

ĐA DẠNG DI TRUYỀN QUẦN THỂ CÁ MÚ CHẤM CAM *E. COIOIDES* (HAMILTON, 1822) TẠI QUẢNG NAM DỰA TRÊN KẾT QUẢ PHÂN TÍCH CHUỖI DNA CỦA VÙNG GIEN CYTOCHROME OXIDASE I DNA TY THỂ

GENETIC DIVERSITY OF THE ORANGE-SPOTTED GROUPE *E. COIOIDES* (HAMILTON, 1822) POPULATION IN QUANG NAM SEA BASED ON THE DNA ANALYSIS OF CYTOCHROME OXIDASE I DNA IN MITOCHONDRIAL THE GENETIC REGION

Nguyễn Thị Tường Vi¹, Đặng Thúy Bình^{2*}, Trương Thị Oanh²

¹Trường Đại học Sư phạm – Đại học Đà Nẵng; nttvi@ued.udn.vn

²Viện Công nghệ Sinh học và Môi trường, Trường Đại học Nha Trang, binhdt@ntu.edu.vn

Tóm tắt - Mẫu cá mú chấm cam (*E. coioides*) được thu từ 2 khu vực: thềm cỏ biển ở cửa sông Thu Bồn và Cù Lao Chàm, Quảng Nam. Kết hợp với các trình tự từ GenBank, nghiên cứu khảo sát sự đa dạng và khác biệt di truyền và xây dựng mạng lưới haplotype. Kết quả cho thấy đa dạng di truyền quần thể cá mú ở Quảng Nam thấp (8 haplotype/60 cá thể), đa dạng haplotype ($Hd = 0,338 \pm 0,079$); quần thể Cù Lao Chàm có đa dạng di truyền cao hơn. Chỉ số Fst và mạng lưới haplotype cho thấy không có sự phân tách di truyền giữa quần thể cá mú ở cửa sông Thu Bồn và Cù Lao Chàm. So sánh với các quần thể ở khu vực châu Á, quần thể cá mú Quảng Nam thể hiện sự gần gũi với các quần thể ở Đông Nam Á, quần thể Trung Quốc, Đài Loan và Ấn Độ hình thành nhóm thứ 2. Nghiên cứu cung cấp thông tin để bảo tồn và quản lý các quần thể cá mú tự nhiên.

Từ khóa - Cytochrome Oxidase I DNA ty thể (COI mtDNA); đa dạng di truyền; *E. coioides*; Haplotype; cửa sông Thu Bồn

1. Đặt vấn đề

Cá mú đen chấm nâu, hay cá mú chấm cam là tên gọi của loài cá mú có tên khoa học *E. coioides* là loài cá biển có giá trị kinh tế cao thuộc phân họ Epinephelinae (họ Serranidae), có phạm vi phân bố rộng [16]. Tuy nhiên, do việc đánh bắt quá mức và phá hủy môi trường sống, quần thể tự nhiên của cá mú chấm cam đã suy giảm trong thời gian gần đây, và loài này đã được phân loại là gần như bị đe dọa [10]. Trong những thập kỷ qua, nhiều nỗ lực đã được thực hiện để bảo tồn loài cá mú này. Đặc biệt là nuôi trồng loài cá mú chấm cam làm giảm áp lực đánh bắt cá lên quần thể tự nhiên [24]. Tuy nhiên, nghề nuôi cá mú ở Việt Nam vẫn phụ thuộc chủ yếu vào nguồn cá giống tự nhiên do tỉ lệ sống trong sinh sản nhân tạo rất thấp. Theo thống kê của FAO, nuôi trồng thủy sản toàn cầu cá mú chấm cam tăng gần 40 lần trong giai đoạn 1999 và 2008 [6]. Hiện nay, cá mú chấm cam đã trở thành một trong những loài cá mú được nuôi phổ biến ở khu vực Châu Á - Thái Bình Dương và là một loại cá thực phẩm quan trọng ở nhiều nước châu Á.

