

KẾT QUẢ BƯỚC ĐẦU ĐÁNH GIÁ ĐA DẠNG DI TRUYỀN LOÀI GIUN ĐẤT *METAPHIRE ESUPANA* (THAI & HUYNH, 1993) Ở NAM BỘ DỰA TRÊN TRÌNH TỰ ĐOẠN GEN *COI*

Phan Thanh Quốc^{1,2}, Lâm Hải Đăng³, Nguyễn Đức Anh^{4,5}, Trần Thanh Mến^{6*}

¹ Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Đại học Cần Thơ, Cần Thơ, Việt Nam

² Trường Cao đẳng cộng đồng Hậu Giang, Hậu Giang, Việt Nam

³ Trường Sư phạm, Đại học Cần Thơ, Cần Thơ, Việt Nam

⁴ Viện Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Hà Nội, Việt Nam

⁵ Trường Đại học Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Hà Nội, Việt Nam

⁶ Khoa Khoa học Tự nhiên, Đại học Cần Thơ, Cần Thơ, Việt Nam

* Tác giả liên hệ Trần Thanh Mến <ttmen@ctu.edu.vn>

(Ngày nhận bài: 18-09-2025; Hoàn thành phản biện: 14-11-2025; Ngày chấp nhận đăng: 14-11-2025)

Tóm tắt. Nghiên cứu này bước đầu phân tích đa dạng di truyền của loài giun đất *Metaphire esupana* (Thai & Huynh, 1993) ở Nam Bộ dựa trên trình tự gen ty thể *COI* (cytochrome c oxidase subunit I). Tổng cộng 10 mẫu đại diện được thu thập từ các địa điểm khác nhau và tiến hành giải trình tự, sau đó được phân tích bằng phương pháp xây dựng cây phát sinh chủng loại và phân nhóm di truyền (MOTUs). Kết quả cho thấy sự hiện diện của bốn nhóm di truyền riêng biệt, với giá trị bootstrap hỗ trợ cao (đa số > 90%), phản ánh mức độ phân hóa di truyền rõ rệt trong loài. Các nhóm này có thể đại diện cho các dòng tiến hóa độc lập, có khả năng tồn tại phân hóa địa lý hoặc thích nghi cục bộ. Phát hiện này góp phần làm sáng tỏ cấu trúc di truyền và tiềm năng đa dạng hóa trong loài *Metaphire esupana* (Thai & Huynh, 1993), đồng thời cung cấp cơ sở dữ liệu quan trọng phục vụ công tác phân loại và đánh giá đa dạng sinh học giun đất tại Việt Nam.

Từ khóa: Gen *COI*, *Metaphire esupana*, giun đất, Việt Nam

Preliminary Assessment of Genetic Diversity in the Earthworm *Metaphire esupana* (Thai & Huynh, 1993) from Southern Vietnam Based on *COI* Gene Sequences

Phan Thanh Quoc^{1,2*}, Lam Hai Dang³, Nguyen Duc Anh^{4,5}, Tran Thanh Men⁶

¹ Institute of Food and Biotechnology, Can Tho University, Cantho, Viet Nam

² Hau Giang Community College, Haugiang, Viet Nam

³ School of Education, Can Tho University, Cantho, Viet Nam

⁴ Institute of Biology, Vietnam Academy of Science and Technology, Hanoi, Viet Nam

⁵ Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology, Hanoi, Viet Nam

⁶ College of Natural Science, Can Tho University, Cantho, Viet Nam

* Correspondence to Tran Thanh Men <ttmen@ctu.edu.vn>

(Received: 18 September 2025; Revised: 14 November 2025; Accepted: 14 November 2025)

Abstract. This study provides a preliminary analysis of the genetic diversity of the earthworm *Metaphire esupana* (Thai & Huynh, 1993) in Southern Vietnam based on mitochondrial *COI* (cytochrome c oxidase subunit I) gene sequences. Ten representative specimens were collected from various locations, sequenced, and analyzed through phylogenetic reconstruction and MOTU delimitation. The analysis revealed four genetically distinct groups, with high bootstrap support values (mostly >90%), indicating significant genetic divergence. These groups may represent independently evolving lineages, potentially shaped by geographic isolation or local adaptation. The findings contribute to a deeper understanding of the genetic structure and diversification potential of *Metaphire esupana* (Thai & Huynh, 1993), and provide a valuable reference for taxonomy and biodiversity assessments of earthworms in Vietnam.

