

## ĐÁNH GIÁ ĐA DẠNG DI TRUYỀN CÁC LOÀI VI KHUẨN *Vibrio* GÂY BỆNH TRÊN TÔM VÀ CÁ Ở THỪA THIÊN HUẾ

Hoàng Tấn Quảng<sup>1</sup>, Nguyễn Đình Khoa<sup>2</sup>, Trần Thúy Lan<sup>1</sup>, Phạm Thị Diễm Thi<sup>1</sup>, Trương Thị Bích Phượng<sup>2</sup>, Nguyễn Duy Quỳnh Trâm<sup>3</sup>, Nguyễn Thị Thu Liên<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế

<sup>2</sup> Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

<sup>3</sup> Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

### TÓM TẮT

*Vibrio* là các nhóm vi khuẩn gây bệnh phổ biến trên tôm và cá, nghiên cứu đa dạng di truyền các loài *Vibrio* sẽ giúp xác định nguồn gốc phát sinh loài cũng như tìm kiếm chỉ thị phân tử cho từng loài gây bệnh. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã nghiên cứu đa dạng di truyền của 32 chủng *Vibrio* gây bệnh trên tôm và cá nuôi tại tỉnh Thừa Thiên Huế bằng kỹ thuật đa hình các đoạn khuếch đại ngẫu nhiên (RAPD). Các chỉ số di truyền nghiên cứu bao gồm số allele quan sát được (na), số allele hiệu quả (ne), hệ số đa dạng di truyền (h) theo Nei, hệ số đa dạng di truyền theo Shannon (I) cho tất cả các chủng *Vibrio* được phân tích bằng 6 môi RAPD với các giá trị tương ứng lần lượt là 2,0000; 1,1476; 0,1171 và 0,2205. Chỉ số đa dạng nguồn gen trung bình giữa các loài (Hs) là 0,0714, chiếm 62,52% đa dạng nguồn gen của tổng tất cả các chủng nghiên cứu (Ht = 0,1142). Chỉ số đa dạng di truyền giữa các quần thể (Gst) là 0,3746 và dòng gen ước tính (Nm) là 0,8348. Mức độ tương đồng di truyền giữa các loài này là tương đối cao, dao động từ 0,8986 đến 0,9847. Các loài có độ tập trung di truyền cao là *V. shilonii*, *V. vulnificus*, *V. harveyi* và *V. cholerae*, trong khi *V. parahaemolyticus* có sự phân tán giữa các chủng. Hai loài *V. shilonii* và *V. vulnificus* khác xa nhau và có sự khác biệt di truyền so với các loài còn lại. Kết quả nghiên cứu là cơ sở để phát triển chỉ thị phân tử nhận diện các loài này.

**Từ khóa:** Cá, hoại tử gan tụy cấp, Thừa Thiên Huế, tôm, *Vibrio*.

### MỞ ĐẦU

Các loài *Vibrio* được tìm thấy ở khắp nơi trên thế giới, trong đó chủ yếu ở môi trường biển và cửa sông. Ở cá, chi này có mặt như là một phần trong hệ vi sinh vật đường ruột bình thường (Han *et al.*, 2015). *Vibrio* spp. cũng là tác nhân chủ yếu gây bệnh cho các loài cá nước lợ và cá biển (Sudheesh *et al.*, 2012). Một số loài *Vibrio* (chẳng hạn như *V. anguillarum*, *V. harveyi* và *V. parahaemolyticus*) có thể gây ra các bệnh nguy hiểm ở tôm (Han *et al.*, 2015). Ở tôm, bệnh hoại tử gan cấp tính (Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease - AHPND) đã gây tỷ lệ tử vong đáng kể (có thể lên đến 100%) quần thể tôm nuôi ở Đông Nam Á và các nước Mỹ Latinh. AHPND được gây ra bởi một số loài *Vibrio*, các loài này có khả năng tiết ra các protein tương tự như các độc tố liên quan đến côn trùng *Photobacterium* (*PriA<sup>VP</sup>* và *PirB<sup>VP</sup>*) (Han *et al.*, 2015; Han *et al.*, 2017). Sự phân bố của các bệnh do *Vibrio* gây ra trên toàn thế giới đã gây thiệt hại lớn về mặt kinh tế cho ngành nuôi trồng thủy sản (Sudheesh *et al.*, 2012).

