Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ
**Phần A: Khoa học Tự nhiên, Công nghệ và Môi trường**
website: sj.ctu.edu.vn

*DOI:10.22144/ctu.jvn.2020.025*

# ĐA DẠNG LOÀI VÀ MỐI QUAN HỆ DI TRUYỀN GIỮA CÁC LOÀI GIUN ĐẤT Ở TỈNH BÌNH DƯƠNG VÀ BÌNH PHƯỚC

Nguyễn Quốc Nam[1], Nguyễn Đức Anh[2], Phan Thanh Quốc[3] và Nguyễn Thanh Tùng[4*]

[1]*NCS đợt 2 năm 2016, Chuyên ngành Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ*
[2]*Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam*
[3]*Trường Cao đẳng Cộng đồng Hậu Giang*
[4]*Khoa Sư Phạm, Trường Đại học Cần Thơ*
**Người chịu trách nhiệm về bài viết: Nguyễn Thanh Tùng (email: thanhtung@ctu.edu.vn)*

***Thông tin chung:***
*Ngày nhận bài: 05/11/2019*
*Ngày nhận bài sửa: 03/01/2020*
*Ngày duyệt đăng: 29/04/2020*

***Title:***
*Diversity and genetic relationship of earthworm species in Binh Duong and Binh Phuoc provinces, Vietnam*

***Từ khóa:***
*Bình Dương và Bình Phước, đa dạng loài, giun đất, quan hệ di truyền*

***Keywords:***
*Binh Duong - Binh Phuoc, earthworm, genetic relationship, species diversity*

## ABSTRACT

*This study aimed to know the diversity and genetic relationship of earthworm species in Binh Duong and Binh Phuoc provinces. The results showed that, a total of 25 earthworm species belonging to 10 genera, 6 families were recorded from Binh Duong and Binh Phuoc provinces. Of which, Drawida beddardi and Eukerria saltensis were recorded for the first time in the southeastern part of Vietnam. Two previously recorded species, Amynthas modiglianii and Metaphire californica, were re-identified as M. neoexlis and M. planata. The earthworm fauna of Binh Duong – Binh Phuoc region clearly contains the tropical elements. The genus Metaphire belonging to the family Megascolecidae is dominant with 13 recorded species. The genetic distance between earthworm species ranges from 0.033-0.217, with the mean of 0.111. The phylogenetic tree shows the unresolved relationship between Metaphire and Amynthas. Within the genus Metaphire, the M. houlleti species group (M. houlleti, M. cf. campanula, Metaphire sp.1 and Metaphire sp.4) and the M. bahli species group (M. bahli, M. peguana and M. kiengiangensis) were separated from other linages, but with low supportive bootstrap value (60% and 43%, respectively).*

## TÓM TẮT

*Nghiên cứu này được thực hiện nhằm điều tra đa dạng loài và mối quan hệ di truyền giữa các loài giun đất ở Bình Dương và Bình Phước. Kết quả đã ghi nhận được 25 loài giun đất thuộc 10 giống xếp trong 6 họ ở Bình Dương – Bình Phước. Trong đó, có 2 loài (Drawida beddardi và Eukerria saltensis) mới ghi nhận lần đầu cho khu hệ giun đất Đông Nam Bộ - Việt Nam. Dựa trên các mẫu nghiên cứu trước đây, hai loài bị định danh nhầm lẫn Amynthas modiglianii và Metaphire californica được điều chỉnh tương ứng thành M. neoexilis và M. planata. Khu hệ giun đất Bình Dương – Bình Phước giàu yếu tố nhiệt đới có giống Metaphire thuộc họ Megascolecidae chiếm ưu thế tuyệt đối (13 loài), họ Moniligastridae (3 loài), các họ còn lại (Almindae, Rhinodrilidae, Ocnerodrilidae và Octochaetidae) mỗi họ có 1 loài. Khoảng cách di truyền K2P (Kimura 2 Parameters) giữa các loài giun đất ở khu vực nghiên cứu dao động từ 0,033 - 0,217, trung bình khoảng 0,111. Phân tích cây quan hệ phát sinh cho thấy vị trí phân loại của 2 giống Metaphire và Amynthas chưa thật sự rõ ràng. Riêng trong giống Metaphire nhóm loài houlleti (M. houlleti, M. cf. campanulata, M. sp. 1 và M. sp. 4) và nhóm loài bahli (M. bahli, M. peguana và M. kiengiangensis) tách thành các nhánh riêng biệt, nhưng có giá trị bootstrap khá thấp (60% và 43%).*

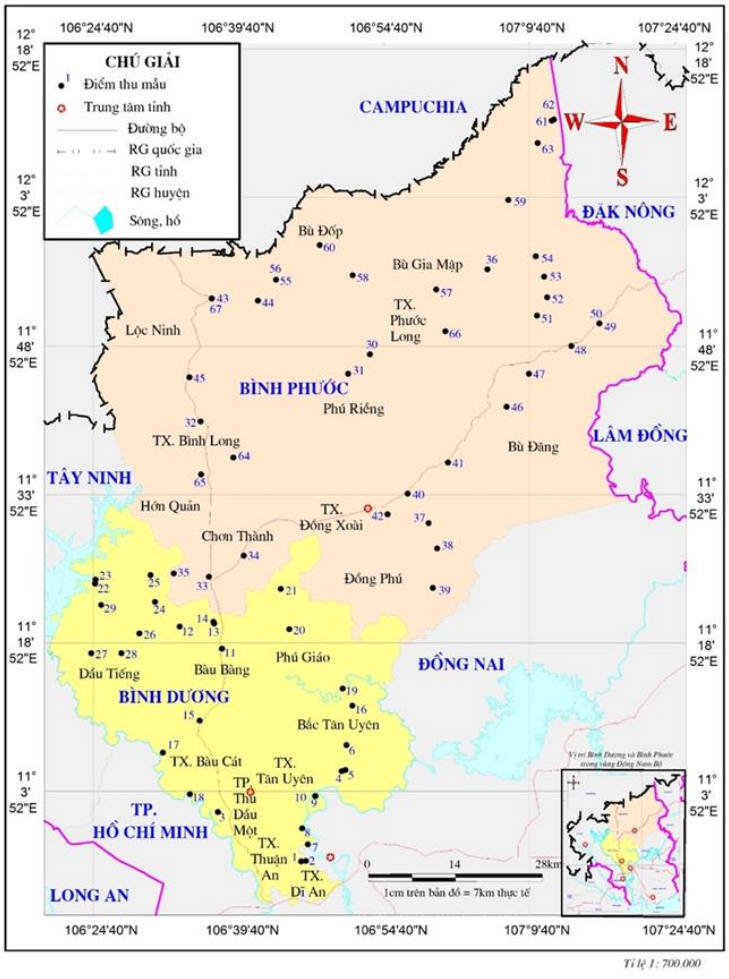
Trích dẫn: Nguyễn Quốc Nam, Nguyễn Đức Anh, Phan Thanh Quốc và Nguyễn Thanh Tùng, 2020. Đa dạng loài và mối quan hệ di truyền giữa các loài giun đất ở tỉnh Bình Dương và Bình Phước. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 56(2A): 11-20.

