al.*, 2014; \*\*: D2 (Đen), D3 (Xanh lá cây), D4 (Xanh da trời)

| Description   | Max Score | Total Score | Query Cover | E value | Per. Ident | Accession                  |
|---|-----------|-------------|-------------|---------|------------|----------------------------|
| <a href="#">Trachinotus ovatus isolate HP1 cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene, partial cds: mitochondrial</a>  | 1170      | 1170        | 100%        | 0.0     | 100.00%    | <a href="#">MK227444.1</a> |
| <a href="#">Trachinotus ovatus isolate VT41 cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene, partial cds: mitochondrial</a> | 1164      | 1164        | 100%        | 0.0     | 99.84%     | <a href="#">MK227447.1</a> |
| <a href="#">Trachinotus ovatus isolate VT16 cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene, partial cds: mitochondrial</a> | 1164      | 1164        | 100%        | 0.0     | 99.84%     | <a href="#">MK227446.1</a> |
| <a href="#">Trachinotus ovatus isolate HP3 cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene, partial cds: mitochondrial</a>  | 1164      | 1164        | 100%        | 0.0     | 99.84%     | <a href="#">MK227445.1</a> |
| <a href="#">Trachinotus ovatus mitochondrion, complete genome</a>   | 1158      | 1158        | 99%         | 0.0     | 99.84%     | <a href="#">KJ642220.1</a> |
| <a href="#">Trachinotus ovatus mitochondrion, complete genome</a>   | 1158      | 1158        | 99%         | 0.0     | 99.84%     | <a href="#">KF356397.1</a> |
| <a href="#">Trachinotus ovatus cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, complete cds: mitochondrial</a>               | 1153      | 1153        | 99%         | 0.0     | 99.68%     | <a href="#">HQ127346.1</a> |

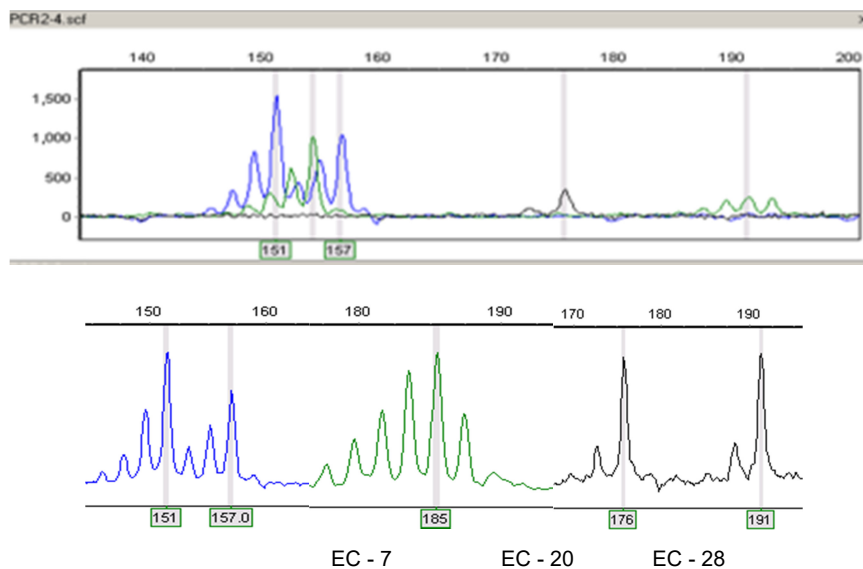
**Hình 1. Kết quả so sánh Blast trên ngân hàng gen NCBI của cá chim vây vàng quần đàn Hải Phòng**

Định danh và đánh giá đa dạng di truyền cá chim vây vàng bằng chỉ thị phân tử



Ghi chú: Giếng 1, 12 ladder 100 bp; Giếng 2-6: Sản phẩm PCR 1 quần đàn Hải Phòng; Giếng 6-11: Sản phẩm PCR 1 quần đàn Vũng Tàu

**Hình 2.** Hình ảnh điện di sản phẩm PCR đa môi trên gel agarose 2%



**Hình 3.** Tín hiệu đồ phân tích đoạn sản phẩm PCR 1 (*EC-7, EC-20, EC-28*)

Kết quả ước tính đa hình các alen trên 6 microsatellite cho các cá thể chim vây vàng vây ngắn được thể hiện ở hình 5 và bảng 2. Sáu microsatellite chọn lọc trong nghiên cứu đều thể hiện tính đa hình cao với tổng cộng 111 alen được xác định với kích thước dao động từ 128 bp đến 224 bp. Số alen dao động từ 6 cho đến 18 alen, trong đó quần thể Vũng Tàu có số alen nhiều nhất với trung bình số alen là  $15,33 \pm 1,41$  trong khi quần thể có số alen thấp nhất ( $8,0 \pm 0,93$ ) là Hải phòng. Nhìn chung, số lượng alen của các microsatellite là khá tương đồng so với nghiên cứu trước đây trên cá chim vây vàng của Xie *et al.* (2014) với ghi nhận số alen dao động từ 8 đến 17 alen.

