

XÁC ĐỊNH MỘT SỐ LOÀI ĐỘNG VẬT THÂN MỀM VÙNG BIỂN QUẦN ĐẢO TRƯỜNG SA, VIỆT NAM DỰA TRÊN TRÌNH TỰ NUCLEOTIDE GEN TY THỂ 16S rDNA

CÙ NGUYỄN ĐỊNH ⁽¹⁾, NGUYỄN TRỌNG DÂN ⁽¹⁾, TRƯƠNG BÁ HẢI ⁽¹⁾,
NGUYỄN ĐĂNG HỘI ⁽¹⁾, LÊ QUANG MÃN ⁽¹⁾, DƯƠNG THỊ KIM CHI ⁽¹⁾, TRẦN VĂN TIẾN ⁽¹⁾,
ĐOÀN THỊ THANH HƯƠNG ⁽²⁾, NGUYỄN THỊ BÍCH NGÀ ⁽²⁾, NGUYỄN THỊ NGÀ ⁽³⁾

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

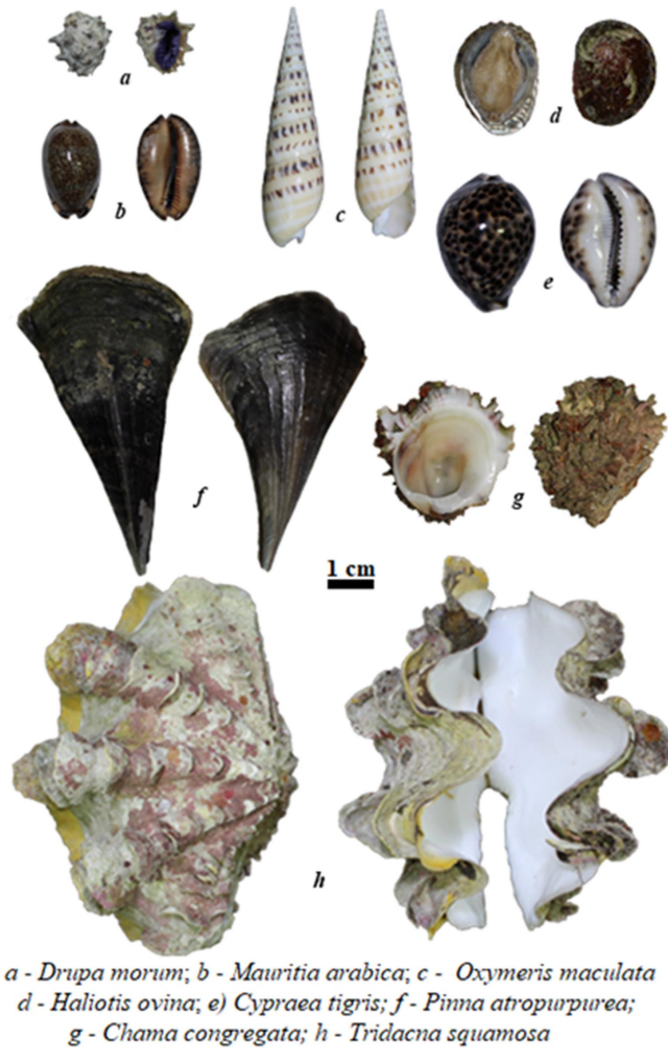
Phân loại học là bước cơ bản trong việc đánh giá đa dạng sinh học cũng như bảo tồn đa dạng sinh học các loài sinh vật. Phân loại bằng hình thái giải phẫu so sánh là phương pháp truyền thống được sử dụng phổ biến. Tuy nhiên, việc phân loại bằng hình thái thường bị hạn chế như các loài có đặc điểm hình thái giống nhau, các loài lưỡng tính, hình thái loài biến đổi theo các giai đoạn sinh trưởng khác nhau,...[1]. Mã vạch DNA mới được phát triển từ năm 2003 và được xem như là một công cụ tốt cho việc định loại sinh vật [2]. Số lượng mã vạch DNA và các công bố liên quan đến mã vạch DNA của các loài sinh vật tăng một cách nhanh chóng trong những năm gần đây. Ứng dụng mã vạch DNA được sử dụng rộng rãi trong định danh các loài động vật, thực vật, vi sinh vật,... Mã vạch DNA là một công cụ hữu ích cho nghiên cứu sinh thái, tiến hóa và bảo tồn [3, 4].

