

## NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN KÝ SINH TRÙNG TRÊN CÁ TRA *Pangasianodon hypophthalmus* Sauvage, 1878 BẰNG PHƯƠNG PHÁP HÌNH THÁI VÀ DI TRUYỀN

Vũ Đặng Hạ Quyên<sup>1\*</sup>, Đặng Thúy Bình<sup>1</sup>, Đào Thị Hàn Ly<sup>2</sup>, Phạm Thị Diệu Anh<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Viện Công nghệ sinh học và Môi trường, Trường Đại học Nha Trang, \*quyenntu@yahoo.com

<sup>2</sup>Trường Đại học Nha Trang

**TÓM TẮT:** Nghiên cứu này tập trung vào thành phần ký sinh trùng ký sinh trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*). Dựa vào đặc điểm hình thái, nghiên cứu đã phát hiện được 9 loài ký sinh trùng, trong đó, 2 loài bào tử sợi *Myxobolus* spp., 2 loài trùng lông *Ichthyonyctus* spp., 2 loài sán lá đơn chủ *Thaparocleidus siamensis* và *T. campylopterocirrus*, 2 loài sán lá song chủ *Prosohynchus gracelliscens* và *Bucephalus* sp. và loài giun tròn *Cucullanus chabaudi*. Sử dụng trình tự gen 28S rDNA để nghiên cứu vị trí phân loại của loài *T. campylopterocirrus* cho thấy mối quan hệ gần gũi với *T. siamensis* và *Thaparocleidus* sp. (sự khác biệt trình tự lần lượt là 0,9% và 2,2%). Nghiên cứu trên gen ITS1 rDNA (Internal Transcribed Spacer 1) cho thấy *Bucephalus* sp. có quan hệ gần gũi với *B. minimus* và *B. polymorphus* (với sự khác biệt trình tự lần lượt là 10,1% và 34,1%).

**Từ khóa:** *Pangasianodon hypophthalmus*, cá tra, ký sinh trùng.

### MỞ ĐẦU

Cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) với tốc độ tăng trưởng nhanh và giá trị kinh tế cao, đã trở thành đối tượng nuôi thương mại quan trọng của Việt Nam. Theo thống kê của Tổng cục Thủy sản Việt Nam năm 2012, diện tích nuôi cá tra đạt 5,9 nghìn ha, sản lượng ước tính đạt 1,28 triệu tấn. Tuy nhiên, tình hình dịch bệnh ở cá tra phức tạp do sự bùng phát bệnh ký sinh trùng (KST), một tác nhân gây bệnh phổ biến. Trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu về thành phần loài KST cá tra dựa trên đặc điểm hình thái [10, 11, 12,13] và di truyền [14, 15,16, 17], còn ở Việt Nam chủ yếu chỉ dừng lại ở nghiên cứu hình thái [4, 5, 7]. Nghiên cứu này kết hợp nghiên cứu đặc điểm hình thái và di truyền để xác định thành phần loài ký sinh trùng và xác định vị trí phân loại một số loài ký sinh trùng ký sinh trên cá tra

### VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### Thu và xử lý mẫu

Tổng số 45 cá thể cá tra (khối lượng trung bình 150,54±70,05 g, kích thước 22,83±6,32 cm) được thu tại Đồng Tháp và vận chuyển sống trong thùng xốp có sục khí, sau đó được giữ trong bể có sục khí tại phòng thí nghiệm.

#### Nghiên cứu đặc điểm hình thái KST

Ký sinh trùng được nghiên cứu theo phương

pháp của Dogiel (1929) (trích dẫn bởi Hà Ký và Bùi Quang Tê, 2001) [7], phương pháp nhuộm kí sinh trùng đa bào của Berland (2004) [2], kí sinh trùng đơn bào của Lom & Dycova (1992) [9].

