

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

TRÍCH YẾU LUẬN ÁN

Tên luận án:	Phát hiện và nghiên cứu ứng dụng các chỉ thị đa hình nucleotide đơn (SNPs) bằng kỹ thuật EzRAD của ba loài cá điển hình ở lưu vực hạ lưu sông Mekong
Chuyên ngành:	Công nghệ Sinh học
Mã số:	9420201
Họ và tên NCS:	Trương Thị Oanh
Khóa:	2020
Người hướng dẫn khoa học:	1. PGS.TS. Đặng Thúc Bình Trường Đại học Nha Trang 2. TS. Ngô Thái Bích Vân Trường Đại học Bách Khoa – Đại học Đà Nẵng
Cơ sở đào tạo:	Trường Đại học Bách Khoa – Đại học Đà Nẵng

TRÍCH YẾU LUẬN ÁN:

1. Lý do chọn đề tài

Lưu vực sông Mekong, một trong những điểm nóng về đa dạng sinh học, đang phải đối mặt với các mối đe dọa ngày càng tăng từ sự suy thoái môi trường và các hoạt động của con người, đặc biệt là việc xây dựng đập thủy điện. Những tác động này không chỉ là rào cản vật lý ngăn cản sự di cư, làm thay đổi hoặc chia cắt môi trường sống tự nhiên của cá, gây ảnh hưởng đến tập tính sống của nhiều loài thủy sản mà còn làm thay đổi dòng chảy tự nhiên, nhịp lũ và lượng nước vào thời điểm giao mùa. Những thay đổi trên đã dẫn đến nguồn lợi thủy sản suy giảm và tăng nguy cơ tuyệt chủng của các loài cá. Do đó, nghiên cứu chuyên sâu về đa dạng di truyền và cấu trúc quần thể các loài cá đại diện cho các khu hệ sinh thái đặc trưng và tập tính sống đóng vai trò quan trọng trong công tác quản lý nghề cá, tái tạo quần đàn và hướng tới việc duy trì hệ sinh thái bền vững.

Cho đến nay, đa dạng các chỉ thị phân tử (DNA ti thể, đa hình đoạn khuếch đại ngẫu nhiên-RAPD, microsatellites, đa hình nucleotide đơn-SNPs) được sử dụng trong

ngiên cứu di truyền quần thể của các loài cá sông Mekong. Trong số đó, việc hàng ngàn chỉ thị SNPs phân bố trên toàn bộ hệ gen được phát hiện từ dữ liệu giải trình tự DNA dựa trên vị trí cắt giới hạn (*Restriction site Associated DNA Sequencing*, RAD-seq) góp phần làm sáng tỏ cấu trúc quần thể của các sinh vật, đặc biệt là các loài chưa có thông tin về hệ gen.

Với đặc tính di cư đa dạng của các loài cá sông Mekong trong bối cảnh môi trường biến động và thay đổi, ba loài cá có lịch sử phát triển và tập tính di cư khác nhau gồm cá chạch lá tre *Macrognathus siamensis* (vòng đời ngắn, không di cư), cá ét mòi *Labeo chrysophekadion* (vòng đời dài, di cư chặng ngắn và tùy nghi) và cá vồ đém *Pangasius larnaudii* (vòng đời dài, di cư chặng dài) phân bố ở lưu vực sông Mekong được thu thập. Nghiên cứu hướng tới giải quyết các vấn đề then chốt thông qua hai câu hỏi: 1) Sự tương tác giữa tập tính di cư và vòng đời phát triển hình thành nên các biến thiên di truyền và khả năng duy trì dòng gen giữa các loài như thế nào?; 2) Liệu các bằng chứng về cấu trúc di truyền và sự suy giảm đa dạng hiện nay có phản ánh những tác động tích lũy từ các rào cản cảnh quan và biến đổi điều kiện môi trường tại hạ lưu sông Mekong hay không? Những kết quả này sẽ góp phần làm sáng tỏ cơ chế duy trì và phân hóa di truyền của các loài cá sông Mekong, đồng thời cung cấp luận cứ khoa học quan trọng cho chiến lược bảo tồn và quản lý bền vững nguồn lợi thủy sản.