Theo Hartl & Clark (1997), một microsatellite được coi là đa hình nếu tần số alen phổ biến nhất gần với 0,95 và như vậy các

alen hiếm sẽ có tần số lớn hơn và gần với 0,05. Trong nghiên cứu này, bên cạnh các alen xuất hiện với tần số cao như alen 193 và 195 (vị trí EC07); alen 152 và 154 (vị trí EC09); alen 154 và 164 (vị trí EC10); alen 163 và 197 (vị trí EC17); alen 182 và 202 (vị trí EC20) và alen 195 và 201 (vị trí EC28) có một số alen hiếm và xuất hiện với tần số thấp. Các alen hiếm hay đặc thù là những alen chỉ xuất hiện trên một quần đàn mà không thấy ở các quần đàn còn lại. Bên cạnh đó, các alen hiếm được thực tế thấy xuất hiện nhiều nhất ở quần đàn Vũng Tàu (22 alen) cho tất cả sáu vị trí nghiên cứu. Chẳng hạn alen 212 ở vị trí EC07; alen 164 ở vị trí EC20 hay alen 152 ở vị trí EC17. Bên cạnh đó quần đàn cá chim vây ngắn Quảng Ninh cũng ghi nhận được 3 alen hiếm với tần số xuất hiện thấp từ 1,11% đến 2,22% (alen 193 và 204 ở vị trí EC10; alen 156 ở vị trí EC17).

Các alen cũng chỉ thực tế thấy ở một quần đàn nhưng với tần số alen khá cao như alen 213 ở vị trí EC10 (tần số xuất hiện 5,43%) trên quần đàn Hải Phòng; alen 203 ở vị trí EC28 (tần số xuất hiện 20) trên quần đàn Nha Trang; alen 140, 160 ở vị trí EC10 (tần số xuất hiện tương ứng 8,89%; 3,33%) và alen 152, 169 ở vị trí EC17 (tần số tương ứng 12,22% và 5,56%) trên quần đàn Vũng Tàu, có thể được coi là những alen đặc trưng dùng để phân biệt cho các quần đàn cá này. Những alen mới xuất hiện thể hiện sự thích nghi với điều kiện môi trường. Thêm vào đó, có thể giải thích do trong quá trình đột biến, tái tổ hợp, trôi dạt di truyền và chọn lọc tự nhiên. Với tần số xuất hiện rất thấp trong quần đàn, các alen này có thể dễ dàng mất đi nếu không có sự lai tạo để duy trì hoặc cũng có thể tạo ưu thế lai cho thế hệ sau nếu tiếp tục chọn lọc.

*Mức độ đa hình của mỗi vị trí - PIC (Polymorphism Information Content):*

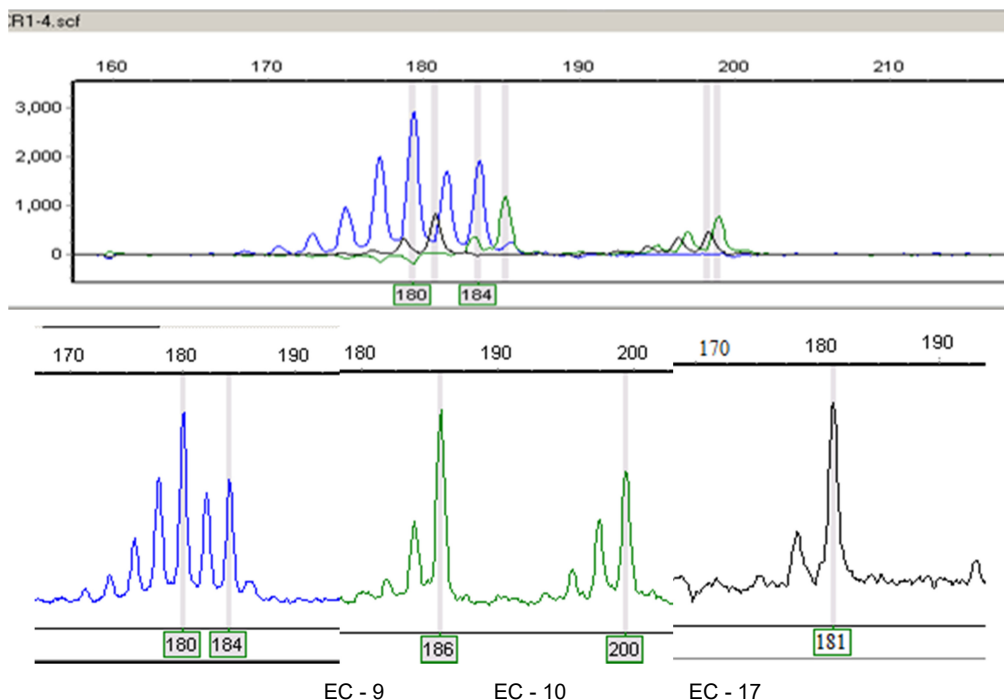
Mức độ đa hình của mỗi vị trí (PIC) của 4 quần đàn cá chim vây vàng vây ngắn được thể hiện qua bảng 2. PIC là một chỉ số về mức độ biến đổi di truyền; PIC >0,5 được coi là có mức độ đa hình cao; 0,25 < PIC <0,5 được coi là có

mức độ đa hình trung bình; và PIC <0,25 được coi là mức độ đa hình thấp (Botstein *et al.*, 1980). Trong nghiên cứu này, PIC trung bình cho 6 vị trí microsatellite dao động cao từ  $0,685 \pm 0,03$  đến  $0,839 \pm 0,036$ . Do đó, 6 vị trí phù hợp để sử dụng trong đánh giá đặc điểm đa dạng di truyền quần thể và xác định sự khác biệt về di truyền. Kết quả đánh giá đa hình PIC của nghiên cứu này là tương tự như trong nghiên cứu phát triển chỉ thị microsatellite trên cá chim vây vàng *T. ovatus* của Xie *et al.*, (2014).