#### Nghiên cứu di truyền KST

Các cá thể ký sinh trùng được lưu giữ trong các ống eppendorf bằng cồn 95%. DNA được tách từ từng cá thể bằng Chelex 10% (BioRad) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Sử dụng dung dịch DNA đã tách chiết cho phản ứng PCR để khuếch đại đoạn gen 28S DNA ribosome (28S rDNA) của sán lá đơn chủ với cặp mồi 28SF 5'-TCAGTAAGCGGAGGAAAAGAA-3' và 28SR 5'-CAAAACCACAGTTCTCACAGC-3' [16]; sán lá song chủ sử dụng đoạn gen ITS1 của DNA ribosome (ITS1 rDNA) với cặp mồi ITS1F 5'-GGTAAG TGCAAGTCATAAGC-3' và ITS1R 5'-GCTGC GCTCTTCATCGACA-3' [1]. Phản ứng PCR được thực hiện với tổng thể tích 50 µl bao gồm: 5 µl 10x DreamTaq Buffer, 1,0 µl dNTP (10mM), 1 µl từng mồi (10 mM), 0,25 µl DreamTaq polymerase (5 U/µl), 5 µl khuôn DNA và nước cất cho đủ 50 µl. Phản ứng được chạy trên máy luân nhiệt Icyler (Biorad) theo chu trình nhiệt như sau: biến tính ban đầu tại 94°C trong 3 phút, sau đó, 35 chu kỳ của 94°C trong 30 giây, 53°C (gen ITS1 rDNA) và 60°C (gen 28S rDNA). trong 30 giây, 72°C trong 1 phút, cuối cùng là bước kéo dài tại 72°C trong 5 phút.

Sản phẩm của phản ứng PCR được điện di kiểm tra trên gel agarose 1,5% nhuộm Ethidium Bromide. Kết quả được ghi nhận bằng hệ thống phân tích hình ảnh tự động Geldoc và phần mềm Quantity One (Bio-rad). 1-2  $\mu$ l sản phẩm PCR được tiến hành phản ứng giải trình tự theo nguyên tắc Dye- labelled dideoxy terminator (Big Dye Terminator v. 3.1, Applied Biosystems) 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 (Applied Biosystems). Các trình tự được kết nối bằng Contig Express trong phần mềm package Vector NTI v.11.

#### Phân tích mối quan hệ tiến hóa các loài KST

Các trình tự của KST được kiểm chứng bằng chương trình BLAST và đóng hàng bằng phần

mềm BioEdit 7.0.1 [4]. Phân tích di truyền được tiến hành đối với trình tự gen 28S rDNA của loài *Thaparocleidus campylopteroicirus* cùng với trình tự của các loài *Thaparocleidus* và *Dactylogurus* trên Genbank. *Eudiplazon nipponicum* được sử dụng làm nhóm ngoại. Gen ITS1 rDNA được sử dụng để xác định vị trí phân loại của loài *Bucephalus* sp, kết hợp với trình tự các loài sán lá song chủ trên Genbank với *Lecithochirium caesionis* được sử dụng làm nhóm ngoại. Phân tích mối quan hệ phát sinh loài của KST được tiến hành dựa trên thuật toán Neighbor joining (NJ) bằng phần mềm MEGA 5.1[8] với độ lặp lại 1.000 lần. Giá trị bootstrap (BT) được tính toán để xác định tính chính xác của thuật toán NJ.

#### KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

##### Nghiên cứu đặc điểm hình thái

##### Bào tử sợi *Myxobolus* spp.

Bảng 1. Các thông số hình thái của *Myxobolus* spp.

Loài	L <sub>bt</sub> ( $\mu$ m)	R <sub>bt</sub> ( $\mu$ m)	D <sub>bt</sub> ( $\mu$ m)	L <sub>cn</sub> ( $\mu$ m)	R <sub>cn</sub> ( $\mu$ m)	L <sub>đuôi</sub> ( $\mu$ m)
<i>Myxobolus</i> sp1.	13±0,85	6,87±0,6	4,5±0,04	5,57±0,68	1,73±0,26	-
<i>Myxobolus</i> sp2.	14±1,02	6,5±0,88	4,7±0,03	5,9±0,67	1,5±0,2	25±0,5

L<sub>bt</sub>. chiều dài bào tử; R<sub>bt</sub>. chiều rộng bào tử; D<sub>bt</sub>. Đường kính bào tử; L<sub>cn</sub>. chiều dài cực nang; R<sub>cn</sub>. chiều rộng cực nang.

