

**BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Nguyễn Thị Hoàng Hà

**ĐA DẠNG THÀNH PHẦN LOÀI SÁN LÁ ĐƠN CHỦ
(MONOGENOIDEA) KÝ SINH Ở CÁ BIỂN
KHU VỰC ĐẢO CÁT BÀ, HẢI PHÒNG**

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ SINH HỌC

Ngành: ký sinh trùng học

Mã số: 9 42 01 05

Hà Nội – 2025

Công trình được hoàn thành tại: Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Người hướng dẫn khoa học:

Người hướng dẫn khoa học 1: PGS.TS. Nguyễn Văn Hà

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

Người hướng dẫn khoa học 2: PGS.TS. Nguyễn Mạnh Hùng

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

Phản biện 1: PGS.TS. Thái Thanh Bình

Trường Cao đẳng Kinh tế Kỹ thuật và Thủy sản, Bộ Nông Nghiệp và Môi trường

Phản biện 2: PGS.TS. Trần Đức Hậu

Trường Đại học Sư phạm Hà Nội, Bộ Giáo dục và Đào tạo

Phản biện 3: PGS.TS. Nguyễn Khắc Lực

Hội Ký sinh trùng học Việt Nam, Tổng hội Sinh học Việt Nam

Luận án được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Vào hồi 9 giờ 00, ngày 21 tháng 10 năm 2025

Có thể tìm hiểu luận án tại:

1. Thư viện Học viện Khoa học và Công nghệ
2. Thư viện Quốc gia Việt Nam

MỞ ĐẦU

Tính cấp thiết của luận án

Khu hệ cá biển ở vùng đảo Cát Bà rất phong phú, với 361 loài, phân bố đan xen trong các hệ sinh thái rạn san hô, rừng ngập mặn, thảm cỏ biển, đầm phá, ven biển, đầm lầy. Sự đa dạng thành phần loài vật chủ cũng như môi trường sống của chúng quyết định mức độ phong phú của khu hệ sán lá đơn chủ ký sinh. Theo ước tính khu hệ sán lá đơn chủ ở vùng đảo Cát Bà khoảng 1.000 loài, tuy nhiên mới chỉ có 24 loài đã được ghi nhận. Sự hiểu biết về đa dạng loài sán lá đơn chủ vô cùng quan trọng bởi chúng sẽ góp phần hiểu biết về đa dạng sinh vật biển, biểu thị về tình trạng sức khỏe và sự ổn định của hệ sinh thái tại đây, đồng thời cung cấp cơ sở khoa học cho việc quản lý hệ sinh thái tự nhiên và chủ động ứng phó với dịch bệnh bùng phát do sán lá đơn chủ gây ra, giúp bảo đảm nghề nuôi biển bền vững.

Vì vậy, đề tài nghiên cứu “Đa dạng thành phần loài sán lá đơn chủ (Monogenoidea) ký sinh ở cá biển khu vực đảo Cát Bà, Hải Phòng” không chỉ có ý nghĩa khoa học mà còn có ý nghĩa thực tiễn cao, góp phần vào việc phòng chống dịch bệnh ở các loài cá biển.

Mục tiêu nghiên cứu của luận án

Xác định thành phần loài và tình hình nhiễm sán lá đơn chủ ký sinh ở cá biển được đánh bắt tại khu vực đảo Cát Bà, Hải Phòng.

Các nội dung nghiên cứu của luận án

1. Nghiên cứu tỷ lệ, cường độ nhiễm sán lá đơn chủ ở các loài cá biển tại khu vực đảo Cát Bà, Hải Phòng.
2. Định loại và mô tả các loài sán lá đơn chủ ký sinh ở cá biển tại khu vực đảo Cát Bà, Hải Phòng.

Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của luận án

- Cung cấp các dẫn liệu mới, đủ tin cậy về thành phần loài sán lá đơn chủ ký sinh và phân bố của chúng ở một số loài cá biển; ghi nhận các loài vật chủ mới.

- Cung cấp các dẫn liệu phân loại học của các loài sán lá đơn chủ ký sinh ở một số loài cá biển.

- Góp phần bổ sung những dẫn liệu về khu hệ sán lá đơn chủ ký sinh ở cá biển Việt Nam và hoàn thiện sự đa dạng sinh thái biển của khu vực quần đảo Cát Bà, Hải Phòng.

Bố cục của luận án

Luận án gồm 118 trang, trong đó: Mở đầu 3 trang. Tổng quan tài liệu 16 trang. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu 9 trang. Kết quả nghiên cứu 77 trang. Kết luận và đề xuất ý kiến 1 trang. Các công trình công bố có liên quan đến luận án 1 trang. Tài liệu tham khảo 11 trang. Phụ lục gồm 19 trang. Luận án gồm 6 bảng số liệu, 64 hình vẽ và ảnh minh họa.

Chương 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

1.1. Lược sử nghiên cứu và vị trí phân loại của sán lá đơn chủ

Sán lá đơn chủ Monogenoidea van Beneden, 1858 là một trong những lớp có số lượng loài lớn nhất của ngành giun dẹp Platyhelminthes. Trước đây, sán lá đơn chủ được xếp là một bộ của lớp sán lá Trematoda, tuy nhiên van Beneden đã tách sán lá đơn chủ là đơn vị phân loại riêng, trong đó lớp sán lá Trematoda được chia thành hai nhóm *monogénèses* và *digénèses*. Price coi thuật ngữ tiếng Pháp *monogénèses* của van Beneden là từ bản địa và quy thuật ngữ Monogenea cho Carus – là tác giả đầu tiên sử dụng thuật ngữ này ở dạng Latin hóa. Quan điểm của Price được các học giả đương thời chấp nhận, tuy nhiên việc thay đổi thuật ngữ từ *monogénèses* sang Monogenea chỉ đơn giản là một sự điều chỉnh từ tiếng Pháp gốc thành tiếng Latin, phù hợp với thông lệ danh pháp tiêu chuẩn. Do vậy, sự thay đổi về thuật ngữ này không làm thay đổi quyền tác giả và thuật ngữ Monogenea được gán cho van Beneden.

Bychowksy đã nâng vị trí của Monogenea trong hệ thống phân loại từ bộ lên lớp và đổi tên nhóm này thành Monogenoidea nhưng vẫn để quyền tác giả là van Beneden. Thuật ngữ Monogenoidea được sử dụng rộng rãi ở các nước Liên Xô (cũ) và một số nước Đông Âu, mặc dù hầu hết các nhà khoa học phương Tây vẫn sử dụng thuật ngữ Monogenea. Hội nghị bàn tròn tại Đại hội Ký sinh trùng học thế giới lần thứ 4 (ICOPA IV) năm 1978 tại Warsaw, Ba Lan với sự tham gia của các nhà khoa học ở 11 quốc gia đã họp để đồng thuận về các vấn đề còn tồn tại trong danh pháp, phân loại và thuật ngữ đối với SLĐC. Kết quả là tất cả các nhà khoa học đều đồng ý sử dụng thuật ngữ Monogenea là tên của lớp thay vì Monogenoidea do hậu tố -oidea vốn dành cho liên họ theo Luật Danh pháp Quốc tế. Tuy nhiên, kết luận của hội nghị này không có hiệu lực bởi điều 1b của Luật Danh pháp Quốc tế quy định hội nghị không có thẩm quyền đối với các đơn vị phân loại bậc trên họ.

Lebedev (1988) không công nhận việc sử dụng Monogenea và gán quyền tác giả thuật ngữ Monogenoidea cho van Beneden theo sự tu chỉnh của Bychowsky. Boeger & Kritsky (1993) cũng đồng thuận với ý kiến của Lebedev.