### 3.3.4. Đa dạng di truyền của quần thể

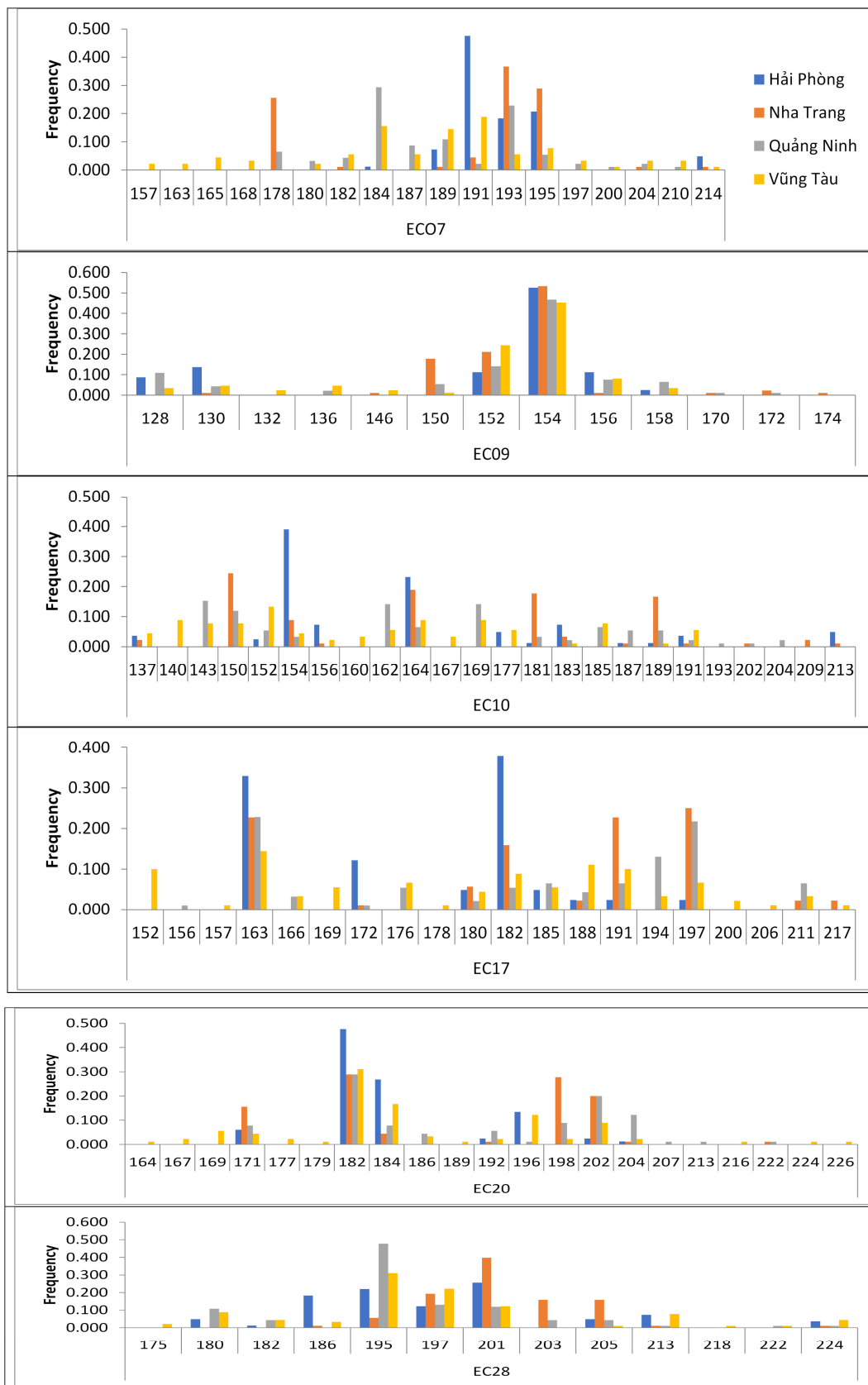
*Tính dị hợp tử và số alen hiệu quả và hệ số cận huyết (Fis):*