Chỉ tiêu về kích thước của bào tử sợi *Myxobolus* được thể hiện ở bảng 1. Về hình thái, *Myxobolus* sp1. (hình 1) và *Myxobolus* sp2. (hình 2) đều có dạng hình ovan, hơi nhọn về phía trước, có 2 cực nang bằng nhau hình quả lê và bằng 1/2 kích thước bào tử, nhưng *Myxobolus* sp2. có cực nang trong khó nhìn

thấy và có đuôi dài. *Myxobolus* sp2. trong nghiên cứu này có nhiều điểm tương đồng về hình dạng, kích thước với các loài *Myxobolus miyairii* và *Myxobolus cheisini* trong nghiên cứu của Hà Ký và Bùi Quang Tề (2007) [7].

##### Trùng lông *Ichthyonyctus* spp.

Bảng 2. Các thông số hình thái của *Ichthyonyctus* spp.

Loài	Chiều dài ( $\mu$ m)	Chiều rộng ( $\mu$ m)	chiều dài nhân ( $\mu$ m)	Chiều rộng nhân ( $\mu$ m)
<i>Ichthyonyctus</i> sp1.	150± 20	90 ± 22	52 ± 11,9	15 ± 2,8
<i>Ichthyonyctus</i> sp2.	186 ± 15	123 ± 20	62 ± 9	11 ± 1

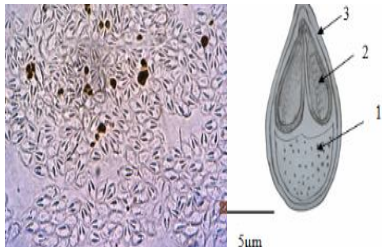
*Ichthyonyctus* có dạng hình thoi, tiêm mao bao phủ toàn thân, vận động theo hình thức xoay tròn. *Ichthyonyctus* sp2. (hình 4) có kích thước lớn hơn *Ichthyonyctus* sp1. (hình 3, bảng 2) và có các đường kinete phức tạp phân chia

các thành các vùng chuyên hóa như chóp (as) và đuôi (cs). *Ichthyonyctus* sp1. và *Ichthyonyctus* sp2. trong nghiên cứu này tương đồng với hai loài *I. pagasia* và *I. schulmani* trong nghiên cứu của Bùi Quang Tề (2007) [7].

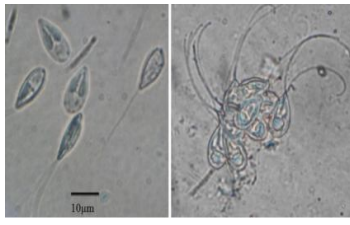
**Sán lá đơn chủ: *Thaparacleidus* spp.**

Loài *Thaparacleidus siamensis* (hình 5) có thanh nổi lưng khá mạnh, cơ quan giao cấu đơn giản, uốn 1 vòng ở đoạn đầu, đoạn sau uốn lượn, trong khi đó, *T. campylopteroirrus* (hình

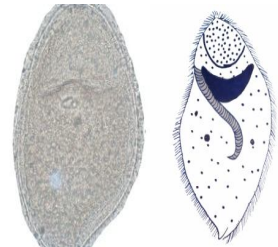
6) có thanh nổi lưng chắc chắn, cơ quan giao cấu có đoạn sau uốn dạng hình chữ “D”. *T. siamensis* có kích thước nhỏ hơn so với loài *T. campylopteroirrus*. Các thông số hình thái của các loài sán đơn chủ *Thaparacleidus* spp. được thể hiện ở bảng 3.



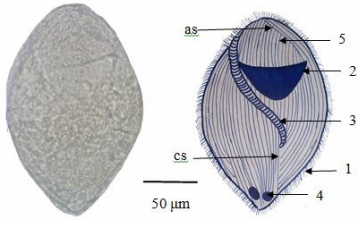
**Hình 1. *Myxobolus* sp1.**  
1. Phôi amip; 2. Cực nang; 3. Vỏ.



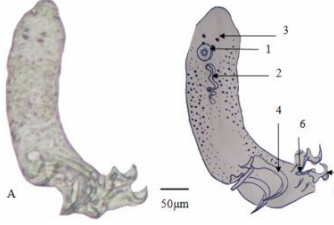
**Hình 2. *Myxobolus* sp2.**



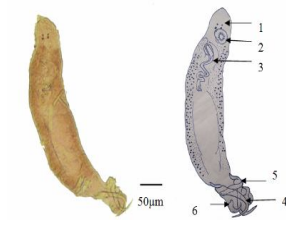
**Hình 3. *Ichthyonyctus* sp1.**



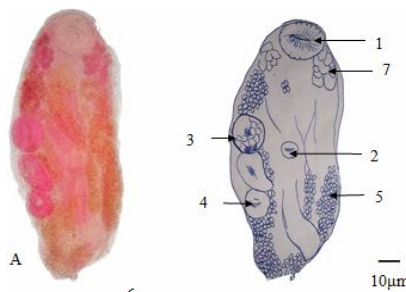
**Hình 4. *Ichthyonyctus* sp2.**  
1. Lòng tơ; 2. Nhân; 3. Hầu tế bào; 4. Không bào co bóp; 5. Đoạn Kinetom