Động vật thân mềm ở biển Việt Nam khá đa dạng và phong phú với khoảng hơn 2200 loài ghi nhận đến nay. Trong đó, thân mềm chân bụng khoảng hơn 1300 loài và hai mảnh vỏ khoảng 815 loài. Chúng phân bố rộng rãi tại các khu vực ven biển và đảo khu vực biển Đông đến Tây Nam Bộ [5]. Tại vùng biển quần đảo Trường Sa, Việt Nam các dữ liệu về động vật thân mềm đã được nghiên cứu khá rời rạc từ thế kỉ XX bởi người Pháp. Đến năm 1996, Lăng Văn Kềng đã công bố 141 loài chân bụng tại 4 đảo thuộc quần đảo Trường Sa [6]. Đầu thế kỉ XXI, các chương trình nghiên cứu về đa dạng sinh học đã xác định được tại khu vực quần đảo Trường Sa có khoảng 443 loài với 324 loài chân bụng, 106 loài hai mảnh vỏ, 10 loài song kinh, 3 loài chân đầu [7, 8]. Tuy nhiên, các nghiên cứu này phân loại chủ yếu dựa ra danh sách thành phần loài và phân loại vẫn dựa trên đặc điểm hình thái giải phẫu, so sánh của các mẫu vật mà chưa đi sâu vào ứng dụng sinh học phân tử để định loại. Để góp phần định danh chính xác các loài động vật thân mềm, bài báo này trình bày kết quả định loại 5 loài thân mềm chân bụng và 3 loài hai mảnh vỏ thu thập tại vùng biển quần đảo Trường Sa, Việt Nam sử dụng gen ty thể 16S rDNA. Đây là các loài có giá trị về thực phẩm, trang trí, và có chứa các chất có hoạt tính sinh học phục vụ cho y - dược.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng và địa điểm nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu: 8 mẫu các loài động vật thân mềm bao gồm 5 loài chân bụng và 3 loài hai mảnh vỏ được thu thập tại vùng biển quần đảo Trường Sa (Hình 1). Các mẫu được thu thập bằng phương pháp lặn snorkeling và scuba diving tại các vị trí trên vùng biển quần đảo Trường Sa (Bảng 1).



Hình 1. Hình ảnh 8 mẫu động vật thân mềm thu tại quần đảo Trường Sa, Việt Nam

Bảng 1. Vị trí các địa điểm thu mẫu

TT	Vị trí thu mẫu	Tọa độ	Kí hiệu	Địa hình và sinh cảnh
1	Trường Sa Đông	8°55'48"N 112°21'10"E	TS-07-09	Đảo chìm; Nền đáy cát và rạn san hô
2	Đá Tây A	8°51'53"N 112°15'27"E;	TS-07-25	Đảo nổi; Rạn san hô
3	An Bang	7°53'34"N 112°55'18"E	TS-07-15	Đảo nổi; Nền đáy cát và rạn san hô

TT	Vị trí thu mẫu	Tọa độ	Kí hiệu	Địa hình và sinh cảnh
4	Đá Lớn A	10°01'23"N 113°51'19"E	TS-07-17	Đảo nổi; Rạn san hô
5	Song Tử Tây	11°25'37"N 114°19'40"E	TS-07-18	Đảo nổi; Rạn san hô viên bờ
6	Nam Yết	10°10'41"N 114°21'50"E	TS-07-19	Đảo nổi; Rạn san hô viên bờ
7	Phan Vinh	8°58'30"N 113°42'23"E	TS-07-22	Đảo cát nổi; Rạn san hồ bao quanh đảo
8	Sinh Tồn	9°54'10,4"N 114°33'44,9"E	TS-07-14	Đảo chìm; Rạn san hồ viên bờ

Các mẫu mô ở chân đối với các loài chân bụng và mô cơ khép vỏ đối với các loài hai mảnh vỏ được thu thập lưu giữ trong cồn tuyệt đối ngay tại hiện trường và bảo quản lâu dài trong tủ lạnh ở điều kiện -20°C. Các mẫu sau khi lấy mô, chụp hình, phân loại, được cố định trong dung dịch formaldehyde 5% trong 24 giờ và chuyển sang bảo quản trong cồn 70% và lưu giữ tại Phòng Sinh thái nước, Chi nhánh Phía Nam, Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga.

Các loài được định danh trên cơ sở các đặc điểm hình thái và giải phẫu so sánh dựa trên các tài liệu về động vật thân mềm Việt Nam và trên thế giới [9, 10, 11]. Danh pháp khoa học và hệ thống phân loại được cập nhật sử dụng cơ sở dữ liệu về động vật thân mềm [12].