## 1 GIỚI THIỆU

Cho đến nay, chưa có bất kỳ công bố nào về đa dạng loài giun đất ở tỉnh Bình Phước. Riêng tỉnh Bình Dương, Nguyễn Thị Ngọc Nhi (2014) và Nguyễn Thị Mai *và ctv*. (2015) đã ghi nhận được 13 loài giun đất thuộc 7 giống của 4 họ ở huyện Dầu Tiếng và huyện Phú Giáo. Tuy nhiên, hai công bố này có sự nhầm lẫn trong việc xác định tên của loài *Amynthas modiglianii* và *Metaphire californica*. Ngoài ra, có 11 taxon chưa xác định tên khoa học đến loài (chủ yếu thuộc họ Megascolecidae). Thành phần loài giun đất ở khu vực này tương đối phức tạp nên gặp nhiều khó khăn trong việc định loại bằng đặc điểm hình thái, đặc biệt phổ biến dị ở các loài tương đối lớn. Chính vì thế, các dẫn liệu sinh học phân tử đã được sử dụng để hỗ trợ trong việc định danh và xác định mối quan hệ di truyền giữa các loài thuộc họ Megascolecidae. Bài báo này được thực hiện dựa trên các mẫu giun đất thu mới ở Bình Dương và Bình Phước trong năm 2017 và bộ mẫu (4186 cá thể) của Nguyễn Thị Ngọc Nhi (2014) và Nguyễn Thị Mai *và ctv*. (2015) thu ở huyện Dầu Tiếng và huyện Phú Giáo (Bình Dương).

## 2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Các mẫu giun đất được thu ngẫu nhiên ở 67 điểm trong 3 dạng địa hình (vùng núi thấp, vùng đồi và vùng đồng bằng) vào giữa mùa mưa của tháng 10/2017 (Hình 1). Sau khi thu, mẫu được rửa sạch bằng nước máy, định hình và trữ mẫu trong dung dịch formol 4% để phân tích hình thái; cố định và lưu mẫu trong cồn 96% để phân tích phân tử. Hiện tại các mẫu đang được lưu trữ ở Phòng thí nghiệm Động vật – Bộ môn Sư phạm Sinh học – Trường Đại học Cần Thơ.




**Hình 1: Các điểm thu mẫu giun đất ở Bình Dương và Bình Phước vào tháng 10/2017**

Định danh dựa vào hình thái ở các loài bằng cách xác định các đặc điểm chẩn loại trên mẫu như kiểu tơ, kiểu đai sinh dục, vị trí lỗ nhận tinh, hình thái vùng đực, trạng thái manh tràng, túi nhận tinh… và so sánh với các công bố của Gates (1972), Sims and Easton (1972), Nguyễn Thanh Tùng (2013),…

Phương pháp giải trình tự DNA được thực hiện theo các bước sau:

– *Tách chiết DNA*: DNA tổng số được tách chiết từ các mô cơ của giun đất bằng việc sử dụng Qiagen DNeasy Blood & Tissue Kits.

– *Khuếch đại trình tự DNA*: gen ty thể được khuếch đại bằng phản ứng PCR (trên máy Amp Systems 9700, Eppendoft). Khối lượng phản ứng bao gồm 50 µl chứa 10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, 1.5 mM $MgCl_2$, 2.5 mM dNTP, 100 µM cho mỗi mồi, 1.0 đơn vị của Taq polymerase (TaKaRa) và 1µL dung dịch DNA tổng số. Cặp mồi dùng khuếch đại đoạn gen 16S rRNA là: 16SF-EW (5'-TATTTCGACTGTTTAACAAAAACATTG-3') và 16SR1-EW (5'-GATAGAAGCTAACCTGGCTTAC-3') của Jirapatrasilp *et al.* (2016). Chu trình nhiệt là 4 phút ở nhiệt độ 94°C cho sự biến tính ban đầu, tiếp theo là 36 chu kỳ (45 giây ở 94°C, 45 giây ở 50°C, và 1,5 phút ở 72°C), cuối cùng 7 phút ở 72°C (Jirapatrasilp *et al.*, 2016). Chu trình nhiệt có thể thay đổi theo điều kiện thí nghiệm để có thể thu được kết quả tốt nhất.

– *Kiểm tra sản phẩm PCR*: sau khi kết thúc chu trình nhiệt, khoảng 5 µl chứa sản phẩm PCR sẽ được chạy điện di trong 1% gel agarose-TBE. Sản phẩm được quan sát dưới ánh sáng UV. Các sản phẩm PCR nhân bản thành công sẽ được tinh sạch bằng ExoSap IT và gửi giải trình tự tại công ty Macrogen (Hàn Quốc).

– Các trình tự gen giải thành công được kiểm tra và hiệu chỉnh bằng phần mềm BioEdit. Các trình tự gen sẽ được sắp xếp bằng chương trình Cluster X (Thompson *et al.*, 1997), được kiểm tra mức độ tương đồng qua công cụ BLAST searches Altschul *et al.* (1990) và đăng ký mã số truy cập trên ngân hàng gen.