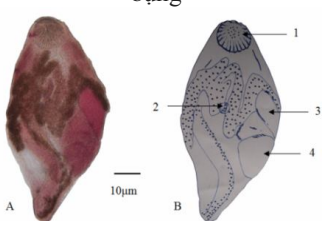
**Hình 5. *T. siamensis***  
1. Miệng; 2. Gai giao cấu; 3. Điểm mắt; 4. Thanh nổi bụng; 5. Thanh nổi lưng; 6. Thanh nổi bụng



**Hình 6. *T. campylopteroirrus***  
1. Điểm mắt; 2. Miệng; 3. Gai giao cấu; 4. Móc giữa; 5. Thanh nổi lưng; 6. Thanh nổi bụng



**Hình 7. *B. gracilescens***  
1. Giác miệng; 2. Giác bám bụng; 3. Buồng trứng; 4. Tinh hoàn; 5. Trứng; 6. Hậu; 7. Tế bào lửa



**Hình 8. *Bucephalus* sp.**  
1. Giác miệng; 2. Giác bám bụng; 3. Buồng trứng; 4. Tinh hoàn



**Hình 9. *Cucullanus chabaudi***  
1. Thực quản; 2. Bào thực quản; 3. Ruột; 4. Cơ quan sinh dục; 5. Hậu môn; 6. Đuôi

**Bảng 3. Các thông số hình thái của *Thaparacleidus* spp.**

Loài	L (µm)	R (µm)	Móc rìa (µm)	L <sub>màng lưng</sub>	Móc giữa		Móc bụng		Màng nổi bụng	MCO
					al	pr	al	pr		
<i>T. siamensis</i>	320±32	70±11	13±2	59±5	59±5	30±2	21±2	10±1	21±2	75±2
<i>T. campylopteroirrus</i>	570±20	110±15	13±2	40±4	72±16	36±6	20±2	11±1	20±2	72±2

L. chiều dài; R. chiều rộng; MCO. Cơ quan giao cấu đực; al. chiều dài móc giữa phía lưng; pr. chiều dài móc nhọn uốn cong.

Bảng 4. Các thông số hình thái của sán lá song chủ (D: chiều dài)

Loài	Chiều dài (mm)	Chiều rộng (mm)	D <sub>miệng</sub> (mm)	D <sub>bụng</sub> (mm)	D <sub>trình hoàn</sub> (mm)	D <sub>buồng trứng</sub> (mm)	D <sub>2</sub> giác bám (mm)
<i>P. gracilescens</i>	0,9±0,20	0,52±0,06	0,19±0,02	0,08±0,02	0,16± 0,02	0,15±0,05	0,45±0,01
<i>Bucephalus</i> sp.	0,8±0,10	0,42±0,15	0,18	0,06	0,16 ± 0,01	0,18±0,06	0,32±0,01

#### Sán lá song chủ *Prosorhynchus gracilescens* và *Bucephalus* sp.

*Prosorhynchus gracilescens* và *Bucephalus* sp. có dạng hình chiếc lá, đối xứng hai bên. *P. gracilescens* (hình 7) có giác bám miệng gấp đôi đường kính giác bám bụng và giác bám bụng nằm gần giữa cơ thể. *Bucephalus* sp. (hình 8) có giác bám miệng gấp 3 lần giác bám bụng và giác bám bụng nằm gần 2/3 phía trước cơ thể. Các thông số hình thái của sán lá song chủ *Bucephalus* và *Prosorhynchus* được thể hiện ở bảng 4.

