

ĐA DẠNG DI TRUYỀN CỦA ĐỒNG CÁ RÔ ĐẦU VUÔNG (*Anabas testudineus*) NUÔI Ở HẬU GIANG

Dương Thúy Yên¹, Phạm Thị Trang Nhung¹

TÓM TẮT

Đồng cá rô đầu vuông (ĐV) xuất phát từ Hậu Giang có số lượng cá thể ban đầu ít nên đa dạng di truyền có thể thấp và giảm nhanh theo thời gian. Nghiên cứu này nhằm đánh giá sự đa dạng di truyền dựa trên chỉ thị ISSR (Inter-simple Sequence Repeat) và RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) của đồng cá này ở Hậu Giang tại hai thời điểm với hai cách quản lý đàn cá bố mẹ khác nhau. Kết quả phân tích với 7 đoạn mỗi ISSR và RAPD cho thấy đàn cá rô ĐV thu năm 2012 có đa dạng di truyền (tỉ lệ dị hợp He là $0,251 \pm 0,0190$ và chỉ số đa dạng Shannon I là $0,390 \pm 0,026$) cao tương đương với cá rô tự nhiên thu ở Cà Mau. Tuy nhiên, đa dạng di truyền giảm ở đàn cá được thu năm 2014, đàn cá ở Trung tâm Giống nông nghiệp (số lượng 3-4 tấn, cá được giữ riêng theo nguồn ban đầu và cho sinh sản chéo) có He và I tương ứng là $0,224 \pm 0,023$ và $0,337 \pm 0,032$. Đàn cá của hộ dân có đa dạng di truyền thấp nhất (He là $0,140 \pm 0,021$ và chỉ số I là $0,216 \pm 0,030$) do số lượng cá bố mẹ ít và được chọn từ ao nuôi thịt của nông hộ, làm tăng khả năng lai cận huyết và mất gen. Kết quả trên chứng tỏ đa dạng di truyền của cá rô ĐV giảm theo thời gian gia hóa và cách quản lý đàn cá bố mẹ.

Từ khóa: *Anabas testudineus*, đa dạng di truyền, ISSR, ADN RAPD, quản lý đàn cá bố mẹ.

1. GIỚI THIỆU

Cá rô “đầu vuông” là tên gọi của một kiểu hình cá rô nuôi ở Hậu Giang. Cuối năm 2008, một người dân nuôi cá rô ở huyện Vị Thủy, tỉnh Hậu Giang đã phát hiện trong ao nuôi có những cá thể vượt trội và đã chọn khoảng 70 con để cho sinh sản. Đàn con tăng trưởng nhanh (Dương Thúy Yên, 2013) và có kích thước lớn hơn so với cá rô thường (Dương Thúy Yên và Trương Ngọc Trinh, 2013). Chúng có đầu to và ngắn hơn cá rô thường nên được người dân gọi là cá rô đầu vuông. Để có biện pháp duy trì chất lượng và phát triển dòng cá này lâu dài, cần có những nghiên cứu đánh giá sự đa dạng di truyền của chúng.

Đa dạng di truyền của cá rô đầu vuông cũng như nhiều loài cá nuôi khác phụ thuộc vào số lượng đàn cá ban đầu, cách chọn và quản lý đàn cá bố mẹ, số thế hệ gia hóa trong trại giống,... (Tave, 1999; Taniguchi, 2003). Đàn cá rô đầu vuông ban đầu có số lượng nhỏ nên theo lý thuyết (Allendorf và Luikart, 2007) đa dạng di truyền có thể thấp và giảm nhanh qua các thế hệ. Mức độ giảm chất lượng di truyền còn phụ thuộc vào cách quản lý đàn cá. Ở qui mô nông hộ, nhiều người nuôi cá tuyển chọn cá từ ao nuôi thương phẩm làm cá bố mẹ, họ tự sản xuất giống cho mình và cung cấp cho một số hộ khác xung quanh. Qui mô sản xuất nhỏ cùng với cách chọn cá bố mẹ như vậy có thể làm giảm nhanh sự đa dạng di truyền của đàn cá theo số thế hệ gia hóa (Tave, 1999).

Nghiên cứu này nhằm đánh giá sự đa dạng di truyền của đàn cá rô đầu vuông và tìm hiểu ảnh hưởng của cách quản lý đàn cá bố mẹ và thời gian gia hóa đến sự đa dạng di truyền của đàn cá rô đầu vuông ở tỉnh Hậu Giang. Mức độ sự đa dạng di truyền được đánh giá dựa trên chỉ thị ISSR và RAPD, hai chỉ thị trội đã được sử dụng phổ biến trên nhiều sinh vật khác nhau (Dudgeon *et al.*, 2012).