Phương pháp phân tích quan hệ phát sinh: khoảng cách di truyền giữa các mẫu phân tích được tính toán bằng phần mềm MEGA Version 7.0 (Kumar *et al.*, 2016). Phân tích quan hệ phát sinh giữa các loài được thực hiện bằng phần mềm IQTREE ver. 1.6.8 (Nguyen *et al.*, 2015) theo phương pháp Maximum Likelihood. Mô hình tiến hoá được lựa chọn thông qua module Modelfinder trong phần mềm IQTREE.

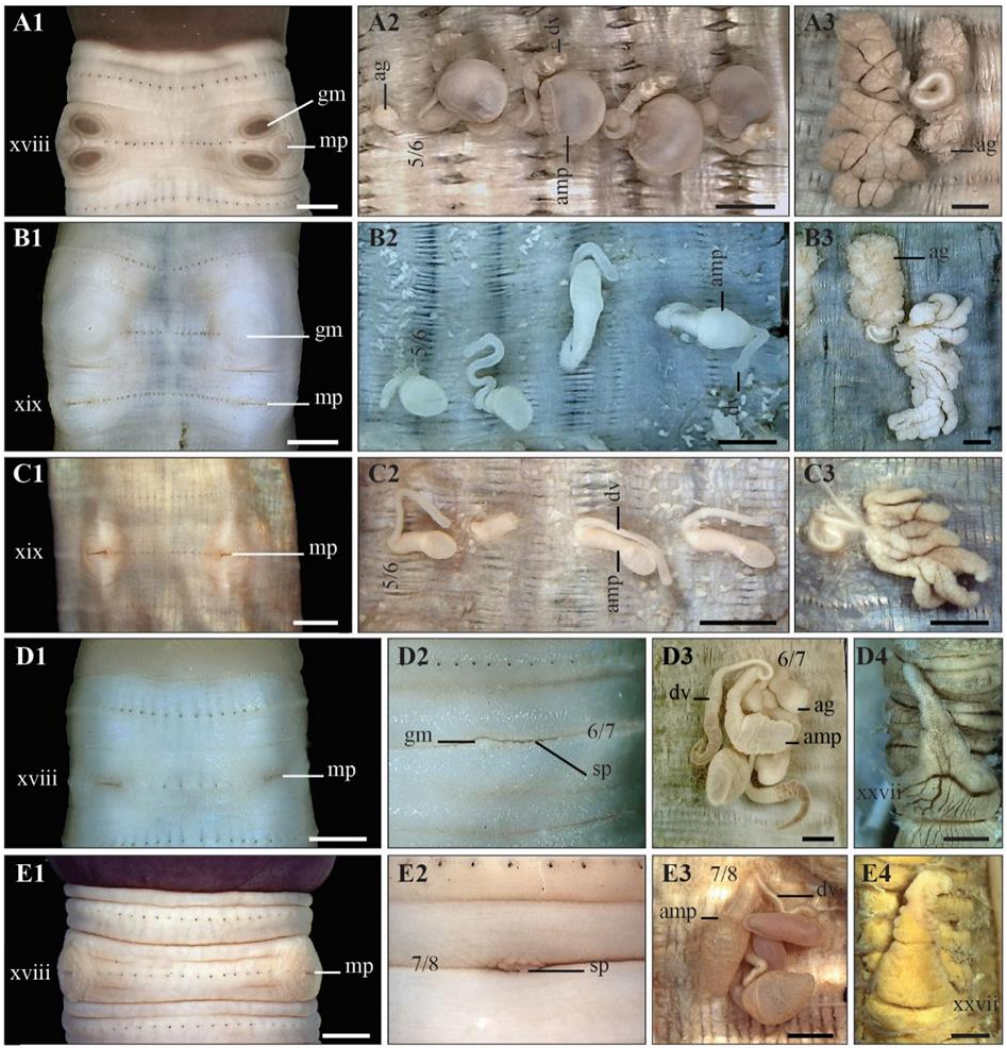
## 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1 Điều chỉnh về sự nhầm lẫn trong định danh *Amynthas modiglianii* và *Metaphire californica*

Kết quả kiểm tra lại bộ mẫu giun đất ở huyện Dầu Tiếng và Phú Giáo cho thấy có sự nhầm lẫn về việc định danh 2 loài *A. modiglianii* và *M. californica*.

Có 26 cá thể giun đất (hầu hết là con non) được xác định là *A. modiglianii*, thực chất mẫu này chỉ giống với mô tả gốc của *A. modiglianii* ở các đặc điểm như có 4 đôi túi nhận tinh ở rãnh gian đốt 5/6/7/8/9, manh tràng đơn giản, túi tinh hoàn thông nhau và không có tuyến phụ sinh dục vùng nhận tinh nhưng lại khác biệt ở nhiều đặc điểm chẩn loại quan trọng như có buồng giao phối, lỗ đực ở đốt xix và không có nhú phụ sinh dục vùng đực. So sánh đặc điểm của mẫu với các loài được ghi nhận ở Đông Nam Bộ cho thấy có nhiều điểm tương đồng với *M. neoexilis* như có 4 đôi lỗ nhận tinh ở 5/6/7/8/9, lỗ đực ở xix, có buồng giao phối, manh tràng đơn giản, túi tinh hoàn thông nhau, không có tuyến phụ sinh dục vùng nhận tinh. Tuy nhiên giữa chúng cũng có những điểm khác biệt như không có nhú phụ và tuyến phụ sinh dục vùng đực, có thể do các mẫu thu còn non nên các đặc điểm trên chưa phát triển vì đây là những đặc điểm thứ sinh. Từ đó, loài trước đây được định danh là *A. modiglianii* thực chất là *M. neoexilis*.

Các mẫu được định danh là *M. californica* ở huyện Phú Giáo của Nguyễn Thị Mai *và ctv*. (2015), thực chất có nhiều điểm sai khác với mô tả loài này của Gates (1972) như kích thước, vị trí lỗ nhận tinh, nhú phụ và tuyến phụ sinh dục vùng nhận tinh, trạng thái của manh tràng và túi tinh hoàn. Các điểm khác biệt này hoàn toàn trùng khớp với mô tả gốc của loài *M. planata* của Gates (1926). Ngoài ra, các mẫu của loài được công bố là *M. californica* của Nguyễn Thanh Tùng (2014), Nguyễn Thanh Tùng *và ctv*. (2017) cũng giống với mô tả gốc loài *M. planata*. Từ đó, các mẫu được định danh là *M. californica* ở Nam Bộ trước đây thực chất là *M. planata*.




