ĐÁNH GIÁ ĐA DẠNG DI TRUYỀN TẰM DÂU BẰNG TRÌNH TỰ NUCLEOTIDE GEN COI

Nguyễn Thị Nhài[1], Hồ Việt Đức[2], Nguyễn Đức Duy[2], Phạm Thu Giang[2], Nguyễn Hoàng Thịnh[3], Nguyễn Thị Nhiên[2], Nguyễn Hữu Đức[2], Trần Thị Bình Nguyên[2*]

[1]Trung tâm Nghiên cứu Dâu tằm tơ Trung ương
[2]Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam
[3]Khoa Chăn nuôi, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

[*]Tác giả liên hệ: ttbnguyen@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 02.10.2023 Ngày chấp nhận đăng: 26.01.2024

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu này là giải trình tự nucleotide gen cytochrom c oxidase 1 (COI), gen ty thể để đánh giá đa dạng di truyền của 9 giống tằm lưỡng hệ và 5 giống tằm bản địa Việt Nam. Nghiên cứu sử dụng phương pháp giải trình tự tự động, các phần mềm BioEdit, DNAsp, MEGA X để phân tích số liệu. Kết quả nghiên cứu đã phát hiện 17 vị trí đa hình thay thế nucleotide khi so sánh trình tự nucleotide gen COI của 14 giống tằm trong nghiên cứu với trình tự AB737913.1 trên Genbank, còn chỉ xuất hiện một vị trí đa hình nucleotide đơn khi so sánh 14 giống tằm với nhau. Các giống tằm này đã được phân thành 2 haplotype, với sự tập trung chính ở haplotype 1. Cây phân loại di truyền cho thấy 13/14 giống tằm nghiên cứu phân bố trong nhánh 2, đây là nhánh phổ biến của các giống tằm Trung Quốc và châu Âu. Kết quả này cung cấp thông tin ban đầu để các nhà chọn giống có chiến lược sử dụng chỉ thị phân tử phù hợp trong bảo tồn, khai thác và phát triển nguồn gen các giống tằm dâu.

Từ khóa: Tằm lưỡng hệ, tằm đa hệ, COI, Đa dạng di truyền, gen ty thể.

Assessment of Genetic Diversity of *Bombyx mori* Based on Coi Sequences

ABSTRACT

The main goal of study was to use nucleotide sequencing of the cytochrome c oxidase 1 (COI) gene to assess the genetic diversity of 9 bivoltine breeds and 5 native Vietnamese silkworm breeds. DNA Sequencing was carried out using by chain termination method. Data were analyzed by Bioedit, DNAsp and MEGA X softwareThe results indicated 17 polymorphic nucleotide substitution sites when comparing the COI gene sequence of the 14 silkworm breeds in this study with the sequence AB737913.1 on GenBank. Only one polymorphic nucleotide site appeared when comparing the 14 breeds with each other. These silkworm breeds were divided into 2 haplotypes, with a main concentration in haplotype 1. The genetic classification tree shows that 13 out of the 14 studied silkworm breeds were distributed in branch 2, which is the common branch of Chinese and European silkworm breeds. This outcome provides initial information for breeders to strategically use molecular markers in the conservation, exploitation, and development of the genetic resources of silkworm.

Keywords: Bivoltine, multivoltine, COI, genetical diversity, mtDNA.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bombyx mori (*B. mori*) hay còn gọi là tằm dâu, là loài tằm quan trọng trong sản xuất tơ thương mại. *B. mori* được cho là tiến hóa từ loài tằm hoang dã (*Bombyx mandarina*), có nguồn gốc từ Trung Quốc và các nước lân cận như Hàn Quốc, Nhật Bản và Ấn Độ (Arunkumar & cs., 2006; Guo & cs., 2011; Kim & cs., 2022). *B. mori* đã trải qua quá trình thuần hóa và chọn lọc nhân tạo để tăng sản lượng tơ, thuận tiện trong việc chăm sóc và nuôi dưỡng. Tằm dâu đã mất khả năng tự tìm kiếm thức ăn ở giai đoạn ấu trùng, không thể bay ở giai đoạn trưởng thành và thường gặp khó khăn trong việc giao phối. Vì những vấn đề này, *B. mori* không thể tồn tại tự