Keywords: *COI*, *Metaphire esupana*, earthworm, Vietnam

1 Mở đầu

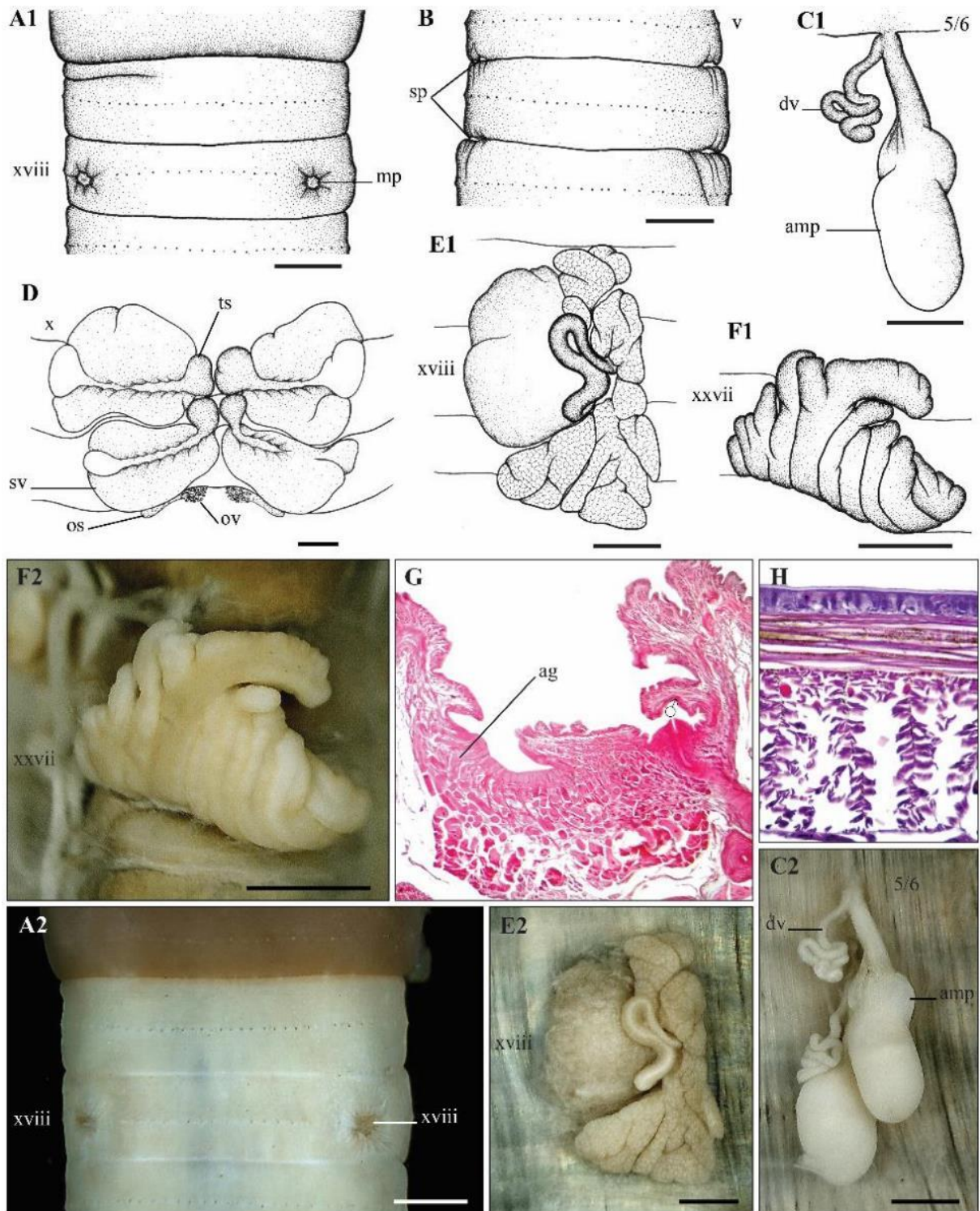
Loài giun đất *Metaphire easupana* (Thai & Huynh, 1993) được nhận diện dựa trên các đặc điểm chẩn loại sau: Kích thước trung bình nhỏ. Môi kiểu *epi*. Lỗ lưng đầu tiên ở 12/13. *Bitheca*, có 2 đôi lỗ nhận tinh ở gần đường bên của 5/6/7. Không thấy núm phụ sinh dục ở cả vùng nhận tinh và vùng đực. Có buồng giao phối ở xviii. *Holandric*, túi tinh hoàn không thông nhau. Manh tràng hình lược. Vách 8/9/10 tiêu giảm. Có tuyến phụ sinh dục ở vùng đực (Hình 1) [1].