2.2. Phương pháp nghiên cứu

* Phương pháp tách chiết DNA tổng số

DNA tổng số của các mẫu nhuyễn thể được tách chiết bằng bộ kit DNeasy Tissue Kit - hãng QIAgen (Mỹ) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Mẫu được nghiền trong bộ cối chày nhựa để phá vỡ mô tạo thành huyền dịch (loại bỏ RNA bằng RNase-A). Loại bỏ protein bằng cách bổ sung enzym proteinase K có tác dụng phân huỷ protein). Bảo quản ở -20°C, để sử dụng làm khuôn cho phản ứng PCR nhân bản đoạn gen cần nghiên cứu với các cặp mồi đặc hiệu gen ty thể 16S rDNA.

* Phương pháp thiết kế các cặp mồi

Đoạn gen 16S rDNA được khuếch đại bằng cặp mồi chung 16S (Integrated DNA Technologies). Trong đó, cặp mồi OCHEO16S-F - OCHEO16S-R được thiết kế đặc hiệu cho loài TS-07-14; cặp mồi HAU16S-F - HAU16S-R cho loài TS-07-25; và cặp mồi 16SAF - 16SSAR chung cho các loài TS-07-09, TS-07-15, TS-07-17, TS-07-18, TS-07-19, và TS-07-22 (Bảng 2).

Bảng 2. Trình tự thiết kế các cặp mồi sử dụng trong nghiên cứu

TT	Tên các mồi	Trình tự (5' - 3')	Độ dài (bp)	Kí hiệu
1	16SAF	5'-CCGGTCTGAACTCAGATCACGT-3'	565	TS-07-09; TS-07-17; TS-07-18; TS-07-19; TS-07-22
2	16SAR	5'-GTTTACCAAAAACATGGCTTC- 3'		
3	OCHEO 16S-F	5'- AACCCTYRAAGACTGCTGC - 3'	600	TS-07-14; TS-07-15
4	OCHEO 16S-R	5'- TACTCTGACCGTGCAAAGG -3'		
5	HAU 16S-F	5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3'	600	TS-07-25
6	HAU 16S-R	5'-CCGGTYTGAAGTCAGATCAYGT-3'		

Ghi chú: (Y=T/C; R=A/G).

*** Phương pháp thực hiện phản ứng PCR**

Khuôn DNA tổng số được sử dụng cho khuếch đại vùng gen 16S rDNA bằng kỹ thuật PCR được tiến hành theo mô tả của Sambrook et al., 1989 [13].

Gen 16S rDNA của ty thể được khuếch đại bằng PCR để thu nhận các sản phẩm mong muốn. Đoạn DNA ty thể vùng mã hóa cho tiểu phần 16S rDNA có kích thước phân tử khoảng 600 bp được khuếch đại bằng PCR sử dụng cặp mồi chung và cả cặp mồi đặc hiệu cho riêng mỗi loài.

Phản ứng PCR được tiến hành với tổng thể tích 50 µl (bao gồm 20 ng khuôn DNA, Taq buffer 1X, 0,25 nM mỗi loại dNTP, 0,2 pM mỗi mồi, 2 mM MgCl₂ và 1 đơn vị Taq polymerase) trên máy luân nhiệt Icyclor (Bio-rad) (Bảng 3).

Bảng 3. Thành phần và chu trình nhiệt phản ứng PCR gen 16S rDNA

Thành phần	Thể tích	Chu trình nhiệt
PCR master mix	12,5 µl	94°C - 5' 94°C - 30" 50°C - 1' 72°C - 1' 72°C - 5' 35 chu kỳ
Khuôn DNA	3 µl	
Mồi xuôi (10pmol/µl)	2 µl	
Mồi ngược (10pmol/µl)	2 µl	
DMSO	2 µl	
Nước	28,5 µl	
Tổng thể tích	50 µl	4°C - Bảo quản sản phẩm

Sau khi khuếch đại PCR thu được sản phẩm PCR, sản phẩm được điện di trên gel agarose 1%, thời gian chạy điện di 30 phút, bản gel được nhuộm Ethidium bromua (EtBr). Kết quả được ghi nhận hình ảnh bằng phương pháp soi gel trên hệ thống tự động Gendoc và phần mềm Quantity One® (hãng Bio-rad).

Sản phẩm có kết quả đúng với kích thước dự kiến sẽ được tinh sạch bằng QIAquick PCR Purification Kit (hãng Qiagen - USA) để làm nguyên liệu cho bước đọc trình tự gen tiếp theo.