nhiên trên cánh đồng mà phải được con người chăm sóc để sống sót. Điều quan trọng hơn, việc thuần hóa và chọn lọc để tạo ra các giống tằm có năng suất tơ lụa cao đã làm tăng tính đồng nhất di truyền dẫn đến mất khả năng chống chịu với điều kiện thời tiết biến đổi và khả năng đối phó với dịch bệnh. Do đó, duy trì sự đa dạng di truyền là một chiến lược cơ bản trong quản lý lâu dài để bảo tồn và cải thiện di truyền của tằm (Bindroo & Manthira, 2014). Cùng với việc bảo tồn nguồn gen qua việc tuyển chọn, nuôi dưỡng, nhân giống, việc đánh giá đa dạng di truyền sử dụng marker phân tử có thể như một hướng dẫn ban đầu để xác định nguồn gen độc đáo và có giá trị phục vụ cho việc bảo tồn các nguồn gen quý một cách chính xác. Bên cạnh đó lựa chọn các dòng bố mẹ thuần chủng có sự đa dạng di truyền là một yếu tố quan trọng đối với thành công của các chương trình lai tạo tằm (Nagaraju & Goldsmith, 2002).

Trình tự nucleotide của gen ty thể (mtDNA) đã được nhiều nghiên cứu sử dụng trong đánh giá đa dạng di truyền giữa các loài và trong cùng một loài (Zanatta & cs., 2009; Kim & cs., 2019; Kim & cs., 2021; Alcudia-Catalma & cs., 2021), vì mtDNA có một số đặc điểm riêng biệt và độc đáo. Đầu tiên, mtDNA có tốc độ tiến hóa nhanh hơn so với DNA nhân (Allio & cs., 2017) và có mức độ tái tổ hợp tương đối thấp. Điều này làm cho nó trở thành một công cụ hữu ích trong việc nghiên cứu mã vạch di truyền, địa lý học và phát sinh loài (Cameron, 2014). Mã vạch DNA động vật chủ yếu tập trung vào gen COI của ty thể vì gen COI thường thay đổi từ quần thể đến mức phân loại cao hơn (Hebert & cs., 2003). Việc xác định trình tự gen COI đã trở thành một phương pháp phổ biến được sử dụng rộng rãi trong nghiên cứu sinh học phân tử (*www.barcodinglife.org*). Dữ liệu từ gen COI cung cấp các ước tính chính xác về độ phong phú loài bằng cách sử dụng ngưỡng đặt trước để phân loại các nhóm hoặc thông qua phân tích tự nhiên của dữ liệu cụ thể. Hơn nữa, gen COI của mtDNA có thể được sử dụng một cách hiệu quả như mã vạch DNA để xác định và mô tả loài mới một cách chính xác, cũng như để đánh giá đa dạng sinh học dựa trên dữ liệu phân tử (Hebert & cs., 2003; Nezhad & cs., 2009).

Nhiều nghiên cứu đã sử dụng trình tự nucleotide của gen ty thể (mtDNA) để phân loại và xác định nguồn gốc của các giống tằm. Trong một nghiên cứu tiêu biểu, Singh & cs. (2017) đã sử dụng trình tự nucleotide gen mtDNA để xác định giống tằm Muga thuộc họ *Saturniidae* và chúng đã được phân loại trong cùng một nhánh với các họ khác (*Bombycidae + Sphingidae*) trong siêu họ *Bombycoidea* thuộc bộ *Lepidoptera*. Zhang & cs. (2019) đã chỉ ra rằng tằm Yao thuộc cùng một nhóm phân loại với tằm nhà. Kim Seong-Wan & cs. (2021) đã phát hiện rằng chủng tằm Jam 146 ở Hàn Quốc cũng có chung nguồn gốc phát sinh loài với ba chủng tằm khác từ Trung Quốc, Nhật Bản và Hàn Quốc. Ngoài ra, Li & cs. (2005) đã sử dụng trình tự gen *Cytb* của mtDNA để tìm hiểu về các chủng *B. mori* và *B. mandarina* ở Trung Quốc và đã phát hiện rằng chúng tập hợp thành một nhóm (nhóm B), trong khi *B. mandarina* ở Nhật Bản thuộc nhóm A. Điều này hỗ trợ giả thuyết về nguồn gốc của *B. mori* từ *B. mandarina* ở Trung Quốc. Hơn nữa, nghiên cứu của Kim Seong-Wan & cs. (2019) đã sử dụng trình tự gen ty thể của các chủng tằm có màu sắc lạ (màu xanh sáng) để so sánh với 20 chủng tằm từ 9 quốc gia khác nhau. Kết quả cho thấy rằng cả 21 chủng tằm và các chủng tằm trên toàn thế giới thuộc về cùng một ngành lớn trong cây phát sinh loài.