Vùng đầm phá Tam Giang - Cầu Hai ở tỉnh Thừa Thiên Huế là đầm phá lớn nhất trong khu vực Đông Nam Á. Hiện nay, vùng đầm phá này đã được khai thác với diện tích khoảng trên 7 nghìn ha. Trong đó, phát triển nuôi trồng thủy sản nước mặn, lợ ven phá và trên phá (nuôi xen ghép) khoảng trên 4,7 nghìn ha, các loại thủy sản nuôi chủ yếu là tôm sú xen ghép với các loại cua, cá dĩa, cá kính, cá đối, cá rô phi... và nuôi cá lồng (cá múi, cá vầu), mang lại giá trị kinh tế cao từ những năm 1990. Tuy nhiên, sản lượng nuôi trồng thủy sản ở đây giảm liên tục từ năm 2009 đến nay. Nguyên nhân chính là do dịch bệnh, thiên tai, biến đổi khí hậu và ô nhiễm môi trường nuôi. Đặc biệt là ô nhiễm nguồn nước, ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe của các loài thủy sản. Nhiều nông dân đã bị thiệt hại nghiêm trọng do tôm bị nhiễm vi khuẩn *Vibrio* và virus liên quan đến sự gia tăng nhiệt độ của nước (Giang *et al.*, 2016; Yen *et al.*, 2019).

Ở Thừa Thiên Huế, các công bố về đa dạng di truyền của *Vibrio* phân lập từ các loài tôm và cá biển nuôi còn hạn chế. Việc nghiên cứu đa dạng di truyền loài này bằng kỹ thuật đa hình các đoạn khuếch đại ngẫu nhiên (RAPD) sẽ góp phần cung cấp cơ sở khoa học cho việc nghiên cứu và sản xuất các bộ dụng cụ chuẩn đoán nhanh các bệnh do *Vibrio* gây ra trên tôm, cá trong vùng nuôi. Qua đó nhanh chóng đưa ra những biện pháp xử lý kịp thời, tránh sự tổn thất về kinh tế.

### NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### Chủng *Vibrio*

Chúng tôi tiến hành nghiên cứu trên 32 chủng *Vibrio* được thu thập ở các vùng khác nhau của Tỉnh Thừa Thiên Huế do Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế cung cấp. Đặc điểm và địa điểm thu mẫu của 32 chủng *Vibrio* được trình bày chi tiết trong nghiên cứu trước đây, bao gồm các chủng thuộc loài *Vibrio parahaemolyticus* (các chủng VT19, VT41, VT44, VT59, VT62, VX01, K5, VC59, VC39, VC41), *V. shilonii* (VT23, VT26, VT27, VT29, VT33), *V. vulnificus* (VC15, VC17, VC21, VC28, VC37, VC67), *V. harveyi* (VC24, VC25, VC45), *V. cholera* (VC43, VC53, VC61), *V. communis* (VT47), *V. furnissii* (VT65), *V. brasiliensis* (VC52), *V. fluvialis* (VC72) và *V. natriegenes* (VC81) (Quang *et al.*, 2020).

### Tách chiết DNA tổng số

Khuẩn lạc *Vibrio* được nuôi cấy trong môi trường Peptone kiềm (ASPW) gồm 2% peptone và 2% NaCl, pH 8,6, tốc độ lắc 180 vòng/phút trong 18 giờ ở 30°C. Tế bào vi khuẩn được thu nhận bằng cách ly tâm ở 13.000 vòng/phút trong 4 phút ở 4°C. Sau đó, DNA tổng số sẽ được tách chiết bằng bộ kit AquaPure Genomic DNA Isolation Kit (Cat. 732-6340, Bio-rad) theo hướng dẫn của nhà sản xuất đối với vi khuẩn Gram âm. DNA tổng số sẽ được bảo quản ở 4°C để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo. Nồng độ của DNA tổng số sau khi tách chiết được xác định bằng máy quang phổ ở bước sóng 260/280 nm, sau đó pha loãng đến nồng độ cuối cùng khoảng 50 ng/μl cho phản ứng khuếch đại PCR.