#### Giun tròn *Cucullanus chabaudi*

Kích thước tương đối lớn, có thể thấy bằng mắt thường. Cơ thể thon dài; hơi uốn cong. Xoang miệng cứng, có hai phiến bằng kitin. Sau khoang miệng là thực quản, ruột giữa, ruột sau, thực quản có thành cơ từng đôi khỏe và phình to thành bầu thực quản. Mặt lưng và mặt bụng của túi miệng có 3 nhánh răng bằng chất kitin. Chiều dài thân: 11,1±2,3 mm, chiều rộng thân 0,38±0,31 mm, chiều dài thực quản 1,32±2 mm, chiều dài đuôi 0,33 mm (hình 9).

#### Mức độ cảm nhiễm ký sinh trùng

Nghiên cứu hiện tại đã thu được 9 loài KST thuộc 5 lớp khác nhau. Thành phần loài và mức độ cảm nhiễm các loài KST trên cá tra được thể hiện ở bảng 5. Thành phần loài KST cũng tương tự như trong nghiên cứu của Hà Ký và Bùi Quang Tề (2007) [7] và Nguyễn Thị Thu Hằng và nnk. (2008) [5].

Loài *T. campyloptercirus* có tỷ lệ cảm nhiễm (TLCN) cao nhất với 75,7%, sau đó là *P. gracilescens* (48,9%), *Myxobolus* sp2. và *Cucullanus chabaudi* có TLCN thấp nhất là 6,7%. Tuy nhiên, cường độ cảm nhiễm (CĐCN) cao nhất là *P. gracilescens* 15,7 trùng/cá, thấp nhất là *Cucullanus chabaudi* (1,0% trùng/cá). Đối với các loài bào tử sợi và trùng lông, CĐCN cao nhất là *Myxobolus* sp1. (11,8 trùng/TTK), thấp nhất là *Ichthyonyctus* sp2. (4,0

trùng/TTK).

Trong nghiên cứu của Purivirojkul & Areechon (2008) [13], TLCN *Thaparocleidus* spp. trên cá tra (*Pangasius* spp.) ở sông Mekong, tỉnh Chiang Rai, Thái Lan khá cao (từ 88,3% đến 100%). Dinh & Buchman (2008) [3] nghiên cứu tình hình nhiễm sán lá đơn chủ trên cá tra ở Vĩnh Long và Cần Thơ. Nghiên cứu phát hiện 2 loài sán lá đơn chủ *Thaparocleidus siamensis* và *T. caecus* với loài *T. siamensis* chiếm ưu thế (TLCN 53%, CĐCN 148 trùng/cá), trong khi đó *T. caecus* hiện diện với TLCN thấp. Nhóm nghiên cứu cũng ghi nhận mối liên quan giữa TLCN của sán lá đơn chủ với độ tuổi của cá (cao nhất khi cá từ 126-150 ngày tuổi, sau đó giảm dần); kích thước và cách quản lý ao (TLCN cao ở các ao có diện tích lớn và nuôi với mật độ cao). Nghiên cứu hiện tại không phát hiện loài *T. caecus* và khác với nghiên cứu của Dinh & Buchman (2008) [3], loài *T. campyloptercirus* chiếm ưu thế và có TLCN cao (75.7%).

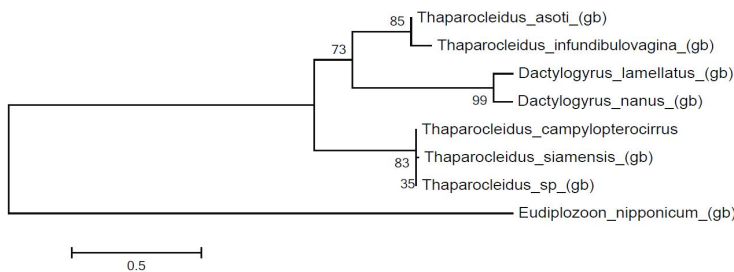
Bào tử sợi *Myxobolus* spp. ký sinh ở tất cả các cơ quan: màng treo ruột (MTR), gan, thận, lách, túi mật và kết quả này cũng tương tự như nghiên cứu của Nguyễn Thị Thu Hằng và nnk. (2008) [5]. Còn TLCN *Myxobolus* sp. thấp 6,7-11,1% lại khác với nghiên cứu của Nguyễn Thị Thu Hằng và Đặng Thị Hoàng Oanh (2012) [6], TLCN *Myxobolus* trên cá giống 72,3%. *Ichthyonyctus* sp. ký sinh ở đoạn ruột cuối của cơ thể, theo Hà Ký và Bùi Quang Tề (2007) [7] cá càng lớn thì khả năng nhiễm *Ichthyonyctus* sp. trong đoạn ruột càng cao.