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thu mẫu

Cá rô đầu vuông được thu mẫu ở các huyện thuộc tỉnh Hậu Giang vào 2 thời điểm: năm 2012 và 2014. Mẫu cá thu tháng 3 năm 2012 đại diện cho cá rô đầu vuông nuôi ở Hậu Giang, vì vậy, mẫu cá được thu ở 3 huyện nuôi cá rô đầu vuông đầu tiên và tập trung. Cụ thể, cá được thu từ 5 nông hộ (2 hộ ở huyện Vị Thủy, 1 hộ ở huyện Vị Thanh và 1 hộ ở huyện Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang) và Trung tâm Giống Nông nghiệp Hậu Giang (TTGNN) với số lượng 20 cặp/hộ để phục vụ cho nghiên cứu chọn giống (tạm gọi là G0, tổng số 120 cặp cá). Số mẫu phân tích di truyền là 46 cá thể được lấy ngẫu nhiên từ đàn cá này. Đàn cá G0 được so sánh mức độ đa dạng di truyền với đàn cá rô tự nhiên thu cùng thời điểm ở Cà Mau với số mẫu phân tích là 20 mẫu trong nghiên cứu trước (Phạm Thị Trang Nhung và Dương Thúy Yên, 2014). Đầu năm 2014, thu mẫu di truyền tiếp tục được thực hiện ở đàn cá bố mẹ lưu giữ tại TTGNN và đàn cá bố mẹ của một hộ dân ở huyện Châu Thành A, tỉnh Hậu Giang nhằm so sánh chất

¹ Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

lượng di truyền của hai đàn cá được tuyển chọn và quản lý khác nhau. Đàn cá rô đầu vuông tại TTGNN được sinh sản chéo (cá cái từ nguồn này sinh sản với cá đực từ nguồn khác và ngược lại) từ 5 nguồn cá bố mẹ khác nhau với số lượng lớn (500 – 1000 kg mỗi nguồn) và được lưu giữ riêng. Trong khi đó, đàn cá từ hộ dân có số lượng nhỏ (50 - 200 kg) và được tuyển chọn từ chính ao nuôi của nông hộ (kết quả

điều tra ở Hậu Giang, chưa công bố). Hai đàn cá này cũng được so sánh với đàn cá năm 2012 để tìm hiểu ảnh hưởng của số thế hệ gia hóa đến sự đa dạng di truyền của cá rô đầu vuông. Vây đuôi của những cá thể lấy mẫu được cắt khoảng 0,1-0,3 g và được giữ trong ethanol 95% đến khi phân tích di truyền. Thông tin thu mẫu được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Địa điểm, thời gian và số mẫu thu cá rô đầu vuông ở tỉnh Hậu Giang

Đàn cá	Địa điểm thu	Thời gian thu	Số mẫu phân tích di truyền
Đầu vuông G0	Huyện Vị Thanh, Vị Thủy, Long Mỹ	3/2012	46
Đàn cá TTGNN	Trung tâm giống Nông nghiệp Hậu Giang	4/2014	43
Đàn cá ở hộ dân	Xã Thạnh Xuân, huyện Châu Thành A	4/2014	40

2.2. Tách chiết ADN

ADN trong vây đuôi cá được tách chiết bằng phương pháp Fenola-clorofom (Taggart *et al.*, 1992) có hiệu chỉnh. Vây đuôi cá được nghiền nhỏ trong 600 µL dung dịch ly trích (100 mM NaCl; 50 mM EDTA, 1% dodexyl sunphat natri, 50 mM Tris-HCl) và 200 µL dung dịch 2% CTAB (Xetyl-trimetyl-bromua- amôn). Mẫu sau khi nghiền được cho vào ống eppendorf 1,5 mL và ủ với 10 µL proteinaza K (5 mg/mL) trong 12 giờ ở 60°C. Tách protein trong mẫu bằng 600 µL dung dịch clorofom: rượu isoamyla (24:1), ly tâm 13000 vòng/phút ở 25°C trong 10 phút. Dung dịch phía trên trong ống eppendorf được chuyển qua một ống mới và thêm vào 600 µL dung dịch Fenda-clorofom: Isoamyla (25:24:1). Ly tâm và lặp lại bước rửa với clorofom: rượu isoamyla như trên. Kết tủa ADN bằng 600 µL ethanol 100% lạnh và ly tâm 13000 vòng/phút ở 4°C trong 10 phút. ADN được rửa bằng 600 µL ethanol 70% (2 lần) và để khô ở điều kiện phòng ít nhất 2 giờ. Hòa tan ADN bằng 100 µL dung dịch TE và bảo quản ADN ở -20°C.

2.3. Kiểm tra chất lượng ADN tách chiết

ADN tách chiết được điện di trên gel agarosa 1%. Gel (kích thước 7 x 10 cm) được đặt trong bộ nguồn

điện di có dòng điện 60 V, 300 mA và trong 30 phút. Sau đó nhuộm gel trong dung dịch ethidium bromua etyla (0,5 µg/ml) khoảng 1- 2 giờ. Kết quả điện di được quan sát và chụp ảnh khi soi gel bằng nguồn sáng LED. Những mẫu ADN có vạch điện di sáng và rõ được sử dụng để phân tích tiếp theo.