### Phân tích RAPD

DNA tổng số của *Vibrio* được dùng làm khuôn mẫu để khuếch đại PCR-RAPD. Phản ứng PCR được bố trí theo Quang và đồng tác giả (2016). Mỗi phản ứng bao gồm 10 μl 2× PCR master mix (GoTaq Green Master Mix 2X, Promega, USA), 20 pmol mỗi ngẫu nhiên và 50 ng DNA tổng số với tổng thể tích phản ứng là 20 μl.

Phản ứng khuếch đại được thực hiện bởi máy luân nhiệt (SimpliAmp, ThermoFisher Scientific, USA) với quy trình phản ứng PCR như sau: giai đoạn biến tính ban đầu ở 95°C trong 5 phút; 43 chu kỳ: 93° C/1 phút, 37° C/1 phút, 72°C/2 phút và giai đoạn kéo dài cuối cùng ở 72°C trong 7 phút. Sản phẩm PCR-RAPD được phân tách trên gel agarose 1,4% trong 4 giờ 30 phút ở 40 V (Quang *et al.*, 2016). Các mẫu không có băng trong gel agarose được thực hiện lặp lại để đảm bảo độ chính xác. Chúng tôi sử dụng 6 đoạn mỗi oligonucleotide ngẫu nhiên (Operon Technologies, USA) để đánh giá mức độ đa dạng di truyền (Bảng 1).

### Phương pháp xử lý số liệu thí nghiệm

Phổ điện di sản phẩm PCR-RAPD của các chủng với các môi được phân tích theo nguyên tắc dựa vào sự xuất hiện hay không xuất hiện của các băng, đánh số "1" nếu có xuất hiện băng và số "0" nếu không xuất hiện băng (Quang *et al.*, 2016). Xây dựng giản đồ phả hệ và phân tích cụm theo thuật toán UPGMA của 32 chủng *Vibrio* được thực hiện bằng chương trình NTSYS 2.1 (Exeter Software, USA) dựa trên hệ số tương đồng di truyền Jaccard (1980).

Đối với các chỉ số đa dạng di truyền, mỗi loài (từ 3-10 chủng) được xem như là một quần thể, trong đó các loài chỉ có 1 chủng được gộp chung lại như một quần thể. Các chỉ số di truyền nghiên cứu quan tâm như số allele quan sát được (observed number of alleles: na), số allele hiệu quả (effective number of alleles: ne), hệ số đa dạng di truyền theo Shannon (Shanon's information index: I), hệ số đa dạng di truyền (h) theo Nei (1973), chỉ số đa dạng nguồn gen của tổng các quần thể (Ht), chỉ số đa dạng nguồn gen trung bình giữa các quần thể (Hs), chỉ số đa dạng di truyền giữa các quần thể (Gst) và chỉ số dòng gen ước tính (Nm) của các chủng nghiên cứu được tính toán ở mức độ loài và giữa các loài bằng phần mềm Popgen 1.32 (Yeh *et al.*, 2000). Phân tích tọa độ di truyền (Principal Coordinates Analysis-PCoA) của 32 chủng *Vibrio* cũng đã được thực hiện bằng phần mềm GenAlex 6.51.

## KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### Phân tích RAPD

Sáu môi ngẫu nhiên đã được sử dụng để phân tích đa hình DNA của 32 chủng *Vibrio* nghiên cứu. Kết quả phân tích sản phẩm PCR-RAPD trên gel agarose 1,4% cho thấy tổng cộng có 175 băng DNA được tạo ra. Mỗi có số băng DNA khuếch đại nhiều nhất là OPA-13 (35 băng, Hình 1), tiếp đến là OPV08 (33 băng), OPBH-19 (29 băng) và OPO-04 (27 băng). Hai môi có số băng DNA khuếch đại ít nhất là OPD16 với 26 băng và OPG18 (25 băng). Trong tất cả 6 môi sử dụng, môi OPA-13 cho sản phẩm khuếch đại ở tất cả 32 chủng *Vibrio* nghiên cứu, tiếp theo là 2 môi OPG-18 và OPO-04 với 31 chủng được khuếch đại. Hai môi OPBH-19 và OPD-16 cho số chủng được khuếch đại lần lượt là 30 và 29 chủng. Mỗi có số chủng *Vibrio* khuếch đại ít nhất là OPV-08 (28 chủng). Kết quả được trình bày ở Bảng 1.