Sán lá song chủ *P. gracilescens* có TLCN tương đối cao 48,9%. Cũng trên đối tượng cá tra nuôi, Hà Ký và Bùi Quang Tề (2007) [7] báo cáo TLCN loài sán này là 28,6%, với CĐCN 13 trùng/cá. Nghiên cứu hiện tại phát hiện được *Bucephalus* sp. với TLCN và CĐCN lần lượt là 26,7% với 5,6 trùng/cá. Giun tròn *Cucullanus chabaudi* trong nghiên cứu có TLCN và CĐCN thấp chỉ 6,7% với 1 trùng/cá.

Bảng 5. Thành phần loài và mức độ cảm nhiễm các loài ký sinh trùng trên cá tra

Loài ký sinh trùng	CQKS	TLCN (%)	CĐCN	
			CĐCN	Đơn vị
<b>Ngoại ký sinh</b>				
<i>Thaparocleidus siamensis</i>	Mang	28,9	2,7	Trùng/cá
<i>Thaparocleidus campylopteroicirrus</i>	Mang	75,8	6,5	
<b>Nội ký sinh</b>				
<i>Myxobolus</i> sp1.	Gan, thận, MTR	11,1	11,8	Trùng/TTK
<i>Myxobolus</i> sp2.	Lách,	6,7	9,5	
<i>Ichthyonyctus</i> sp1.	Ruột	55,6	10,0	Trùng/TTK
<i>Ichthyonyctus</i> sp2.	Ruột	15,6	4,0	
<i>B.gracillescens</i>	Ruột, dạ dày	48,9	15,7	Trùng/cá
<i>Bucephalus</i> sp1.		26,7	5,6	
<i>Cucullanus chabaudi</i>	Ruột	6,7	1,0	Trùng/cá

TLCN. tỷ lệ cảm nhiễm; CĐCN. cường độ cảm nhiễm; TTK. thị trường kính.



Hình 10. Cây phát sinh loài dựa trên gen 28S rADN của sán lá đơn chủ

*Eudiplozoon nipponicum* là nhóm ngoại (outgroup). Các giá trị bootstrap (BT) được thể hiện trên nhánh.

### Nghiên cứu di truyền ký sinh trùng trên cá tra

#### Xác định vị trí phân loại *T. campylopteroicirrus*

Độ dài trung bình trình tự đoạn gen 28S rDNA của các loài KST sau khi đóng hàng là 915 nucleotide. Trong đó có 140 vị trí mang thông tin, 97 vị trí không đổi và 141 vị trí thay đổi, cây phát sinh loài được thể hiện ở hình 10.

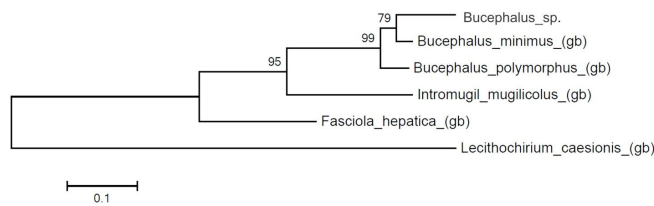
Qua cây phát sinh loài nhận thấy, loài *T. campylopteroicirrus* có quan hệ rất gần gũi với *T. siamensis* và *Thaparocleidus* sp. với giá trị BT là 83% và 35% (hình 10). Sự khác biệt trình tự của *T. campylopteroicirrus* với *Thaparocleidus* sp. và *T. siamensis* khá thấp (tương ứng 0,9% và 2,2%). Mặc dù đều thuộc giống *Thaparocleidus* nhưng *T. asoti* và *T. infundibulovagina* lại nằm một nhánh khác và gần với *Dactylogyrus* spp. hơn, điều này chứng tỏ, chúng gần gũi với nhau về mặt di truyền.