2. Mục tiêu nghiên cứu

2.1. Mục tiêu chung

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm **đánh giá và so sánh** mức độ đa dạng di truyền và sự **kết nối quần thể** của 03 loài cá điển hình ở sông Mekong thông qua việc sử dụng kỹ thuật di truyền tiên tiến, từ đó xây dựng cơ sở dữ liệu di truyền phục vụ công tác quản lý, bảo tồn và khai thác bền vững nguồn lợi thủy sản trong khu vực.

2.2. Mục tiêu cụ thể

- **Lắp ráp *de novo* hệ gen** của ba loài cá điển hình (cá chạch lá tre *M. siamensis*, cá ét mòi *L. chrysophekadion* và cá vồ đém *P. larnaudii*) ở lưu vực hạ lưu sông Mekong, đồng thời **phát hiện các SNPs** phục vụ phân tích di truyền quần thể.

- **Đánh giá và so sánh thông tin di truyền quần thể** của ba loài cá, gồm mức độ đa dạng di truyền trong và giữa quần thể, kích thước quần thể hiệu quả, mô hình di cư và mức độ kết nối di truyền giữa các quần thể.

- **Lắp ráp và chú giải hệ gen ti thể** của cá ét mọi, xác định mã vạch RAD và phân tích cấu trúc di truyền quần thể nhằm **bổ trợ và kiểm chứng** kết quả phân tích dựa trên dữ liệu SNPs thuộc hệ gen nhân.

3. Đối tượng, phạm vi nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu: Cá chạch lá tre *M. siamensis*, cá ét mọi *L. chrysophekadion* và cá vồ đém *P. larnaudii*

Phạm vi nghiên cứu: Nghiên cứu thu thập ngẫu nhiên mẫu cá trưởng thành ở lưu vực sông Mekong từ 2017 – 2021. Các nghiên cứu về di truyền được thực hiện tại phòng thí nghiệm Sinh học phân tử, Trường Đại học Nha Trang.

4. Phương pháp nghiên cứu

4.1. Phương pháp nghiên cứu lý thuyết

Tìm kiếm, tổng hợp và phân tích các tài liệu, tư liệu, sách báo và các công trình nghiên cứu trong và ngoài nước liên quan đến các khu hệ sinh thái ở sông Mekong, tuyến đường di cư, đặc điểm sinh học sinh sản của các loài cá và các nghiên cứu liên quan trực tiếp đến nội dung của luận án.

4.2. Phương pháp nghiên cứu thực nghiệm

- Nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật EzRAD để thu nhận thư viện DNA hệ gen và tiến hành giải trình tự sử dụng hệ thống HiSeq 4000 (Illumina)
- Nghiên cứu sử dụng các công cụ tin sinh học để lắp ráp *de novo* hệ gen, thu nhận bộ chỉ thị SNPs, khảo sát đa dạng di truyền, cấu trúc di truyền quần thể, kích thước quần thể hiệu quả và dự đoán mô hình di cư của 03 loài cá điển hình ở LMB.
- Nghiên cứu sử dụng các công cụ tin sinh học để lắp ráp, chú giải hệ gen ti thể, xác định mã vạch RAD và ứng dụng để khảo sát cấu trúc di truyền quần thể của cá ét mọi.

5. Nội dung nghiên cứu

1) Lắp ráp *de novo* hệ gen của 03 loài cá điển hình (cá chạch lá tre, cá ét mọi và cá vồ đém) ở LMB và xác định các chỉ thị phân tử SNPs.

2) Khảo sát sự đa dạng di truyền, cấu trúc quần thể, ước lượng kích thước quần thể hiệu quả và dự đoán mô hình di cư của 03 loài cá ở hạ lưu sông Mekong.

3) Lắp ráp và chú giải hệ gen ti thể, xác định mã vạch RAD và khảo sát cấu trúc di truyền quần thể của cá ét mọi *Labeo chrysophekadion*.

6. Các kết quả chính của luận án

- Nghiên cứu đã thu thập, tạo thư viện và lắp ráp *de novo* hệ gen của ba loài cá điển hình ở lưu vực sông Mekong. Kết quả phân tích SNPs xác định được **4.237 SNPs** đặc trưng cho cá chạch lá tre (9 quần thể), **825 SNPs** cho cá ét mọi (9 quần thể) và **1.270 SNPs** cho cá vô đém (7 quần thể).