**Bảng 1. Số cây khuếch đại và số băng khuếch đại của từng môi**

Môi	Trình tự nucleotide (5'-3')	Số chủng khuếch đại	Tổng số băng DNA	Phạm vi kích thước băng DNA (bp)	Số băng đặc hiệu loài
OPD-16	AGGGCGTAAG	29	26	200-3.000	1
OPG-18	GGCTCATGTG	31	25	200-2.700	-
OPO-04	AAGTCCGCTC	31	27	200-3.500	-
OPA-13	CAGCACCCAC	32	35	200-4.000	2
OPV-08	GGACGGCGTT	28	33	100-3.500	-
OPBH-19	GTCGTGCGGA	30	29	100-4.000	1
<b>Tổng</b>			<b>175</b>		<b>4</b>

Tất cả 6 môi đều biểu hiện sự đa hình, số lượng băng khuếch đại là từ 25 đến 35 băng tùy môi và chủng. Kích thước của các băng khoảng từ 100 bp đến 4.000 bp. Tỷ lệ các băng đa hình cao chứng tỏ giữa các loài *Vibrio* có sự khác biệt về mặt di truyền.

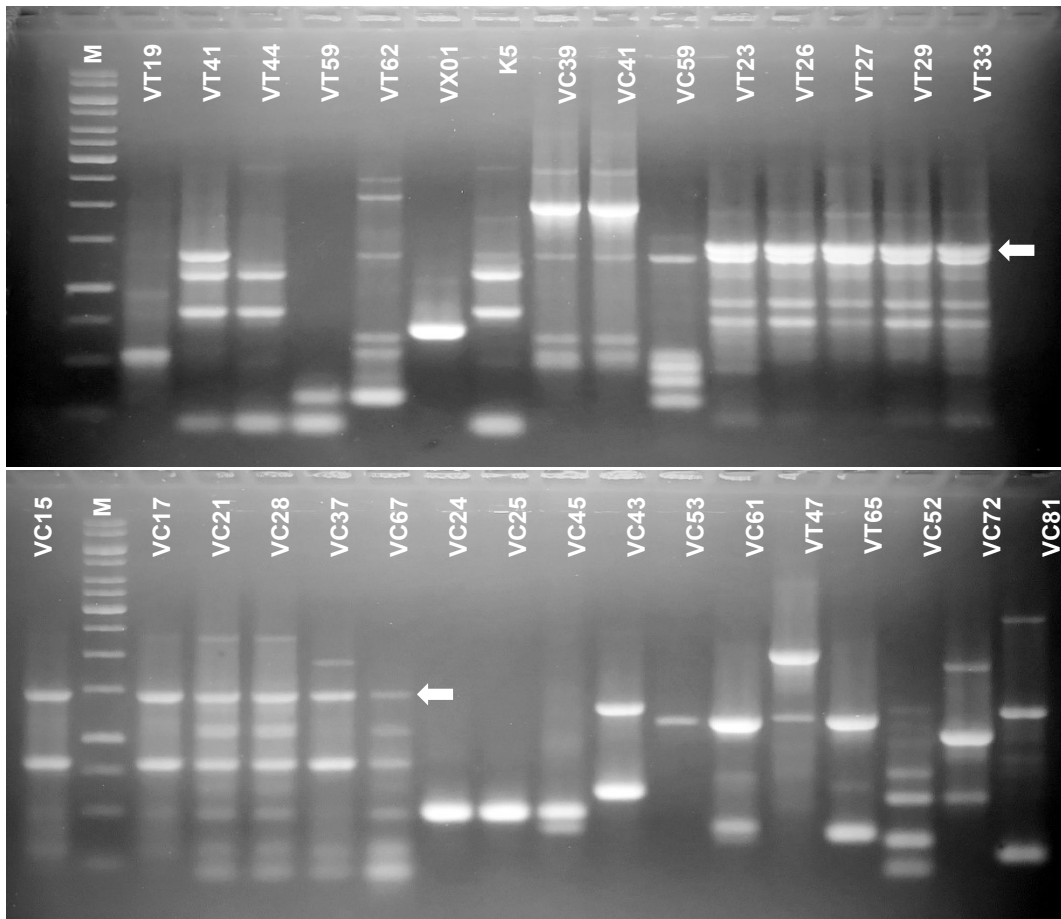
Trong nghiên cứu này, 32 chủng vi khuẩn thuộc 10 loài *Vibrio* khác nhau được phân tích PCR-RAPD với 6 mồi kể trên đã thu được các băng DNA đặc hiệu cho 3 loài *Vibrio* khác nhau đó là *V. shilonii*, *V. vulnificus* và *V. cholerae* (Bảng 2 và Hình 1). Các băng DNA này chỉ xuất hiện ở tất cả các chủng thuộc cùng một loài *Vibrio* nhất định mà không được tìm thấy ở các chủng *Vibrio* thuộc các loài còn lại, do đó chúng có ý nghĩa cao trong nghiên cứu nhằm phân biệt cũng như nhận dạng 3 loài *Vibrio* kể trên.