Trước đây, loài *Metaphire easupana* (Thai & Huynh, 1993) được ghi nhận ở Đồng bằng Sông Cửu Long với tên *Metaphire mangophila* [2, 3]. Sau này, được Nguyễn Thanh Tùng và cộng sự [4] điều chỉnh thống nhất lại. Loài này sống trong lớp thảm mục trên bề mặt đất nơi có độ ẩm cao như các khe đá hoặc gần gốc mục. Chỉ tìm thấy cá thể trưởng thành từ giữa đến cuối mùa mưa.

Hiện nay, loài *Metaphire easupana* (Thai & Huynh, 1993) được ghi nhận tại nhiều tỉnh thành

ở Việt Nam [5]. Tuy nhiên các nghiên cứu trước đây chủ yếu dựa trên hình thái, chưa làm rõ được mức độ biến dị di truyền nội tại trong loài. Hiện nay, việc sử dụng các chỉ thị phân tử, đặc biệt là đoạn gen ty thể cytochrome c oxidase subunit I (*COI*), đã chứng minh hiệu quả cao trong việc nhận diện loài, đánh giá ranh giới loài và phát hiện các dòng tiến hóa độc lập tiềm ẩn trong các nhóm giun đất [6].

Phương pháp phân tích Automatic Barcode Gap Discovery (ABGD) và xây dựng cây phát sinh chủng loại là những công cụ hữu ích trong việc xác định đơn vị phân loại phân tử (MOTUs), đặc biệt trong các nhóm có mức biến dị cao [7]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi phân tích các mẫu *M. esupana* (Thai & Huynh, 1993) thu thập từ một số tỉnh ở Nam Bộ dựa trên trình tự gen *COI*, nhằm đánh giá mức độ đa dạng di truyền trong nội bộ loài và thảo luận khả năng tồn tại các dòng tiến hóa độc lập trong loài.



Hình 1. *Metaphire easupana* (Thai & Huynh, 1993) [1]

A1, A2: Vùng đực nhìn từ phía bụng; B: Vùng nhận tinh nhìn từ phía bụng; C1, C2: Bộ túi nhận tinh phải; D: Hệ sinh dục nhìn từ phía lưng; E1, E2: Tuyến tiền liệt phải; F1, F2: Manh tràng; G: Lát cắt ngang qua buồng giao phối; H: Lát cắt ngang qua thành cơ thể ở xviii; Thước tỉ lệ = 1 mm; Hình chụp, vẽ và lát cắt ngang từ mẫu CTU-EW.012.03.

2 Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Mẫu vật

Bảng 1 trình bày chi tiết các mã mẫu EW012 dùng trong nghiên cứu và các mã trình tự đã đăng ký trên GenBank.

Bảng 1. Các mã mẫu EW012 dùng trong nghiên cứu

TT	Mã mẫu	Nơi thu mẫu			Nguồn trình tự
		Tọa độ	Địa điểm	Ngày thu, người thu	
1	EW012.11 (EW005.11old)COI	10°23'27,2N; 105°59'56,1E	núi Cô Tô, Tri Tôn, An Giang	09/11/2010, Nguyễn Thanh Tùng	Nghiên cứu này (PZ185534)*
2	EW012.14	10°35'17,6N; 104°57'02,0E	núi Nhọn, Tịnh Biên, An Giang	07/11/2010, Nguyễn Thanh Tùng	GenBank (OP787163)
3	EW012.16COI	10°31'33,0N; 107°09'44,8E	Tân Hưng, TP. Bà Rịa, Bà Rịa – Vũng Tàu	26/10/2016, Nguyễn Quốc Nam	Nghiên cứu này (PZ185535)*
4	EW012.17	10°24'15,0N; 107°16'04,0E	TT. Long Hải, Long Điền, Bà Rịa – Vũng Tàu	26/10/2016, Nguyễn Quốc Nam	Nghiên cứu này (PZ185536)*
5	EW012.19a	11°23'15,0N; 106°09'26,2E	núi Bà Đen, TP. Tây Ninh, Tây Ninh	26/09/2019, Nguyễn Quốc Nam	Nghiên cứu này (PZ185537)*
6	EW012.20a	11°15'58,3N; 107°04'09,5E	Mã Đà, Vĩnh Cửu, Đồng Nai	16/10/2019, Nguyễn Quốc Nam	Nghiên cứu này (PZ185538)*
7	EW012.21a	10°24'15,0N; 107°16'04,0E	TT. Long Hải, Long Điền, Bà Rịa – Vũng Tàu	17/10/2019, Nguyễn Quốc Nam	Nghiên cứu này (PZ185539)*
8	EW012.22	08°42'11,0N; 106°35'36,0E	đảo Côn Sơn, Côn Đảo, Bà Rịa – Vũng Tàu	19/10/2019, Nguyễn Thanh Tùng và Nguyễn T. Bảo Ngọc	Nghiên cứu này (PZ185540)*
9	EW012.27LCOI1490	10°23'34,1N; 104°59'58,1E	núi Cô Tô, Tri Tôn, An Giang	19/10/2020, Nguyễn Thanh Tùng	GenBank (OP787164)
10	EW012.28LCOI1490	10°06'20,5N; 104°53'47,8E	núi Hòn Đất, Hòn Đất, Kiên Giang	20/10/2020, Nguyễn Thanh Tùng	GenBank (OP787165)