Tuy nhiên, trong nuôi trồng thủy sản do sự lai tạp ngẫu nhiên trong các trại giống, có thể gây mất khả năng kháng bệnh và giảm thích ứng với môi trường, dẫn đến giảm đa dạng di truyền quần thể [14]. Một số nghiên cứu tập trung vào khảo sát đa dạng di truyền quần thể tự nhiên ở các loài cá khác nhau, trong đó có cá bơn (*Scophthalmus maximus*),

Abstract - Orange-spotted grouper (*E. coioides*) is high economic marine fish species with potential for sustainable aquaculture development. *E. coioides* (n=60) are collected from two locations: seagrass beds at Thu Bon estuary, and Cu Lao Cham, Quang Nam. Combined with GenBank sequencings, genetic diversity, population differentiation, and haplotype network are investigated. The results show that the genetic diversity of *E. coioides* population in Quang Nam is low (8 haplotypes/60 individuals), haplotype diversity ($Hd = 0.338 \pm 0.079$), in which Cu Lao Cham population has higher genetic diversity. Fst value and haplotype network show no genetic isolation between *E. coioides* populations at Thu Bon River and Cu Lao Cham. Compared to the Asian populations, *E. coioides* in Quang Nam show close relation to fish populations in Southeast Asia Chinese, Taiwanese and Indian populations have formed the second group. The study provides information for the conservation and management of natural grouper populations, and is used as a basis for breeding programs, contributing to the development of sustainable grouper culture.

Key words - COI mtDNA; genetic diversity; *E. coioides*; Haplotype; Thu Bon estuary

cá hồi Đại Tây Dương (*Salmo salar*), cá hồng (*Pagrus major*), cá chép (*Cyprinus carpio*) sử dụng chỉ thị microsatellite và DNA ty thể [3, 19, 21, 22].

Mặc dù, cá mú chấm cam đóng vai trò quan trọng trong nuôi trồng thủy sản và thương mại ở các nước Đông Nam Á nói chung và Việt Nam nói riêng, tuy vậy nghiên cứu về di truyền quần thể vẫn còn hạn chế. Thông tin về đa dạng di truyền và cấu trúc di truyền quần thể của cá mú là rất quan trọng và có thể sử dụng trong bảo tồn, quản lý các quần thể tự nhiên, đồng thời làm cơ sở cho các chương trình chọn giống, góp phần phát triển nghề nuôi bền vững.

Nghiên cứu này khảo sát đa dạng di truyền và cấu trúc di truyền quần thể cá mú *E. coioides* tại vùng cửa sông Thu Bồn và Cù Lao Chàm nhằm phát hiện mối liên kết sinh thái của cá mú và các khu vực phân bố tự nhiên.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng, địa điểm và phương pháp thu mẫu

Cá mú *E. coioides* cỡ giống (n=30, 24 – 34 mm) được thu ngẫu nhiên tại rừng ngập mặn Bảy Mẫu (2 điểm), thềm cỏ biển Gò Hí (2 điểm) và cửa sông Thu Bồn (1 điểm) vào tháng 08/2017. Cá thương phẩm (n=30, 420 – 550 mm) được thu từ những ngư dân khai thác cá mú bằng nghề câu và lặn ở phía đông đảo Cù Lao Chàm, Quảng Nam từ tháng 11/2017 – 03/2018. Bản đồ vị trí thu mẫu được thể hiện ở Hình 1.



Hình 1. Vị trí thu mẫu cá mú *E. coioides* tại cửa sông Thu Bồn và Cù Lao Chàm, Quảng Nam (Tam giác thể hiện các điểm thu)

Mẫu cá mú giống và thương phẩm được phân loại dựa theo khóa phân loại và mô tả của Heemstra and Randall [9]; Nakabo [15] và Nguyễn Nhật Thi [18]. Mẫu mô cơ của từng cá thể được bảo quản trong cồn 95%, vận chuyển về Phòng thí nghiệm Sinh học phân tử, Trường Đại học Nha Trang cho các nghiên cứu di truyền.