**Bảng 2. Chỉ thị RAPD đặc trưng cho các loài *Vibrio* nghiên cứu**

Tên loài	Chỉ thị RAPD đặc trưng
<i>V. shilonii</i>	OPA13-1.500
<i>V. vulnificus</i>	OPD16-380, OPA13-1.417
<i>V. cholerae</i>	OPBH19-550

**Phân tích đa dạng di truyền**

Các chỉ số di truyền nghiên cứu như số allele quan sát được (observed number of alleles: na), số allele hiệu quả (effective number of alleles: ne), hệ số đa dạng di truyền (h) theo Nei (1973), hệ số đa dạng di truyền theo Shanon (Shanon's information index: I) cho tất cả các chủng *Vibrio* được phân tích bằng 6 mồi RAPD và các giá trị tương ứng lần lượt là 2,0000; 1,1476; 0,1171 và 0,2205 (Bảng 3).



**Hình 1. Hình ảnh điện di PCR-RAPD với mồi OPA-13.**  
M: Marker DNA 1 kb. Mũi tên chỉ các băng đặc hiệu cho loài.

CÔNG NGHỆ GEN

**Bảng 3. Chỉ số đa dạng di truyền của 5 loài *Vibrio* ở Thừa Thiên Huế**

Quần thể	Số allele quan sát được (na)	Số allele hiệu quả (ne)	Hệ số đa dạng di truyền (h)	Hệ số Shannon (I)
<i>V. parahaemolyticus</i>	1,5086	1,1365	0,1001	0,1719
<i>V. shilonii</i>	1,1200	1,0665	0,0396	0,0603
<i>V. vulnificus</i>	1,2571	1,1319	0,0829	0,1275
<i>V. harveyi</i>	1,1429	1,0761	0,0482	0,0739
<i>V. cholerae</i>	1,1771	1,1058	0,0638	0,0961
Khác*	1,4229	1,1265	0,0940	0,1597
<b>Tất cả chủng</b>	<b>2,0000</b>	<b>1,1476</b>	<b>0,1171</b>	<b>0,2205</b>
<b>Độ lệch chuẩn (SD)</b>	<b>0,0000</b>	<b>0,1465</b>	<b>0,0923</b>	<b>0,1336</b>

\*Khác: bao gồm *V. communis*, *V. furnissii*, *V. brasiliensis*, *V. fluvialis*, *V. natriegenes*.

Chỉ số đa dạng nguồn gen trung bình giữa các loài (Hs) là 0,0714, chiếm 62,52% đa dạng nguồn gen của tổng các loài (Ht = 0,1142). Chỉ số đa dạng di truyền giữa các loài (Gst) là 0,3746 cho thấy mức độ khác biệt di truyền cao giữa các loài và chỉ số dòng gen ước tính (Nm) là 0,8348 cho thấy giữa các loài có sự trao đổi gen lớn (Bảng 4).

**Bảng 4. Phân tích tóm tắt về sự biến đổi di truyền của tất cả các loài *Vibrio* ở Thừa Thiên Huế**

Chỉ số	Ht	Hs	Gst	Nm
<b>Trung bình</b>	0,1142	0,0714	0,3746	0,8348
<b>SD</b>	0,0096	0,0026		

Các giá trị về mức độ tương đồng di truyền và khác biệt di truyền giữa các loài *Vibrio* được đưa ra trong Bảng 5. Dữ liệu phân tích chỉ ra rằng các giá trị về mức độ tương đồng di truyền giữa các quần thể này là cao, dao động từ 0,8986 đến 0,9847. *V. parahaemolyticus* và nhóm các *Vibrio* khác có mức độ tương đồng di truyền cao nhất (0,9847), trong khi *V. vulnificus* và *V. shilonii* có mức độ tương đồng di truyền thấp nhất là 0,8986. Giá trị của sự khác biệt di truyền giữa các loài là vừa phải, giao động từ 0,0154 đến 0,1070 và hai loài *V. vulnificus* và *V. shilonii* cho thấy khác biệt di truyền là lớn nhất (0,1070) (Bảng 5 và Hình 2).