Sử dụng trình tự nucleotide gen COI của mtDNA đã được nhiều nghiên cứu sử dụng để đánh giá đa dạng di truyền giữa các giống tằm trên thế giới (Kim & cs., 2000; Yukuhiro & cs., 2011; Fassina & cs., 2014; Vimala & cs., 2020). Các ứng dụng của trình tự nucleotide gen ty thể trong đánh giá đa dạng di truyền giữa các chủng và giống tằm trên thế giới đã được nghiên cứu, tuy nhiên tại Việt Nam chưa có nghiên cứu nào sử dụng trình tự nuclotide gen COI để đánh giá đa dạng di truyền. Vì vậy nghiên cứu này sử dụng trình tự nucleotide gen COI để đánh giá đa dạng di truyền của 14 giống tằm nuôi tại Việt Nam. Thông tin từ nghiên cứu này cung cấp cơ sở ban đầu cho việc phát triển biện pháp và chiến lược để bảo tồn sự đa dạng tự nhiên của các giống tằm.

Bảng 1. Thông tin 14 giống tằm nghiên cứu

Giống	Ký hiệu	Trứng	Tằm	Kén	Nguồn gốc
Các giống lưỡng hệ					
In 01	I1	Xanh tím	Tằm chấm	Kén eo củ lạc, nếp nhăn trung bình - mịn, tơ gốc trung bình	Ấn Độ
In 03	I3	Xanh tím	Tằm trơn, trắng xanh	Kén trắng, eo củ lạc, nếp nhăn trung bình - mịn, tơ gốc ít	Ấn Độ
B42	VN2	Xanh lục	Tằm trơn, tằm nhỏ, trắng xanh	Kén trắng, bầu ngắn, nếp nhăn mịn, tơ gốc ít, kén chắc	Việt Nam
QĐ7	VN7	Xanh tím	Tằm trơn, trắng xanh	Kén trắng, eo củ lạc, nếp nhăn trung bình - thô, tơ gốc trung bình	Việt Nam
A1	TQ1	Xanh tím	Trơn, nhỏ dài, màu trắng đục, có 2 chấm bán nguyệt mờ	Kén trắng, eo nông, hơi nhọn 1 đầu, nếp nhăn trung bình, tơ gốc trung bình	Trung Quốc
526	TQ9	Xanh tím	Tằm chấm	Kén eo củ lạc, nếp nhăn trung bình - mịn, tơ gốc trung bình	Trung Quốc
75 xin	TQ10	Xanh tím	Tằm phân biệt giới tính, con đực trơn, cái chấm	Kén trắng, bầu, nếp nhăn trung bình - mịn, tơ gốc trung bình	Trung Quốc
Keumok	HQ2	Xanh tím	Tằm trơn, tằm to, trắng xanh	Kén trắng, bầu to, nếp nhăn trung bình - mịn, tơ gốc ít	Hàn Quốc
KoC	HQ4	Xanh tím	Tằm trơn, trắng xanh	Kén trắng, bầu to, nếp nhăn trung bình - mịn, tơ gốc ít	Hàn Quốc
Các giống đa hệ Việt Nam					
Hoàng Liên Sơn	HLS	Vàng	Tằm trơn	Kén hình thoi, màu vàng, nếp nhăn mịn, tơ gốc nhiều	Việt Nam
Ré vàng Hà Tĩnh	RVHT	Vàng	Tằm trơn	Kén hình thoi, màu vàng, nếp nhăn mịn, tơ gốc nhiều	Việt Nam
Đồ Sơn Khoang	ĐSK	Vàng	Tằm chấm	Kén hình thoi, màu vàng, nếp nhăn mịn, tơ gốc nhiều	Việt Nam
Ré vàng Thái Bình	RVTB	Vàng	Tằm trơn	Kén hình thoi nhỏ, màu vàng, nếp nhăn mịn, tơ gốc nhiều	Việt Nam
Vàng Bảo Lộc	VBL	Vàng	Tằm chấm	Kén hình thoi, màu vàng, nếp nhăn mịn, tơ gốc nhiều	Việt Nam

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Nghiên cứu sử dụng 14 giống tằm bao gồm 9 giống tằm lưỡng hệ kén trắng có nguồn gốc Ấn Độ, Hàn Quốc, Trung Quốc, Việt Nam và 5 giống tằm đa hệ kén vàng bản địa Việt Nam. Đặc điểm tằm, kén, nguồn gốc được mô tả cụ thể ở bảng 1. Các mẫu tằm được thu tại Trung tâm Nghiên cứu Dâu tằm tơ Trung ương.