Các thông số để đánh giá di truyền của một quần thể bao gồm [số alen thực tế (Na), số alen hiệu quả (Ne), giá trị dị hợp tử thực tế (Ho) và dị hợp tử mong đợi (He)] có sự sai khác giữa các quần thể, giữa nghiên cứu này với nghiên cứu khác là do việc sử dụng các chỉ thị phân tử khác nhau và cấu trúc các quần thể nghiên cứu khác nhau. Trong nghiên cứu này, số alen hiệu quả là thấp hơn nhiều so với số alen thực tế được cho cả 4 quần đàn cá chim (trung bình là 8-15,33 alen thực tế khi so với 3,874-8,399 alen hiệu quả). Tỷ



Hình 4. Tín hiệu đồ phân tích đoạn sản phẩm PCR 2 (EC-9, EC-10, EC-17)

Định danh và đánh giá đa dạng di truyền cá chim vây vàng bằng chỉ thị phân tử



Hình 5. Tần số alen tại 6 vị trí microsatellite trên 4 quần đàn chim vây vàng

lệ di hợp tử lý thuyết (He) thay đổi thấp nhất từ 0,728 (quần đàn Hải Phòng) và cao nhất là 0,853 (quần đàn Vũng Tàu). Trong khi trung bình tỷ lệ dị hợp tử thực tế (Ho) ở quần đàn Hải Phòng (0,673) và Vũng Tàu (0,756) đều thấp hơn trung bình giá trị dị hợp tử mong đợi, phần nào phản ánh sự thiếu hợp dị hợp tử. Ở quần đàn Quảng Ninh và Nha Trang tỷ lệ dị hợp tử thực tế (giá trị trung bình tương ứng là 0,826 và 0,862) cao hơn so với dị hợp tử lý thuyết (giá trị trung bình tương ứng là 0,814 và 0,752). Điều này cho thấy mức độ dị hợp tử trên hai quần đàn này rất cao là hệ quả của việc có nhiều biến dị di truyền xảy ra. Các giá trị Ho và He trong nghiên cứu này tương đương so với nghiên cứu của Xie *et al.* (2014) khi nghiên cứu ứng dụng chỉ thị microsatellite trong phân tích di truyền của các quần đàn cá chim vây vàng, biết rằng dị hợp tử thực tế nằm trong khoảng 0,63 -1, tỷ lệ dị hợp tử mong đợi của 9 đàn cá nghiên cứu tính chung cho 4 vị trí dao động từ 0,76-0,93.

Hiện tượng cận huyết giữa các quần đàn cá chim được thể hiện qua hệ số Fis và dao động lớn, thấp nhất từ -0,454 tại vị trí EC07 (quần đàn Nha Trang) và cao nhất đạt 0,265 tại vị trí EC10 (quần đàn Hải Phòng). Trong đó có 8 trường hợp Fis cho giá trị âm trên tổng số 24 trường hợp (6 vị trí microsatellite trên bốn quần đàn nghiên cứu), các trường hợp này đều tương đồng với các trường hợp mà giá trị dị hợp tử thực tế cao hơn dị hợp tử mong đợi. Hệ số Fis có mối liên quan chặt chẽ với tỷ lệ dị hợp tử thực tế và mong đợi. Hệ số Fis cao thì quần đàn có số dị hợp tử lý thuyết cao hơn nhiều so với số dị hợp tử thực tế và ngược lại.

Trường hợp thiếu hụt dị hợp tử (heterozygote deficiencies) đã thường xuyên được đề cập tới trong các nghiên cứu trên đối tượng thủy sản nuôi và tự nhiên bằng microsatellite (Launey *et al.*, 2001). Sự xuất hiện của các alen ảo hay lỗi trong phản ứng khuếch đại cũng có thể là nguyên nhân (Cruz *et al.*, 2004). Sự thiếu hụt dị hợp tử trong hai quần thể cá chim Hải Phòng và Vũng Tàu ghi nhận trong nghiên cứu này cho thấy có thể các cá thể cá chim nghiên cứu có chung nguồn gốc phát sinh (chung bố mẹ) và với hệ số

cận huyết Fis >0, chứng tỏ đã có hiện tượng giao phối cận huyết dẫn đến xuất hiện các alen lặn.

Đối với quần thể cá Nha Trang và Quảng Ninh có hệ số cận huyết Fis <0, hay He < Ho cho thấy sự xuất hiện nhiều của các cá thể dị hợp tử, có thể được giải thích rằng các cá thể cá chim trong quần thể nghiên cứu không có mối quan hệ gần gũi nhau về mặt di truyền hay không có giao phối cận huyết. Thực tế rằng, mặc dù các cá thể trong đàn cá Nha Trang và Quảng Ninh được thu tại nhiều trang trại nuôi trong cùng vùng địa lý và có chung điều kiện sinh thái vùng nuôi, chúng lại được thu riêng lẻ và không có thông tin về phả hệ cá thể đó được ghi nhận lại.