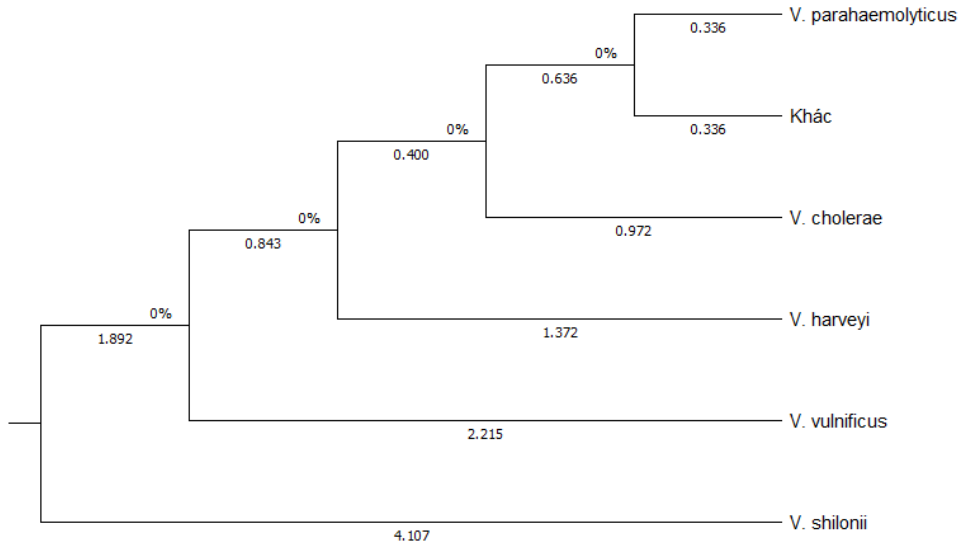
Phân tích tọa độ di truyền của các loài *Vibrio* cho thấy có một số loài có độ tập trung cao như *V. shilonii*, *V. vulnificus*, *V. harveyi* và *V. cholerae*, trong khi một số loài khác có sự phân tán như *V. parahaemolyticus* (Hình 3). Kết quả cũng cho thấy 2 loài *V. shilonii* và *V. vulnificus* có sự khác biệt di truyền so với các loài còn lại. Ngoại trừ 2 loài này, các loài còn lại đều có sự phân bố di truyền gần nhau và bao trùm lên nhau, điều này cho thấy sự trao đổi gen giữa các loài *Vibrio* là rất lớn.

Như vậy, kết quả phân tích các chỉ số đa dạng di truyền, cây phát sinh các loài và tọa độ phân bố di truyền của các chủng đều cho kết quả tương tự nhau, trong đó hai loài *V. shilonii* và *V. vulnificus* có khoảng cách di truyền cao nhất và khác biệt so với các loài khác. *Vibrio parahaemolyticus* có sự đa dạng di truyền cao nhất và các loài này có sự đan xen, chồng lấp lẫn nhau, thể hiện sự trao đổi gen lớn giữa các loài. Ngoại trừ loài *V. parahaemolyticus*, có thể phát triển chỉ thị phân tử để nhận diện 2 loài phổ biến khác là *V. shilonii* gây bệnh trên tôm và *V. vulnificus* gây bệnh trên cá.