- Mức độ đa dạng di truyền, khác biệt di truyền và cấu trúc quần thể của ba loài cá điển hình ở sông Mekong được xác định. Đồng thời, mô hình di cư của cá ét mọi và cá vô đém ở LMB được dự đoán sử dụng chỉ thị SNPs. Cụ thể là:

+ Tập tính di cư của các loài cá có mối tương quan thuận với mức độ đa dạng di truyền và tương quan nghịch với tỉ lệ giao phối cận huyết. Ở cá chạch lá tre không di cư, mức độ đa dạng di truyền của loài này thấp nhất và hệ số cận huyết cao nhất. Cá vô đém - di cư chặng dài - có mức độ đa dạng di truyền cao nhất và hệ số cận huyết thấp nhất. Cá ét mọi - di cư chặng ngắn và tùy nghi - thể hiện mức độ đa dạng di truyền và giao phối cận huyết trung bình.

+ Phân tích sự khác biệt di truyền và cấu trúc quần thể cho thấy sự phân hóa quần thể rõ rệt ở các loài cá. Cụ thể, cá chạch lá tre có 4 nhóm quần thể tương ứng với các khu vực: UMB, thượng và trung lưu-LMB, dòng nhánh ở trung lưu-LMB, và hạ lưu-LMB. Cá ét mọi có 3 nhóm quần thể, tương ứng với 3 khu vực: thượng, trung và hạ lưu-LMB. Trong khi đó, các quần thể cá vô đém ở LMB thể hiện sự kết nối di truyền cao.

+ Kết quả dự đoán mô hình di cư của cá ét mọi và cá vô đém đều cho thấy khả năng di cư đáng kể, bao gồm cả xuôi dòng, ngược dòng và vượt qua thác Khôn. Tuy nhiên, một điểm đáng chú ý là loài cá di cư chặng ngắn/tùy nghi lại thực hiện tuyến đường di cư dài hơn dự kiến, trong khi loài được ghi nhận là di cư chặng dài lại chỉ di cư không liên tục, chủ yếu giới hạn giữa hạ lưu và trung lưu sông Mekong.

- Nghiên cứu lắp ráp và chú giải hệ gen ti thể của cá ét mọi (mã số OR637878), với kích thước 16.600 bp. Sử dụng dữ liệu mã vạch RAD (757 bp), kết quả cho thấy sự kết nối di truyền cao giữa các quần thể, với đa dạng haplotype cao và đa dạng nucleotide thấp. Ngoại trừ quần thể Luang Prabang, không có sự khác biệt di truyền đáng kể nào được ghi nhận giữa các quần thể.

7. Ý nghĩa khoa học và ý nghĩa thực tiễn của luận án

Ý nghĩa khoa học: Nghiên cứu này đã góp phần mở rộng đáng kể kiến thức nền tảng về di truyền học quần thể trong bối cảnh hệ sinh thái sông Mekong. Bằng việc ứng dụng kỹ thuật EzRAD tiên tiến và phân tích toàn diện hệ gen, nghiên cứu đã vượt qua

những hạn chế của các phương pháp truyền thống, cung cấp một khung phân tích chi tiết về cấu trúc di truyền và mô hình di cư của ba loài cá quan trọng. Những phát hiện này không chỉ làm sáng tỏ các quá trình tiến hóa và thích nghi đặc thù của từng loài, mà còn cung cấp một mô hình nghiên cứu có giá trị tham khảo cho việc đánh giá và bảo tồn đa dạng sinh học trong các hệ thống sông lớn trên toàn cầu. Đặc biệt, việc giải mã hệ gen ti thể và phân tích mã vạch RAD đã mở ra một hướng tiếp cận mới, cho phép nghiên cứu sâu hơn về vai trò của di truyền dòng mẹ trong sự phân hóa và thích nghi của các loài thủy sinh.