#### *Đánh giá cân bằng Hardy-Weinberg (HW):*

Các kiểm định di truyền các quần đàn cá nghiên cứu với từng vị trí microsatellite chỉ ra độ lệch đáng kể so với cân bằng HW. Kết quả bảng 2 cho thấy di truyền của 20/24 vị trí microsatellite trên bốn dòng cá nghiên cứu là sai khác có ý nghĩa thống kê (với giá trị P < 0,05) với quy luật di truyền của định luật cân bằng HW. Trong đó, chỉ có 4 trường hợp là vị trí EC09, EC17 và EC28 trên quần đàn Hải Phòng và vị trí EC09 quần đàn Vũng Tàu là tuân theo định luật cân bằng HW. Sự cân bằng HW trong quần đàn có ý nghĩa rất quan trọng trong xác định tần số alen lặn, tần số của các kiểu gen (genotype) và trong đánh giá di truyền thế hệ sau của quần đàn. Theo Nei (1978), trôi dạt di truyền (genetic drift), giao phối cận huyết, cách ly địa lý (isolate by distance) có thể là một trong những nguyên nhân dẫn đến không cân bằng di truyền của một quần đàn. Ngoài ra, sự xuất hiện có thể của các alen “ảo” có thể dẫn đến sự thực tế sai lệch về đồng hợp tử có thể gây ra nhiều sai lệch so với HW. Trong nghiên cứu này, việc các quần đàn nghiên cứu được hình thành bằng cách thu mua cá từ các trang trại nuôi riêng lẻ, gộp lại thành một quần thể theo vùng địa lý nhằm ương nuôi và lưu giữ mà không có ghi nhận thông tin về cá bố mẹ hay phả hệ di truyền từ đó đã ngẫu nhiên trộn lẫn các nguồn gen, hay các kiểu alen khác nhau là nguyên nhân chính gây lên hiện tượng sai lệch khỏi định luật cân bằng HW.



Định danh và đánh giá đa dạng di truyền cá chim vây vàng bằng chỉ thị phân tử

**Bảng 2. Đặc điểm đa dạng di truyền của 4 quần đàn cá chim vây vàng vây ngắn**

|            | Vị trí    | N              | Na             | Ne            | Ho            | He            | Fis            | PIC           | HWE test |
|------------|-----------|----------------|----------------|---------------|---------------|---------------|----------------|---------------|----------|
| Hải Phòng  | ECO7      | 45             | 6              | 3,220         | 0,659         | 0,689         | 0,038          | 0,649         | ***      |
|            | EC09      | 46             | 6              | 3,048         | 0,625         | 0,672         | 0,061          | 0,624         | ns       |
|            | EC10      | 45             | 12             | 4,441         | 0,585         | 0,775         | 0,265          | 0,734         | ***      |
|            | EC17      | 46             | 8              | 3,666         | 0,707         | 0,727         | 0,062          | 0,694         | ns       |
|            | EC20      | 46             | 7              | 3,113         | 0,659         | 0,679         | 0,020          | 0,609         | *        |
|            | EC28      | 46             | 9              | 5,757         | 0,805         | 0,826         | 0,006          | 0,799         | ns       |
|            | Mean ± SE | 46,833 ± 0,167 | 8 ± 0,931      | 3,874 ± 0,432 | 0,673 ± 0,031 | 0,728 ± 0,025 | 0,075 ± 0,039  | 0,685 ± 0,030 |          |
| Nha Trang  | ECO7      | 45             | 8              | 3,500         | 0,978         | 0,714         | -0,454         | 0,619         | ***      |
|            | EC09      | 45             | 9              | 2,765         | 0,667         | 0,638         | 0,005          | 0,578         | **       |
|            | EC10      | 45             | 13             | 6,045         | 0,867         | 0,835         | -0,155         | 0,773         | ***      |
|            | EC17      | 44             | 9              | 5,101         | 0,932         | 0,804         | -0,240         | 0,748         | ***      |
|            | EC20      | 45             | 8              | 4,402         | 0,933         | 0,773         | -0,271         | 0,723         | ***      |
|            | EC28      | 44             | 8              | 4,004         | 0,795         | 0,750         | 0,003          | 0,685         | ***      |
|            | Mean ± SE | 44,667 ± 0,211 | 9,167 ± 0,792  | 4,303 ± 0,475 | 0,862 ± 0,047 | 0,752 ± 0,028 | -0,185 ± 0,072 | 0,688 ± 0,031 |          |
| Quảng Ninh | ECO7      | 46             | 13             | 5,902         | 0,935         | 0,831         | -0,136         | 0,793         | ***      |
|            | EC09      | 46             | 10             | 3,762         | 0,674         | 0,734         | 0,081          | 0,742         | *        |
|            | EC10      | 46             | 16             | 10,149        | 0,826         | 0,901         | 0,105          | 0,871         | ***      |
|            | EC17      | 46             | 13             | 7,210         | 0,957         | 0,861         | -0,095         | 0,850         | ***      |
|            | EC20      | 45             | 12             | 6,099         | 0,933         | 0,836         | -0,107         | 0,815         | *        |
|            | EC28      | 46             | 10             | 3,599         | 0,630         | 0,722         | 0,066          | 0,606         | *        |
|            | Mean ± SE | 45,833 ± 0,167 | 12,333 ± 0,919 | 6,120 ± 0,990 | 0,826 ± 0,058 | 0,814 ± 0,029 | -0,014 ± 0,045 | 0,780 ± 0,039 |          |
| Vũng Tàu   | ECO7      | 45             | 17             | 9,597         | 0,911         | 0,896         | -0,008         | 0,885         | *        |
|            | EC09      | 43             | 10             | 3,573         | 0,605         | 0,720         | 0,128          | 0,677         | ns       |
|            | EC10      | 45             | 17             | 13,192        | 0,778         | 0,924         | 0,191          | 0,916         | ***      |
|            | EC17      | 45             | 18             | 12,126        | 0,822         | 0,918         | 0,135          | 0,907         | *        |
|            | EC20      | 45             | 18             | 6,378         | 0,778         | 0,843         | 0,088          | 0,828         | **       |
|            | EC28      | 45             | 12             | 5,525         | 0,644         | 0,819         | 0,165          | 0,823         | *        |
|            | Mean ± SE | 44,667 ± 0,333 | 15,333 ± 1,406 | 8,399 ± 1,570 | 0,756 ± 0,046 | 0,853 ± 0,032 | 0,117 ± 0,029  | 0,839 ± 0,036 |          |