Wu et al. (2008) [17] đã sử dụng gen 28S rDNA để khảo sát sự đồng dạng của các loài sán

lá đơn chủ thuộc giống *Thaparocleidus* và *Pseudancylodiscoides* ký sinh trên *Pangasius sutchi*, *Silurus astus* và *Pseudancylodiscoides* sp. ở Trung Quốc. Kết quả cho thấy, giống *Thaparocleidus* thể hiện sự phân hóa dựa trên đặc điểm hình thái (cơ quan sinh sản) và đặc điểm di truyền (gen 28S rDNA). Nhóm tác giả đề nghị bỏ tên giống *Pseudancylodiscoides* và lập ra 2 giống mới cho hai loài *Pangasius sutchi* và *Silurus astus*, *Pseudancylodiscoides* spp. Nghiên cứu này cũng cho thấy sự phân hóa của giống *Thaparocleidus* khi thể hiện sự gần gũi với giống *Dactylogyrus* hơn là với các loài *Thaparocleidus* khác (hình 10).

#### Xác định vị trí phân loại *Bucephalus* sp.

Sau khi đóng hàng xác định được độ dài trung bình trình tự đoạn gen ITS1 rADN của 6 loài sán lá song chủ là 800 nucleotide. Trong đó, có 47 vị trí mang thông tin, 214 vị trí không đổi và 47 vị trí thay đổi. Cây phát sinh loài được thể hiện ở hình 11.



Hình 11. Cây phát sinh loài dựa trên gen ITS1 rDNA của sán lá song chủ ký sinh trên cá tra

*Lecithochirium caesionis* là nhóm ngoại. Các giá trị bootstrap được thể hiện trên nhánh

Cây phát sinh loài dựa trên gen ITS1 rDNA cho thấy *Bucephalus* sp. có quan hệ gần gũi với *B. minimus*. Sự khác biệt trình tự của *Bucephalus* sp. với *B. minimus* là 10,8% (hình 11). Trong khi đó, *Bucephalus* sp. khác biệt trình tự 34,1% so với *B. polyphormus*. Dẫn liệu di truyền kiểm chứng vị trí phân loại của *Bucephalus* sp., tuy nhiên, do không có trình tự tương đồng trên Genbank nên chưa thể định danh chính xác loài này.

#### KẾT LUẬN

Nghiên cứu phát hiện và mô tả 9 loài KST gồm 7 loài nội ký sinh và 2 loài ngoại ký sinh dựa vào đặc điểm hình thái. Kết quả nghiên cứu KST dựa trên các chỉ thị phân tử (28S và ITS1 của DNA ribosom) kiểm chứng vị trí phân loại của *Thaparocleidus campylopterocirrus* và *Bucephalus* sp., trong đó, *T. campylopterocirrus* có quan hệ gần gũi với *T. siamensis* và *Thaparocleidus* sp.; *Bucephalus* sp. gần gũi với *Bucephalus minimus*.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bartoli P., Jousson O., Russell-pinto F., 2000. The life cycle of *Monorchis parvus* (Digenea: Monorchidae) demonstrated by developmental and molecular data. J. Parasitol., 86: 479-489.
- Berland B., 2005. Whole mounts. Kolej University Sains dan Teknologi Malaysia, Kuala Terengganu, Malaysia, 54 p.
- Dinh T. T., Buchmann K., 2008. Infections with gill parasitic monogeneans *Thaparocleidus siamensis* and *T. caecus* in cultured Catfish *Pangasius hypophthalmus* in Southern Vietnam, 28(1): 10-15.
- Hall T. A., 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symp. Series., 41: 95-98.
- Nguyễn Thị Thu Hằng, Đặng Thụy Mai Thy, Nguyễn Thanh Phương, Đặng Thị Hoàng Oanh, 2008. Khảo sát sự nhiễm ký sinh trùng trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) nuôi thâm canh ở tỉnh An Giang. Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ, 1: 204-212.
- Nguyễn Thị Thu Hằng, Đặng Thị Hoàng Oanh, 2012. Xác định nhóm ký sinh trùng tạo bào nang trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*). Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ, 22c: 155-164.
- Hà Ký, Bùi Quang Tề, 2007. Ký sinh trùng cá nước ngọt Việt Nam. Nxb. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội. 360 trang.
- Kumar S., Tamura K., Jakobsen I. B., Nei M., 2001. MEGA2: molecular evolutionary genetics analysis software. Bioinformatics, 17: 1244-1245.
- Lom J., Dycova, I., 1992. Protozoa parasites of fishes. Elsevier Editura.
- Pandey K. C., Agrawal N., Vishwakarma P., Sharma J., 2003. Redescription of some Indian species of *Thaparocleidus* Jain, 1952 (Monogenea), with aspects of the developmental biology and mode of attachment of *T. pusillus* (Gusev, 1976), Syst. Parasitol., 54: 207-221.
- Pariselle A., Lim L. H. S., Lambert A., 2004. Monogeneans from Pangasiidae (siluriformes) in Southeast Asia: VII. Six new host-specific species of *Thaparocleidus* Jain, 1952 (Ancylo-discoididae) from *Pangasius polyuranodon*. Parasite, 11: 365-372.
- Pina S., Barandela T., Santos M. J., Russell-Pinto F., Rodrigues P., 2009. Identification and description of *Bucephalus minimus*