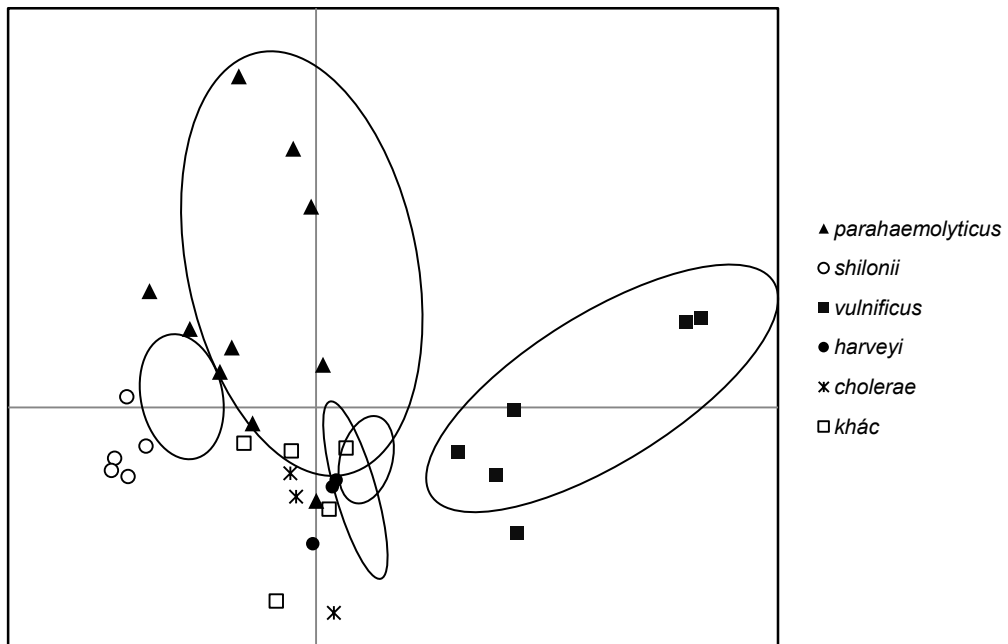
**Bảng 5. Mức độ tương đồng di truyền Nei's (1987) và khác biệt di truyền giữa 5 loài *Vibrio* ở Thừa Thiên Huế**

Quần thể	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. shilonii</i>	<i>V. vulnificus</i>	<i>V. harveyi</i>	<i>V. cholerae</i>	Khác
<i>V. parahaemolyticus</i>	****	0,9311	0,9538	0,9655	0,9692	0,9847
<i>V. shilonii</i>	0,0714	****	0,8986	0,9054	0,9108	0,9270
<i>V. vulnificus</i>	0,0474	0,1070	****	0,9420	0,9402	0,9554
<i>V. harveyi</i>	0,0351	0,0994	0,0597	****	0,9558	0,9677
<i>V. cholerae</i>	0,0312	0,0934	0,0616	0,0452	****	0,9703
<b>Khác</b>	0,0154	0,0758	0,0457	0,0329	0,0301	****

Ghi chú: Mức độ tương đồng di truyền (ở trên đường chéo) và khác biệt di truyền (ở dưới đường chéo).



**Hình 2. Mức độ tương đồng di truyền giữa các loài *Vibrio*.** Các chỉ số trên hình thể hiện khoảng cách di truyền. Khác: bao gồm *V. communis*, *V. furnissii*, *V. brasiliensis*, *V. fluvialis*, *V. natriegenes*.



**Hình 3. Phân tích tọa độ di truyền các chủng *Vibrio* nghiên cứu**

**KẾT LUẬN**

Qua quá trình nghiên cứu, chúng tôi nhận thấy mức độ đa dạng di truyền giữa các chủng *Vibrio* nghiên cứu là khá cao và sự trao đổi gen giữa các loài *Vibrio* là lớn. Các loài có độ tập trung di truyền cao là *V. shilonii*, *V. vulnificus*, *V. harveyi* và *V. cholerae*, trong khi *V. parahaemolyticus* có sự phân tán lớn giữa các chủng. Hai loài *V. shilonii* và *V. vulnificus* khác xa nhau và có sự khác biệt di truyền so với các loài còn lại, có thể phát triển chỉ thị phân tử nhận diện 2 loài này.