Địa điểm nghiên cứu: Nghiên cứu được thực hiện tại Trung tâm Nghiên cứu Dâu tằm tơ Trung ương; Khoa Công nghệ Sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam từ tháng 01/2023 đến tháng 11/2023.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Tách chiết DNA tổng số

Mỗi giống tằm lấy hai cá thể (1 đực, 1 cái), DNA tổng số được tách chiết từ mẫu nhộng tằm theo phương pháp Ausubel & cs. (1992) có cải tiến (tăng lượng proteinase K lên đến 20µl (20 mg/ml). Các bước cơ bản như sau: nghiền nhỏ 100mg nhộng tằm; bổ sung 700µl lysis cell solution, bổ sung 20µl proteinase K; ủ qua đêm ở nhiệt độ 56°C; bổ sung 4,5µl RNase (20 mg/ml) ủ ở nhiệt độ 37°C trong 2-3 giờ; bổ sung 700µl phenol:choroform: isoamyl alcohol (25:24:1); DNA được kết tủa bằng ethanol 100% ở 4°C trong 24 giờ, rửa lại bằng ethanol 70% và bảo quản trong dung dịch đệm TE (5mM Tris-HCl,

pH 8,0, EDTA 0,5mM). DNA tổng số sau khi tách chiết được điện di kiểm tra trên gel agarose 1% và đo quang phổ ở bước sóng 260/280nm trên máy NanoDrop One (Thermo, Mỹ) để đánh giá nồng độ và độ tinh sạch.

2.2.2. Khuếch đại gen COI

Trình tự mồi được sử dụng để khuếch đại gen COI ở tằm: LepF1 - ATTCAACCAATCATA AAGATATTGG, LepR1 - TAAACTTCTGGATG TCCAAAA AATCA (Vimala & cs., 2020), đoạn gen được khuếch đại có kích thước lý thuyết 658bp. PCR được thực hiện trong phản ứng 50µl chứa 25µl master mix PCR (Thermo), 2,5µl mồi (5µM), DNA tổng số 1µl (100 ng/µl) và 21,5µl H_2O khử ion vô trùng. Chu trình nhiệt PCR gồm: biến tính ban đầu ở 95°C trong ba phút, 35 chu kỳ biến tính ở 95°C trong 30 giây, gắn mồi 58°C trong 30 giây, kéo dài mạch ở 72°C trong 30 giây và kéo dài tổng hợp ở 72°C trong 5 phút. Sản phẩm PCR được kiểm tra trên gel agarose 1%. Để giải trình tự DNA, các sản phẩm PCR được tinh sạch bằng Bộ tách chiết QIAquick (Qiagen, Đức). Sản phẩm PCR được tinh sạch theo Quy trình của bộ kit QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN).

2.2.3. Giải trình tự và phân tích gen COI

Sản phẩm PCR sau khi tinh sạch được gửi đi giải trình tự gen trên máy giải trình tự tự động ABI-3100 Avant Gentic Analyzer của công ty 1st BASE (Malaysia) theo phương pháp Sanger. Kết quả đọc trình tự gen được phân tích bằng phần mềm BioEdit (Hall, 1999). Sử dụng trình tự nucleotide (AB737913.1) trên Genbank để so sánh mức độ tương đồng với các giống tằm nuôi tại Việt Nam.

2.2.4. Xử lý số liệu

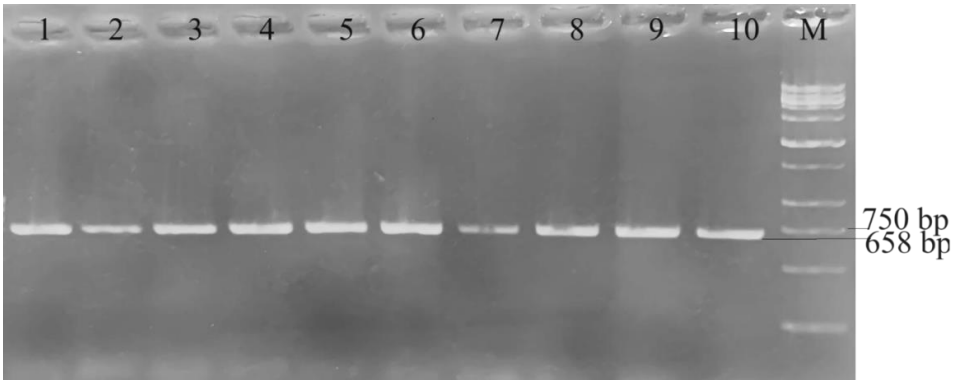
Trình tự nucleotide gen COI được xử lý bằng chương trình phần mềm Bioedit 5.0 (Hall, 1999). Xác định, phân tích các chỉ tiêu về đa dạng di truyền sử dụng phần mềm DnaSP V5 (Librado & Rozas, 2009). Xây dựng cây phả hệ di truyền theo phương pháp Neighbor-Joining bằng phần mềm MEGA X, với giá trị bootstrap 1.000 lần lấy mẫu thử (Tamura & cs., 2011). Phân tích cây di truyền phả hệ được xây dựng dựa trên phân loại của Yukuhiro & cs. (2011) với các chuỗi COI tham chiếu từ cơ sở dữ liệu GenBank.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1.Tách chiết DNA và khuếch đại gen COI của 14 giống tằm