* Mã trình tự đã đăng ký trên GenBank.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp giải trình tự gen

Tách chiết DNA: Sử dụng DNeasy Blood & Tissue Kits (Qiagen, Valencia, CA, USA) để tách chiết DNA từ các mô cơ của giun đất.

Khuếch đại trình tự DNA: Thực hiện phản ứng PCR để khuếch đại DNA. Cặp mồi chung để khuếch đại đoạn gen *COI* là LCO1490 (5'-GGTC

AACAAATCATAAAGATATTGG-3') và COI-E (5'-TATACTTCTGGGTGTCCGAAGAATCA-3') [8, 9]. Chu trình nhiệt khuếch đại đoạn gen *COI* được tiến hành theo Jirapatrasilp và cộng sự [10]. Sản phẩm PCR c_q chạy điện di (electrophoresis) trong 1% gel agarose-TAE, quan sát dưới ánh sáng UV và chụp ảnh. Các sản phẩm PCR nhân bản thành công đoạn gen *COI* được làm sạch với QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen Inc.) hoặc với enzyme ExoSap-IT.

Giải và sắp xếp trình tự: Các sản phẩm PCR sau khi được tinh sạch tiến hành giải trình tự gen tại công ty FirstBase (Malaysia). Sử dụng phương pháp đọc trình tự (dideoxy chain-termination) để phân tích trình tự gen với Big Dye Terminator v3.0 Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Perkin-Elmer) và chạy trên hệ thống ABI prism 3100 hoặc 3130x DNA sequencer. Các trình tự gen được kiểm tra bằng phần mềm ChromasPro và sắp xếp bằng chương trình MEGA ver 6.0 [11].

So sánh trình tự: Theo quy trình của Altschul và cộng sự [12]. Tất cả các trình tự được kiểm tra trên GenBank (NCBI) để xác định mức độ tương đồng.

Phương pháp Maximum Likelihood (ML)

Phương pháp ML được thực hiện bằng phần mềm MEGA 6.0 để xây dựng cây phát sinh chủng loại, trong đó độ tin cậy của các nút được ước lượng thông qua phân tích bootstrap (1000 lần lặp) [11].

Phương pháp ABGD (Automatic Barcode Gap Discovery)

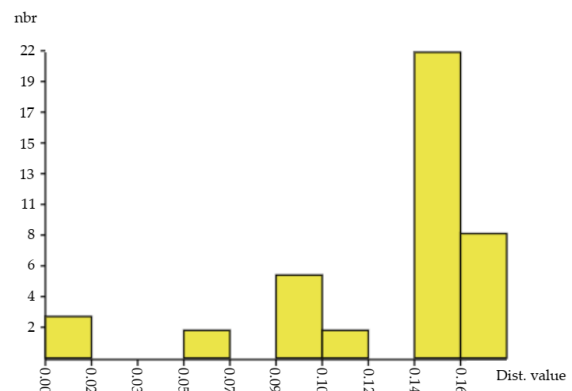
Phương pháp ABGD dựa trên khoảng cách di truyền giữa các trình tự được sử dụng để phân định ranh giới loài và xác định các nhóm phân loại phân tử [7]. Trong phân tích ABGD, các thông số được thiết lập: Pmin:0.001; Pmax:0.18; Steps: 10; X (relative gap width): 0.05; Kimura (K80) TS/TV: 2.0; Nb bins (fordistance distribution): 10.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Kết quả phân tích khoảng cách di truyền

Biểu đồ phân bố khoảng cách di truyền cung cấp một cái nhìn tổng quát về mức độ biến dị giữa các cá thể trong tập mẫu. Trục hoành biểu thị các giá trị khoảng cách di truyền giữa các cặp mẫu, trục tung thể hiện số lượng cặp tương ứng với từng mức khoảng cách. Biểu đồ này cho thấy

bốn đỉnh phân bố rõ rệt, tương ứng với các khoảng: 0,00–0,02, 0,05–0,07, 0,09–0,12, và 0,14–0,16. Dạng phân bố này phản ánh cấu trúc phân tầng rõ rệt trong dữ liệu di truyền, giúp nhận diện các mức độ sai khác từ trong loài đến giữa các loài (Hình 2).