Llewellyn (1970) phân chia sán lá đơn chủ thành 2 phân bộ (sau được nâng lên thành phân lớp) là Monopisthocotylea và Polyopisthocotylea dựa vào đặc điểm hình thái và cấu trúc của cơ quan bám phía sau. Boeger & Kritsky (1993) dựa vào 47 đặc điểm hình thái khác nhau đã tách sán lá đơn chủ thành 3 phân lớp gồm: Polyonchoinea, Polystomatoinea và Oligonchoinea. Hai hệ thống phân loại này chỉ khác nhau ở các taxon bậc cao, các taxon từ bậc họ trở xuống là tương đồng. Chúng tôi cùng quan điểm với Boeger & Kritsky, dùng tên gọi Monogenoidea cho lớp sán lá đơn chủ. Tuy nhiên, nghiên cứu sinh sử dụng hệ thống phân loại được đề xuất bởi Odhner trong luận án của mình. Điều này cũng phù hợp với thực tế và thuận lợi vì hiện cơ sở dữ liệu lớn nhất thế giới về sán lá đơn chủ là World Register of Marine Species (marinespecies.org) cũng sử dụng hệ thống của Odhner để cập nhật dữ liệu.

1.2. Tình hình nghiên cứu sán lá đơn chủ ở các nước trong khu vực biển Đông

Nghiên cứu đầu tiên về khu hệ sán lá đơn chủ ở khu vực Đông Nam Á được tiến hành vào năm 1930, nhưng cho đến nay số liệu về khu hệ sán lá đơn chủ ở khu vực biển Đông còn rất ít so với các khu vực khác. Lim (1998) đã thống kê được 246 loài sán lá đơn chủ ký sinh trên các vật chủ khác nhau, trong đó có 113 loài được phát hiện trên 69 loài vật chủ là cá biển, và tác giả ước tính số lượng loài Monogenoidea đã được biết chiếm gần 8% tổng số loài có thể có.

Năm 2000, cuốn sách Động vật chí Trung Quốc tập 22 được xuất bản, trong đó đã mô tả tóm tắt 584 loài sán lá đơn chủ thuộc 37 giống 8 họ, ký sinh ở cá nước ngọt và một số loài cá di cư từ biển vào nội địa cũng như các loài cá cửa sông. Năm 2003, Zhang et al. cung cấp danh sách 337 loài Monogenoidea ở cá biển, trong đó khu vực biển Đông có tới 278 loài. Các vùng biển khác như biển Hoàng Hải, Bột Hải và biển Hoa Đông có số lượng loài ít hơn. Sự khác biệt về số lượng loài Monogenoidea ở các khu vực khác nhau có thể giải thích bởi: (1) khu vực biển Đông là vùng biển nhiệt đới và cận nhiệt đới, nên theo quy luật sinh học thì số lượng loài sinh vật sẽ đa dạng

hơn và số lượng cá thể trong quần thể sẽ nhỏ hơn so với vùng biển Hoa Đông—vùng biển ôn đới; (2) khu vực biển Đông có số lượng nghiên cứu được thực hiện nhiều hơn, điều này là hoàn toàn đúng vì các nhà khoa học Liên Xô cũ đã thực hiện nhiều chuyến điều tra khu hệ ký sinh trùng ở khu vực này, và các kết quả nghiên cứu đều được Zhang et al. trích dẫn. Trong khoảng thời gian từ 2003–2020, các nhà khoa học Trung Quốc đã khám phá 1 giống mới và 22 loài mới cho khoa học ở khu vực biển Đông (vịnh Bắc bộ).

Trong khoảng thời gian từ năm 1998 cho đến tháng 4/2021, dựa trên dữ liệu trên Google Scholar, Web of Sciences, PubMed, ScienceDirect, AGRICOLA, Aquatic Science & Fisheries, CABI, Scopus, Zoological Record, đã thống kê được 36 công trình nghiên cứu về khu hệ Monogenoidea ký sinh ở cá biển thuộc vùng biển các nước Đông Nam Á, trong đó các nhà nghiên cứu đã mô tả 46 loài mới cho khoa học.

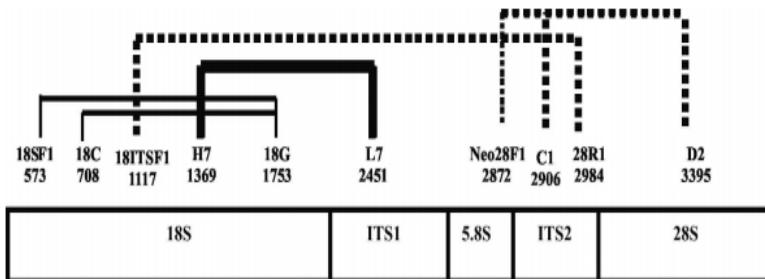
Nghiên cứu về tình hình nhiễm sán lá đơn chủ chỉ tập trung ở các trang trại, cơ sở nuôi động vật thủy sản (Park, 2009). Ví dụ như ở Hàn Quốc, việc nuôi cá Tráp (Sparidae) đang chịu ảnh hưởng nghiêm trọng do bệnh ký sinh trùng gây ra, trong đó có nhóm sán lá đơn chủ (Kim, 2000). Woo et al. (2023) cung cấp số liệu cập nhật về tình hình nhiễm sán lá đơn chủ và giám sát phân lập ở các trang trại cá tại vùng Gyeongsangnam-do, trong đó tỉ lệ nhiễm sán ở cá trung bình là 98,4% với cường độ nhiễm 7 sán/cá thể cá. Tại Ấn Độ, Jithendran et al. (2005) cung cấp về tình hình nhiễm sán lá đơn chủ ở các trang trại cá Song (*Epinephelus tauvina*) ở vùng biển gần Chennai. Chỉ riêng loài *Benedenia* sp. đã nhiễm cho 27% số lượng mẫu cá xét nghiệm. Ogawa (2014) đã cung cấp tình hình nhiễm các lớp trong ngành giun dẹp (Platyhelminthes) trên cá biển nuôi ở các vùng biển của Nhật Bản, trong đó tác giả kết luận nhóm sán lá đơn chủ có tỉ lệ nhiễm cao nhất và là đối tượng gây hại nhiều nhất. Số liệu Ogawa cung cấp không chỉ ở cá nuôi mà ở còn ở cả cá trong môi trường tự nhiên. Liu et al. (2022) đã công bố về thiệt hại ở các trại nuôi cá Chim vây vàng (*Trachinotus ovatus*) ở Trạm Giang (Zhanjiang), Trung Quốc do sán lá đơn chủ *Neobenedeniagirellae* gây ra. Cá bị nhiễm sán có kích thước nhỏ hơn đáng kể so với những cá thể không bị nhiễm. Tỷ lệ nhiễm và cường độ nhiễm của *N. girellae* duy trì ở mức cao từ tháng 1 đến tháng 4, và giảm ở các tháng còn lại.

Ở một số nước Đông Nam Á, nghiên cứu tình hình nhiễm sán lá đơn chủ ở cá cũng được tiến hành, Lestari et al. (2018) cung cấp tình hình nhiễm

sán lá đơn chủ ở các trang trại nuôi cá Song (*Epinephelus fuscoguttatus lanceolatus*) ở vịnh Lamong, Surabaya, Indonesia. Trong đó cá nuôi nhiễm các loài sán lá đơn chủ *Benedenia epinepheli*, *Neobenedenia girellae* và *Pseudorhabdosynochus epinepheli* với tỉ lệ nhiễm lần lượt là 4%, 3% và 26%. Nghiên cứu của Athur & Lumalan-Mayo (1997) đã tổng hợp về khu hệ sán lá đơn chủ ký sinh trên cá tại Philippines, trong đó có nhiều công bố về tình hình nhiễm Monogenoidea trên cá biển, ví dụ như nghiên cứu của Mayes & Brooks (1977) về Monogenoidea trên cá da trơn. Các nghiên cứu của Susan Lim về đa dạng sán lá đơn chủ trong cá biển khu vực Malaysia, Thailand và khu vực biển Đông Nam Á được tổng hợp trong công bố Lim (1998), tuy nhiên tình hình nhiễm của nhiều loài cá biển với các loài sán lá đơn chủ cũng được cập nhật. Tác giả đã thống kê trung bình mỗi loài cá nhiễm nhiều hơn 1 loài sán lá đơn chủ (dao động từ 1-14 loài) với cường độ nhiễm cũng dao động từ một vài mẫu đến hàng nghìn mẫu trên một vật chủ.