DNA tổng số đã được tách chiết có chất lượng tốt, ít bị đứt gẫy, không lẫn tạp chất (tỷ số OD260/280 dao động trong khoảng 1,8-2,0; nồng độ đạt trên 200 ng/µl), đảm bảo chất lượng và số lượng cho các nghiên cứu tiếp theo.

Kết quả khuếch đại gen COI, cho thấy đoạn gen đã được nhân lên đặc hiệu với 1 băng DNA sáng rõ, kích thước phân tử tương ứng khoảng 658bp, phù hợp với kích thước theo tính toán lý thuyết (Hình 1). Sản phẩm PCR được tinh sạch và tiến hành đọc trình tự gen trực tiếp.



Ghi chú: M: Ladder 1kb (Geneaid); 1-10 các mẫu đại diện của 14 giống.

Hình 1. Hình đại diện sản phẩm khuếch đại gen COI của tằm

3.2. Giải trình tự gen COI

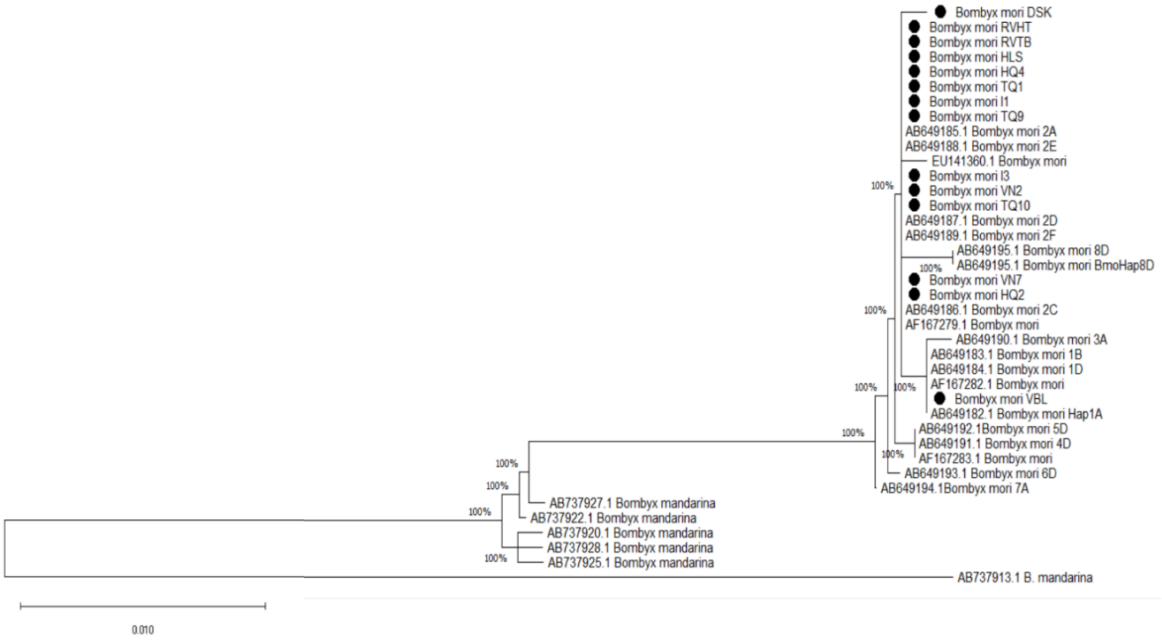
Trình tự nucleotide gen COI từ 14 giống tằm (9 giống lưỡng hệ kén trắng và 5 giống bản địa đa hệ kén vàng) đã được gửi vào GenBank, mã số từ OR610743 đến OR610756. Kết quả so sánh trình tự nucleotide gen COI của 14 giống tằm với trình tự AB737913.1 (trình tự nucleotide gen COI của tằm hoang dã Trung Quốc, nhiều nghiên cứu trước đây cho thấy rằng, *B. mori* có nguồn gốc từ tằm hoang dã Trung Quốc) cho thấy, có 17 vị trí đa hình nucleotide, tất cả các vị trí đa hình đều thay thế nucleotide, không có vị trí đa hình thêm hay mất nucleotide. Sự thay thế nucleotide xuất hiện chủ yếu từ T thành C hoặc ngược lại từ C thành T (13/17 vị trí đa hình) (Hình 2), kết quả này đồng thuận với nghiên cứu với nghiên cứu của Kim & cs. (2000). Còn khi so sánh trình tự nucleotide gen COI giữa 14 giống tằm nghiên cứu chỉ xuất hiện một vị trí thay thế nucleotide từ A thành G (vị trí 179). Thành phần nucleotide của tất cả các haplotype là 33,14% A; 37,00% T; 15,38% C; 14,48% G; 70,14% A+T và 29,86% G+C. Kết quả này tương đồng với các nghiên cứu trước đây khi giải trình tự nucleotide gen COI: tỷ lệ nucleotide A+T chiếm 70,2%, còn C+G đạt 29,8% (Vimala & cs., 2020), tỷ lệ A+T đạt (70,3%), C+G (29,7%) (Fassina & cs., 2014).