2.2. Nghiên cứu di truyền quần thể cá mú chấm cam *E. coioides*

2.2.1. Tách chiết DNA, PCR và giải trình tự

DNA tổng số được tách chiết từ 30 mg mô cơ của từng cá thể cá mú bằng bộ kit Wizard® Genomic DNA Purification (Promega, USA) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Đoạn gen COI của DNA ty thể (COI mtDNA) được khuếch đại với cặp mồi HCO và LCO [7]. Phản ứng PCR được tiến hành với tổng thể tích 25 μ l gồm: 1 μ l khuôn DNA, 5 μ l Green Gotaq® Flexi Buffer 5X, 3 μ l MgCl₂ 25mM, 1 μ l dNTPs, 1 μ l mỗi mồi (10 mM), 0,2 μ l Taq polymerase (5 Unit/ μ l) và nước cho đủ thể tích. Phản ứng được chạy trên máy luân nhiệt Icycler (Bio-Rad) theo chu trình nhiệt độ: Biến tính ban đầu tại 94°C trong 3 phút, sau đó là 35 chu kỳ của 94°C trong 30 giây, 42°C trong 45 giây, 72°C trong 30 giây, cuối cùng là bước kéo dài tại 72°C trong 5 phút. Sản phẩm PCR được điện di kiểm tra kết quả trên gel agarose 1,5% nhuộm ethidium bromide.

Sản phẩm PCR được tinh sạch bằng bộ kit Wizard SV Gel and PCR clean-up Sytem của Promega theo hướng dẫn của nhà sản xuất và sử dụng làm khuôn trực tiếp cho phản ứng giải trình tự theo nguyên tắc Dye – labels dideoxy terminator với các đoạn mồi tương tự như phản ứng PCR theo chương trình luân nhiệt như sau: 96°C trong 20 giây, 50°C trong 20 giây, cuối cùng là 60°C trong 4 phút. Sản phẩm sau đó được phân tích bằng thiết bị ABI Prism 3.700 DNA Analyser.

2.2.2. Xử lý trình tự và xây dựng mạng lưới haplotype

- Kết nối trình tự

Các trình tự *E. coioides* được kết nối bằng phần mềm Geneious Pro v5.5.7 [12]. Sau đó, các trình tự được kiểm chứng bằng chương trình Blast Nucleotide trên Genbank (ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi). Các trình tự được đóng hàng bằng phần mềm BioEdit v7.0.1 [8]. Sử dụng tính năng Clustax, tiến hành kiểm tra và cắt bỏ một số vị trí để đạt được chiều dài chung cho tất cả các trình tự.

- Phân tích đa dạng di truyền (Genetic diversity) và sự

khác biệt quần thể

Các phân tích được thực hiện dựa trên tập hợp của 60 trình tự gen COI mtDNA *E. coioides* được thu tại cửa sông Thu Bồn và Cù Lao Chàm (Quảng Nam). Đa dạng di truyền giữa các quần thể *E. coioides* được tính bằng tổng số haplotype (Nh), số lượng của vị trí đa hình (S), đa dạng haplotype (Hd) và đa dạng nucleotide (π), số đột biến (η) và số nucleotide khác biệt trung bình (k) sử dụng phần mềm DnaSP v5.10 [23]. Chỉ số khác biệt di truyền (Fst) được xác định bằng phần mềm Alerquin v3.5 [5] với 95% giá trị tin cậy.

- Xây dựng mạng lưới haplotype

Cây đa dạng loài được xây dựng từ 2 nguồn dữ liệu: i) 60 trình tự *E. coioides* từ nghiên cứu hiện tại; ii) 60 trình tự hiện tại và 28 trình tự từ Genbank của *E. coioides* từ Trung Quốc, Đài Loan, Phillipines, Indonesia, Malaysia, Iran và Ấn Độ (Bảng 1). Mạng lưới haplotype của *E. coioides* được xây dựng sử dụng phần mềm Network v5.0 [2]. Phần mềm này sử dụng dữ liệu đầu vào được tạo ra từ phần mềm DnaSP v5.10 và sử dụng thuật toán Median Joining để tính, chức năng Draw network cho phép tự động vẽ ra mạng lưới haplotype.