**Lời cảm ơn:** Công trình được thực hiện bằng kinh phí của đề tài cấp Bộ Giáo dục và Đào tạo năm 2018-2020, mã số CT-2018-DHH-02.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Giang NTT, Toàn PV, Hùng PQ (2016) Hội chứng hoại tử gan tụy ở tôm chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) nuôi thương phẩm tại Ninh Thuận. *Tạp chí Khoa học – Công nghệ Thủy sản Đại học Nha Trang* 1: 32-38.
- Han J, Tang K, Piamsomboon P, Pantoja C (2017) Evaluation of a reliable non-invasive molecular test for the diagnosis of the causative agent of acute hepatopancreatic necrosis disease of shrimp. *Aquacult Rep* 5: 58-61.
- Han JE, Tang KFJ, Lightner DV, Tran L (2015) Photorhabdus insect related (Pir) toxin-like genes in a plasmid of *Vibrio parahaemolyticus*, the causative agent of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) of shrimp. *Dis Aquat Org* 113: 33-40.
- Quang HT, Thoa CTQ, Tan TH, Giang NT, Huy ND, Phuong TTB, Yen VT (2016) Study on genetic diversity of *Paris polyphylla* population from Vietnam and China. *Plant Cell Biotechnol Mol Biol* 17: 57-63.
- Quang HT, Lan TT, Hai TTH, Yen PTH, Van TQK, Tung HT, Binh MN, Son NKH, Linh NQ, Tram NDQ (2020) Genetic diversity and toxic genes analysis of *Vibrio* spp. isolated from white leg shrimp and marine fishes cultured in Tam Giang lagoon in Thua Thien Hue province, Vietnam. *Indian Journal of Science & Technology* 13: (13) 1412-1422.
- Sudheesh PS, Al-Ghabshi A, Al-Mazrooei N, Al-Habsi S (2012) Comparative pathogenomics of bacteria causing infectious diseases in fish. *Int J Evol Biol* 2012: 457264-457264.
- Yeh F, Yang R, Boyle T, Ye Z, JM Xiyan, Yang R, Boyle T (2000) PopGene32, Microsoft windows-based freeware for population genetic analysis. Version 1.32. *Molecular Biology and Biotechnology Centre: University of Alberta, Edmonton, Canada*.
- Yen PTH, Van TQK, Son NKH, Tram NDQ (2019) Investigation the current situation of fish cage cultured and disease of some economic brackish and marine fish species cultured in Thua Thien Hue Province. *J Agriculture Rural Development* 21: 50-57 (in Vietnamese).

## GENETIC DIVERSITY ANALYSIS OF *Vibrio* SPECIES ISOLATED FROM SHRIMP AND FISHES IN THUA THIEN HUE PROVINCE, VIETNAM

**Hoang Tan Quang<sup>1</sup>, Nguyen Dinh Khoa<sup>2</sup>, Tran Thuy Lan<sup>1</sup>, Pham Thi Diem Thi<sup>1</sup>, Truong Thi Bich Phuong<sup>2</sup>, Nguyen Duy Quynh Tram<sup>3</sup>, Nguyen Thi Thu Lien<sup>1,\*</sup>**

<sup>1</sup> *Institute of Biotechnology, Hue University*

<sup>3</sup> *University of Sciences, Hue University*

<sup>3</sup> *University of Agriculture and Forestry, Hue University*

### SUMMARY

*Vibrio* are the popular bacterial pathogens in shrimp and fish, studying the genetic diversity of *Vibrio* species will make out the pathogen origin and molecular markers for *Vibrio* species. In this study, randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis of 32 pathogen *Vibrio* strains isolated from shrimp and fish cultured in Thua Thien Hue province were performed. Genetic parameters include the observed number of alleles (na), effective number of alleles (ne), Nei's (1973) gene diversity (h), Shannon's information Index (I) for all *Vibrio* strains were analyzed by 6 RAPD primers with the values of 2,0000; 1,1476; 0.1171 and 0.2205, respectively. The total genotype diversity within populations (Hs) is 0.0714, accounting for 62.52% of genetic diversity of all strains (Ht = 0.11142). The mean coefficient of gene differentiation (Gst) is 0.3746 and and estimate of gene flow (Nm) is 0.8348. The degree of genetic similarity between these species is relatively high, ranging from 0.8986 to 0.9847. Principal Coordinates Analysis showed that the species with low level of genetic diversity are *V. shilonii*, *V. vulnificus*, *V. harveyi* and *V. cholerae*, while *V. parahaemolyticus* has a highest level of genetic diversity. The two species of *V. shilonii* and *V. vulnificus* had the largest genetic distance and differences from other species. The results of this study will be useful for developing molecular markers to *Vibrio* species identification.

**Keywords:** AHPND, Genetic diversity, fish, shrimp, *Vibrio*.

\* Author for corresponsence: Tel: 0936490805; Email: nttliencnsh@hueuni.edu.vn