Sử dụng phần mềm DnaSP để xác định haplotype trên 658 nucleotide gen COI của 14 giống tằm. Kết quả cho thấy các giống tằm nghiên cứu được phân bố thành 2 haplotype, trong đó giống tằm Vàng Bảo Lộc nằm ở haplotype 1, còn 9 giống tằm lưỡng hệ kén trắng và 4 giống tằm bản địa Việt Nam mặc dù được thu thập từ nhiều nước khác nhau (Ấn Độ, Trung Quốc, Hàn Quốc và Việt Nam) nhưng đều tập trung vào haplotype 1 (Hình 3). Kết quả này khá tương đồng với nghiên cứu của Fassina & cs. (2014) khi nghiên cứu trên các giống tằm từ Trung Quốc, Ấn Độ, Nhật Bản và các giống lai, nhưng không tìm thấy sự khác biệt đáng kể nào giữa các giống tằm. Kết quả này tương đồng với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thị Thanh Bình & Đặng Đình Đàn (2008), khi sử dụng chỉ thị phân tử RAPD để nghiên cứu sự trùng lặp giữa các giống tằm bản địa và kết luận rằng giống Ré Vàng Thái Bình và Hoàng Liên Sơn có thể bắt nguồn từ một giống nhưng có hai tên gọi khác nhau.

Hình 2. So sánh tương đồng trình tự nucleotide gen COI (658bp) **giữa 14 giống tằm và trình tự nucleotide trên Genbank** (AB737913.1)

		1	1	1	2	3	3	3	3	4	4	4	5	5	6	6	6
		1	8	8	7	4	5	6	6	8	2	6	8	0	3	0	1	1
Haplotype		7	4	9	1	5	1	3	9	5	9	2	3	4	2	0	2	8
	AB737913.1	A	A	C	C	T	C	T	C	T	C	C	T	A	T	C	G	T
1	HLS, RVTB, RVHT, DSK, VBL I1, I3, VN2, VN7, TQ1, TQ9, TQ10,HQ2, HQ4	.	G	T	T	C	T	C	T	C	T	T	C	G	C	T	A	C
2	VBL	G	G	T	T	C	T	C	T	C	T	T	C	G	C	T	A	C

Hình 3. Sự phân bố của các giống tằm trong các haplotype



Ghi chú: Các giống tằm nghiên cứu được đánh dấu chấm tròn, đen.

Hình 4. Cây phân loại di truyền
của 14 giống tằm nghiên cứu và các giống tằm trên thế giới

Chỉ số đa dạng haplotype (Hd) gen COI ty thể của 14 giống tằm nghiên cứu đạt (Hd: 0,1429), kết quả này cho thấy các giống tằm ở Việt Nam ít đa dạng hơn so với các giống tằm ở Nhật Bản (Hd: 0,4140), Trung Quốc (Hd: 0,2914), châu Âu (Hd: 0,2540) và chủng Moltinism (Hd:0,4238) và thấp hơn rất nhiều so với *Bombyx mandarina* (Hd: 0,8730). Chỉ số đa dạng nucleotide (Pi) của 14 giống tằm trong nghiên cứu đạt 0,00022 thấp hơn hơn các giống tằm ở Nhật Bản (Pi: 0,00059), Trung Quốc (Pi: 0,00048), chủng Moltinism (Pi: 0,00079), *Bombyx mandarina* (Pi: 0,00224), châu Âu (Pi: 0,00036) (Yukuhiro & cs., 2011).