Bất chấp mối đe dọa ngày càng tăng về ký sinh trùng, đặc biệt là sán lá đơn chủ, trong nuôi trồng thủy sản, thông tin về các loài này và bệnh tật do chúng đem lại vẫn còn thiếu, kể cả ở những quốc gia phát triển như Hàn Quốc (Maran et al. 2014).

Trong nghiên cứu về phân loại Monogenoidea, bằng những phương pháp cổ điển về miêu tả, so sánh các đặc điểm hình thái giữa các loài, nhóm loài thì việc áp dụng các kỹ thuật phân tử ngày càng phổ biến hơn. Việc sử dụng kỹ thuật phân tử đặc biệt quan trọng đối với những giống có số lượng loài lớn, ví dụ như *Dactylogyrus*, *Gyrodactylus*, *Haliotrema*, *Ligophorus*... khi các đặc điểm hình thái nhiều khi không thể hiện rõ sự sai khác giữa các loài.



Hình 1.4. Vị trí các đoạn gen và các loại môi sử dụng tương ứng để nhân bản

Các nghiên cứu thường sử dụng gen nhân để lập cây chủng loại phát sinh, và đoạn gen nghiên cứu có thể chỉ là đoạn 28S rDNA (tiểu phần lớn của ribosoma LSU rDNA) hoặc có thể cả đoạn ITS1–5.8S–ITS2 và đoạn 28S, hoặc đoạn 18S rDNA (tiểu phần nhỏ của ribosoma SSU rDNA). Dang et al. đã tổng hợp các môi được sử dụng để nhân bản các đoạn gen nhân (Bảng 1) và vị trí các đoạn gen nhân bản ở *Haliotrema* spp.

Bảng 1.2. Các loại môi được sử dụng cho rDNA ở sán lá đơn chủ

Genes	Primers
28S rDNA	C1 (5'-ACCCGCTGAATTTAAGCAT-3')
18S rDNA	D2 (5'-TGGTCCGTGTTTCAAGAC-3')
	18C (5'-TGGTTGATCCTGCCAGT-3')
	18G (5'-GGTAGTAGCGACGGGCGGTGTG-3')
	18SF1 (5'-GCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTGG-3')
	A+ (CA(A,G)CTTTAATATAC(A,G)CT)
	A- (AG(C,T)G(T,A)ATATTAAG(T,C)TG)
	B (ATTCCCCGTTACCCG)
	C (ACGGGCGGTGTGTAC)
	H (TCTCGTTCGTTATCG)
	ITS (ITS 1 + 5.8S + ITS2)
Overlap regions	18-ITSF1 (5'-CGGGGAAAGTATGGTTGC-3')
	L7 (5'-TGATTTGTCTGG TTTATTCCG AT-3')
	H7 (5'-GCTGCGTTC TTCATC GAT ACT CG-3')
	Neo28F1 (5'-ACCCGCTGAATTTAAGCATA-3')

Đối với gen ti thể, Yang et al. (2020) đã giải trình tự toàn bộ hệ gen của loài *Capsala pricei* và phân tích phả hệ cho thấy loài này khá gần gũi với giống *Neobenedenia*.

Ngoài những nghiên cứu về đa dạng thành phần loài, hệ thống học thì một số nghiên cứu về sinh học, chu trình phát triển, về sự biến động quần thể theo không gian bên trong vật chủ (trên cung mang) cũng như sự phân bố của loài theo vị trí địa lý, phát hiện những loài gây bệnh cho cá ở các lồng nuôi, cũng như thử nghiệm các biện pháp phòng chống sự lây nhiễm.

Tóm lại, trong những năm gần đây, số lượng loài Monogenoidea tại khu vực biển Đông được biết đến ngày càng nhiều, tuy nhiên chúng chỉ là số nhỏ so với số lượng ước tính. Để khám phá sự đa dạng loài Monogenoidea và có hiểu biết đầy đủ hơn về khu hệ thì cần sự chung tay của các nhà nghiên cứu ký sinh trùng.

1.3. Tình hình nghiên cứu sán lá đơn chủ ở Việt Nam

Nghiên cứu sán lá đơn chủ ở Việt Nam thường tập trung vào tìm hiểu đa dạng loài, khu hệ động vật, mối quan hệ chuyên biệt giữa vật chủ và vật ký sinh... (Nguyen et al. 2020).

Về lịch sử, những nghiên cứu đầu tiên về sán lá đơn chủ ở cá biển Việt Nam được thực hiện từ những năm 1950, với nhiều cuộc điều tra về giun sán ký sinh trên cá biển được thực hiện bởi các nhà ký sinh trùng học Việt Nam và Liên Xô (Bychowsky & Nagibina 1954, 1959). Trong những công bố tiếp theo, nhiều loài sán lá đơn chủ mới đã được bổ sung cho khu hệ Việt Nam, trong đó có những thông tin về tỉ lệ, cường độ nhiễm sán (Athur & Bui, 2006). Từ Thanh Dung và cs. (2017) đã công bố về hiện trạng nhiễm ký sinh trùng trên cá Bống bóp (*Rachycentron canadum*) nuôi lồng ở tỉnh Kiên Giang, trong đó có cường độ, tỉ lệ nhiễm của các loài sán lá đơn chủ *Pseudorhabdosynochus* sp., *Neobenedenia* sp. Võ Thế Dũng và cs. (2010) đã xuất bản cuốn sách về ký sinh trùng ở cá Mú, cá Tráp ở Việt Nam, trong đó có nhiều thông tin thú vị về tỉ lệ, cường độ nhiễm của từng loài sán lá đơn chủ trên vật chủ của chúng.

Nghiên cứu khu hệ sán lá đơn chủ ở cá biển Việt Nam được ghi nhận từ những năm 1950, với nhiều cuộc điều tra về giun sán ký sinh trên cá biển được thực hiện bởi các nhà ký sinh trùng học Việt Nam và Liên Xô (cũ). Kết quả của các đợt điều tra đã công bố hơn 30 bài báo trên các tạp chí khoa học và các sách chuyên khảo trong khoảng thời gian từ năm 1961–1989; đã mô tả nhiều giống mới và loài mới cho khoa học, đồng thời bổ sung nhiều loài sán lá đơn chủ cho khu hệ Việt Nam.

Đến năm 2006, Arthur và Bui đã thống kê tổng cộng 55 loài Monogenoidea ở cá biển Việt Nam, tuy nhiên nhóm tác giả đã bỏ sót nhiều công bố của các nhà khoa học nước ngoài. Năm 2020, Nguyen et al. đã cập nhật danh sách 220 loài Monogenoidea ký sinh ở 152 loài cá biển Việt Nam. Trong nghiên cứu này, đặc điểm phân bố, vật chủ của từng loài ký sinh trùng đều được nêu rõ và nguồn tài liệu trích dẫn, ngoài ra, những thay đổi về vị trí phân loại của các taxon cũng được bàn luận.

Cuối năm 2020, 5 loài sán lá đơn chủ mới cho khoa học đã được mô tả, đồng thời nhiều ghi nhận về vật chủ mới của nhiều loài sán lá đơn chủ cũng được nêu rõ.

Như vậy, con số thống kê chính xác về số lượng loài Monogenoidea được ghi nhận ở cá biển Việt Nam cho đến tháng 3/2021 là 225 loài.