Ý nghĩa thực tiễn: Kết quả nghiên cứu này có ý nghĩa thực tiễn quan trọng trong việc bảo tồn và quản lý nguồn lợi thủy sản ở lưu vực sông Mekong. Việc xác định cấu trúc quần thể và mô hình di cư của các loài cá giúp các nhà quản lý đưa ra các biện pháp bảo tồn phù hợp, đảm bảo sự bền vững của các quần thể cá. Dữ liệu SNPs và hệ gen ti thể được tạo ra từ nghiên cứu này là nguồn tài nguyên di truyền quý giá, có thể được sử dụng để theo dõi sự thay đổi di truyền của các quần thể cá theo thời gian, đánh giá tác động của các yếu tố môi trường và hỗ trợ các chương trình phục hồi quần thể. Ngoài ra, việc giải mã hệ gen ti thể của cá ét mọi cũng có thể được ứng dụng trong việc phát triển các phương pháp xác định loài và theo dõi nguồn gốc sản phẩm thủy sản.

8. Cấu trúc của luận án

Luận án gồm 122 trang (không kể bìa, mục lục, danh mục các hình, bảng biểu, công trình công bố và tài liệu tham khảo, không kể phần phụ lục), bao gồm:

Mở đầu có 6 trang trình bày tính cấp thiết, mục tiêu, nội dung, tính mới, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của luận án.

Nội dung chính gồm 3 chương:

Chương 1: Tổng quan tài liệu gồm 47 trang;

Chương 2: Đối tượng, phạm vi và phương pháp nghiên cứu, gồm có 20 trang;

Chương 3: Kết quả nghiên cứu và thảo luận gồm 47 trang;

Phần kết luận và kiến nghị gồm 2 trang;

Phần các công trình công bố và tài liệu tham khảo gồm 22 trang.

Trong luận án, tổng cộng có 18 bảng, 35 hình ảnh, 293 tài liệu tham khảo tiếng Việt và tiếng Anh.

9. Những đóng góp mới của luận án

❖ ***Về nội dung nghiên cứu:***

Nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật EzRAD để phát hiện và tuyển chọn các chỉ thị SNPs đặc trưng quần thể với độ chính xác và hiệu quả vượt trội, mở ra hướng tiếp cận mới trong nghiên cứu di truyền quần thể cho 3 loài cá điển hình ở sông Mekong có lịch sử phát triển và tập tính di cư khác nhau, gồm cá chạch lá tre (vòng đời ngắn, không di cư, đại diện cho quần thể cá địa phương), cá ét mọi (vòng đời dài, di cư chằng ngấn và tùy nghi, thể hiện sự liên kết giữa các vùng sinh thái và thích nghi linh hoạt với môi trường) và cá vồ đém (vòng đời dài, di cư chằng dài, phản ánh sự kết nối giữa các vùng sinh thái và các tuyến đường di cư).

❖ *Về điểm mới và tính nổi bật:*

– *Phân tích đa dạng di truyền và cấu trúc quần thể toàn diện:* Sử dụng số lượng lớn chỉ thị SNPs được tuyển chọn từ kỹ thuật EzRAD, nghiên cứu cung cấp cái nhìn chi tiết và toàn diện về mức độ đa dạng di truyền và cấu trúc quần thể của cả 3 loài cá, vượt trội so với các nghiên cứu trước đây sử dụng các chỉ thị truyền thống, hoặc/và sử dụng chỉ thị SNPs trong nghiên cứu đơn loài.

– *Dự đoán mô hình di cư phù hợp với lịch sử phát triển:* Lần đầu tiên dữ liệu SNPs được ứng dụng và sử dụng các thuật toán đa dạng để dự đoán mô hình di cư của cá ét mọi và cá vồ đém ở LMB với độ chính xác cao, làm sáng tỏ các tuyến đường di cư và sự kết nối giữa các quần thể cá.

– *Ứng dụng dữ liệu EzRAD trong phân tích hệ gen ti thể và cấu trúc quần thể:* Nghiên cứu khai thác dữ liệu EzRAD từ nhiều cá thể để vừa tái cấu trúc hệ gen ti thể, vừa sàng lọc đồng thời các vị trí đa hình mật độ cao ở cá ét mọi. Nguồn dữ liệu này được ứng dụng hiệu quả vào việc đánh giá đa dạng di truyền và cấu trúc quần thể của loài nghiên cứu, mở ra hướng tiếp cận mới trong nghiên cứu hệ gen ti thể của các loài cá.

Đà Nẵng, ngày tháng năm 2026

Người hướng dẫn khoa học

Nghiên cứu sinh

PGS.TS. Đặng Thúy Bình TS. Ngô Thái Bích Vân

Trương Thị Oanh