2.4. Phản ứng khuếch đại (PCR)

Các mẫu cá có chất lượng ADN tốt được khuếch đại với 6 đoạn mỗi ISSR (có trình tự lặp lại) và 1 đoạn mỗi RAPD (Bảng 2).

Sau khi chuẩn hóa các điều kiện trong phản ứng PCR, hỗn hợp 10 µL PCR được dùng cho mỗi phản ứng ISSR với nồng độ các thành phần gồm 1X Buffer (100 mM Tris, 500 mM KCl, 0,1% gelatin, pH 9,0); 0,2 mM dNTP; 1,5 mM MgCl₂; 8 pmoles đoạn mỗi, 2 U Taq polymeraza và khoảng 100 ng ADN khuôn mẫu.

Chu kỳ nhiệt PCR với 6 mỗi ISSR gồm 1 vòng biến tính ban đầu ở 95°C trong 5 phút; 40 vòng khuếch đại với nhiệt độ biến tính là 95°C trong 30 giây, nhiệt độ gắn mỗi 46°C trong 40 giây và nhiệt độ nối dài 72°C trong 1 phút và 1 vòng nối dài sau cùng ở 72°C trong 5 phút. Chu kỳ nhiệt PCR với mỗi RAPD khác với mỗi ISSR ở 35 vòng khuếch gồm 94°C trong 1 phút, 40°C trong 1 phút 10 giây và 72°C trong 1 phút 30 giây.

Bảng 2. Trình tự của các đoạn mỗi ISSR và RAPD

Ký hiệu	Trình tự (5' – 3')	Số nucleotit	Tài liệu tham khảo
ISSR1	(GGAC) ₃ C	13	Pazza <i>et al.</i> , 2007
ISSR5	(GGAC) ₄	16	Pazza <i>et al.</i> , 2007
ISSR8	(GACA) ₄	16	Pazza <i>et al.</i> , 2007
ISSR16	(CAC) ₃ GC	11	Sharma <i>et al.</i> , 2011
UBC811	(GA) ₈ C	17	Maltagliati <i>et al.</i> , 2006
UBC 8932800	(AGC) ₄ GT	14	Raghuwanshi <i>et al.</i> , 2013
OPA 09 (RAPD)	GGGTAACGCC	10	UCSB, 2010

2.5. Điện di sản phẩm PCR và đọc kết quả

Sản phẩm PCR được điện di agarosa 1,2% với nguồn điện 50 V, 300 mA và trong 80 phút. Kết quả điện di được quan sát và chụp hình tương tự như mục 2.3. Kích thước của các vạch điện di được ước lượng dựa vào thang ADN chuẩn 100 bp (Thermo scientific). ISSR và RAPD đều là những chỉ thị trội, do đó, sự xuất hiện của vạch điện di tại một gien được đọc là 1 và không xuất hiện được đọc là 0. Kết quả đọc gel được 2 người thực hiện độc lập và sau đó cùng so sánh, kiểm tra kết quả.

2.6. Phân tích số liệu

Số liệu ISSR và RAPD được phân tích chung do đều là chỉ thị trội, bằng chương trình GenAlEx 6.5 (Peakall and Smouse, 2012) và Popgene 1.3 (Yeh *et al.*, 1999). Các thông số: tỉ lệ gien đa hình, số lượng alen, tỉ lệ dị hợp mong đợi của mỗi đàn cá (quần thể) được ước lượng dựa vào GenAlEx 6.5. Chương trình

Popgene 1.3 được dùng để ước lượng các thông số di truyền Nei's gồm mức độ giống nhau về di truyền (Nei's genetic identity) (Nei, 1972) và sự khác biệt về di truyền (Gst) giữa các quần thể.

Các số liệu trên được so sánh giữa đàn cá rô đầu vuông ban đầu và đàn cá rô tự nhiên có nguồn gốc từ Cà Mau để đánh giá mức độ đa dạng di truyền của đàn cá rô đầu vuông ban đầu. Đồng thời so sánh đàn cá hiện lưu giữ tại TTGNN với đàn cá ban đầu để đánh giá khả năng duy trì mức độ đa dạng di truyền qua hai thế hệ.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đa dạng di truyền của đàn cá rô đầu vuông ở Hậu Giang năm 2012

Chất lượng di truyền của đàn cá rô đầu vuông ban đầu (thu năm 2012) được so sánh với cá rô tự nhiên thu ở Cà Mau (Phạm Thị Trang Nhung và Dương Thúy Yên, 2014) ở bảng 3.