3.3. Cây phân loại di truyền giữa các giống tằm nghiên cứu và các giống tằm trên thế giới

Cây phân loại di truyền được xây dựng từ 14 giống tằm nghiên cứu, 19 chủng tằm phân bố trên 8 nhánh theo Yukuhiro & cs. (2011) và 6 chủng tằm hoang dã trên Genbank, kết quả cho thấy rằng 14 giống tằm nghiên cứu phân bố trong 2 nhánh (Hình 4). Trong đó 13/14 giống tập trung ở nhánh 2, đây là nhánh phân bố phổ biến của các chủng tằm Trung Quốc (42/50 giống), chủng tằm châu Âu (24/28) và các chủng Moltinism (16/21). Còn giống tằm Vàng Bảo Lộc phân bố trong nhánh 1, đây là nhánh phân bố phổ biến của các chủng tằm Nhật Bản (35/48 chủng tằm Nhật Bản phân bố ở nhánh 1) và một số ít chủng tằm Trung Quốc, Châu Âu và Moltinism cũng nằm trong nhánh này (Yukuhiro & cs., 2011). Nghiên cứu của Fassina & cs. (2014) cho thấy đa phần các chủng tằm nghiên cứu tập trung vào nhánh 1.

4. KẾT LUẬN

Phân tích 658bp trình tự nucleotide gen COI của 14 giống tằm cho thấy, tỷ lệ nucleotide A+T đạt 70,14%, G+C đạt 29,86%. Có 17 đa hình nucleotide khi so sánh 14 giống tằm nghiên cứu với tằm hoang dại Trung Quốc có mã số Genbank AB737913.1, còn chỉ xuất hiện một vị trí đa hình nucleotide đơn khi so sánh 14 giống tằm với nhau 14 giống tằm nghiên cứu nằm trên 2 haplotype và phân bố trên 2 nhánh. Kết quả này cho thấy mức độ đa hình

thấp giữa các giống khi so sánh trình tự nucleotide gen COI.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này nhận được sự tài trợ kinh phí từ đề tài Khoa học và Công nghệ cấp Học viện năm 2023, mã số T2023_12_51. Nghiên cứu đã nhận được mẫu tằm từ Trung tâm Nghiên cứu Dâu tằm tơ Trung ương.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Alcudia-Catalma M.N., Conde M.Y.E.D., Tan I.Y.D. & Bautista M.A.M. (2021). First Report on the Characterization of Genetic Diversity of Philippine-reared *Bombyx mori* Strains Based on COI and ITS2. Philippine Journal of Science. 150.

Allio R., Donega S., Galtier N. & Nabholz B. (2017). Large variation in the ratio of mitochondrial to nuclear mutation rate across animals: implications for genetic diversity and the use of mitochondrial DNA as a molecular marker. Molecular biology and evolution. 34(11): 2762-2772.

Arunkumar K., Metta M. & Nagaraju J. (2006). Molecular phylogeny of silkmoths reveals the origin of domesticated silkmoth, *Bombyx mori* from Chinese *Bombyx mandarina* and paternal inheritance of Antheraea proylei mitochondrial DNA. Molecular Phylogenetics and Evolution. 40(2): 419-427.

Ausubel F.M., Brent R., Kingston R.E., Moore D.D., Seidman J.G., Smith J.A. & Struhl K. (1992). Short protocols in molecular biology. New York. 275: 28764-28773.

Bindroo B.B. & Manthira Moorthy S. (2014). Genetic divergence, implication of diversity, and conservation of silkworm, *Bombyx mori*. International Journal of Biodiversity.

Cameron S.L. (2014). Insect mitochondrial genomics: implications for evolution and phylogeny. Annual review of entomology. 59: 95-117.

Fassina V.A., Bignotto T.S., Munhoz R.E.F., Fulan B., Bravo J.P., Garay L.B., Bespalhuk R., Das Neves Saez C.R., Pereira N.C. & Pessini G.M. (2014). Low Genetic Polymorphism at the Cytochrome C Oxidase I in Silkworm Strains of the Brazilian Germplasm Bank. Open Journal of Genetics..

Guo Y., Shen Y.H., Sun W., Kishino H., Xiang Z.H. & Zhang, Z. (2011). Nucleotide diversity and selection signature in the domesticated silkworm, Bombyx mori, and wild silkworm, *Bombyx mandarina*. Journal of Insect Science. 11(1): 155.

Hall T.A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic acids symposium series. Oxford. pp. 95-98.

Hebert P.D., Cywinska A., Ball S.L. & Dewaard J.R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences. 270(1512): 313-321.