Ghi chú: N: số mẫu nghiên cứu; Na: số alen trên vị trí; Ne: số alen hiệu quả; Ho: dị hợp tử thực tế; He: Dị hợp tử mong đợi; Fis: hệ số cận huyết; PIC: mức độ đa hình microsatellite. \* Sai khác có ý nghĩa so với định luật Hardy-Weinberg ( $P \leq 0,05$ ); \*\* Sai khác có ý nghĩa so với định luật Hardy-Weinberg ( $P \leq 0,01$ ); \*\*\* Sai khác có ý nghĩa so với định luật Hardy-Weinberg ( $P \leq 0,001$ ); ns: Sai khác không có ý nghĩa so với định luật Hardy-Weinberg

**Bảng 3. Hệ số sai khác di truyền ( $F_{ST}$ ) giữa các đàn cá chim vây vàng**

|            | Hải Phòng | Nha Trang | Quảng Ninh | Vũng Tàu |
|------------|-----------|-----------|------------|----------|
| Hải Phòng  |           |           |            |          |
| Nha Trang  | 0,131*    |           |            |          |
| Quảng Ninh | 0,111*    | 0,118*    |            |          |
| Vũng Tàu   | 0,055*    | 0,092*    | 0,034*     |          |

Ghi chú: \*Sai khác có ý nghĩa thống kê ( $P \leq 0,05$ )

**Bảng 4. Kết quả phân tích phương sai phân tử (AMOVA) của các quần đàn nghiên cứu dựa trên 6 microsatellites**

| Nguồn biến động   | Độ tự do | Tổng bình phương | Thành phần biến động | Phần trăm biến động | Giá trị P |
|-------------------|----------|------------------|----------------------|---------------------|-----------|
| Giữa các quần đàn | 3        | 70,224           | 0,232                | 9,06                | <0,05     |
| Giữa các cá thể   | 360      | 837.614          | 2.327                | 90,94               | <0,05     |
| Tổng              | 363      | 907.838          | 2.559                |                     |           |

*Quan hệ di truyền và hệ số sai khác di truyền ( $F_{ST}$ ):*

Sự khác biệt về di truyền các quần thể thường được đánh giá dựa trên hệ số sai khác di truyền  $F_{ST}$  của Wright (1969). Theo Nei (1972) nếu giá trị  $F_{ST} < 0,05$  được cho là sai khác di truyền nhỏ;  $0,05 < F_{ST} < 0,15$  được cho là sai khác di truyền trung bình và  $F_{ST} > 0,15$  được cho là sai khác di truyền rõ rệt.

Bảng 3 cho thấy giá trị  $F_{ST}$  dao động từ 0,034 đến 0,118 và các sự sai khác di truyền giữa các quần đàn nghiên cứu đều có ý nghĩa thống kê (giá trị  $P \leq 0,05$ ) (Bảng 3). Kết quả cho thấy quần đàn Vũng Tàu có quan hệ di truyền gần gũi với các quần đàn còn lại, trong đó gần gũi nhất với quần đàn Quảng Ninh ( $F_{ST} = 0,034$ ), tiếp đến là quần đàn Hải Phòng và Nha Trang (hệ số  $F_{ST}$  tương ứng là 0,055 và 0,092). Ba quần đàn cá chim vây vàng Quảng Ninh, Hải Phòng và Nha Trang đều cho thấy mối quan hệ di truyền xa hơn thể hiện qua mức sai khác di truyền trung bình với  $F_{ST} > 0,1$ . Trong nghiên cứu này, hệ số sai khác di truyền  $F_{ST}$  không tỷ lệ thuận với khoảng cách địa lý của các quần đàn nghiên cứu, chẳng hạn như Quảng Ninh và Hải Phòng có khoảng cách địa lý gần gũi, cũng như điều kiện sinh thái vùng nuôi tương đồng hơn so với Hải Phòng và Vũng Tàu, nhưng sai khác di truyền vẫn lớn hơn. Thực tế là các quần đàn cá chim trong nghiên cứu này

mới chỉ được thu gom và hình thành nuôi giữ trong thời gian ngắn để phục vụ các nghiên cứu về sinh sản, do đó chúng chưa chịu nhiều tác động từ môi trường nuôi và hiện tượng trao đổi nguồn gen trong quần thể xảy ra trong quá trình nuôi giữ lâu dài, đây là các yếu tố chính tác động đến kiểu gen của quần thể động vật.