**Hình 2: Đặc điểm của *A. modiglianii* (A), *M. neoexilis* (B, C), *M. planata* (D) và *M. californica* (E)**

*1: Vùng đực nhìn từ phía bụng; 2: Bộ túi nhận tinh; 3: Tuyến tiền liệt; 4: Manh tràng; (mp = lỗ đực, gm = nhú phụ sinh dục, amp = ampun, dv = diverticulum, ag = tuyến phụ sinh dục); Thước tỉ lệ = 1mm; (Địa điểm thu mẫu: A - Quảng Nam, B - Đồng Nai, C - Bình Dương, D - Bà Rịa – Vũng Tàu, E - Bắc Bộ).*

### 3.2 Đa dạng các loài giun đất ở tỉnh Bình Dương và Bình Phước

Dựa trên cơ sở phân tích 1.488 cá thể giun đất thu ở khu vực nghiên cứu (2017) và kết quả kiểm tra lại bộ mẫu của Nguyễn Thị Ngọc Nhi (2014), Nguyễn Thị Mai *và ctv*. (2015), có 25 loài giun đất thuộc 10 giống của 6 họ được ghi nhận ở 2 tỉnh Bình Dương và Bình Phước (Bảng 1).

**Bảng 1: Tần số xuất hiện (C) và độ phong phú (n% và p%) của các loài giun đất ở Bình Dương và Bình Phước và các vùng lân cận**

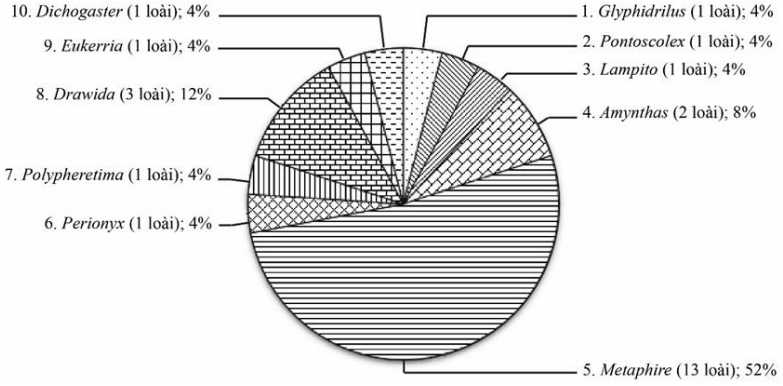
| STT | Taxon | Bình Dương và Bình Phước | | | BRVT (1) | Đồng Nai (2) | ĐBSCL (3) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | n% | p% | C | | | |
| **Họ ALMIDAE Duboscq, 1902** | | | | | | | |
| | **Giống *Glyphidrilus* Horst, 1889** | | | | | | |
| 1. | *Glyphidrilus papillatus* (Rosa, 1890) | 0,67 | 0,37 | 0,01 | + | - | + |
| **Họ MEGASCOLECIDAE (part Rosa, 1891)** | | | | | | | |
| | **Giống *Amynthas* Kinberg, 1867** | | | | | | |
| 2. | *A. exiguus austrinus* (Gates, 1932) * | 2,02 | 0,11 | 0,10 | - | + | - |
| 3. | *A. polychaetiferus* (Thai, 1984) * | 1,88 | 9,83 | 0,12 | + | + | + |
| | **Giống *Lampito* Kinberg, 1867** | | | | | | |
| 4. | *Lampito mauritii* Kinberg, 1867 | 4,84 | 1,77 | 0,07 | + | + | + |
| | **Giống *Metaphire* Sims & Easton, 1972** | | | | | | |
| 5. | *M. anomala* (Michaelsen, 1907) * | 1,28 | 1,61 | 0,04 | + | + | + |
| 6. | *M. bahli* (Gates, 1945) | 6,72 | 7,46 | 0,25 | + | + | + |
| 7. | *M.* cf. *campanulata* (Rosa, 1890) | 9,68 | 24,33 | 0,39 | + | + | + |
| 8. | *M. houlleti* (Perrier, 1872) | 7,06 | 3,17 | 0,25 | + | + | + |
| 9. | *M. neoexilis* (Thai & Samphon, 1988) (4) | + | + | + | - | + | - |
| 10. | *M. pacseana* (Thai & Samphon, 1988) | 1,01 | 14,84 | 0,09 | - | + | - |
| 11. | *M. peguana peguana* (Rosa, 1890) | 1,01 | 1,98 | 0,07 | + | + | + |
| 12. | *M. planata* (Gates, 1926) | 9,61 | 11,24 | 0,37 | + | + | + |
| 13. | *M. posthuma* (Vaillant, 1868) (4) | + | + | + | + | + | + |
| 14. | *M.* sp. 1 | 4,70 | 3,59 | 0,28 | - | - | - |
| 15. | *M.* sp. 2 | 1,95 | 3,32 | 0,07 | - | - | - |
| 16. | *M.* sp. 3 | 0,54 | 0,20 | 0,03 | - | - | - |
| 17. | *M.* sp. 4 | 0,27 | 0,04 | 0,01 | - | - | - |
| | **Giống *Perionyx* Perrier, 1872** | | | | | | |
| 18. | *Perionyx excavatus* Perrier, 1872 | 0,13 | 0,01 | 0,01 | - | + | + |
| | **Giống *Polypheretima* Michaelsen, 1934** | | | | | | |
| 19. | *Po. cordata* Nguyen, Tran & Nguyen, 2015* | 2,69 | 1,89 | 0,21 | - | + | - |
| **Họ MONILIGASTRIDAE Claus, 1880** | | | | | | | |
| | **Giống *Drawida* Michaelsen, 1900** | | | | | | |
| 20. | *Drawida beddardi* (Rosa, 1890) ** | 0,60 | 0,47 | 0,04 | - | - | - |
| 21. | *Drawida* cf. *barwelli* (Beddard, 1886) (4) | + | + | + | + | - | + |
| 22. | *Drawida* sp. | 6,38 | 3,71 | 0,13 | + | + | - |
| **Họ OCNERODRILIDAE Beddard, 1891** | | | | | | | |
| | **Giống *Eukerria* Michaelsen, 1935** | | | | | | |
| 23. | *Eukerria saltensis* (Beddard, 1895) *** | 1,75 | 0,07 | 0,06 | - | - | - |
| **Họ OCTOCHAETIDAE Gates, 1959** | | | | | | | |
| | **Giống *Dichogaster* Beddard, 1888** | | | | | | |
| 24. | *Dichogaster bolaui* (Michaelsen, 1891) * | 3,63 | 0,08 | 0,03 | + | - | + |
| **Họ RHINODRILIDAE (Benham, 1890)** | | | | | | | |
| | **Giống *Pontoscolex* Schmarda, 1861** | | | | | | |
| 25. | *Pont. corethrurus* (Müller, 1857) | 31,59 | 9,92 | 0,66 | + | + | + |
| | **Số loài chung so với tổng số loài** | | | | 14/26 | 16/24 | 14/34 |