1.4. Tình hình nghiên cứu sán lá đơn chủ ở cá biển khu vực đảo Cát Bà, Hải Phòng

Về khu vực biển đảo Cát Bà và vùng phụ cận, đã có hơn 10 nghiên cứu về thành phần loài và tình hình nhiễm sán lá đơn chủ ở trên cá biển tự nhiên và cá biển nuôi. Garasev et al. (2011a, b) và Dmitrieva et al. (2018) đã công bố hơn 15 loài sán lá đơn chủ thuộc giống *Ligophorus* trên cá Đồi, trong đó có số liệu về cường độ nhiễm, tỉ lệ nhiễm của từng loài sán. Krisky et al (2016) đã tu chỉnh lại các loài thuộc giống *Metahaliotrema* thu được từ cá Nâu *Scatophagus argus* ở Việt Nam, trong đó có các mẫu thu ở Hạ Long, Cát Bà. Các nghiên cứu của Nguyễn Văn Hà (2012), Nguyễn Hoàng Hà & Nguyễn Văn Hà (2017), Nguyen et al. (2020) và Nguyễn Hoàng Hà và cs. (2020) đã khám phá, bổ sung nhiều dữ liệu về tình hình nhiễm sán lá đơn chủ ở cá biển tự nhiên.

Đối với cá biển nuôi, Truong et al. (2017) và Trương Thị Mỹ Hạnh (2018) đã cập nhật hiện trạng nhiễm sán lá đơn chủ và đánh giá ảnh hưởng của chúng đối với các đối tượng nuôi như cá Mú, cá Chim vây vàng tại vùng biển Hải Phòng.

Nghiên cứu về khu hệ sán lá đơn chủ ở cá biển vùng đảo Cát Bà và một số khu vực lân cận (Bảng 1.3). Nhận thấy số loài được ghi nhận ở các điểm nghiên cứu chỉ chiếm 2,43%-11,22% so với số lượng loài đã biết của vịnh Bắc bộ, đồng thời số lượng loài vật chủ được xét nghiệm còn rất ít so với số lượng loài cá hiện hữu.

Bảng 1.3. Số lượng loài sán lá đơn chủ được ghi nhận từ 1950-2020 ở vùng biển đảo Cát Bà và các vùng phụ cận

Địa điểm	Số loài sán lá đơn chủ	Số loài vật chủ
Đảo Cát Bà	24	8
Đồ Sơn	8	2
Vịnh Hạ Long	13	14
Móng Cái	5	1
Tiên Yên	12	10
Vịnh Bắc bộ	205	140

Mặc dù số lượng loài sán lá đơn chủ ở cá biển vùng đảo Cát Bà cao hơn so với các điểm nghiên cứu khác, tuy nhiên số liệu này chưa phản ánh được hiện trạng đa dạng sinh học giữa các địa điểm bởi số lượng nghiên cứu được thực hiện còn ít, chưa đảm bảo độ tin cậy cho thống kê.

Như vậy, nhiệm vụ rất lớn cho những nhà ký sinh trùng là phải tiếp tục khám phá mức độ đa dạng của khu hệ sán lá đơn chủ ở cá biển Việt Nam nói chung và ở vùng biển Cát Bà nói riêng. Phải tăng cường áp dụng kỹ thuật phân tử để phục vụ phân loại đối với những phức hệ loài, cũng như sử dụng trong công bố loài mới.

Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Đối tượng và phạm vi nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu: Sán lá đơn chủ trưởng thành sống ký sinh ở các loài cá biển phổ biến tại khu vực đảo Cát Bà, Hải Phòng được thu thập từ trước và trong thời gian thực hiện luận án.

Phạm vi nghiên cứu: Bao gồm bộ sưu tập mẫu sán lá đơn chủ được lưu trữ tại phòng Ký sinh trùng học từ năm 2014 và các mẫu được thu thập của nghiên cứu sinh trong thời gian thực hiện luận án.

2.1.2. Nội dung nghiên cứu

- Nghiên cứu tỷ lệ, cường độ nhiễm sán lá đơn chủ ở các loài cá biển tại khu vực đảo Cát Bà, Hải Phòng;

- Định loại và mô tả các loài sán lá đơn chủ ký sinh ở cá biển tại khu vực đảo Cát Bà, Hải Phòng.

2.1.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu: Nghiên cứu này được thực hiện từ tháng 5 năm 2021 đến tháng 5 năm 2024. Mẫu cá biển được thu thập tại cảng cá, chợ cá Cát Bà; mẫu SLĐC được thu thập tại chỗ trên đảo Cát Bà. Phân tích định loại mẫu SLĐC và làm luận án tại Phòng Ký sinh trùng học, Viện Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Cách tiếp cận: Do sán lá đơn chủ là các loài ký sinh có cấu trúc hiển vi, lại có nhiều cấu trúc kitin hoá, vì vậy cần phải có nhiều phương pháp và kỹ thuật nghiên cứu khác nhau để phân tích các đặc điểm hình thái, cấu tạo.

2.2.1. Thu mẫu, bảo quản và định danh cá biển

Cá tự nhiên được thuê đánh bắt hoặc mua lại từ dân chài, cá nuôi được thu thập tại các lồng nuôi ở khu vực quanh đảo Cát Bà, Hải Phòng. Cá thu thập được giữ trong thùng xốp bảo quản lạnh bằng đá (nhiệt độ 4⁰C) để tránh hư hỏng mẫu trước khi phân tích.

Mẫu cá biển được phân lập tại chỗ, xác định tên khoa học, tên thường gọi dựa theo tài liệu phân loại Động vật chí Việt Nam (phần cá biển) và hệ thống cơ sở dữ liệu thế giới (<http://www.fishbase.org>).

Mẫu cá tiếp tục được giữ trong tủ lạnh (4⁰C) cho đến khi xử lý xong. Một số mẫu cơ của các loài cá nghiên cứu được giữ lại, bảo quản để sử dụng phân tích PCR trong việc xác định chính xác tên loài cá khi cần thiết.

2.2.2. Phân lập sán lá đơn chủ định hình và bảo quản sán lá đơn chủ

Kiểm tra bằng kính lúp ở da, vây, mang, xoang miệng và hệ tiêu hoá để tìm sán lá đơn chủ. Mẫu sán lá đơn chủ được phát hiện và phân lập tại chỗ bằng kính lúp soi nổi Olympus SZ51 (dissecting microscope), sau đó được xử lý, làm sạch và cố định bằng dung dịch cồn 70% hoặc formol 4% cho nghiên cứu về hình thái tiếp theo. Mẫu dùng cho nghiên cứu phân tử được cố định và bảo quản bằng dung dịch cồn 95%.

2.2.3. Phương pháp làm tiêu bản sán lá đơn chủ

- Kỹ thuật làm tiêu bản glycerin – gelatin: Kỹ thuật làm tiêu bản trong suốt bằng dung dịch glycerin – gelatin để nghiên cứu cấu trúc gai, móc bám và cơ quan giao cấu của nhóm sán lá đơn chủ bậc thấp, có kích thước nhỏ. Đặt 1-5 mẫu sán lá đơn chủ tươi nằm song song với nhau theo chiều ngang của lam kính; để khô không khí 2-5 phút; nhỏ 1 giọt glycerin – gelatin nóng lên mẫu và đậy lam men; phết nhựa dính canada xung quanh lam men để bảo quản lâu dài

- Kỹ thuật làm tiêu bản nhuộm: mẫu nhuộm được bảo quản trong dung dịch formol 4% hoặc ethanol 70%. Sau vài ngày có thể nhuộm để nghiên cứu các nội quan và phân tích các số đo hình thái.

Mẫu sán có kích thước lớn có thể nhuộm bằng phương pháp nhuộm carmine alumi: mẫu sán để trong dung dịch nhuộm 10-30 phút; sau đó tẩy bớt màu thuốc nhuộm bằng dung dịch ethanol 70% + HCl trong vài phút; loại nước qua các dung dịch ethanol 70%, 80%, 95% và 100%; làm trong bằng dung môi hữu cơ và gắn tiêu bản bằng dung dịch pha loãng bom canada; viết nhãn tiêu bản và để khô không khí cố định trong vài ngày.

Mẫu sán có kích thước bé được nhuộm bằng phương pháp nhuộm Gomori's trichrome: 1-5 mẫu sán lấy từ dung dịch bảo quản được ngâm trong dung dịch nhuộm 1-2 phút; dùng cồn ethanol 70% hòa loãng dung dịch thuốc nhuộm để dùng nhuộm ngay tức thì, tránh mẫu bị bắt màu quá đậm; loại nước qua các dung dịch ethanol 70%, 80%, 95% và 100%; làm trong bằng dung môi hữu cơ và gắn tiêu bản bằng dung dịch pha loãng bom canada; viết nhãn tiêu bản và để khô không khí cố định trong vài ngày.