Theo Freitas & Galetti (2005), việc nhân giống dựa vào kiểu hình và giao phối cận huyết tăng đã góp phần thúc đẩy đáng kể trong việc tạo nên sự tương đồng di truyền giữa các quần thể. Như vậy, việc lai chéo giữa các dòng cá chim vây vàng vây ngắn có thể là phương pháp tốt để tăng đa dạng di truyền và hạn chế tác động tiêu cực của cận huyết nhưng vẫn giữ được các đặc tính tốt của các dòng cá nhập nội.

AMOVA là một phương pháp để phát hiện mức độ khác biệt di truyền giữa các quần thể khác nhau sử dụng các chỉ thị phân tử (Excoffier *et al.*, 1992). Kết quả phân tích AMOVA (Bảng 4) cho thấy đa dạng di truyền ở mức độ phân tử là cao giữa các cá thể với nhau (90,94%). Trong khi mức độ đa dạng của 4 quần thể cá chim vây vàng vây ngắn khi so sánh với nhau là tương đối thấp (9,06%). Điều này cho thấy không có cấu trúc quần thể rõ ràng ở 4 quần đàn nghiên cứu và hầu như không có sự biến đổi di truyền trên các vị trí được khảo sát. Thực tế từ việc hình thành mới các quần đàn cá chim vây ngắn bằng cách thu thập các cá thể từ

các trang trại nuôi khác nhau mà không có ghi nhận thông tin về di truyền và phả hệ trong nghiên cứu này đã giải thích cho kết quả phân tích cấu trúc quần thể này, đồng thời cũng bổ sung cho giả thiết về sai khác di truyền ( $F_{st}$ ) cũng như hệ số cận huyết ( $F_{is}$ ) đã trình bày ở trên. Các nghiên cứu tương tự trước đây cũng đã thực tế thấy hiện tượng này trên các loài cá khác Melo *et al.* (2006).

Như vậy, qua đánh giá mức độ khác biệt di truyền giữa các quần thể và các cá thể, việc lai chéo giữa các cá thể khác nhau trong cùng hoặc khác quần thể là một giải pháp hữu hiệu nâng cao đa dạng di truyền và hạn chế tác động tiêu cực của cận huyết cũng như nâng cao ưu thế lai, những đặc tính tốt (sinh trưởng, chịu lạnh) của các dòng cá chim vây vàng vây ngắn trong nghiên cứu.

#### 4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu định danh loài cá chim và phân tích đa dạng di truyền ứng dụng chỉ thị phân tử DNA đã xác định được đây là loài cá chim vây ngắn (*Trachinotus ovatus*), các quần đàn cá nghiên cứu đều có mức độ đa hình cao, sai khác di truyền ở mức trung bình (có ý nghĩa thống kê) với cấu trúc quần thể chưa rõ ràng. Kết quả nghiên cứu này là cơ sở khoa học cung cấp các thông tin về di truyền phục vụ các nghiên cứu về chọn dòng cá bố mẹ thích hợp trong chương trình chọn giống tiếp theo.

#### 5. ĐỀ XUẤT

Nên tăng số lượng chỉ thị phân tử microsatellite để đánh giá đa dạng di truyền các quần đàn cá chim. Bên cạnh đó, nên đánh giá biến dị di truyền của cá chim vây vàng tạo ra từ các tổ hợp lai để hiểu rõ hơn về đặc điểm di truyền của các thế hệ cá chọn giống. Từ đó có cơ sở khoa học để duy trì các quần đàn cá bố mẹ có chất lượng tốt.

#### LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện với sự hỗ trợ của Tiểu dự án: “Hiện đại hóa công nghệ sản xuất cá biển quy mô công nghiệp ở Việt Nam nhằm

nâng cao sản lượng, chất lượng và vệ sinh an toàn thực phẩm” (03/FIRST/2a/RIA1) thuộc Dự án: “Đẩy mạnh đổi mới sáng tạo thông qua nghiên cứu khoa học và công nghệ” (FIRST).

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Botstein D., White R.L., Skolnick M. & Davis R.W. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*. 32(3): 314.
- Cruz P., Ibarra A.M., Mejia-Ruiz H., Gaffney P.M. & Pérez-Enríquez R. (2004). Genetic variability assessed by microsatellites in a breeding program of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Marine Biotechnology*. 6(2): 157-164.
- Excoffier L. & Lischer H.E.L. (2010). Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*. 10: 564-567.
- Excoffier L., Smouse P.E. & Quattro J.M. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among dna haplotypes: Application to human mitochondrial dna restriction data. *Genetics*. 131:479-491.
- Excoffier L., Laval G., & Schneider S. (2005). Arlequin: an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary bioinformatics*, 1, 117693430500100003.
- Freitas P.D. & Jnr P. G. (2005). Assessment of the genetic diversity in five generations of a commercial broodstock line of *Litopenaeus vannamei* shrimp. *African Journal of Biotechnology*. 4(12).
- Goudet J. FSTAT (Version 1.2) (1995). A computer program to calculate F-statistics. *Journal of heredity*. 86(6): 485-486.
- Guo L., Zhang N., Yang J.W., Guo H.Y., Zhu K.C., Liu B.S, Liu T.T & Zhang D.C. (2018). Comprehensive assessment of the genetic diversity and population structure of cultured populations of golden pompano, *Trachinotus ovatus* (Linnaeus, 1758), by microsatellites. *Aquaculture international*. 26(6): 1445-1457.
- Hartl D.L & Clark A.G. (1997). Principles of population genetics. Sunderland, Massachusetts: Fourth Edition Sinauer Associates Google Scholar.
- Keskin E. & Atar H.H. (2013). DNA barcoding commercially important fish species of Turkey. *Molecular Ecology Resource*. 13(5): 788-797.
- Launey S., Barre M., Gerard A. & Naciri-Graven Y. (2001). Population bottleneck and effective size in *Bonamia ostreae*-resistant populations of *Ostrea*