*+: đã được ghi nhận, -: chưa được ghi nhận; (*): ghi nhận lần đầu ở Bình Dương và Bình Phước; (**): ghi nhận lần đầu ở Đông Nam Bộ; (***): ghi nhận lần đầu ở Nam Bộ; (1): Theo Nguyễn Thanh Tùng và ctv. (2017); (2): Theo Lê Văn Nhãn (2015); (3): Theo Nguyễn Thanh Tùng (2014); (4): Theo Nguyễn Thị Ngọc Nhi (2014) và Nguyễn Thị Mai và ctv. (2015). BRVT: Bà Rịa – Vũng Tàu; ĐBSCL: Đồng bằng sông Cửu Long.*

Kết quả này đã bổ sung thêm 7 loài mới được ghi nhận lần đầu cho khu vực nghiên cứu và 5 taxon chưa định danh đến loài. Trong số đó, có 1 loài lần đầu tiên được ghi nhận ở Nam Bộ là *Eukerria*

*saltensis*. Loài này có vùng phân bố rộng từ Nam Mỹ qua Myanmar, từ Nam Phi đến Úc (Blakemore, 2002). Ở Việt Nam, loài này đã được ghi nhận ở Đông Bắc, Nam Trung Bộ và Tây Nguyên (Lê Văn Triển, 1995; Huỳnh Thị Kim Hối, 1996). Lần đầu tiên ghi nhận loài *Drawida beddardi* cho khu hệ giun đất Đông Nam Bộ, trước đây loài này cũng được ghi nhận một vài nơi thuộc ĐBSCL (Nguyễn Thanh Tùng, 2014). Trong số các taxon chưa định danh đến loài, có 3 taxon đang chờ công bố loài mới cho khoa học (*M.* sp. 2 = *M. songbeensis; M.* sp. 3 = *M. setosa* và *M.* sp. 4 = *M. houlletoides*). Taxon *M.* sp.1 thuộc nhóm loài *houlleti* với các đặc điểm trung gian giữa *M.* cf. *campanulata* và *M. houlleti* và đang chờ thu thập thêm nhiều thông tin hơn để có thể kết luận chính xác về vị trí phân loại học của mẫu này.

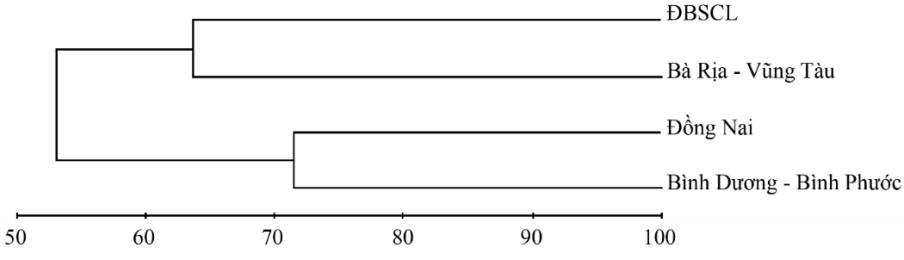
Xét về cấu trúc thành phần loài, họ Megascolecidae chiếm ưu thế tuyệt đối ở khu vực nghiên cứu (18 loài); kế đến là Moniligastridae (3 loài); các họ còn lại (Almindae, Rhinodrilidae, Ocnerodrilidae và Octochaetidae) mỗi họ có 1 loài (Hình 3). Kết quả này phù hợp với nhận định của Thái Trần Bái (2000a) và Hendrix *et al*. (2008) về tính chất khu hệ giun đất ở Đông Dương. Xét riêng họ Megascolecidae, nhóm Pheretimiod có 16/18 loài (chiếm 88,9%), điều này phù hợp với cấu trúc thành phần loài của các khu hệ khác ở Việt Nam.




**Hình 3: Cấu trúc thành phần loài giun đất ở Bình Dương và Bình Phước**

Ở nhóm loài Pheretimiod, tỉ lệ các loài thuộc giống *Metaphire* chiếm ưu thế tuyệt đối (13/16 loài), 3 loài còn lại thuộc giống *Amynthas* (2 loài) và *Polypheretima* (1 loài). Kết quả này tương tự như các nghiên cứu trước đây ở Đồng Nai (14/20 loài) và Bà Rịa – Vũng Tàu (12/19 loài) (Nguyễn Thanh Tùng *và ctv.*, 2017; Nguyễn Quốc Nam *và ctv.*, 2019). Điều này đã củng cố thêm nhận định của Thái Trần Bái (2000b), khu hệ phía Bắc giàu yếu tố á nhiệt đới, giống *Amynthas* chiếm ưu thế; khu hệ phía Nam giàu yếu tố nhiệt đới, giống *Metaphire* chiếm ưu thế.