*** Phương pháp giải trình tự gen**

Các sản phẩm PCR của vùng gen 16S rRNA sau đó được giải trình tự trực tiếp cả 2 chiều xuôi và ngược với các môi trình bày ở Bảng 2 bằng phương pháp Sanger dựa trên nguyên lý dideoxy terminator trên máy ABI PRISM® 3100 Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Mỹ) tại Công ty Maccrogen - Hàn Quốc.

Trình tự nucleotide được kiểm tra đối chiếu với cơ sở dữ liệu trình tự của Genbank bằng công cụ trực tuyến (BLAST - Basic Local Alignment Search Tool - công cụ tìm kiếm các trình tự tương đồng) [14] để tìm kiếm các trình tự gen 16S rDNA tương đồng đã được công bố trong Ngân hàng gen (Genbank). Các trình tự nucleotide gen 16S rDNA được xử lý và sắp xếp bằng phần mềm tin sinh học GeneDoc 2.7 [15].

Cây phát sinh chủng loại được xây dựng dựa trên trình tự nucleotide 16S rDNA của 8 loài trong nghiên cứu này và 21 trình tự nucleotide 16S rDNA của các loài đã được công bố trên ngân hàng gen sử dụng phương pháp kết nối liên kề - Neighbor Joining (NJ) với 1000 vòng lặp dựa trên số liệu thu được bằng phần mềm MEGA X [16].

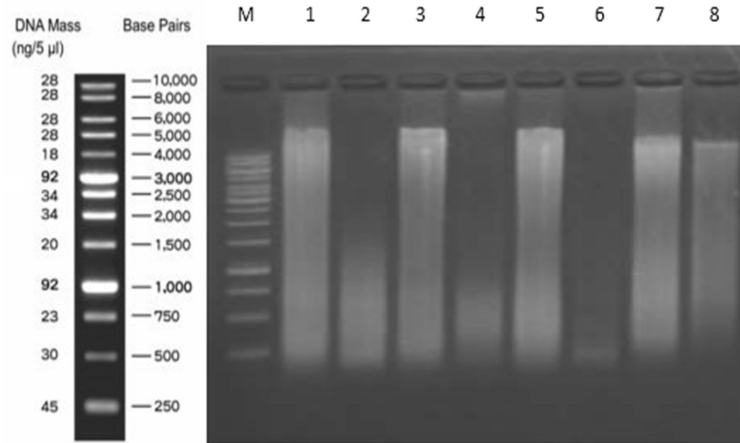
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả tách chiết DNA tổng số khuếch đại PCR gen 16S rDNA

Các mẫu nhuyễn thể sau khi tách chiết DNA tổng số được điện di kiểm tra trên agarose 1%. Mẫu được đánh số thứ tự từ mẫu số 1 đến mẫu số 8 (Hình 1). Các mẫu này được sử dụng làm khuôn để thực hiện khuếch đại PCR gen 16S rDNA của gen ty thể và giải trình tự để làm cơ sở xây dựng cây phả hệ xác định các loài.

Nồng độ DNA tách chiết được kiểm tra bằng máy quang phổ Nanodrop (Implen GmbH, Đức). Độ tinh sạch của DNA được xác định ở bước sóng A_{260/280} nm cho thấy tất cả các mẫu DNA tách chiết được có nồng độ và độ tinh sạch khá cao lần lượt dao động trong khoảng 122 - 197 (ng/μl) và 1,731 - 2,011 (A_{260/280} nm) (Bảng 4).

DNA tổng số của các mẫu sau khi kiểm tra nồng độ và độ tinh sạch trên gel agarose 1% được dùng làm khuôn cho phản ứng khuếch đại gen 16S rDNA (Hình 3). Theo tính toán lý thuyết, khi sử dụng cặp mồi 16S, sản phẩm PCR thu được là đoạn DNA có kích thước xấp xỉ 600 bp. Sản phẩm điện di là một băng đậm nét có kích thước phù hợp với tính toán dự kiến.



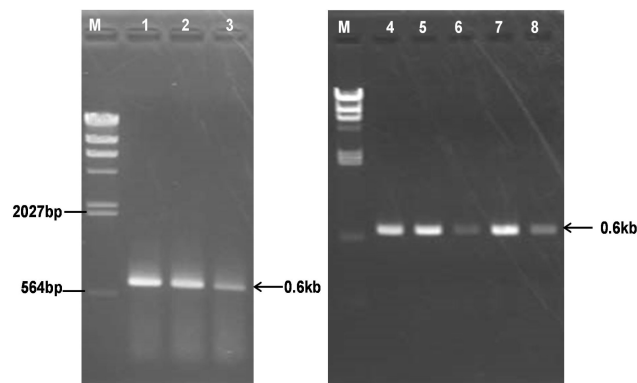
Hình 2. Hình ảnh điện di DNA tổng số của 8 mẫu nhuộm thể

Ghi chú: M: Marker 1kb; 1. TS-07-9; 2. TS-07-14; 3. TS-07-15; 4. TS-07-17; 5. TS-07-18; 6. TS-07-19; 7. TS-07-22; 8. TS-07-25.