Bảng 1. Thông tin trình tự COI mtDNA của *E. coioides* từ dữ liệu Genbank

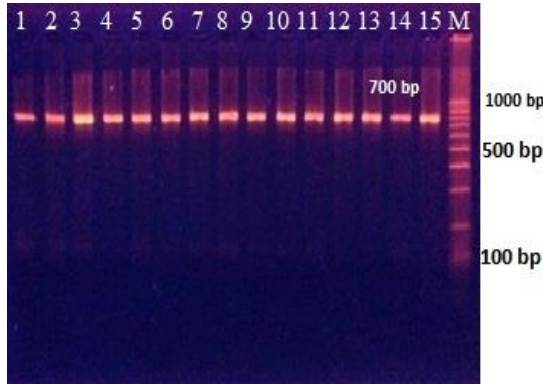
TT	Kí hiệu mẫu	Mã số Genbank	Địa điểm thu mẫu	Tác giả
1	EC_TQ1	KY371466	Trung Quốc	Hou and Xie (2017)
2	EC_TQ2	JN242466	Trung Quốc	Zhang and Hanner (2012)
3	EC_TQ3	JN242467	Trung Quốc	Zhang and Hanner (2012)
4	EC_TQ4	JN242468	Trung Quốc	Zhang and Hanner (2012)
5	EC_TQ5	KY315403	Trung Quốc	Xu (2017)
6	EC_Phil1	JN021214	Philippines	Quilang et al. (2016)
7	EC_Phil2	KJ013040	Philippines	Marucot et al. (2014)
8	EC_Phil3	KF809398	Philippines	Norcio et al. (2014)
9	EC_Phil4	KF714941	Philippines	Juguilon et al. (2014)
10	EC_Phil5	KU668640	Philippines	Cabana (2017)
11	EC_Indo1	KP856812	Indonesia	Abdullah and Rehbein (2017)
12	EC_Indo2	KP856810	Indonesia	Abdullah and Rehbein (2017)
13	EC_Indo3	KP856811	Indonesia	Abdullah and Rehbein (2017)
14	EC_Mal1	KU722929	Malaysia	Abdul et al. (2017)
15	EC_Mal2	KU722928	Malaysia	Abdul et al. (2017)
16	EC_Mal3	KU722927	Malaysia	Abdul et al. (2017)
17	EC_Mal4	KR863507	Malaysia	Abdul et al. (2016)
18	EC_Mal5	KR863506	Malaysia	Abdul et al. (2016)
19	EC_Mal6	KY849518	Malaysia	Azmir and Esa (2017)
20	EC_Mal7	JN208606	Malaysia	Chu et al. (2016)
21	EC_DL	KU943502	Đài Loan	Chang et al. (2016)
22	EC_India1	KJ607965	Ấn Độ	Mandal et al. (2014)
23	EC_India2	KX090374	Ấn Độ	Chaithanya et al. (2016)
24	EC_India3	KM891746	Ấn Độ	Megarajan et al. (2015)
25	EC_India4	KM226248	Ấn Độ	Megarajan et al. (2015)
26	EC_India6	JX674989	Ấn Độ	Sachithanandam et al. (2012)
27	EC_Iran1	HQ149843	Iran	Asgharian and Elahi (2016)
28	EC_Iran2	HQ149842	Iran	Asgharian and Elahi (2016)

3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

3.1. Khuếch đại đoạn gen COI mtDNA

Sản phẩm PCR của đoạn gen COI mtDNA của *E. coioides* thu được là đoạn DNA có kích thước khoảng

700 bp phù hợp với tính toán lý thuyết (Hình 2).



Hình 2. Kết quả điện di sản phẩm PCR của các mẫu cá mú chấm cam

Giếng 1-15: sản phẩm PCR, Giếng M: DNA marker 100 bp

3.2. Đa dạng di truyền và sự khác biệt quần thể *Ephinephelus coioides*

Phân tích được tiến hành với 60 trình tự COI mtDNA của *E. coioides* được thu từ 2 vùng địa lý. Sau khi so sánh và đóng hàng, 620 bp được sử dụng cho những phân tích về di truyền. Kết quả thu được tổng số haplotype là 8 với đa dạng haplotype $Hd=0,338\pm 0,079$, đa dạng nucleotide $\pi=0,00069$, số lượng vị trí đa hình $S=7$, số đột biến $\eta=7$, số nucleotide khác biệt $k=0,424$.

Cù Lao Chàm thể hiện sự đa dạng di truyền cao hơn quần thể ở sông Thu Bồn, có 6 haplotype ($Hd=0,3632\pm 0,111$, $\pi=0,00075$), $S=6$, số đột biến $\eta=6$, $k=0,462$. Sông Thu Bồn thu được 5 haplotype ($Hd=0,3080\pm 0,107$, $\pi=0,00062$), $S=3$, số đột biến $\eta=3$, và $k=0,386$ (Bảng 2).

Chỉ số khác biệt di truyền F_{st} cho thấy, không có sự phân tách giữa 2 quần thể Thu Bồn và Cù Lao Chàm ($F_{st}=0,01373$, $P>0,05$).