2.2.4. Phân tích tích đặc điểm hình thái và định loại sán lá đơn chủ

Các mẫu vật sán lá đơn chủ được đo, vẽ và mô tả hình thái, cấu tạo dưới kính hiển vi Olympus CH40 và BX53; sau đó được so sánh, đối chiếu với các bản mô tả các taxon tương ứng trong các hệ thống phân loại phù hợp. Mô tả các loài sán lá đơn chủ theo trình tự quy định của sách Động vật chí: Danh pháp khoa học, phân bố, vật chủ, nơi ký sinh, bản mô tả, hình vẽ hoặc ảnh,...

2.2.5. Kỹ thuật sinh học phân tử

Mẫu để làm PCR bảo quản trong cồn 95% được rửa sạch bằng nước cất để tách chiết DNA. DNA được tách chiết theo kit tách Qiagen, USA. Bảo quản DNA tổng số ở tủ lạnh với nhiệt độ lạnh sâu (-30°C).

Phản ứng chuỗi polymerase (PCR) được sử dụng để khuếch đại DNA ribosome 28S (rDNA) với các mồi DIG12 (5'-AAG CAT ATC ACT AAG CGG-3') và 1500R (5'-GCT ATC CTG AGG GAA ACT TCG-3') theo mô tả của Tkach et al., 2003.

Các sản phẩm PCR được giải trình tự trực tiếp bằng cách sử dụng Bộ giải trình tự chu trình ABI Big Dye v.3.1 (Applied Biosystems, USA), theo khuyến nghị của nhà sản xuất, với các mồi trình tự được mô tả bởi Tkach et al. (2003) cho 28S rDNA. Sản phẩm PCR được phân tích bằng máy phân tích gen Mastercycler nexus (Eppendorf). Trình tự được gửi đến GenBank (NCBI).

Trình tự rDNA được lắp ráp bằng phần mềm SeqScape phiên bản 2.6. Việc căn chỉnh và ước tính số lượng các vị trí thay đổi và sự khác biệt về trình tự đã được thực hiện bằng MEGA 7.0 (Kumar và cộng sự, 2016).

Phân tích phát sinh loài của trình tự nucleotide được thực hiện bằng thuật toán Bayes với phần mềm MrBayes v. 3.1.2 (Huelsenbeck và cộng sự, 2001). Các chuỗi 28S rDNA của một số loài ký sinh trùng từ GenBank đã được sử dụng làm nhóm ngoài.

Chương 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đánh giá hiện trạng nhiễm SLĐC ở các loài cá nghiên cứu

Tổng số 1.066 cá thể cá biển thuộc 82 loài, 36 họ, 18 bộ được thu thập nghiên cứu trong giai đoạn 2014-2024. Bộ cá Vược Perciformes đa dạng nhất, với 17 loài được thu mẫu xét nghiệm, tiếp đến là bộ cá Đồi Mugiliformes với 13 loài. Các bộ cá còn lại chỉ có từ 1-8 loài được mổ khám. Họ cá Đồi Mugilidae và họ cá Khế Carangidae là đa dạng nhất, có số loài tương ứng lần lượt là 13 và 10. Các họ cá còn lại có số lượng loài dao động trong khoảng 1-6 loài.

Năm loài cá bao gồm 3 loài cá Đồi *Osteomugil engeli* (Bleeker), *Planiliza melinoptera* (Valenciennes), *Crenimugil seheli* (Fabricius), 1 loài cá Dia *Siganus fuscescens* (Houttuyn) và 1 loài cá Kìm *Rhynchorhamphus georgii* (Valenciennes) được nghiên cứu nhiều nhất, chiếm khoảng 1/3 tổng số mẫu cá xét nghiệm.

Nghiên cứu tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá đơn chủ ở cá biển khu vực đảo Cát Bà cho thấy có hơn một nửa các loài cá nghiên cứu (45/82 loài) được ghi nhận nhiễm sán lá đơn chủ, chiếm tỷ lệ 55,6%. Bộ cá Đồi Mugiliformes có số loài nhiễm sán lá đơn chủ nhiều nhất (10/13 loài), tiếp đến là Bộ cá Nhoi Beloniformes (7/8 loài) và bộ cá Vược (7/17 loài).

Trong số 45 loài phát hiện nhiễm sán lá đơn chủ, có 28 loài tìm thấy các loài bậc thấp và 17 loài nhiễm các loài bậc cao. Hai loài cá Đù nanh và cá Dia cana phát hiện nhiễm đồng thời cả các loài sán lá đơn chủ bậc thấp và bậc cao.

Trong số 22 loài cá có số lượng nghiên cứu trên 10 cá thể/loài thì các loài có tỷ lệ nhiễm sán lá đơn chủ cao (trên 70%) là cá Dìa tron (82,8%), cá Xách (91,7%), cá Thu vạch (91,7%) và cá Đục bạc (92,9%).

Tổng số mẫu sán lá đơn chủ thu được là 3.260 mẫu, gồm 2.792 mẫu bậc thấp, 468 mẫu bậc cao. Như vậy, cường độ nhiễm trung bình của sán lá đơn chủ là 11,2 sán/cá, với mức dao động trong khoảng từ 1 đến 240 sán/cá. Cường độ nhiễm trung bình của sán lá bậc thấp là 13,47 sán/cá cao hơn so với cường độ nhiễm trung bình của sán lá đơn chủ bậc cao 5,68 sán/cá ($p < 0,01$).

Sự khác biệt về tỉ lệ, cường độ nhiễm sán lá đơn chủ ở các mùa mưa và mùa khô không có ý nghĩa thống kê ($p = 0,975$), mặc dù mùa khô có tỉ lệ

nhiểm cao hơn so với mùa mưa (1,01 lần), tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

3.2. Hệ thống phân loại sán lá đơn chủ ký sinh ở cá biển Cát Bà

Kết quả phân tích 3.260 mẫu sán lá đơn chủ, gồm 2.792 mẫu bậc thấp, 468 mẫu bậc cao, chúng tôi đã xác định được 45 loài sán lá đơn chủ thuộc 29 giống, 13 họ và 2 bộ. Dưới đây là danh mục các loài sán lá đơn chủ được sắp xếp theo hệ thống phân loại.

LỚP MONOGENOIDEA VAN BENEDEEN, 1858

PHÂN LỚP MONOPISTHOCOTYLEA ODHNER, 1912

Bộ DACTYLOGYRIDEA Bychowsky, 1937

Họ Ancyrocephalidae Bychowsky, 1937

Giống *Glyphidohaptor* Kritsky, Galli & Yang, 2007

1. *G. sigani* Kritsky, Galli & Tingbao, 2007

2. *Glyphidohaptor* sp.

Giống *Tetrancistrum* Goto & Kikuchi, 1917

3. *T. indicum* (Paperna, 1972) Kritsky, Galli & Tingbao, 2007

4. *T. sigani* Goto & Kikuchi, 1917

5. *Tetrancistrum* sp.