Bảng 4. Nồng độ và độ tinh sạch DNA của các mẫu nghiên cứu

TT	Kí hiệu mẫu	DNA (ng/ul)	Độ tinh sạch ($A_{260/280}$ nm)	TT	Kí hiệu mẫu	DNA (ng/ul)	Độ tinh sạch ($A_{260/280}$ nm)
1	TS-07-09	132	$1,803 \pm 0,031$	5	TS-07-18	127	$1,925 \pm 0,028$
2	TS-07-14	138	$1,752 \pm 0,011$	6	TS-07-19	122	$1,731 \pm 0,082$
3	TS-07-15	159	$2,006 \pm 0,096$	7	TS-07-22	182	$1,908 \pm 0,013$
4	TS-07-17	197	$1,780 \pm 0,061$	8	TS-07-25	148	$2,011 \pm 0,008$

Kết quả khuếch đại PCR gen 16S rDNA được trình bày ở Hình 3.



Hình 3. Hình ảnh điện di kết quả PCR của 8 mẫu nhuộm thể

Ghi chú: M: Marker Lamda DNA/Hind III; 1. TS-07-09; 2. TS-07-14; 3. TS-07-15; 4. TS-07-17; 5. TS-07-18; 6. TS-07-19; 7. TS-07-22; 8. TS-07-25.

3.2. Kết quả so sánh trình tự nucleotide gen 16S

Tiến hành thu thập 29 chuỗi nucleotide của các loài nhuyễn thể bao gồm 21 chuỗi gen 16S rDNA đã đăng ký trên Ngân hàng gen (Genbank) và 8 chuỗi trong nghiên cứu được thu nhận bằng cách BLAST để thu nhận các gen 16S tương ứng. Kết quả giải trình tự các chuỗi nucleotide cho thấy các mẫu nhuyễn thể ở vùng biển Trường Sa, Việt Nam có mức độ tương đồng (ident) cao với các loài đã được công bố trong Ngân hàng gen. Cụ thể: trình tự 16S rDNA của mẫu TS-07-09 tương đồng cao với loài *Tridacna squamosa* Lamarck, 1819 (LT630207, LT630209, LT630252) ở Ả Rập Xê-Út, TS-07-14 tương đồng với loài *Cypraea tigris* Linnaeus, 1758 (MK783263) ở Trung Quốc, TS-07-15 tương đồng với loài *Mauritia arabica* Linnaeus, 1758 (AY161466, AY534367) ở Mỹ, TS-07-17 tương đồng với loài *Oxymoris maculata* Linnaeus, 1758 (KP780349, EU685682, EU685632) ở Mỹ và các đảo Tây Thái Bình Dương, TS-07-18 tương đồng với loài *Haliotis ovina* Gmelin, 1791 (AY163255, AY163256, AY650154) ở Thái Lan và Guam, TS-07-19 tương đồng với loài *Drupa morum* Röding, 1798 (FN677449) ở Mozambique, TS-07-22 tương đồng với loài *Pinna atropurpurea* G. B. Sowerby I, 1825 (KJ365565, KJ365566, KU987047, KU987048, KJ987049) ở Philippines và Senegal, TS-07-25 tương đồng với loài *Chama congregata* Conrad, 1833 (AY388512) ở Bắc Đại Tây Dương.