Bảng 2. Kết quả phân tích đa dạng di truyền quần thể *E. coioides*

Vùng thu mẫu	Kích thước mẫu	Đa dạng di truyền					
		Nh	Hd	π	S	η	k
Cù Lao Chàm	30	6	$0,3632\pm 0,111$	0,00075	6	6	0,462
Thu Bồn	30	5	$0,3080\pm 0,107$	0,00062	3	3	0,386
Cả 2 vùng	60	8	$0,338\pm 0,079$	0,00069	7	7	0,424

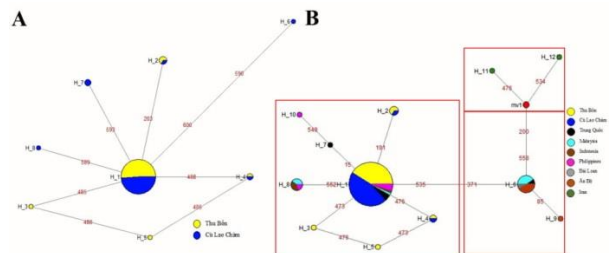
3.3. Mạng lưới haplotype của *E. coioides*

Mạng lưới haplotype (Hình 3A) cho thấy, mối quan hệ gần gũi về mặt di truyền giữa 2 quần thể *E. coioides* sông Thu Bồn và Cù Lao Chàm. Cả 2 quần thể trong nghiên cứu hiện tại đều có sự chia sẻ các haplotype chung (H1) và có sự kết nối giữa các haplotype. Nguyên nhân của sự kết nối này có thể là do vùng biển Cù Lao Chàm và lưu vực Thu Bồn - Cửa Đại có mối giao lưu thủy vực trực tiếp thường xuyên qua chế độ thủy triều, gió và dòng chảy, đồng thời Cù Lao Chàm chịu tác động rất mạnh của nước và phù sa sông Thu Bồn trong mùa mưa lũ. Vì vậy, về phương diện sinh học và môi trường, có thể nói lưu vực sông Thu Bồn - Cửa Đại và Cù Lao Chàm có mối liên quan mật thiết với nhau [17]. Bên cạnh đó, cá mú chấm cam đẻ trứng ngoài

khơi và trứng có thể trôi qua giai đoạn trôi nổi [6] ấu trùng và cá con có thể sinh sống trong các thảm cỏ biển ở Cửa sông Thu Bồn. Khoảng cách địa lý giữa Cù Lao Chàm và cửa sông Thu Bồn khoảng 17 km tạo điều kiện cho sự phát tán nguồn gen (cá trưởng thành có thể di chuyển đến sinh sống ở rạn san hô) giữa khu vực cửa sông và Cù Lao Chàm.

Mặc dù, nghiên cứu về cấu trúc quần thể và đa dạng di truyền của cá mú chấm cam ở Việt Nam chưa được thực hiện, tuy nhiên sự kết nối quần thể được thể hiện ở một số sinh vật biển. Dựa vào vùng gen điều khiển (Control region-CR) và 16S của DNA ti thể, sự kết nối rộng rãi giữa các quần thể cá trích *Sardinella gibbosa* dọc theo bờ biển Việt Nam (Cát Bà, Đà Nẵng và Khánh Hòa), ngoại trừ quần thể Phú Quốc được ghi nhận. Nhóm tác giả cho rằng, hệ thống dòng chảy đại dương và dòng chảy sông Mê Kông được cho là rào cản sinh học cho sự phát tán ấu trùng và sự hình thành các quần thể cá trích [4]. Nguyễn Thị Tường Vi [20] ghi nhận, quần đàn cá địa công *Siganus guttatus* ở Đà Nẵng, Cù Lao Chàm và cửa sông Thu Bồn không có sự khác nhau về mặt di truyền dựa vào chỉ thị phân tử COI mtDNA. Tác giả cũng cho rằng, cá địa công *S. guttatus* là loài sống ở rạn san hô và có đến 24 ngày trôi nổi phát triển cá bột [11] nên sự khác biệt quần thể trong một khoảng cách địa lý nhỏ là không có khả năng xảy ra.