Họ Dactylogyridae Bychowsky, 1933

Giống *Haliotrema* Johnston & Tiegs, 1922

6. *Haliotrema epinepheli* Young, 1968

7. *Haliotrema holocentri* Young, 1968

8. *Haliotrema johnsntoni* Bychowsky & Nagibina, 1970

9. *Haliotrema platycephali* Yin & Sproston, 1948

10. *Haliotrema tiegsi* Bychowsky & Nagibina, 1970

Giống *Hemirhamphiculus* Bychowsky & Nagibina, 1969

11. *Hemirhamphiculus armatus* Bychowsky & Nagibina, 1969

12. *Hemirhamphiculus similis* Bychowsky & Nagibina, 1969

Giống *Ligophorus* Euzet & Suriano, 1977

13. *Ligophorus fenestrum* Soo & Lim, 2012

14. *Ligophorus hamulosus* Pan et Zhang, 1999

15. *Ligophorus leporinus* (Zhang & Ji, 1981) Gussev, 1985

16. *Ligophorus macrocolpos* Euzet & Suriano, 1977

Giống *Lobotrema* Tripathi, 1959

17. *L. sciaenae* (Bychowsky & Nagibina, 1977) Oliver, 1987

18. *L. argyrosomi* (Bychowsky & Nagibina, 1977) Oliver, 1987

Giống *Paradiplectanotrema* Gerasev, Gayevskaya & Kovaleva, 1987

19. *P. trachuri* (Kovaljova, 1970) Gerasev, Gayevskaya & Kovaleva, 1987

Giống *Parahemirhamphiculus* Bychowsky & Nagibina, 1969

20. *P. pinguis* Bychowsky & Nagibina, 1969

Giống *Protogyrodactylus* Johnston & Tiegs, 1922

21. *P. alienus* Bychowsky & Nagibina, 1974

22. *P. gussevi* Bychowsky & Nagibina, 1974

23. *P. perforatus* Bychowsky & Nagibina, 1974

Họ Diplectanidae Monticelli, 1903

Giống *Calydiscooides* Young, 1969

24. *C. flexuosus* (Yamaguti, 1953) Young, 1969

Giống *Murraytrema* Price, 1937

25. *M. pricei* Bychowsky & Nagibina, 1977

Giống *Paradiplectanum* Domingues & Boeger, 2008

26. *P. blairense* (Gupta & Khanna, 1974) Domingues & Boeger, 2008

PHÂN LỚP POLYOPISTHOCOTYLEA ODHNER, 1912

Bộ MAZOCRAEIDEA Bychowsky, 1937

Họ Allodiscocotylidae Tripathi, 1959

Giống *Allodiscocotyla* Yamaguti, 1953

27. *A. chorinemi* Yamaguti, *mersonnianus* 1953

Giống *Metacamopia* Lebedev, 1972

28. *M. chorinemi* (Yamaguti, *thalmus* 1953) Lebedev, 1984

Họ Axinidae Monticelli, 1903

Giống *Axine* Abildgaard, 1794

29. *A. hemirhamphae* Tripathi, 1959

Giống *Neoaxine* Price, 1946

30. *N. constricta* (Yamaguti, 1938) Price, 1946

Họ Microcotylidae Taschenberg, 1879

Giống *Microcotyle* van Beneden & Hesse, 1863

31. *M. helotes* Sandars, 1944

Giống *Polylabris* Euzet & Cauwet, 1967

32. *P. mamaevi* Ogawa & Egusa, 1980

Họ Diclidophoridae Cerfontaine, 1895

Giống *Helciferus* Mamaev, 197233. *H. tenuis* Mamaev, 1972**Giống *Heterobothrium* Cerfontaine, 1895**34. *H. tonkinense* Bychowsky & Nagibina, 197635. *H. phamvanluci* n. sp.**Giống *Papillochoricotyle* Mamaev, 1975**36. *P. ilishae* Mamaev, 1975**Họ Gastrocotylidae Price, 1943****Giống *Pseudaxine* Parona & Perugia, 1890**37. *P. bychowskyi* (Lebedev, 1977) Bouguerche, Tazerouti, Gey & Justine, 202038. *P. trachuri* Parona & Perugia, 1889**Họ Gotocotylidae Yamaguti, 1963****Giống *Cathucotyle* Lebedev, 1968**39. *C. cathuau* Lebedev, 1968**Họ Mazocraeidae Price, 1936****Giống *Mazocraeoides* Price, 1936**40. *Mazocraeoides* sp.**Giống *Heteromazocraes* Mamaev, 1981**41. *H. vicinus* (Mamaev, 1975) Mamaev, 1981**Họ Plectanocotylidae Monticelli, 1903****Giống *Octoplectanocotyla* Yamaguti, 1937**42. *Octoplectanocotyla* sp.**Họ Protomicrocotylidae Johnston & Tiegs, 1922****Giống *Vallisiopsis* Subhapradha, 1951**43. *V. sphyraenae* Yamaguti, 1968**Giống *Bilaterocotyloides* Ramalingam, 1961**44. *B. carangis* Ramalingam, 1961**Họ Thoracocotylidae Price, 1936****Giống *Pricea* Chauhan, 1945**45. *P. multae* Chauhan, 1945**3.3. Đặc điểm thành phần loài sán lá đơn chủ**

Nghiên cứu cho thấy thành phần loài, giống và họ sán lá đơn chủ khá đa dạng nhưng khá hạn chế về thành phần vật chủ, đa số các loài chỉ được phát hiện trên duy nhất một loài vật chủ. Sán lá đơn chủ có vòng đời trực tiếp, có

nghĩa là ký sinh trùng không cần vật chủ trung gian để sinh sản. Việc lây nhiễm sán lá đơn chủ từ cá này sang cá khác chủ yếu là do tiếp xúc trực tiếp.

Sán lá đơn chủ bộ Gyrodactylidea sản sinh ra những con non đã được trang bị đầy đủ cơ quan bám để bám ngay vào vật chủ hoặc chúng có thể được nước mang đến vật chủ khác. Những con non này mang nhiều thể hệ phôi đang phát triển. Khả năng này có thể góp phần làm bùng nổ quần thể trong các hệ thống nuôi trồng thủy sản, dẫn đến khả năng bùng phát dịch bệnh cao.

Đa số các loài sán lá đơn chủ ký sinh có đời sống ngoại ký sinh, chủ yếu ở bề mặt các cung mang; một số loài ký sinh ở xoang miệng hoặc xoang mang. Loài *Paradiplectanotrema trachuri* là một trong số rất ít loài sán lá đơn chủ có đời sống nội ký sinh, được phát hiện ở dạ dày cá xách ở vùng biển Cát Bà.

Kết quả tổng hợp về thành phần loài sán lá đơn chủ ở quần đảo Cát Bà (Bảng 3.3) đã xác định 3 dạng loài mới cho khoa học (*Glyphidohaptor* sp., *Tetrancistrum* sp. và *Heterobothrium phamvanluci* sp. n.), bổ sung 9 loài mới cho khu hệ sán lá đơn chủ Việt Nam (*Glyphidohaptor sigani*, *Tetrancistrum indicum*, *T. sigani*, *Axine hemirhamphae*, *Neoaxine constricta*, *Microcotyle helotes*, *Polylabris mamaevi*, *Pseudaxine bychowskyi* và *Octoplectanocotyla* sp.), đồng thời ghi nhận nhiều loài vật chủ mới.

Bảng 3.3. Tổng hợp các loài sán lá đơn chủ mới phát hiện

TT	Tên loài sán lá đơn chủ	Tên loài vật chủ	Đánh giá
1	<i>Glyphidohaptor</i> sp.	Cá Dia trơn	Loài mới cho khoa học
2	<i>Tetrancistrum</i> sp.	Cá Dia trơn	Loài mới cho khoa học
3	<i>Heterobothrium phamvanluci</i> n. sp.	Cá Nóc tro	Loài mới cho khoa học
1	<i>Glyphidohaptor sigani</i>	Cá Dia trơn	Ghi nhận mới cho VN
2	<i>Tetrancistrum indicum</i>	Cá Dia cana	Ghi nhận mới cho VN
3	<i>T. sigani</i>	Cá Dia trơn	Ghi nhận mới cho VN

TT	Tên loài sán lá đơn chủ	Tên loài vật chủ	Đánh giá
4	<i>Axine hemirhamphae</i>	Cá Kìm môi dài	Ghi nhận mới cho VN
5	<i>Neoxine constricta</i>	Cá Nhói đuôi chấm	Ghi nhận mới cho VN
6	<i>Microcotyle helotes</i>	Cá Căng	Ghi nhận mới cho VN
7	<i>Polylabris mamaevi</i>	Cá Địa cana	Ghi nhận mới cho VN
8	<i>Pseudaxine bychowskyi</i>	Cá Dóc	Ghi nhận mới cho VN
9	<i>Octoplectanocotyla</i> sp.	Cá Hồ	Ghi nhận mới cho VN

3.4. Các loài sán lá đơn chủ mới cho khoa học

3.4.1. *Heterobothrium phamvanluci* n. sp.