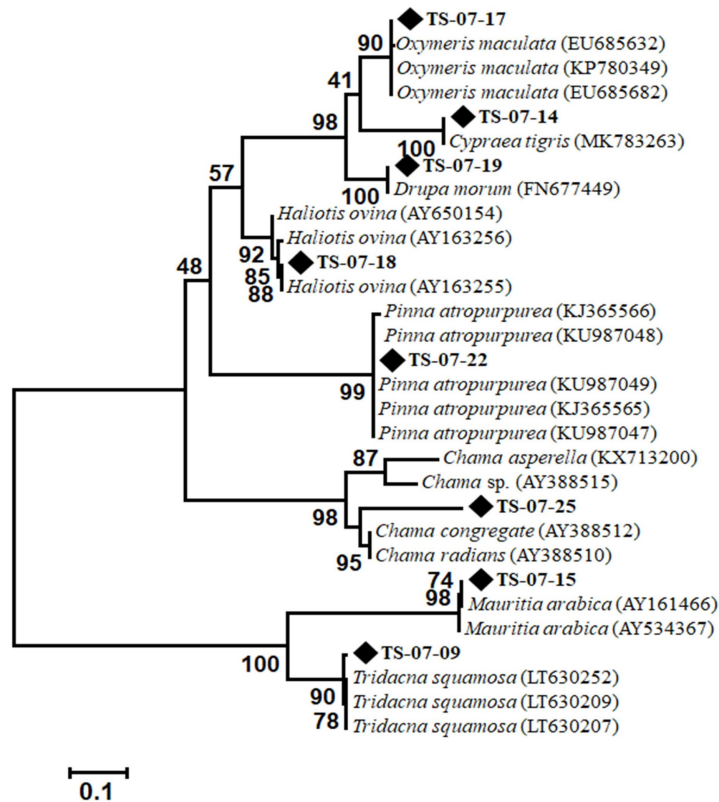
3.3. Kết quả xây dựng cây phả hệ nguồn gốc dựa trên trình tự nucleotide của gen 16S

Sơ đồ mối quan hệ họ hàng của các mẫu nhuyễn thể thu tại quần đảo Trường Sa, Việt Nam với các loài nhuyễn thể khác lấy trên Genbank đã được xây dựng theo phương pháp NJ (Hình 4).

Kết quả ở hình 4 cây tiến hóa phả hệ dựa trên trình tự nucleotide của chi thị phân tử gen 16S rDNA hệ gen ty thể cho thấy 8 mẫu động vật thân mềm đã được định danh có hệ thống phân loại cụ thể như Bảng 5.

Trong tổng số 8 mẫu nhuyễn thể trên, đã định danh được 5 loài thân mềm chân bụng thuộc 3 bộ, 4 họ, 5 giống và 3 loài hai mảnh vỏ thuộc 3 bộ, 3 họ, 3 giống. Trong đó, có 6 loài đã được ghi nhận phân bố ở vùng biển quần đảo Trường Sa là *C. tigris*, *M. arabica*, *O. maculata*, *D. morum*, *T. squamosa*, *H. ovina* trong khi đó, loài *P. atropurpurea* lần đầu được ghi nhận mới cho khu hệ động vật thân mềm quần đảo Trường Sa [6 - 8]. Kết quả cây phả hệ với hệ số lặp Bootstrap 1000 (Hình 4) cho thấy mức độ tương đồng trình tự nucleotide của gen 16S rDNA giữa TS-07-25 với 2 loài *C. congregata* và *C. radians* là 95%. Tuy nhiên, dựa trên đặc điểm hình thái thì mẫu TS-07-25 hoàn toàn trùng khớp mô tả với loài *C. congregata*. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Campbell và cộng sự (2004) [18]. Hai loài *C. congregata* và *C. radians* vốn phân bố chủ yếu tại khu vực vùng biển Bắc đến Nam Đại Tây Dương, vịnh Mêhicô và biển Caribe [17, 18]. Trong nghiên cứu này, lần đầu tiên ghi nhận mới loài *C. congregata* cho khu hệ động vật thân mềm biển ở Việt Nam. Cần có thêm các nghiên cứu tiếp theo về số lượng cũng như địa danh để xác định vùng phân bố cụ thể của loài ở Việt Nam.

Các loài nhuyễn thể được định danh đều có giá trị về mặt trang trí, thẩm mỹ. Trong đó, có 4 loài thường được dùng làm thực phẩm (*H. ovina*, *C. tigris*, *T. squamosa*, *P. atropurpurea*) 3 loài đã nghiên cứu có chứa các chất có hoạt tính sinh học phục vụ cho y - dược (*C. tigris*, *M. arabica*, *O. maculata*) [19]. Có 2 loài là *T. squamosa* và *H. ovina* đã được đánh giá ở mức Sẽ nguy cấp - VU (Vulnerable) trong Sách Đỏ Việt Nam (2007) [20].