Hình 2. Biểu đồ khoảng cách di truyền đoạn gen *COI* của nhóm mẫu EW012

*nrb (number of recursive partitions): số lần ABGD lặp lại việc phân nhóm để xác định ranh giới loài

Hai đỉnh đầu tiên (0,00–0,02 và 0,05–0,07) phản ánh các cặp mẫu có mức độ tương đồng di truyền cao, thường đại diện cho biến dị trong loài. Các nghiên cứu trước đây như Hebert và cộng sự [13] và Lefébure và cộng sự [14] đã chỉ ra rằng khoảng cách di truyền trong loài thường nằm dưới ngưỡng 0,02 đến 0,05, tùy theo từng nhóm sinh vật. Do đó, sự hiện diện của các đỉnh này xác nhận có sự tồn tại của các cụm cá thể gần gũi nhau về mặt di truyền trong tập mẫu nghiên cứu.

Đỉnh thứ ba (0,09–0,12) được xem là vùng chuyển tiếp giữa biến dị trong loài và phân hóa giữa các loài. Theo Puillandre và cộng sự [7], vùng này thường là nơi giao thoa giữa các đơn vị tiến hóa độc lập đang phân tách hoặc có lịch sử tiến hóa gần nhau, và rất quan trọng trong việc xác định ngưỡng barcode gap một cách hợp lý.

Đỉnh cao nhất của biểu đồ nằm trong khoảng 0,14–0,16, với số lượng cặp mẫu chiếm tỷ lệ lớn nhất. Đây là chỉ báo điển hình cho sự phân hóa di truyền giữa các loài. Theo các nghiên cứu như Meyer & Paulay [15] và Ratnasingham &

Hebert [16], các cặp mẫu thuộc loài khác nhau thường có khoảng cách di truyền trung bình từ 0,12 trở lên. Sự tập trung cao tại đỉnh này là cơ sở cho giả thuyết rằng tập mẫu chứa nhiều đơn vị phân loại độc lập (MOTUs).

Dựa vào sự chuyển tiếp giữa đỉnh thứ ba và đỉnh thứ tư, ngưỡng tách loài được xác định tại khoảng 0,13, phù hợp với khái niệm barcode gap – một giá trị ngưỡng giúp phân biệt ranh giới giữa loài [7, 13]. Việc xác định ngưỡng này cho phép phân chia tập dữ liệu thành bốn nhóm di truyền chính (MOTUs), tương ứng với bốn đơn vị tiến hóa độc lập, có khả năng đại diện cho các loài sinh học khác nhau.

Kết quả từ biểu đồ và các nghiên cứu trước, có thể đưa ra kết luận sơ bộ rằng: tập mẫu nghiên cứu có mức độ đa dạng di truyền cao với sự phân hóa rõ rệt giữa các nhóm, phù hợp với việc phân

tách thành nhiều loài khác nhau. Phân tích này không chỉ hỗ trợ cho việc nhận diện và mô tả loài mà còn có ý nghĩa lớn trong các nghiên cứu về tiến hóa và đa dạng sinh học.

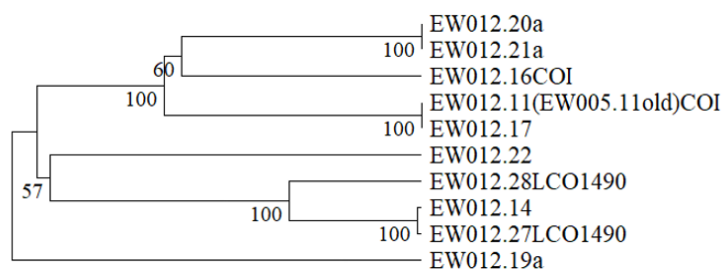
3.2 Kết quả phân tích theo ABGD

Kết quả phân tích ABGD dựa trên trình tự gen *COI* đã phân chia tổng cộng 10 mẫu EW012 thành 04 nhóm phân tử (MOTUs) (Bảng 2).

Cây phát sinh chủng loại được xây dựng từ dữ liệu gene *COI* bằng phương pháp Maximum Likelihood với tỷ lệ bootstrap 1000 cho thấy sự phân hóa rõ rệt trong tập mẫu EW012, với bốn nhánh đơn ngành được xác định. Độ hỗ trợ bootstrap cao (đa số đạt 100%) củng cố cấu trúc di truyền ổn định, cho thấy các nhóm này có thể đại diện cho bốn đơn vị phân loại tiến hóa độc lập (MOTUs) (Hình 3).