Vật chủ: Cá Nóc (*Lagocephalus spadiceus*)

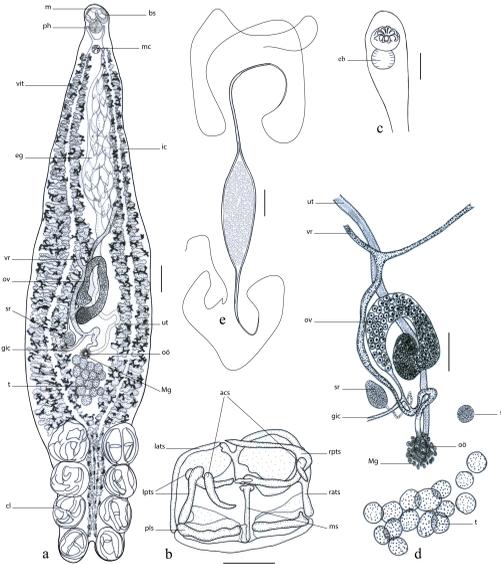
Nơi ký sinh: Mang

Mô tả: (trên 9 mẫu vật nghiên cứu; Hình 3.35A, B)

Cơ thể hình thoi dẹt mặt lưng bụng, dài 3.772-7.011 (4.977) μm , phần rộng nhất của cơ thể ở vị trí buồng trứng, 3.116-5.412 (3.873) μm . Có thất eo, ngăn cách phần cơ thể và phần cơ quan bám phía sau (Hình 3.35A-a). Cơ quan bám phía sau có kích thước 902-1.591 (1.330) \times 738-1.230 (975) μm , đối xứng, với 4 cặp van bám. Kích thước của các van bám thay đổi, cặp van bám đầu tiên (gần thân) là lớn nhất 262-476 \times 262-508 (329 \times 374) μm , cặp thứ 4 nhỏ nhất 139-262 \times 230-312 (235 \times 274) μm , trong khi hai cặp còn lại có kích thước tương tự nhau 262-476 \times 262-377 (281 \times 330) μm . Cặp van bám đầu tiên được xoay 180⁰ theo mặt phẳng ngang so với các cặp khác. Cấu trúc các van bám có hình dạng giống nhau (Hình 3.35A-b). Các thành van bám có hệ cơ phát triển tốt.

Miệng ở phía đầu cùng cơ thể; có hai giác miệng dạng cơ, hình bầu dục, đường kính 78- 123 (102) μm . Hầu có hình bầu dục hoặc gần tròn và có kích thước gần bằng cặp giác hút ở miệng, đường kính 90-127 (110) μm . Thực quản không quan sát thấy. Ruột chia đôi ngay sau hầu với nhiều nhánh ở cả hai bên, chạy dọc xuống phía cuối cơ thể và kết thúc gần mút cuối của cơ quan bám phía sau. Tinh hoàn rất nhiều, nằm giữa hai nhánh ruột, có hình cầu và nằm ngang bằng với oötype. Có một bóng xuất tinh, kích thước 53-

98 (76) × 49-98 (74) μm. Bộ phận giao hợp đực có hình ống, hoá cơ và hướng về phía ngoài có 8-9 móc (Hình 3.35A-c). Túi tinh có hình cầu, nằm sau buồng trứng. Ống dẫn tinh đi xuống từ góc túi tinh, uốn lượn về phía trước dọc theo đường giữa cơ thể và đi vào đầu sau của bóng xuất tinh.



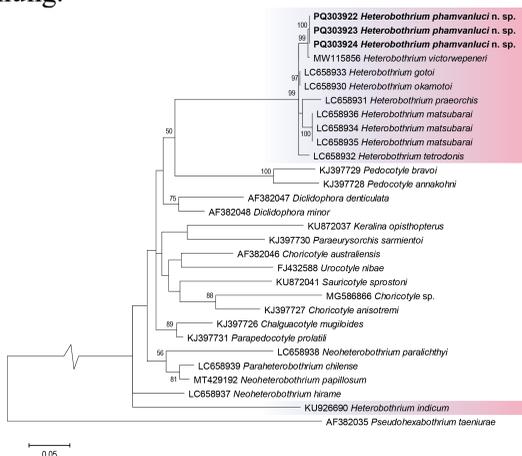
Hình 3.35A. *Heterobothrium phamvanluci* n. sp.

a. Toàn bộ cơ thể; b. Van bám nhìn từ mặt bụng; c. Bộ phận giao hợp đực; d. Buồng trứng; e. Trứng

Buồng trứng hình ống, cuộn lại hình dấu hỏi, nằm giữa manh tràng và phần giữa cơ thể (Hình 3.35A-d). Túi chứa tinh quan sát rõ, hình bầu dục, ngay sau buồng trứng. Oötype nằm sau buồng trứng, hình bầu dục và được bao quanh bởi các tuyến Mehlis. Vitellarium là các nang tuyến noãn hoàng nằm một khoảng rộng với manh tràng. Túi chứa noãn hoàng có hình chữ Y, ống dẫn nối với oötype, kéo dài ngoằn ngoèo về phía trước và mở ra ở cơ quan giao hợp. Trứng trong tử cung, có hình thoi, kích thước 159-225 (191) × 61-74 (67) μm và có các sợi dài ở cả hai đầu (Hình 3.35A-e).

Nhận xét: Loài sán này có hình dạng tương tự với loài *H. tonkinensis* được Bychowsky et al. [106] mô tả, ví dụ chúng tương đồng về hình dạng cơ thể, cơ quan giao phối đực, buồng trứng, cấu trúc van bám. Tuy nhiên, có sự khác biệt về vị trí và số lượng tinh hoàn. Bychowsky et al. [106] mô tả tinh hoàn nằm ngay buồng trứng, có số lượng từ 50-100 trong khi trong nghiên cứu này thì chúng nằm ngang bằng hoặc sau oötype, và với số lượng là khoảng 24-40.

Trình tự nucleotid gen 28S rDNA thu được từ *H. phamvanluci* n. sp. (số hiệu GenBank PQ303922-PQ303924) dài 1274-1276 bp, tạo thành một nhánh đơn trên cây phát sinh chủng loại. Các trình tự này tương đồng với *Heterobothrium victorwepeneri* Acosta và Smit, 2021 (GenBank số MW115855), với mức đồng nhất là 99,75%. So sánh thêm với dữ liệu của *Heterobothrium* spp. và các loài gần gũi khác thuộc họ Diclidophoridae từ GenBank chỉ ra rằng các loài này đều chung một nguồn gốc, ngoại trừ *Heterobothrium indicum* (số hiệu GenBank KU926690) (Hình 3.35B) và loài *Pseudohexabothrium taeniurae* (mã số truy cập GenBank AF382035) được dùng làm đối chứng.