Hình 4. Cây phả hệ phân loại các mẫu nhuyễn thể trong nghiên cứu dựa trên trình tự nucleotide của gen 16S rDNA

Bảng 5. Hệ thống phân loại các loài động vật thân mềm sử dụng gen 16S rDNA

TT	Kí hiệu	Tên khoa học	Tên tiếng Việt
		Lớp BIVALVIA	
		Bộ Cardiida	
		Họ Cardiidae	
1	TS-07-09	<i>Tridacna squamosa</i> Lamarck, 1819	Trai tai tượng vảy
		Bộ Ostreida	
		Họ Pinnidae	
2	TS-07-22	<i>Pinna atropurpurea</i> G. B. Sowerby I, 1825	Bàn mai

TT	Kí hiệu	Tên khoa học	Tên tiếng Việt
		Bộ Venerida	
		Họ Chamidae	
3	TS-07-25	<i>Chama congregata</i> Conrad, 1833	Trai hộp ngọc
		Lớp GASTROPODA	
		Bộ Lepetellida	
		Họ Haliotidae	
4	TS-07-18	<i>Haliotis ovina</i> Gmelin, 1791	Bào ngư bầu dục
		Bộ Littorinimorpha	
		Họ Cypraeidae	
5	TS-07-14	<i>Cypraea tigris</i> Linnaeus, 1758	Ốc sứ vân hổ
6	TS-07-15	<i>Mauritia arabica</i> (Linnaeus, 1758)	Ốc sứ Ả rập
		Bộ Neogastropoda	
		Họ Muricidae	
7	TS-07-19	<i>Drupa morum</i> Röding, 1798	Ốc gai mặt đẹp
		Họ Terebridae	
8	TS-07-17	<i>Oxymeris maculata</i> (Linnaeus, 1758)	Ốc búp măng

4. KẾT LUẬN

Các mẫu động vật thân mềm gồm 5 mẫu chân bụng và 3 mẫu hai mảnh vỏ thu nhận tại vùng biển quần đảo Trường Sa, Việt Nam đã được định danh chính xác loài, điều này đã giúp cho việc điều tra hệ sinh thái và sự phân bố nhằm đảm bảo nhu cầu khai thác cũng như vấn đề bảo tồn loài - đặc biệt đối với các loài đã được đánh giá ở các thứ hạng bị đe dọa trong Sách Đỏ Việt Nam.

Loài *Chama congregata* Conrad, 1833 lần đầu được ghi nhận vùng phân bố mới tại vùng biển Việt Nam và loài *Pinna atropurpurea* G. B. Sowerby I, 1825 lần đầu ghi nhận cho khu hệ động vật thân mềm quần đảo Trường Sa.

Kết quả trong nghiên cứu này góp phần bổ sung đa dạng thành phần loài động vật thân mềm chân bụng, hai mảnh vỏ vùng biển quần đảo Trường Sa, Việt Nam; và vùng gen 16S rDNA trong hệ gen ty thể có thể sử dụng làm mã vạch DNA (DNA barcode) trong phân biệt và định danh một số loài nhuyễn thể.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Packer L., Gibbs J., Sheffield C., Hanner R., *DNA barcoding and the mediocrity of morphology*, Molecular ecology resources, 2009, **9**(1):42-50.
2. Marshall E., *Will DNA barcodes breathe life into classification?*, Science, 2005, **307**:1037.
3. DeSalle R., Goldstein P., *Review and interpretation of trends in DNA barcoding*, Frontiers in ecology and evolution, 2019, **7**:302.