Khảo sát cấu trúc quần thể *E. coioides* ở Quảng Nam với các khu vực châu Á (Hình 3B) cho thấy 3, nhóm haplotype chính. Nhóm 1: Các quần thể *E. coioides* từ Quảng Nam (sông Thu Bồn và Cù Lao Chàm) thể hiện mối quan hệ di truyền gần gũi với các quần thể Trung Quốc, Phillipines, Malaysia và Indonesia (chia sẻ haplotype chung H1). Nhóm 2: là các quần thể cá từ Đài Loan, Iran và Trung Quốc (chia sẻ haplotype chung H6). Riêng quần thể Iran phân tách và tạo thành Nhóm 3 (đại diện bằng haplotype H11 và H12).



Hình 3. Mạng lưới haplotype xây dựng từ trình tự gen COI mtDNA của cá mú chấm cam

A): Tại sông Thu Bồn và Cù Lao Chàm, B: khu vực châu Á. Kích cỡ của vòng tròn thể hiện số lượng haplotype. Con số trên các nhánh thể hiện các bước đột biến. Màu sắc tương ứng với từng khu vực. Hình chữ nhật thể hiện các nhóm haplotype

Như vậy, xét ở khu vực châu Á, quần thể *E. coioides* Quảng Nam chia sẻ thông tin di truyền với các quần thể thuộc Đông Nam Á và biển Đông. Sự kết nối quần thể này không được ghi nhận giữa các quần thể Trung Quốc với quần thể Đông Nam Á (Indonesia và Malaysia [25], Thái Lan và Indonesia sử dụng chỉ thị Microsatellite [1]). Đối với chỉ thị COI mtDNA, quần thể Đài Loan, Trung Quốc và Ấn Độ (nhóm 2) cho thấy, có sự khác biệt với các quần thể Đông Nam Á, tuy nhiên, sự trao đổi thông tin di truyền vẫn xảy ra do một cá thể từ quần thể Trung Quốc chia sẻ haplotype chung với các quần thể từ Đông Nam Á.

Điều này có thể do hệ thống dòng chảy ở biển Đông hỗ trợ việc phát tán ấu trùng trong mùa sinh sản hàng năm của cá mú chấm cam.