- edulis* as inferred by microsatellite markers. *Genetics Research*. 78(3): 259-270.
- Lưu Thị Hà Giang, Đặng Thị Nguyên, Trần Thị Thúy Hà & Phan Thị Vân (2018). Thiết lập phản ứng multiplex PCR phục vụ nghiên cứu cá chim vây vàng (*Trachinotus* spp.) Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam. 16(3): 232-240.
- Melo F.A., Vitor R.W.A., Gazzinelli R.T. & Melo M.N. (2006). Genetic analysis of natural recombinant Brazilian *Toxoplasma gondii* strains by multivị trí PCR-RFLP. *Infection, Genetics and Evolution*. 6(1): 22-31.
- Nei M. (1972). Genetic distance between populations. *The American Naturalist*. 106(949): 283-292.
- Nguyễn Thị Hoa (2013). Báo cáo tổng kết đề tài “Nghiên cứu đánh giá vật liệu chọn giống nâng cao tốc độ sinh trưởng cá rô phi nuôi trong điều kiện nhiệt độ không tối ưu”. Chương trình Công nghệ Sinh học trong Nông nghiệp, Thủy sản.
- Nguyễn Thị Hương, Vũ Thị Trang, Nguyễn Thị Mai, Lê Văn Toàn & Nguyễn Hữu Ninh (2016). Ứng dụng sinh học phân tử trong định danh loài cá chim vây vàng nuôi tại Việt Nam. Tạp chí Nông nghiệp và Nông thôn. 7: 102-109.
- Peakall R. & Smouse P.E. (2006) GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*. 6: 288-295.
- Phạm Anh Tuấn, Lê Quang Hưng & Nguyễn Thị Tàn (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.
- Sambrook J. & Russell D.W. (2001). *Molecular cloning: A laboratory manual*, the third edition.
- Sun L., Zhang D., Jiang S., Guo H. & Zhu C. (2013). Isolation and characterization of 21 polymorphic microsatellites in golden pompano *Trachinotus ovatus*. *Conservation genetics resources*. 5(4): 1107-1109.
- Trần Thị Thúy Hà, Vũ Thị Trang, Nguyễn Hữu Ninh & Nguyễn Thị Hoa (2013a). Đánh giá đặc điểm các tổ hợp lai cá rô phi (*Oreochromis niloticus*) bằng chỉ thị phân tử microsatellite. Sách Báo cáo khoa học - Hội nghị khoa học công nghệ sinh học toàn quốc năm 2013.
- Trần Thị Thúy Hà, Nguyễn Thế Việt, Nguyễn Thị Hương & Nguyễn Hữu Đức (2013b). Tìm hiểu đặc điểm di truyền một số quần đàn tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) nuôi tại Việt Nam bằng chỉ thị microsatellite. Tạp chí Khoa Học và Phát Triển. 11(6).
- Trịnh Quốc Trọng (2013). Báo cáo tổng hợp đề tài “Đánh giá các thông số di truyền và hình thành vật liệu ban đầu cho chọn giống cá rô phi đỏ (*Oreochromis* spp.)”. Chương trình công nghệ sinh học trong nông nghiệp, thủy sản.
- Ward R., Zemlak T., Innes B., Last P. & Hebert P. (2005). DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical transactions of the Royal Society of London Series B* 360: 1847-1857. doi: 10.1098/rstb.2005.1716.
- Wright S. (1969) *Evolution and the Genetics of Populations, Vol. 2. The Theory of Gene Frequencies*. University of Chicago Press, Chicago, Illinois.
- Xie Z., Li S., Yao M., Lu D., Li Z., Meng Z., Zhang Y. & Lin H. (2014). The complete mitochondrial genome of the *Trachinotus ovatus* (Teleostei, Carangidae). *Mitochondrial DNA*. 26(4): 644-646.
- Zhenzhen X., Ling X., Dengdong W., Chao F., Qiongyu L., Zihao L., Xiaochun L., Yong Z., Shuisheng L. & Haoran L. (2014). Transcriptome analysis of the *Trachinotus ovatus*: identification of reproduction, growth and immune-related genes and microsatellite markers. *PloS one*. 9(10): e.109419.