Bảng 3. Các thông số đa dạng di truyền ($\pm$ SE) của cá rô đầu vuông thu năm 2012 và cá rô tự nhiên Cà Mau

Dòng cá	Số mẫu	Số vạch điện di	Tỉ lệ gien đa hình (%)	Số alen hiệu quả	Tỉ lệ dị hợp hiệu chỉnh (uHe)*	Chỉ số Shannon
Đầu vuông	46	67	94,4	$1,40 \pm 0,04$	$0,251 \pm 0,019$	$0,390 \pm 0,026$
Cà Mau	20	63	85,9	$1,43 \pm 0,04$	$0,265 \pm 0,021$	$0,397 \pm 0,028$
Chung cả 2 dòng	66	71	$90,1 \pm 4,2$	$1,41 \pm 0,03$	$0,258 \pm 0,014$	$0,393 \pm 0,019$

Ghi chú: Tỉ lệ dị hợp (He) được hiệu chỉnh theo số mẫu (N): $uHe = (2N / (2N-1)) * He$



A. POA 09 trên mẫu cá rô đầu vuông ở Trung tâm Giống Nông nghiệp, 2014

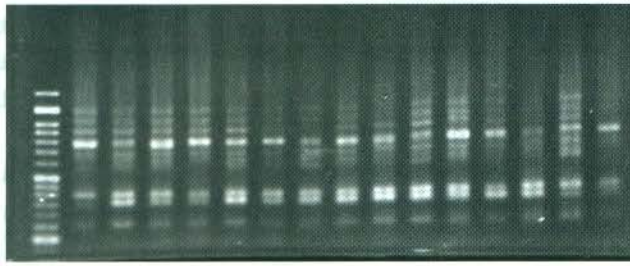
B. ISSR5 trên mẫu cá rô đầu vuông ở Trung tâm Giống Nông nghiệp, 2014



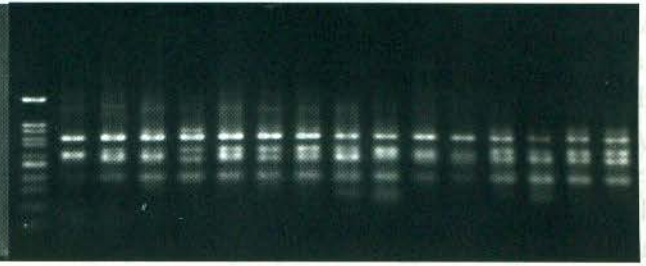
C. ISSR1 trên mẫu cá rô đầu vuông G0



D. ISSR16 trên mẫu cá rô ở hộ dân



E. UBC811 trên mẫu cá rô đầu vuông G0



F. UBC8932800 trên mẫu cá rô G0

Hình 1. Kết quả điện di mẫu cá rô với các đoạn mồi RAPD (A) và ISSR (B-F)

Các mẫu ADN cá rô được khuếch đại với 7 đoạn mồi ISSR và RAPD tạo ra 71 vạch điện di (gien) có kích thước 250-1700 bp, mỗi đoạn mồi có 5-12 vạch (Hình 1). Trong đó, đàn cá rô đầu vuông có 67 vạch và đàn cá Cà Mau có 63 vạch (Bảng 3). So sánh các thông số đa dạng di truyền giữa 2 dòng cá cho thấy tỉ lệ gien đa hình của cá rô đầu vuông cao hơn cá rô Cà Mau. Tuy nhiên, các thông số khác gồm số alen hiệu quả, tỉ lệ dị hợp và chỉ số Shannon ở đàn cá rô đầu vuông đều thấp hơn cá rô Cà Mau với mức độ chênh lệch nhỏ (Bảng 3). Mức độ giống nhau về di truyền (Nei's genetic identity) giữa hai đàn là cao (0,98), do đó sự khác biệt di truyền giữa chúng nhỏ (giá trị $G_{ST} = 0,027$). Kết quả này chứng tỏ mức độ đa dạng di truyền của đàn cá rô đầu vuông gần tương đương với đàn cá rô tự nhiên Cà Mau.

Như vậy, đàn cá rô đầu vuông chưa bị giảm sự đa dạng di truyền so với cá rô tự nhiên. Với số lượng cá thể ban đầu ít (theo người dân $N \sim 70$), theo dự đoán, đàn cá này có thể có đa dạng di truyền thấp. Cơ sở của dự đoán trên là do ảnh hưởng của quá trình biến đổi di truyền ngẫu nhiên, mức độ đa dạng di truyền (thể hiện rõ nhất là số alen hiệu quả và tỉ lệ dị hợp) ở một quần thể có số lượng ít (quần thể nhỏ) sẽ giảm nhanh chóng qua các thế hệ (Allendorf và Luikart, 2007). Cụ thể, sau 2N thế hệ, tỉ lệ dị hợp giảm khoảng 37% so với ban đầu. Thực tế số thế hệ đàn cá rô đầu vuông xuất phát từ Vị Thủy (năm 2009) đến đầu năm 2012 là 2 thế hệ nên mức độ giảm di truyền nhỏ.