4. Gostel M. R., Kress W. J., *The expanding role of DNA barcodes: indispensable tools for ecology, evolution, and conservation*, Diversity, 2022, **14**:213.
5. Hylleberg J., Kilbum R. N., *Marine molluscs of Vietnam. Annotations, Voucher, Material, and Species in Need of Verification*, Phuket Marine Biological Centre Special Publication, 2003, **28**:5-300.
6. Lăng Văn Kềng, *Sơ bộ nghiên cứu về thành phần loài và phân bố của thân mềm chân bụng (Gastropoda - Mollusca) của quần đảo Trường Sa*, Tuyển tập nghiên cứu Biển, 1996, **7**:94-102.
7. Đỗ Công Thung, Lê Thị Thúy, Lê Quang Dũng, Trần Mạnh Hà, *Hiện trạng và nguồn lợi sinh vật đáy vùng biển quần đảo Trường Sa*, Báo cáo chuyên đề thuộc đề tài Đánh giá nguồn lợi sinh vật biển và hiện trạng môi trường vùng biển quanh đảo Trường Sa, 2003, 52 tr.
8. Đỗ Công Thung, Chu Văn Thuộc, Nguyễn Đăng Ngải, Đàm Đức Tiến, Nguyễn Thị Thu, Nguyễn Thị Minh Huyền, Nguyễn Văn Quân, Cao Thị Thu Trang, Lê Thị Thúy, Bùi Văn Vượng, *Đa dạng sinh học và tiềm năng bảo tồn vùng quần đảo Trường Sa*, Nxb. Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, 2014, 302 tr.
9. Abbott R. T., Dance S. P., *Compendium of Seashells: A full-color guide to more than 4,200 of the world's marine shells*. Odyssey Publishing, 2000, 411 pp.
10. Carpenter K. E., Niem V. H., *The living marine resources of the Western Central Pacific*. Vol 1. Seaweeds, corals, bivalves and gastropods. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 1998, 686 pp.
11. Nguyen Ngoc Thach, *Shells of Vietnam*. Hackenheim: ConchBooks, 2005, 388 pp.
12. MolluscaBase eds. MolluscaBase, 2022. Accessed at <https://www.molluscabase.org> on 2022-07-29.
13. Sambrook J., Fritsch E. F., Maniatis T. *Molecular cloning: A laboratory manual*, 2nd ed. Cold Spring Harbor. Laboratory Press, NY, 1989.
14. <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>
15. Nicholas K. R., Nicholas K. B., Nicholas K., Nicholas H. G., Nicholas H. B., Deerfield D. W., Nicholas H. B. J., Nicholas H. J., Nicholas A., Nicholas H., Gauch H., *GeneDoc 2.7: a tool for editing and annotating multiple sequence alignment*, 1997. (<https://genedoc.software.informer.com/2.7/>).
16. Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K., *MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms*. Molecular Biology and Evolution, 2018, **35**(6):1547-1549.
17. Conrad T. A., *On some new fossil and recent shells of the United States*, American Journal of Science and Arts, 1833, **23**(17):339-346.
18. Campbell M. R., Steiner G., Campbell L. D., Dreyer H., *Recent chamidae (Bivalvia) from the western Atlantic Ocean*, Malacologia, 2004, **46**(2):381-415.
19. Santhanam R., Gobinath M., Ramesh S., *Biology and ecology of Pharmaceutical marine mollusks*. New York: CRC Press Taylor & Francis Group, 2019.
20. Bộ Khoa học Công nghệ, *Sách Đỏ Việt Nam, Phần I. Động vật*, Nxb. Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, Hà Nội, 2007, 516 tr.

SUMMARY

IDENTIFICATION OF SOME MOLLUSCS IN THE TRUONG SA ISLANDS, VIETNAM BASED 16S rDNA GENE NUCLEOTIDE SEQUENCES

DNA barcoding is one of the widely useful tools to identify the nomenclature of creatures. The target of this study is to identify 5 gastropods and 3 bivalves distributed in the Truong Sa Islands (Spratly Islands) of Vietnam using the 16S rDNA gene of mtDNA. The 16S gene fragment was isolated from the molluscs genome mtDNA by PCR technique. The PCR product was purified and sequenced. The 16S rDNA gene fragment was approximately 600 bp in length. The nucleotides of the 16S rDNA gene fragment were compared with those published on Genbank using the BLAST tool. The results showed that four gastropods named *Cypraea tigris* Linnaeus, 1758; *Mauritia arabica* Linnaeus, 1758; *Oxymoris maculata* Linnaeus, 1758; *Drupa morum* Röding, 1798; *Haliotis ovina* Gmelin, 1791 and three bivalves titled *Tridacna squamosa* Lamarck, 1819; *Pinna atropurpurea* G.B. Sowerby I, 1825; and *Chama congregata* Conrad, 1833 were identified. In which, *T. squamosa* and *H. ovina* were classified as Vulnerable in Vietnam's Red Data Book (2007). *C. congregata* is mainly distributed in South America, but in the study was first recorded in Vietnam's sea. Using the 16S rDNA gene to determine molluscs in the Truong Sa Islands (Spratly Islands) of Vietnam contributed to accurately identifying creatures and provided basic data for further research in ecology, evolution and conservation of creatures.

Keywords: Mollusca, mitochondrial genome, 16S rDNA gene, phylogenetic tree, Truong Sa Islands (Spratly Islands), động vật thân mềm, hệ gen ty thể, gen 16S rDNA, cây phả hệ, quần đảo Trường Sa.

Nhận bài ngày 01 tháng 8 năm 2022

Phản biện xong ngày 12 tháng 9 năm 2022

Hoàn thiện ngày 17 tháng 10 năm 2022

⁽¹⁾ Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga

⁽²⁾ Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

⁽³⁾ Đại học Quốc tế Hồng Bàng

Liên hệ: Cù Nguyên Định

Chi nhánh Phía Nam, Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga

Số 3, đường 3/2, Phường 11, Quận 10, Tp. Hồ Chí Minh

Điện thoại: 0983110799; Email: dinhcnd@gmail.com