Bảng 2. Kết quả phân tích theo ABGD

TT	Nhóm loài	Số mẫu	Các mẫu	Tên nhóm phân tử
1	Nhóm 1	5	EW012.11(EW005.11old)COI; EW012.16COI; EW012.17 EW012.20a; EW012.21a	MOTU 1
2	Nhóm 2	3	EW012.14; EW012.27LCO1490; EW012.28LCO1490	MOTU 2
3	Nhóm 3	1	EW012.19a	MOTU 3
4	Nhóm 4	1	EW012.22	MOTU 4



Hình 3. Cây phát sinh chủng loại của nhóm mẫu EW012 dựa trên đoạn gen *COI*

Nhánh 1 của cây phát sinh chủng loại bao gồm năm mẫu: EW012.11, EW012.16COI, EW012.17, EW012.20a và EW012.21a, tạo thành một nhóm đơn ngành rõ rệt với độ hỗ trợ bootstrap tuyệt đối (100%). Tuy nhiên, bên trong

nhóm này, có thể quan sát thấy sự phân chia thành hai nhánh phụ rõ ràng, phản ánh một mức độ đa dạng nội nhóm nhất định. Cụ thể, mẫu EW012.11 và EW012.17 tạo thành một nhánh phụ riêng biệt, cho thấy sự liên hệ di truyền gần gũi

giữa hai mẫu này. Mặc dù hai mẫu được thu tại các địa phương khác nhau (An Giang và Bà Rịa – Vũng Tàu), mức độ tương đồng về trình tự COI cho thấy khả năng chúng thuộc cùng một đơn vị phân loại. Trong khi đó, nhóm còn lại gồm EW012.16COI, EW012.20a và EW012.21a hợp thành nhánh phụ thứ hai. Đáng chú ý, hai mẫu EW012.20a và EW012.21a liên kết chặt chẽ với nhau, có thể do được thu ở hai vị trí gần nhau trong vùng Đông Nam Bộ (Đồng Nai và Bà Rịa – Vũng Tàu), cho thấy khả năng cao thuộc cùng quần thể địa phương. Mẫu EW012.16COI đóng vai trò là nhánh gốc trong cụm phụ này nhưng vẫn liên kết gần với hai mẫu trên, cho thấy sự tương đồng di truyền ở mức độ trong loài. Sự chia tách thành hai nhánh phụ trong cùng một MOTU cho thấy nhóm này có đa hình di truyền ở mức độ thấp, nhưng chưa vượt quá ngưỡng barcode gap. Kết quả phân cụm ABGD xác nhận toàn bộ nhóm này vẫn nằm trong cùng một đơn vị tiến hóa, tương ứng với một loài duy nhất, mặc dù đã bắt đầu có những dấu hiệu phân hóa địa lý nhẹ. Đây là hiện tượng thường gặp trong các quần thể giun đất có phân bố rộng, sinh sống ở những vùng có điều kiện địa hình hoặc vi khí hậu khác biệt [17, 18]. Kết quả cho thấy nhánh 1 đại diện cho một đơn vị tiến hóa ổn định, có khả năng tương ứng với một loài sinh học, nhưng đồng thời thể hiện dấu hiệu phân hóa quần thể ban đầu, điều này đặt ra hướng nghiên cứu sâu hơn bằng dữ liệu đa gen hoặc phân tích cấu trúc quần thể trong tương lai.

Nhánh 2 bao gồm ba mẫu EW012.14, EW012.27LCO1490 và EW012.28LCO1490, tạo thành một nhánh phụ đơn ngành với độ hỗ trợ bootstrap tuyệt đối (100%). Cụm này được phân tách rõ rệt khỏi các nhánh còn lại, phản ánh sự biệt lập di truyền đáng kể và gợi ý khả năng đại diện cho một MOTU. Mức độ phân tách rõ giữa nhánh 2 và nhánh 1 cũng phù hợp với kết quả biểu đồ khoảng cách di truyền trước đó (~0,13), củng cố giả thuyết về ranh giới loài giữa các mẫu

nghiên cứu. Các mẫu thuộc nhánh này được thu thập tại Tỉnh Biên và Tri Tôn (An Giang), cùng với núi Hòn Đất (Kiên Giang), đây là khu vực đặc trưng bởi các núi cô lập nằm trong vùng đồng bằng Tây Nam Bộ, một môi trường có thể tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình phân hóa di truyền dưới tác động của rào cản địa lý và sinh cảnh. Sự đơn ngành rõ nét và mức độ phân hóa di truyền sâu giữa nhánh này với các nhóm khác củng cố giả thuyết phân hóa allopatric do cấu trúc địa hình phân mảnh [17, 19].