Kim I.S., Bae J.S., Sohn H.D., Kang P.D., Ryu K.S., Sohn B.H., Jeong W.B. & Jin B.R. (2000). Genetic homogeneity in the domestic silkworm, *Bombyx mori*, and phylogenetic relationship between *B. mori* and the wild silkworm, *B. mandarina* using mitochondrial COI gene sequences. International Journal of Industrial Entomology. 1(1): 9-17.

Kim S.W., Kim M.J., Kim K.Y., Kim S.R. & Kim I. (2019). Complete mitochondrial genome of the silkworm strain, Chilseongjam *Bombyx mori* (*Lepidoptera: Bombycidae*), with a unique larval body marking. Mitochondrial DNA Part B. 4(2): 2853-2854.

Kim S.W., Park J.S., Kim M.J., Kim K.Y., Kim S.R. & Kim I. (2021). Complete mitochondrial genome of the highly fecund *Bombyx mori linnaeus*, 1758 (*Lepidoptera: Bombycidae*) strain Jam 146. Mitochondrial DNA Part B. 6(8): 2278-2280.

Kim M.J., Park J.S., Kim H., Kim S.R., Kim S.W., Kim K.Y., Kwak W. & Kim I. (2022). Phylogeographic relationships among *Bombyx mandarina* (*Lepidoptera: Bombycidae*) populations and their relationships to *B. mori* inferred from mitochondrial genomes. Biology. 11(1): 68.

Librado P. & Rozas J. (2009). DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. Bioinformatics. 25(11): 1451-1452

Li A., Zhao Q., Tang S., Zhang Z., Pan S. & Shen G. (2005). Molecular phylogeny of the domesticated silkworm, Bombyx mori, based on the sequences of mitochondrial cytochrome b genes. Journal of Genetics. 84: 137-142.

Nagaraju J. & Goldsmith M.R. (2002). Silkworm genomics–progress and prospects. Current Science. pp. 415-425.

Nezhad M.S., Mirhosseini S., Gharahveysi S., Mavvajpour M. & Seidavi A. (2009). Analysis of genetic divergence for classification of morphological and larval gain characteristics of peanut cocoon silkworm (*Bombyx mori* L.) germplasm. Agri Environ. Sci. 6(5): 600-608.

Nguyễn Thị Thanh Bình & Đặng Đình Đàn (2008). Nghiên cứu sự trùng lặp của một số giống tằm bản địa bằng phương pháp truyền thống kết hợp với chỉ thị phân tử RAPD. Tạp chí Khoa học Công nghê. 46(5): 37-42.

Singh D., Kabiraj D., Sharma P., Chetia H., Mosahari P.V., Neog K. & Bora U. (2017). The mitochondrial genome of *Muga silkworm* (*Antheraea assamensis*) and its comparative analysis with other lepidopteran insects. PLoS One. 12(11): e0188077.

Shimomura M., Minami H., Suetsugu Y., Ohyanagi H., Satoh C., Antonio B., Nagamura Y., Kadono-Okuda K., Kajiwara H., Nagaraju J., Goldsmith MR., Xia Q., Yamamoto K. & Mita K. (2009). KAIKObase: an integrated silkworm genome database and data mining tool. BMC genomics. 10: 1-8.

Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M. & Kumar S. (2011). MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. Molecular biology and evolution. 28(10): 2731-2739.

Vimala S., Kalpana S., Ei-Syed E.S.A. & Mamatha D. (2020). Screening of Genetic Variance Based on COI Gene Analysis of Silkworm (*Bombyx mori*) Races. Advances in Computational and Bio-Engineering: Proceeding of the International Conference on Computational and Bio Engineering. 1(Springer): 287-298.

Yukuhiro K., Sezutsu H., Tamura T., Kosegawa E. & Kiuchi M. (2011). Nucleotide sequence variation in mitochondrial COI gene among 147 silkworm (*Bombyx mori*) strains from Japanese, Chinese, European and moltinism classes. Genes & genetic systems. 86(5): 315-323.

Zhang G.Z., Huang W.G., Zhang Y.L., Liu Y.W., Huang H.X., Liu Y.Q., Bi L.H. & Lu C. (2019). The complete mitochondrial genome of Yao silkworm (*Bombyx mori*). Mitochondrial DNA Part B. 4(2): 2811-2812.

Zanatta D.B., Bravo J.P., Barbosa J.F., Munhoz R.E. & Fernandez M.A. (2009). Evaluation of economically important traits from sixteen parental strains of the silkworm *Bombyx mori* L. (*Lepidoptera: Bombycidae*). Neotropical Entomology. 38: 327-331.