Kết quả không có sự khác biệt về mức độ đa dạng di truyền của đàn cá rô đầu vuông (đàn cá nuôi) so với cá tự nhiên khác với kết quả của một số nghiên cứu trước đây. Nhiều nghiên cứu cho thấy quần thể trong trại giống thường có đa dạng di truyền thấp hơn quần thể tự nhiên do hậu quả của lai cận huyết, mất gien và sự tích lũy của những đột biến bất lợi (Woodworth *et al.*, 2002; Fraser, 2008). Ở Thái Lan, kết quả phân tích tính đa hình chiều dài của phân đoạn ADN cắt giới hạn (PCR-RFLP) của gien D-

loop trên ADN ti thể cho thấy 2 đàn cá rô đồng nuôi đều có mức độ đa dạng di truyền thấp hơn đàn cá rô đồng tự nhiên, thể hiện ở đa dạng kiểu gien đơn bội (haplotype) tương ứng là 0,10 và 0,52 (Hidayat và Senanan, 2010). Cá chép ở Indonesia cũng được báo cáo có đa dạng di truyền thấp ở 9 quần thể cá nuôi (Aliah và Taniguchi, 1999). Tương tự, ở hai loài *Diplodus sargus* và *D. vulgaris*, đa dạng di truyền của các quần thể cá trong trại giống đều thấp hơn quần thể tự nhiên, ví dụ, tỉ lệ dị hợp của loài *D. sargus* ở 2 quần thể trong trại và tự nhiên tương ứng là 0,193 và 0,264 (Pereira *et al.*, 2010). Tuy nhiên, một số nghiên cứu khác báo cáo kết quả ngược lại, không phát hiện sự suy giảm đa dạng di truyền ở quần thể nuôi, tương tự như trường hợp của cá rô đầu vuông. Ví dụ, cá tra thu từ 4 trại giống ở ĐBSCL không khác biệt di truyền (dựa trên chỉ thị microsatellite) với 2 quần thể cá tự nhiên (Ha *et al.*, 2009). Kết quả này thường được tìm thấy ở những loài mới trải qua quá trình gia hóa trong trại giống (Ha *et al.*, 2009) hay có sự trao đổi gien lớn giữa quần thể cá nuôi và cá tự nhiên (Islam *et al.*, 2007).

Những thông số về đa dạng di truyền có thể thay đổi theo cỡ mẫu phân tích. Với số mẫu nhỏ hơn, các thông số này (như bảng 3) thường nhỏ hơn. Trong nghiên cứu trước đây, với số mẫu $N=21$, cá rô đầu vuông có mức độ đa dạng di truyền thấp hơn (tỉ lệ dị hợp và chỉ số Shannon tương ứng là $0,218 \pm 0,022$ và $0,331 \pm 0,030$) so với cá rô Cà Mau (Phạm Thị Trang Nhung và Dương Thúy Yên, 2014). Thông số đa dạng di truyền còn phụ thuộc vào loại chỉ thị phân tử sử dụng (Liu và Cordes, 2004). RAPD và ISSR là những chỉ thị trội, mỗi gien chỉ có 2 alen nên chỉ số thông tin đa hình (polymorphic information content-PIC) thường thấp hơn chỉ thị đồng trội như microsatellite (Liu và Cordes, 2004). Nghiên cứu trên cùng một đối tượng, chỉ thị RAPD thường cho kết quả tỉ lệ dị hợp, chỉ số Shannon thấp hơn so với chỉ thị microsatellite (Muneer *et al.*, 2011). Đối với những nghiên cứu sử dụng cùng loại chỉ thị ISSR và

RAPD, mức độ đa dạng di truyền của một số loài cá khác thấp hơn so với đàn cá rô đầu vuông trong nghiên cứu (Bảng 3). Ví dụ, ở 2 loài cá *Diplodus spp.* và *Dentex dentex* (thuộc họ Sparidae), tỉ lệ gien đa hình dựa trên chỉ thị SSR là 27,8 – 40,2% và tỉ lệ dị hợp 0,082 – 0,127 (Casu *et al.*, 2009). Hai loài khác thuộc họ Sparidae là *Diplodus sargus* và *D. vulgaris*, tỉ lệ dị hợp dựa trên chỉ thị RAPD của quần thể cá tự nhiên thu được ở phía Nam Bồ Đào Nha là 0,266 và 0,232 (Pereira *et al.*, 2010). So với

kết quả nghiên cứu trên các loài cá khác sử dụng cùng loại chỉ thị phân tử ISSR và RAPD, sự đa dạng di truyền của đàn cá rô đầu vuông Hậu Giang thu năm 2012 ở mức tương đối cao.

3.2. So sánh sự đa dạng di truyền của 2 đàn cá rô đầu vuông năm 2014 được tuyển chọn và quản lý khác nhau

Chất lượng di truyền của 2 đàn cá rô đầu vuông ở TTGNN và ở một hộ dân được so sánh thông qua các thông số đa dạng di truyền (bảng 4).