Nhánh 3 là mẫu đơn EW012.19a, tách biệt rõ rệt khỏi tất cả các nhóm còn lại với giá trị bootstrap cao, cho thấy mức độ phân hóa di truyền đáng kể. Việc một cá thể đơn lẻ tạo thành một nhánh riêng biệt thường hàm ý ba khả năng: (i) đại diện cho một loài chưa được mô tả; (ii) là kết quả của hiện tượng lai giữa các dòng khác biệt; hoặc (iii) phản ánh mức độ biến dị di truyền nội bộ cao. Tuy nhiên, trong kết quả phân tích hiện tại, kết hợp với các chỉ số khoảng cách di truyền, giả thuyết hợp lý nhất là mẫu này đại diện cho một MOTU. Các nghiên cứu trước đây của Meyer & Paulay [15], Puillandre và cộng sự [7] cũng chỉ ra rằng các mẫu đơn tách biệt có thể phản ánh sự tồn tại của các dòng tiến hóa cổ hoặc các loài hiếm với phân bố hẹp, đòi hỏi khảo sát thêm với số lượng mẫu lớn hơn. EW012.19a được thu thập tại núi Bà Đen (Tây Ninh). Điều kiện địa lý biệt lập và độ cao tương đối của khu vực này có thể là yếu tố góp phần tạo nên sự biệt lập di truyền quan sát được. Mẫu này có thể đại diện cho một dòng tiến hóa đặc hữu, cần được xác minh thêm qua phân tích hình thái và mở rộng phạm vi lấy mẫu.

Nhánh 4 cũng là mẫu đơn EW012.22, tạo thành một nhánh tách biệt hoàn toàn với các nhóm còn lại trong cây phát sinh. Mẫu này được thu tại đảo Côn Sơn, Côn Đảo, một vị trí địa lý cách biệt với đất liền, điều này củng cố khả năng đây là một MOTU. Kết quả phân cụm ABGD cũng xác nhận sự khác biệt di truyền rõ rệt của

mẫu này so với các MOTU khác. Sự phân tách này phù hợp với các nghiên cứu trước đó cho thấy hiện tượng phân hóa di truyền mạnh thường xảy ra ở các quần thể sinh vật sống trên đảo do cô lập địa lý lâu dài và rào cản dòng gen [20, 21]. Ngoài ra, nhiều nghiên cứu về giun đất cũng ghi nhận sự đa dạng hóa nhanh và cấu trúc quần thể phân mảnh là đặc điểm phổ biến ở các hệ sinh thái đặc thù như đảo hoặc vùng núi thấp biệt lập [17, 19]. Vì vậy, sự tách biệt của EW012.22 có thể đại diện cho một dòng tiến hóa riêng biệt cần được nghiên cứu thêm.

Sự chia tách thành bốn nhánh, mỗi nhánh đều đơn ngành và có độ hỗ trợ cao, hoàn toàn phù hợp với kết quả từ biểu đồ khoảng cách di truyền, nơi bốn đỉnh phân bố chính được xác định và barcode gap nằm ở khoảng 0,13. Kết quả nghiên cứu cho thấy tồn tại bốn MOTU trong tập mẫu EW012. Tuy nhiên, để xác nhận các MOTU này có tương ứng với các loài sinh học hay không, cần tích hợp thêm dữ liệu hình thái, địa sinh học và sinh thái học, theo hướng tiếp cận phân loại học tích hợp [22].

4 Kết luận

Cây phát sinh loài dựa trên gen *COI* với hỗ trợ bootstrap cao và phân tích ABGD, các mẫu EW012 được định danh hình thái là *Metaphire esupana* (Thai & Huynh, 1993) được phân thành 4 nhóm di truyền (MOTUs). Điều này cho thấy loài này có thể đang chứa các dòng tiến hóa độc lập, phản ánh sự phân hóa mạnh về mặt di truyền trong loài.

Cần mở rộng vùng thu mẫu nhằm kiểm tra độ ổn định ranh giới di truyền. Kết hợp dữ liệu hình thái để xác định chính xác mối liên hệ giữa các đơn vị phân loại di truyền và phân loại truyền thống. Sử dụng thêm các marker di truyền khác (như 16S, 28S) để kiểm chứng tính đơn ngành của các nhóm. Phân tích cấu trúc quần thể trong các

MOTUs có phân bố rộng để đánh giá mức độ sai khác di truyền nội bộ.