4. Kết luận

Mức độ đa dạng di truyền quần thể *E. coioides* ở 2 khu vực thu mẫu dựa trên chỉ thị COI mtDNA được xác định ở mức thấp (8 haplotype/60 trình tự) với chỉ số đa dạng haplotype là $0,338 \pm 0,079$, và không có sự phân tách về mặt địa lý ($F_{st} = 0,01373$, $P > 0,05$). Mạng lưới haplotype cho thấy quần thể *E. coioides* ở Cù Lao Chàm và sông Thu Bồn thể hiện mối quan hệ gần gũi về mặt di truyền, và có sự kết nối cao với các quần thể trong khu vực Đông Nam Á.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Sở Khoa học Công nghệ Quảng Nam – UBND tỉnh Quảng Nam đã cấp kinh phí thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Antoro S., Na-Nakorn U., Koedprang W. (2006), "Study of genetic diversity of orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*, from Thailand and Indonesia using microsatellite markers". *Marine Biotechnology*, 8(1), 17–26.
- [2] Bandelt H. J., Forster P., and Rohl A. (1999). "Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies". *Molecular Biology and Evolution*, 16(1), 37–48.
- [3] Coughlan J. P., Imsland A. K., Galvin P. T., Fitzgerald R. D., Naevda G., Cross T. F. (1998), "Microsatellite DNA variation in wild populations and farmed strains of turbot from Ireland and Norway: A preliminary study". *Journal of Fish Biology*, 52(5), 916–922.
- [4] Đặng Thủy Bình, Nguyễn Thị Bảo Châu, Bùi Kim Lý (2014). "Nghiên cứu cấu trúc quần thể loài cá trích *Sardinella gibbosa* Bleeker, 1849 (Clupeiformes: Clupeidae) tại vùng biển Việt Nam". *Tạp chí Sinh học*, 36(1se), 180–188.
- [5] 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(3), 564–567.
- [6] FAO, 2010. "Cultured Aquatic Species Information Programme, *Epinephelus coioides*". FAO Fisheries and Aquaculture Department: Rome, Italy (2010) Available online: <http://www.fao.org> (accessed on 28 June 2011).
- [7] 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(5), 294–299.
- [8] Hall T. A. (1999). "BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT". *Nucleic Acids Symposium Series*, 41, 95–98.
- [9] Heemstra P. C., Randall J. E. (1993) FAO species catalogue. "Groupers of the world (Family Serranidae, Subfamily Epinephelinae), An annotated and illustrated catalogue of the grouper, rockcod, hind, coral grouper and lyretail species known to date". *FAO Fisheries Synopsis*, 125, Vol. 16. Rome, FAO, 382 pages.
- [10] IUCN red list of threatened species. IUCN: Cambridge, UK (2011) Available online: <http://www.iucnredlist.org> (accessed on 28 June 2011).
- [11] Juario J. V., Duray M. N., Duray V. M., Nacario J. F. and Almendras J. M. E. (1985). "Breeding and larval rearing of the rabbitfish, *Signanus guttatus* (Bloch)". *Aquaculture*, 44(2), 91–101.
- [12] Kearse M., Moir R., Wilson A., Stones-Havas S., Cheung M., Sturrock S., et al. (2012). "Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data". *Bioinformatics*, 28(12), 1647–1649.
- [13] Kohlmann K., Kersten P., Flajshans M. (2005) "Microsatellite-based genetic variability and differentiation of domesticated, wild and feral common carp (*Cyprinus carpio* L.) populations". *Aquaculture*, 247(1-4), 253–266.
- [14] Lind C. E., Evans B. S., Knauer J., Taylor J. J., Jerry D. R. (2009). "Decreased genetic diversity and a reduced effective population size in cultured silver-lipped pearl oysters (*Pinctada maxima*)". *Aquaculture*, 286(1-2), 12–19.
- [15] Nakabo, T. (Ed.) (2002). "Fishes of Japan: with pictorial keys to the species". (Vol. 1). Tokai University Press.
- [16] Nelson J. S. (1994). "Fishes of the World". John Wiley and Sons: New York, NY, USA.
- [17] Nguyễn Hữu Đại, Phạm Việt Tích (2013). "Hà lưu sông Thu Bồn-Cù Lao Đại, tiềm năng sinh thái của Quảng Nam", <https://rungduabaymau.com/news/Kinh-te/Ha-luu-song-Thu-Bon-Cua-Dai-tiem-nang-sinh-thai-cua-Quang-Nam-490.html>.
- [18] Nguyễn Nhật Thi (1991). "*Cá biển Việt Nam, Cá xương vịnh Bắc Bộ*". NXB Khoa học - Kỹ thuật, Hà Nội.
- [19] T.T. Nguyen (2012). "Strong population genetic structure and its management implications in the mud carp *Cirrhinus molitorella*, an indigenous freshwater species subject to an aquaculture and culture-based fishery". *Journal of Fish Biology* (2012) 80, 651–668.
- [20] Nguyễn Thị Tường Vi (2017). "Nguồn lợi cá trong các hệ sinh thái ở vùng biển ven bờ Quảng Nam – Đà Nẵng". *Luận án Tiến sĩ*, Học viện Khoa học Công nghệ, 151 trang.
- [21] Norris A. T., Bradley D. G., Cunningham E. P. (1999), "Microsatellite genetic variation between and within farmed and wild Atlantic salmon (*Salmo salar*) populations". *Aquaculture*, 180(3-4), 247–264.
- [22] Perez-Enriquez R., Takagi M., Taniguchi N. (1999), "Genetic variability and pedigree tracing of a hatchery-reared stock of red sea bream (*Pagrus major*) used for stock enhancement, based on microsatellite DNA markers". *Aquaculture*, 173(1-3), 413–423.
- [23] Rozas J., Sanchez-DelBarrio J. C., Messeguer X., Rozas R. (2003). "DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods". *Bioinformatics*, 19(18), 2496–2497.
- [24] Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipiński A., Kumar S. (2013). "MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis". *Molecular Biology and Evolution*, 30(12), 2725–2729.
- [25] Wang L, Meng Z, Liu X, Zhang Y, Lin H. (2011), "Genetic diversity and differentiation of the orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) between and within cultured stocks and wild populations inferred from microsatellite DNA analysis". *International Journal of Molecular Sciences*, 12(7), 4378–94.

(BBT nhận bài: 02/10/2019, hoàn tất thủ tục phản biện: 29/10/2019)