Bảng 4. Các thông số đa dạng di truyền ($\pm$ SE) của cá rô đầu vuông ở TTGNN và ở hộ dân

Đàn cá	Số mẫu	Số vạch điện di	Tỉ lệ gien đa hình (%)	Số alen hiệu quả	Tỉ lệ dị hợp hiệu chỉnh	Chỉ số Shannon
TTGNN	43	51	71,8	$1,37 \pm 0,04$	$0,224 \pm 0,023$	$0,337 \pm 0,032$
Hộ dân	40	37	53,5	$1,22 \pm 0,04$	$0,140 \pm 0,021$	$0,216 \pm 0,030$
Chung cả 2 đàn	83	71	$62,7 \pm 9,2$	$1,30 \pm 0,03$	$0,182 \pm 0,016$	$0,277 \pm 0,022$

Với số mẫu tương đương, đàn cá TTGNN có mức độ đa dạng di truyền cao hơn rõ so với cá ở hộ dân, thể hiện ở tất cả các chỉ tiêu về số gien khuếch đại, tỉ lệ đa hình, số alen hiệu quả và tỉ lệ dị hợp (Bảng 4).

Mức độ đa dạng di truyền của đàn cá ở hộ dân có thể do nhiều nguyên nhân gắn liền với số lượng cá ban đầu và cách chọn cá sinh sản. Thường người dân mua cá bố mẹ (khoảng 30-40 cặp) hoặc mua trứng (cũng 30-40 cặp bố mẹ sinh sản) ban đầu cho một qui mô nuôi nhỏ, 0,5 – 1 ha (kết quả điều tra 30 hộ sản xuất giống ở Hậu Giang, chưa công bố). Sau vụ đầu tiên, họ thường tuyển chọn cá bố mẹ từ ao nuôi này và tự sản xuất giống cho đợt tiếp theo. Với cách làm đó, mức độ đa dạng di truyền thấp do ảnh hưởng từ số lượng cá ban đầu ít và lai cận huyết có thể xảy ra (mặc dù chưa ở mức gây ra suy thoái cận huyết). Đàn cá có số lượng ban đầu ít có nguy cơ mất gien cao và xảy ra nhanh, đồng thời tăng khả năng cận huyết (Allendorf and Luikart, 2007). Ở trại sản xuất giống qui mô vừa phải, mức độ lai cận huyết có thể xảy ra ở mỗi thế hệ là 3-5% và suy thoái của lai cận huyết sẽ thể hiện sau 3-5 thế hệ (Tave, 1999). Với cách thay đổi đàn cá bố mẹ sau mỗi năm của người dân nuôi và sản xuất giống cá ở Hậu Giang, tại thời điểm thu mẫu nghiên cứu (2014), cá rô đầu vuông sản xuất tại nông hộ có thể đã qua ít nhất 3 thế hệ. Do đó, khả năng đàn cá bị suy giảm di truyền phù hợp với kết quả phân tích ADN dựa trên chỉ thị RAPD và ISSR.

Đàn cá ở TTGNN được tập hợp từ năm nguồn khác nhau với số lượng lớn (500 – 1000 kg/nguồn), được giữ trong những ao riêng và được cho sinh sản

chéo. Cách làm này hạn chế nguy cơ lai cận huyết và ảnh hưởng của quá trình biến đổi di truyền ngẫu nhiên, do đó mức độ đa dạng di truyền được duy trì cao hơn so với đàn cá ở nông hộ. Theo khuyến cáo, để duy trì sự đa dạng di truyền của đàn cá trong trại giống cần chú ý hai yếu tố quan trọng: đàn cá bố mẹ có số lượng lớn (số lượng quần thể hiệu quả, effective population size, $N_e > 1000$) và tránh lai cận huyết (Tave, 1999).

So sánh các thông số đa dạng di truyền của đàn cá ở TTGNN (Bảng 4) với đàn cá rô đầu vuông thu năm 2012 (Bảng 3) cho thấy đàn cá hiện tại có mức độ di truyền thấp hơn. Nguyên nhân của sự giảm đa dạng di truyền ở đàn cá TTGNN hiện tại có thể liên quan đến số thế hệ cá. Việc kéo dài thời gian sinh sản của cá góp phần hạn chế ảnh hưởng của số thế hệ gia hóa (Tave, 1999; Allendorf và Luikart, 2007). Thực tế người dân thường chọn cá sinh sản có 8-10 tháng tuổi và thay mới cá bố mẹ đầu vuông ở 1,2 -1,5 năm tuổi. Song, tuổi sinh sản của cá có thể kéo dài hơn bởi vì theo kết quả nghiên cứu trước, cá bố mẹ 26 tháng tuổi có sức sinh sản (Dương Thúy Yên và Phạm Thanh Liêm, đang in) và sinh trưởng của đàn con (Dương Thúy Yên *et al.*, 2014) tương đương với cá bố mẹ 10 tháng tuổi.