Lời cảm ơn

Nhóm tác giả xin cảm ơn PGS.TS. Nguyễn Thanh Tùng và TS. Nguyễn Quốc Nam đã cung cấp mẫu vật để nhóm thực hiện nghiên cứu này.

Tài liệu tham khảo

1. Tùng NT, Bái TT, Anh NĐ, Đăng LH. Chuyên khảo giun đất ở đồng bằng Sông Cửu Long, Việt Nam. Cần Thơ: NXB Đại học Cần Thơ; 2022.
2. Nguyen TT, Nguyen AD, Tran BTT, Blakemore RJ. A comprehensive checklist of earthworm species and subspecies from Vietnam (Annelida: Clitellata: Oligochaeta: Almidae, Eudrilidae, Glossoscolecidae, Lumbricidae, Megascolecidae, Moniligastridae, Ocnerodrilidae, Octochaetidae). *Zootaxa*. 2016;4140(1):1-92.
3. Nguyen TT, Trinh KBT, Nguyen HLT, Nguyen AD. Earthworms (Annelida: Oligochaeta) from islands of Kien Hai District, Kien Giang Province, Vietnam, with descriptions of two new species and one subspecies. *Journal of Natural History*. 2017;51(15-16):883-915.
4. Tùng NT, Nam NQ, Ái TT, Hậu NP. 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*. 2017;53(A):96-107.
5. Phan QT, Lam DH, Nguyen AD. The comprehensive checklist of the earthworm genus *Metaphire* (Oligochaeta: Megascolecidae) in Vietnam. *Species Diversity*. 2025;30(1):37-48.
6. Chang C-H, Lin S-M, Chen J-H. Molecular systematics and phylogeography of the gigantic earthworms of the *Metaphire formosae* species group (Clitellata, Megascolecidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2008;49(3):958-68.
7. Puillandre N, Lambert A, Brouillet S, Achaz G. ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. *Molecular Ecology*. 2012;21(8):1864-1877.
8. Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse

- metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*. 1994;3:294-299.
9. Bely AE, Wray GA. Molecular phylogeny of naidid worms (Annelida; Clitellata) based on cytochrome c oxidase I. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2004;30(1):50-63.
 10. Jirapatrasilp P, Prasankok P, Chanabun R, Panha S. Allozyme data reveal genetic diversity and isolation by distance in sympatric *Glyphidrilus* Horst, 1889 (Oligochaeta: Almididae) of the Lower Mekong River Basin. *Biochemical Systematics and Ecology*. 2015;61:35-43.
 11. Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipinski A, Kumar S. Mega6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*. 2013;30(12):2725-9.
 12. Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*. 1990;215(3):403-10.
 13. Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, deWaard JR. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2003;270(1512):313-21.
 14. Lefébure T, Douady CJ, Gouy M, Gibert J. Relationship between morphological taxonomy and molecular divergence within Crustacea: proposal of a molecular threshold to help species delimitation. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2006;40(2):435-447.
 15. Meyer CP, Paulay G. DNA barcoding: Error rates based on comprehensive sampling. *PLOS Biology*. 2005;3(12):e422.
 16. Ratnasingham S, Hebert PDN. A DNA-Based Registry for All Animal Species: The Barcode Index Number (BIN) System. *PLOS ONE*. 2013;8(7):e66213.
 17. Chang CH, Rougerie R, Chen JH. Identifying earthworms through DNA barcodes: Pitfalls and promise. *Pedobiologia*. 2009;52(3):171-80.
 18. Pérez-Losada M, Eiroa J, Mato S, Domínguez J. Phylogenetic species delimitation of the earthworms *Eisenia fetida* (Savigny, 1826) and *Eisenia andrei* Bouché, 1972 (Oligochaeta, Lumbricidae) based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Pedobiologia*. 2005;49(4):317-24.
 19. James SW, Porco D, Decaëns T, Richard B, Rougerie R, Erséus C. DNA Barcoding Reveals Cryptic Diversity in *Lumbricus terrestris* L., 1758 (Clitellata): Resurrection of *L. herculeus* (Savigny, 1826). *PLOS ONE*. 2011;5(12):e15629.
 20. Avise JC. *Phylogeography: The history and formation of species*. Harvard: Harvard University Press; 2000.
 21. Whittaker RJ, Fernández-Palacios JM. *Island Biogeography: Ecology, evolution, and conservation*. Oxford: Oxford University Press; 2006.
 22. Dayrat B. Towards integrative taxonomy. *Biological Journal of the Linnean Society*. 2005;85(3):407-17.