- (Digenea: Bucephalidae) life cycle in Portugal: morphological, histopathological, and molecular data. *J. Parasitol.*, 95(2): 353-359.
13. Purivirojkul W., Areechon N., 2008. Parasitic diversity of siluriform fishes in Mekong river, Chiang Rai province. *Kasetsart J.*, 42: 34-39.
  14. Skov J., Kania P. W., Dalsgaard A., Jørgensen T. R., Buchmann K., 2009. Life cycle stages of heterophyid trematodes in Vietnamese freshwater fishes traced by molecular and morphometric methods. *Vet Parasitol.*, 160(1-2): 66-75.
  15. Skov J., Kania P. W., Jørgensen T. R., Buchmann K. 2008. Molecular and morphometric study of metacercariae and adults of *Pseudamphistomum truncatum* (Opisthorchiidae) from roach (*Rutilus rutilus*) and wild American mink (*Mustela vison*). *Vet Pathobiol.*, 209-216.
  16. Verma C., Chaudhary A., Singh H. S. 2012. PCR-based molecular characterization, phylogenetic analysis and secondary structure of the 28S rDNA of *Thaparocleidus wallagonius* (Monogenea: Dactylogyridae)-the most primitive species of this genus from India. *Bioinformation*, 8(17): 816-819.
  17. Wu X. Y., Zhu X. Q., Xie M. Q., Xie M. Q., Wang J. Q., Li A. X., 2008. The radiation of *Thaparocleidus* (Monogenea: Dactylogyridae: Ancylo-discoidinae): phylogenetic analyses and taxonomic implications inferred from ribosomal DNA sequences. *Parasitol. Res.*, 102: 283-288.

### **STUDY ON SPECIES COMPOSITION OF PARASITE IN STRIPED CATFISH (*Pangasianodon hypophthalmus* Sauvage, 1878) BASED ON MORPHOLOGICAL AND GENETIC CHARACTERS**

**Vu Dang Ha Quyen<sup>1</sup>, Dang Thuy Binh<sup>1</sup>, Dao Thi Han Ly<sup>2</sup>, Pham Thi Dieu Anh<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Institute for Biotechnology and Environment, Nha Trang University

<sup>2</sup>Student of Aquaculture Department, Nha Trang University

#### **SUMMARY**

Striped catfish *Pangasianodon hypophthalmus* is one of the most important export product of Vietnam. The current study focuses on parasite species composition parasitizing *P. hypophthalmus*. Base on the morphological characteristics, 9 species have been detected including 2 species of *Myxobolus* spp., 2 Ciliophora species (*Ichthyonyctus* spp.), 2 Monogenea species (*Thaparocleidus siamensis* and *T. campylopterocirrus*), 2 Digenea species (*Proisorhynchus gracellescens* and *Bucephalus* sp.), and 1 Nematoda species (*Cucullanus chabaudi*). Using 28S rDNA gene sequences to classify phylogenetic position of *T. campylopterocirrus* showed close relationship with *T. siamensis* and *Thaparocleidus* sp. (sequence difference are 0.9 and 2.2%, respectively). Phylogram from ITS1 rDNA gene (Internal Transcribed Spacer No 1 of ribosomal DNA) shows that *Bucephalus* sp. have a close relationship with *B. minimus* and *B. polymorphus* (sequence difference are 10.1% and 34.1%, respectively).

*Keywords:* *Cucullanus*, *Myxobolus*, *Pangasianodon hypophthalmus*, *Proisorhynchus*, *Thaparocleidus*, catfish, parasite.

*Ngày nhận bài:* 15-7-2013