Kết quả nghiên cứu trên cá rô đầu vuông là một minh chứng cho thấy cách chọn và quản lý đàn cá bố mẹ ảnh hưởng lớn đến chất lượng di truyền của đàn cá qua các thế hệ. Hệ quả đa dạng di truyền giảm do cách quản lý đàn cá không hợp lý cũng có thể xảy ra đối với những đối tượng nuôi thủy sản ở qui mô nhỏ khác như cá lóc, cá trê, cá thát lát,... Để khắc phục vấn đề này, bên cạnh biện pháp sinh sản chéo và số

lượng cá sinh sản lớn khi tạo đàn cá hậu bị (Tave, 1999), cần bổ sung thường xuyên nguồn cá tự nhiên (Na-Nakorn và Brummett, 2009).

4. KẾT LUẬN

Đàn cá rô đầu vuông ở Hậu Giang thu năm 2012 có mức độ đa dạng di truyền cao, tương đương với quần thể cá rô tự nhiên thu ở Cà Mau. Mức độ đa dạng di truyền của cá rô đầu vuông giảm theo thời gian và cách tuyển chọn, quản lý đàn cá bố mẹ. Ở qui mô sản xuất nông hộ, cách chọn cá bố mẹ từ chính ao nuôi thịt của nông hộ với số lượng nhỏ làm giảm chất lượng di truyền của đàn cá.

Chỉ thị ISSR và RAPD có hiệu quả trong nghiên cứu đánh giá đa dạng di truyền của cá rô và có thể áp dụng trên những loài cá khác.

Lời cảm ơn

Bài báo này trong khuôn khổ đề tài nghiên cứu khoa học cấp tỉnh "Bảo tồn nguồn gen cá rô đầu vuông ở tỉnh Hậu Giang". Các tác giả xin chân thành cảm ơn Sở Khoa học và Công nghệ Hậu Giang đã tài trợ kinh phí thực hiện đề tài.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Aliah, R. S., Taniguchi, N., 1999. Comparison of genetic variability in nine domesticated stocks of Indonesian common carp by using microsatellite DNA markers. *Fish Genetics and Breeding Science* 28, 121-130.

2. Allendorf, F. W., Luikart, G. (Eds.), 2007. *Conservation and the Genetics of Populations*. Blackwell Publishing.

3. Dương Thúy Yên, 2013. Ảnh hưởng của nguồn gốc cá bố mẹ đến sinh trưởng của cá rô (*Anabas testudineus* Bloch, 1792) giai đoạn nuôi cá thịt. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, số 18, 78-83.

4. Dương Thúy Yên và Phạm Thanh Liêm. Mối quan hệ giữa kích cỡ và các chỉ tiêu sinh sản của cá rô đầu vuông (*Anabas testudineus*). *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ*, đang in.

5. Dương Thúy Yên và Trương Ngọc Trinh, 2013. So sánh đặc điểm hình thái của cá rô đầu vuông và cá rô đồng tự nhiên (*Anabas testudineus*). *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ*, số 29b, 86-95.

6. Dương Thúy Yên, Trịnh Thu Phương và Dương Nhật Long, 2014. Ảnh hưởng của tuổi và kích cỡ cá bố mẹ chọn lọc lên sinh trưởng của cá rô đầu vuông (*Anabas testudineus*) giai đoạn từ cá bột lên

cá giống. *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ. Số chuyên đề*, tập 1, 92-100.

7. Dương Thúy Yên, 2014. So sánh trình tự một số gene mã vạch của cá rô đầu vuông và cá rô đồng tự nhiên (*Anabas testudineus* BLOCH, 1792). *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ*, số 30b, 29-36.

8. Fraser, D. J., 2008. How well can captive breeding programs conserve biodiversity? A review of salmonids. *Evolutionary Applications* 1, 535-586.

9. Ha, H. P., Nguyen, T. T. T., Poompuang, S., Na-Nakorn, U., 2009. Microsatellites revealed no genetic differentiation between hatchery and contemporary wild populations of striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage 1878) in Vietnam. *Aquaculture* 291, 154-160.

10. Hidayat, S., Senanan, W., 2010. PCR-RFLP analysis of mitochondrial DNA to differentiate populations of climbing perch (*Anabas testudineus*) in Thailand. *Burapha journal of science* 15, 87-98.

11. Liu, Z. J., Cordes, J. F., 2004. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. *Aquaculture* 238, 1-37.

12. Maltagliati, F., Lai, T., Casu, M., Valdesalici, S., Castelli, A., 2006. Identification of endangered Mediterranean cyprinodontiform fish by means of DNA inter-simple sequence repeats (ISSRs). *Biochemical Systematics and Ecology* 34, 626-634.