Khu hệ giun đất ở Bình Dương và Bình Phước có độ tương đồng cao với khu hệ Đồng Nai (71,43%) nhưng tách biệt với khu hệ Bà Rịa – Vũng Tàu (64,86%) và ĐBSCL (62,22%) (Hình 4). Nguyên nhân có thể do ảnh hưởng của môi trường sống giữa Đồng Nai và Bình Dương – Bình Phước giống nhau về địa hình chuyển tiếp từ cao nguyên xuống đồng bằng, không tiếp giáp với biển, chủ yếu là đất xám và đất đỏ,… Trong khi đó, Bà Rịa – Vũng Tàu và ĐBSCL tiếp giáp với biển, địa hình đồng bằng và loại đất phù sa chiếm chủ yếu.




**Hình 4: Mối tương quan về thành phần loài giữa khu hệ giun đất Bình Dương và Bình Phước với các khu hệ lân cận**

Dựa vào độ phong phú (về số lượng và sinh khối) và tần số xuất hiện, khu hệ giun đất Bình Dương và Bình Phước có 2 loài ưu thế là *Pont. corethrurus* (n% = 31,59; p% = 9,92; C = 0,66) và *M.* cf. *campanulata* (n% = 9,68; p% = 24,33; C = 0,39), khác biệt so với loài ưu thế của các khu hệ lân cận như ĐBSCL (*Pont. corethrurus, M. posthuma* và *Lampito mauritii*) và Bà Rịa – Vũng Tàu (*M. bahli* và *A. polychaetiferus*) (Nguyễn Thanh Tùng, 2014; Nguyễn Thanh Tùng *và ctv*., 2017). Kết quả này phù hợp với nhận định của Thái Trần Bái (1989, 1997), *Pont. corethrurus* là loài ngoại lai (có nguồn gốc Nam Mỹ) đặc trưng, phổ biến và chiếm mật độ lớn ở vùng đồi và phù hợp với nhận định của Nguyễn Thanh Tùng (2013), *M.* cf. *campanulata* có mặt trong tất cả các dạng địa hình nhưng tần số xuất hiện cao ở vùng đồi núi.

### 3.3 Mối quan hệ di truyền của các loài giun đất ở khu vực nghiên cứu

Dữ liệu để phân tích mối quan hệ phát sinh là trình tự đoạn gen 16S rRNA của 21 mẫu giun đất thuộc 14 loài của 3 giống đã được giải mã thành công (Bảng 2). Khoảng cách di truyền được xác định dựa vào tập hợp dữ liệu của 34 mẫu (21 mẫu phân tích và 13 mẫu trên ngân hàng gen), sau khi căn chỉnh thẳng hàng và loại bỏ các phần dư có 425 bp. Trong các trình tự gen thu được, phần chứa thông tin bảo thủ (conservative information) là 228 bp, phần chứa thông tin ít biến đổi (parsimony information) là 126 bp, phần chứa thông tin thay đổi (variable information) là 195 bp. Khoảng cách di truyền được thực hiện theo mô hình K2P trong phần mềm MEGA ver. 7.0 (Kumar *et al*., 2016).

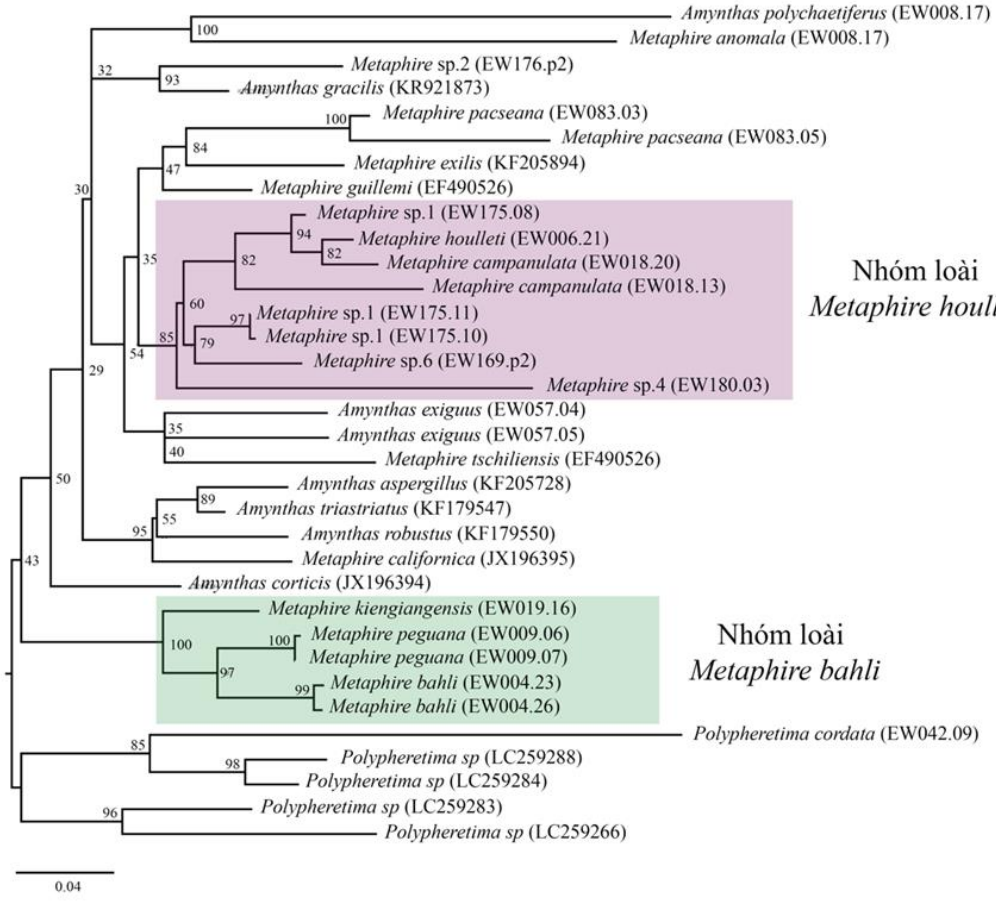
**Bảng 2: Các mẫu giun đất đã giải trình tự thành công đoạn gen 16S rRNA**