13. Muneer, A. P. M., Sivanandan, R., Gopalakrishnan, A., Basheer, V. S., Musammilu, K. K., Ponniah, A. G., 2011. Development and characterization of RAPD and microsatellite markers for genetic variation analysis in the critically endangered yellow catfish *Horabagrus nigricollaris* (Teleostei: Horabagridae). *Biochem Genet.* 49: 83-95.

14. Na-Nakorn, U., Brummett, R. E., 2009. Use and exchange of aquatic genetic resources for food and aquaculture: Clarias catfish. *Reviews in Aquaculture* 1, 214-223.

15. Nei, M., 1972. Genetic distance between populations. *The American Naturalist* 106, 283-292.

16. Pazza, R., Kavalco, K. F., Prioli, S. M. A. P., Prioli, A. J., Bertollo, L. A. C., 2007. Chromosome polymorphism in *Astyanax fasciatus* (Teleostei, Characidae). Part 3: Analysis of the RAPD and ISSR molecular markers. *Biochemical Systematics and Ecology* 35, 843-851.

17. Peakall, R., Smouse, P. E., 2012. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. *Bioinformatics* 28, 2537-2539.
18. Pereira, J. C., Lino, P. G., Leitão, A., Joaquim, S., Chaves, R., Pousão-Ferreira, P., Guedes-Pinto, H., Santos, M. N., 2010. Genetic differences between wild and hatchery populations of *Diplodus sargus* and *D. vulgaris* inferred from RAPD markers: implications for production and restocking programs design. *J. Appl. Genet* 51, 67-72.
19. Phạm Thị Trang Nhung và Dương Thúy Yên, 2014. Đánh giá sự đa dạng di truyền của các dòng cá rô đồng (*Anabas testudineus*, Bloch 1792) bằng các chỉ thị phân tử RAPD và ISSR. *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ. Số chuyên đề, tập 1*, 101-108.
20. Raghuwanshi, K. S., Hujare, B. A., Chimote, V. P., Borkar, S. G., 2013. Characterization of *Xanthomonas axonopodis* pv. *punicae* isolates from western Maharashtra and their sensitivity to chemical treatments. *The Bioscan* 8, 845-850.
21. Sharma, S. K., Kumaria, S., Tandon, P., Rao, S. R., 2011. Simple primer amplification reaction (SPAR) reveals inter- and intra-specific natural genetic variation in five species of *Cymbidium* (Orchidaceae). *Gene* 483, 54-62.
22. Taggart, J. B., Hynes, R. A., Prodöuhl, P. A., Ferguson, A., 1992. A simplified protocol for routine total DNA isolation from salmonid fishes. *Journal of Fish Biology* 40, 963-965.
23. Tave, D., 1999. Inbreeding and broodstock management. *FAO fisheries technical paper* 392.
24. UCSB (2010). RAPD PCR Primers. <http://www.lifesci.ucsb.edu/~genome/OldPage/database4.txt>.
25. Yeh, F.C., Yang, R.C., Boyle, T., 1999. POPGENE version 1.3.1. Microsoft Window-bases Freeware for Population Genetic Analysis. Available: www.ualberta.ca/~fyeh/. University of Alberta and the Centre for International Forestry Research.

GENETIC DIVERSITY OF SQUARE HEAD CLIMB PERCH (*Anabas testudineus*) POPULATIONS CULTURED IN HAU GIANG PROVINCE

Duong Thuy Yen and Pham Thi Trang Nhung

Summary

Square-head climbing perch (SHCP) strain in Hau Giang province originated from a small population size, therefore genetic diversity can be low and decreased fast by time due to founder effects. This study evaluated genetic diversity, based on ISSR (Inter-simple Sequence Repeat) and RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) markers, of this strain in Hau Giang sampled in two time periods and two hatcheries with different broodstock management practices. Results based on data of 7 primers of ISSR and RAPD showed that level of genetic diversity of SHCP collected in 2012 (expected heterozygosity H_e 0.251 ± 0.0190 and Shannon I là 0.390 ± 0.026) equivalented to that of a wild population collected in Ca Mau province. Nonetheless, genetic diversity of two hatchery stocks sampled in 2014 was decreased. H_e and I index of broodstock in Agricultural Seed Center (biomass: 3-4 tons, kept separate by original stocks, and crossed different stocks) were 0.224 ± 0.023 and 0.337 ± 0.032 , respectively. The other stock owned by a farmer had the lowest level of genetic diversity (H_e : 0.140 ± 0.021 and I : 0.216 ± 0.030) due to small population size and selected from the farmer's grow-out ponds, which increased inbreeding and genetic loss due to genetic drift. Above results indicate that genetic diversity of SHCP strain has decreased by time and broodstock management practices.

Từ khóa: *Anabas testudineus*, genetic diversity, ISSR, RAPD, broodstock management.

Người phản biện: TS. Thái Thanh Bình

Ngày nhận bài: 17/10/2014

Ngày thông qua phản biện: 18/11/2014

Ngày duyệt đăng: 25/11/2014