| STT | Loài | Mã số mẫu | Mã số GenBank |
|---|---|---|---|
| 1. | *Amynthas exiguus austrinus* | EW-057.04 | MN630322 |
| | | EW-057.05 | MN630323 |
| 2. | *Amynthas polychaetiferus* | EW-008.17 | MN630315 |
| 3. | *Metaphire anomala* | EW-020.14 | MN630320 |
| 4. | *Metaphire bahli* | EW-004.23 | MN630312 |
| | | EW-004.26 | MN630313 |
| 5. | *Metaphire* cf. *campanulata* | EW-018.13 | MN630330 |
| | | EW-018.20 | MN630318 |
| 6. | *Metaphire houlleti* | EW-006.21 | MN630329 |
| 7. | *Metaphire kiengianensis* | EW-019.06 | MN630319 |
| 8. | *Metaphire pacseana* | EW-083.03 | MN630324 |
| | | EW-083.05 | MN630325 |
| 9. | *Metaphire peguana* | EW-009.06 | MN630316 |
| | | EW-009.07 | MN630317 |
| 10. | *Metaphire* sp. 1 | EW-175.08 | MN630326 |
| | | EW-175.11 | MN630327 |
| | | EW-175.10 | MN630332 |
| 11. | *Metaphire* sp. 2 | EW-176.p02 | MN630331 |
| 12. | *Metaphire* sp. 4 | EW-180.03 | MN630328 |
| 13. | *Metaphire* sp. 6 | EW-169.p2 | MN630333 |
| 14. | *Polypheretima cordata* | EW-042.09 | MN630321 |
| 15. | *Amynthas aspergillus* | | KF205728 |
| 16. | *Amynthas corticis* | | JX196394 |
| 17. | *Amynthas gracilis* | | KR921873 |
| 18. | *Amynthas robustus* | | KF179550 |
| 19. | *Amynthas triastriatus* | | KF179547 |
| 20. | *Metaphire californica* | | JX196395 |
| 21. | *Metaphire exilis* | Ngân hàng Gen | KF205894 |
| 22. | *Metaphire guillelmi* | | EF490526 |
| 23. | *Metaphire tschiliensis* | | EF490525 |
| 24. | *Polypheretima* sp. | | LC259266 |
| 25. | *Polypheretima* sp. | | LC259283 |
| 26. | *Polypheretima* sp. | | LC259284 |
| 27. | *Polypheretima* sp. | | LC259288 |

Kết quả cho thấy khoảng cách di truyền K2P giữa các loài giun đất nghiên cứu dao động từ 0,033 - 0,217, trung bình khoảng 0,111. Trong đó, khoảng cách di truyền giữa các loài trong giống *Amynthas* dao động từ 0,033 - 0,178; giữa các loài *Metaphire* dao động 0,055 - 0,217; và giữa các loài *Polypheretima* dao động từ 0,044 - 0,134. Các nghiên cứu về giun đất trước đây có tính toán khoảng cách di truyền giữa các loài giun đất khác nhau đối với gen COI và khoảng cách để tách biệt loài dao động từ 0,13 - 0,18 (Chang and James, 2011; Jeratthitikul *et al*., 2017).

Mối quan hệ phát sinh loài giữa 34 mẫu giun đất được xác định bằng mô hình TIM+F+R3, số bootstrap = 1000, thực hiện trong phần mềm IQTREE ver. 1.6.8. Giống *Polypheretima* được lựa chọn là nhóm ngoài cho hai giống *Amynthas* và *Metaphire* (Hình 5).

Qua hình 5, vị trí phân loại của hai giống *Metaphire* và *Amynthas* chưa thật sự rõ ràng. Các loài *Amynthas* và *Metaphire* đôi khi tạo thành những nhánh cùng nhau, như loài *A. polychaetiferus* và *M. anomala* (giá trị bootstrap = 100%), *A. exiguus* và *M. tschiliensis* (giá trị bootstrap = 35 - 40%), *M. californica* và các loài *A. aspergillus, A. triastriatus, A. robustus* (giá trị bootstrap = 95%). Các nghiên cứu di truyền gần đây cũng cho thấy quan hệ đa phát sinh giữa hai giống *Amynthas* và *Metaphire* (Zhao *et al*., 2015; Jeratthitikul *et al*., 2017).




**Hình 5: Cây quan hệ phát sinh giữa các loài giun đất ở Bình Dương và Bình Phước theo phương pháp Maximum Likelihood (Các chỉ số ở gốc là giá trị bootstrap)**

Cây quan hệ phát sinh cũng cho thấy hai nhóm giun đất *M. houlleti* và *M. bahli* được tách thành các nhánh riêng biệt, nhưng có giá trị bootstrap khá thấp (60% và 43%, tương ứng). Nhóm *M. bahli* có 3 loài: *M. bahli*, *M. peguana* và *M. kiengiangensis*, giữa các loài tách thành các nhánh độc lập với giá trị bootstrap cao (97% và 100%). Trong khi đó, nhóm *M. houlleti* chứa 4 loài: *M. houlleti*, *M.* cf.

*campanulata*, *M.* sp. 1 và *M.* sp. 4, mối quan hệ giữa chúng chưa rõ ràng. Về mặt hình thái, đây là nhóm có đặc điểm hình thái bên ngoài khá giống nhau và nhiều khả năng nhóm này có các loài đồng hình như Jeratthitikul *et al*. (2017) đã nhận xét về nhóm này.

## 4 KẾT LUẬN

Từ 1488 cá thể thu được từ 67 điểm thu thuộc hai tỉnh Bình Dương và Bình Phước đã ghi nhận 25 loài giun đất xếp trong 10 giống và 6 họ. Trong đó có 7 loài mới được ghi nhận lần đầu ở khu vực nghiên cứu. Ngoài ra còn có 5 taxon chưa được định danh đến loài. Họ Megascolecidae chiếm ưu thế với 18 loài (72%), giống *Metaphire* có số loài nhiều nhất (13 loài) trong khu hệ. *Pont. corethrurus* và *M.* cf. *campanulata* là 2 loài ưu thế ở khu vực nghiên cứu.

Khoảng cách di truyền K2P giữa các loài giun đất ở khu vực nghiên cứu dao động từ 0,033 - 0,217, trung bình khoảng 0,111; vị trí phân loại của 2 giống *Metaphire* và *Amynthas* chưa thật sự rõ ràng.

## LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 106.05-2018.04. Nhóm tác giả xin chân thành gửi lời cảm ơn đến Đinh Sô Na, Lương Thị Huỳnh Tiên và Nguyễn Thị Ngọc Nhi đã cung cấp mẫu giun đất cho nghiên cứu này.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W. and Lipman, D.J., 1990. Basic local alignment search tool. Journal of Molecular Biology. 215(3): 403-410.

Blakemore, R.J. 2002. Cosmopolitan Earthworms - an Eco - Taxonomic Guide to the Peregrine Species of the World. CD - ROM. Canberra, Australia: VermEcology, p. 500.

Chang, C.H. and James, S., 2011. A critique of earthworm molecular phylogenetics. Pedobiologia. 54(S): S3-S9.

Gates, G.E., 1926. LVI - Note on a new species of *Pheretima* from Rangoon. Journal of Natural History. 17(100): 411-415.

Gates, G.E., 1972. Burmese earthworms: an introduction to the systematics and biology of megadrile oligochaetes with special reference to Southeast Asia. Transactions of the American philosophical Society. 62(7): 1-326.

Hendrix, P.F., Callaham, Jr.M.A., Drake, J.M., *et al*., 2008. Pandora's box contained bait: the global problem of introduced earthworms. Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst. 39: 593-613.

Huỳnh Thị Kim Hối, 1996. Khu hệ giun đất phía Nam miền Trung Việt Nam. Luận án Phó tiến sĩ Khoa học Sinh học. Đại học Sư phạm Hà Nội. Việt Nam.

Jeratthitikul, E., Bantaowong, U. and Panha, S., 2017. DNA barcoding of the Thai species of terrestrial earthworms in the genera *Amynthas* and *Metaphire* (Haplotaxida: Megascolecidae). European Journal of Soil Biology. 81: 39–47.

Jirapatrasilp, P., Prasankok, P., Sutcharit, C., Chanabun, R. and Panha, S., 2016. Two new Cambodian semi-aquatic earthworms in the genus *Glyphidrilus* Horst, 1889 (Oligochaeta, Almidae), based on orphological and molecular data. Zootaxa. 4189(3): 543-558.

Kumar, S., Stecher, G. and Tamura, K., 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. Molecular Biology and Evolution. 33(7): 1870-1874.

Lê Văn Nhãn, 2015. Đa dạng loài và đặc điểm phân bố của giun đất ở tỉnh Đồng Nai. Luận văn thạc sĩ. Trường Đại học Cần Thơ. Việt Nam.

Lê Văn Triển, 1995. Khu hệ giun đất miền Đông Bắc Việt Nam. Luận án Phó tiến sĩ Khoa học Sinh học. Đại học Sư phạm Hà Nội. Việt Nam.

Nguyễn Quốc Nam, Nguyễn Thanh Tùng, Dương Chí Trọng, Nguyễn Văn Thắng và Lê Văn Nhãn, 2019. Đa dạng loài giun đất ở tỉnh Đồng Nai, Việt Nam. Tạp chí Sinh học. 41(2se): 117-129.

Nguyễn Thanh Tùng, 2013. Khu hệ giun đất ở Đồng bằng sông Cửu Long, Việt Nam. Luận án tiến sĩ Sinh học. Đại học Sư Phạm Hà Nội. Việt Nam.

Nguyễn Thanh Tùng, 2014. Danh lục và một số nhận xét về tính chất khi hệ giun đất ở Đồng bằng sông Cửu Long, Việt Nam. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 32: 106-119.

Nguyễn Thanh Tùng, Nguyễn Quốc Nam, Trương Thúy Ái và Nguyễn Phúc Hậu, 2017. Đa dạng loài và đặc điểm phân bố giun đất ở tỉnh Bà Rịa - Vũng Tàu. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 53(A): 96-107.

Nguyễn Thị Mai, Cao Văn Luân, Nguyễn Thanh Hoài và Nguyễn Thị Ngọc Nhi, 2015. Thành phần loài giun đất ở huyện Phú Giáo tỉnh Bình Dương. Tạp chí Đại học Thủ Dầu Một. 5(24): 34-38.

Nguyễn Thị Ngọc Nhi, 2014. Thành phần loài và đặc điểm phân bố của giun đất ở huyện Dầu Tiếng tỉnh Bình Dương. Tạp chí Đại học Thủ Dầu Một. 5(18): 48-54.

Nguyen, L.T., Schmidt, H.A., von Haeseler, A. and Minh, B.Q., 2015. IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum likelihood phylogenies. Mol. Biol. Evol. 32: 268-274.

Sims, R.W. and Easton, E.G., 1972. A numerical revision of the earthworm genus *Pheretima* auct.

(Megascolecidae: Oligochaeta) with the recognition of new genera and an appendix on the earthworms collected by the Royal Society North Borneo Expedition. Biological Journal of the Linnean Society. 4(3): 169-268.

Thái Trần Bái, 1989. Giá trị thực tiễn của giun đất. Tạp chí Sinh học. 11(1): 39-43.

Thái Trần Bái, 1997. Vấn đề sử dụng giun đất trong phủ xanh đồi núi trọc nước ta. Tạp chí Lâm nghiệp. 6: 14-16.

Thái Trần Bái, 2000a. Đa dạng loài giun đất ở Việt Nam. *Trong*: Hội nghị Những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong sinh học. Nxb Đại học Quốc gia Hà Nội. Hà Nội, 307-311.

Thái Trần Bái, 2000b. Kết quả nghiên cứu giun đất ở Việt Nam và những vấn đề cần quan tâm trong các năm tới. Tài nguyên sinh vật đất và sự phát triển bền vững của hệ sinh thái đất. Nxb Nông nghiệp. 43-51.

Thompson, J.D., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. and Higgins, D.G., 1997. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. Nucleic Acids Research. 25(24): 4876-4882.

Zhao, Q., Cluzeau, D., Jiang, J., *et al*., 2015. Molecular Phylogeny of Pheretimoid Earthworms (Haplotaxina: Megascolecidae) Based on Mitochondrial DNA in Hainan Island, China. Molecular Biology. 4(4): 1-6.