Hình 3.35B. Cây phát sinh chủng loại của *Heterobothrium phamvanluci* n. sp. và các loài có quan hệ gần gũi (Giá trị độ tin cậy được thể hiện dưới dạng % trên 1000 lần lặp lại)

3.4.2. *Glyphidohaptor* sp. (dạng loài mới chưa công bố)

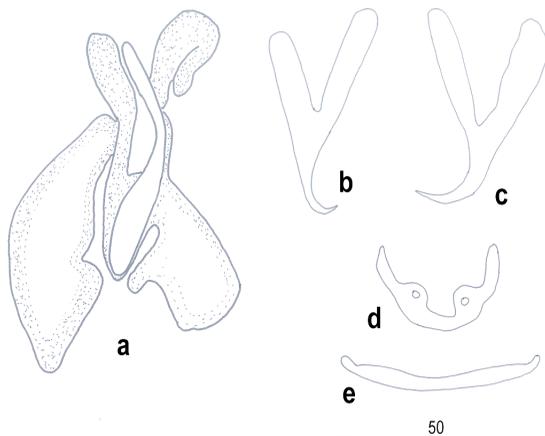
Vật chủ: Cá Dìa tron (*Siganus fuscescens*)

Nơi ký sinh: Mang

Mô tả (trên 3 mẫu vật)

Cơ thể hình thoi, dài 702-850 μm ; rộng nhất 180-224 μm ở khu vực có buồng trứng. Thùy đầu phát triển. Hầu rộng 29-45 μm , dạng hình trụ đến ôvan dài. Tinh hoàn dài 120-160 μm , rộng 37-65 μm , dạng quả lê; túi chứa tinh nhỏ, bề chứa tiền liệt tuyến dài, hẹp, nằm ở mặt lưng cơ quan sinh dục đực. Cơ quan sinh dục đực dài 53-75 μm ; cấu trúc MCO dạng ống, cong, chia làm 2 phần không đều nhau, thuận về 2 đầu. Mảnh phụ có dạng que, tù. Buồng trứng hình quả lê; lỗ âm đạo ở thân trước; túi âm đạo biến đổi, hơi cứng; ống âm đạo gấp khúc kéo dài đến ống dẫn trứng; tuyến noãn hoàng

dày đặc. Haptor dài 75–80 μm , rộng 90–112 μm ; móc bụng dài 33–47 μm , rộng 27–31 μm ; móc lưng dài 40–45 μm , rộng 32–35 μm ; thanh bụng dài 27–30 μm , thanh lưng dài 33–40 μm ; móc rìa dài 11–13 μm .



Hình 3.2A. *Glyphidohaptor* sp.

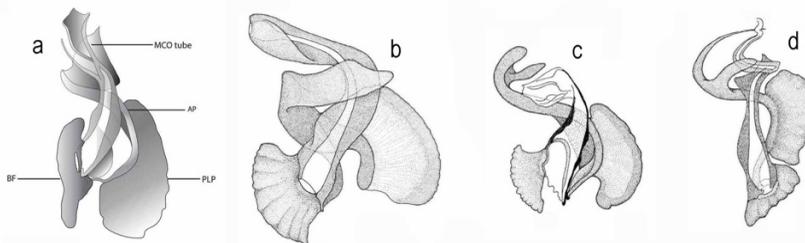
a. Cơ quan sinh dục đực; b. Móc bụng; c. Móc lưng;
d. Thanh bụng; e. Thanh lưng (đơn vị đo μm)

Nhận xét: Giống *Glyphidohaptor* có cơ quan sinh dục đực bao gồm MCO khớp nối ở góc và mảnh phụ. MCO hình ống, có vành gốc, được bao bọc trong lớp vỏ phát triển khác nhau. Mảnh phụ có hình que với phần nhô ra dạng tấm dọc theo nửa gần của thanh. Đến nay đã phát hiện được 4 loài của giống này, gồm *G. sigani* ký sinh ở 4 loài cá Địa thuộc vùng biển Ôxtraylia và cá Địa trơn trong nghiên cứu này; *G. phractophallus* ký sinh ở cá Địa trơn – *S. fuscescens*; *G. plectocirra* ký sinh ở 2 loài *S. luridus* và *S. rivulatus* thuộc vùng biển Ôxtraylia [104] và *G. safiensis* ký sinh ở cá Địa cana – *S. canaliculatus* ở biển Oman [99].

Hình dạng của MCO thay đổi giữa các loài trong giống. Ống MCO của loài *G. safiensis* hơi cong, trong khi ống MCO của *G. phractophallus* cong dạng vòm (chữ U). Phần sau của ống MCO của loài *G. sigani* loe rộng, trong khi ở loài *G. plectocirra* thẳng (Hình 3.2C). Loài *Glyphidohaptor* sp. có ống MCO cong hình chữ V rộng là dạng trung gian của 2 loài *G. safiensis* và *G. phractophallus* nhưng khác ở cấu trúc phần đầu và phần cuối của ống này. Loài *G. phractophallus* có 2 đầu ống dạng chùy, loài *G. safiensis* có phần cuối dạng chùy, phần đầu nhọn, còn loài mới ở Cát Bà có dạng ống đồng đều ở cả phần trước và phần sau (Hình 3.2A).

Phần phụ của *G. safiensis* có hình que và mở rộng và dẹt về phần đầu; ở loài *G. phractophallus*, mảnh phụ phẳng và giống như lưỡi kiếm; *G. sigani*

có mảnh phụ hình que với phần đầu chẻ đôi, trong khi mảnh phụ của *G. plectocirra* nhọn về phần đầu; còn ở mẫu vật Việt Nam, mảnh phụ hình que, không chẻ đôi, không mở rộng hay nhọn ở phần đầu (Hình 3.2C). Các loài *Glyphidohaptor* spp. đều có phần nhô ra dạng tấm nằm dọc theo nửa sau của phần phụ nhưng phần nhô ra dạng tấm của *Glyphidohaptor* sp. lớn nhất và hình đạo (Hình 3.2A).



Hình 3.2C. Cơ quan sinh dục đực của *Glyphidohaptor* spp. [100]
a- *G. saftiensis*; b- *G. phractophallus*; c- *G. sigani*; d- *G. plectocirra*

3.4.2. *Tetrancistrum* sp. (dạng loài mới chưa công bố)

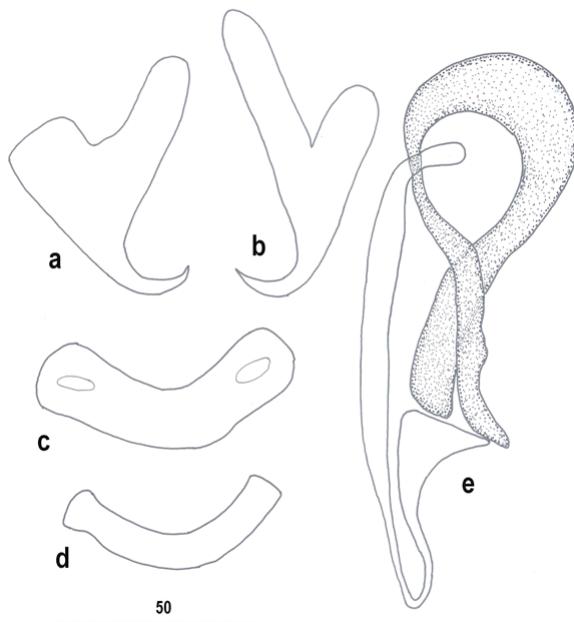
Vật chủ: Cá Dìa trơn (*Siganus fuscescens*)

Nơi ký sinh: Mang

Mô tả (trên 5 mẫu vật; Hình 3.5A)

Thân có dạng lá, phân giữa thân rộng, phần đầu và cuối nhỏ, thuôn nhọn. Chiều dài thân 1507-1876 μm , phần rộng nhất của thân 484-603 μm . Haptor thuôn nhỏ dần về cuối, chiều dài 124-141 μm , rộng 107-138 μm . Thủy đầu phát triển vừa phải, bao gồm nhóm lớn các tuyến đầu hai bên và phía sau hầu. Không có đốm mắt. Hầu kéo dài hình trứng thành hình quả lê. Chiều dài hầu 73-85 μm , chiều rộng 74-85 μm . Tinh hoàn hình cầu, chiều dài 229-288 μm , chiều rộng 175-229 μm . Ống dẫn tinh không quan sát được. Hai ổ tuyến tiền liệt nhỏ.

Cơ quan sinh dục đực bao gồm MCO và phần phụ. MCO hình ống, dạng kèn, hơi cong ở phần trước, phần sau gấp lại chữ J và loe rộng ở mút cuối; ống MCO có đường kính không đồng đều (Hình 3.5A); phần phụ hình que phía bên ngoài MCO. Chiều dài cơ quan sinh dục 120-134 μm . Buồng trứng tương đối lớn, chiều dài 157-206 μm , chiều rộng 92-129 μm . Oötype nhận ống âm đạo và ống dẫn tinh; tử cung dẫn; lỗ âm đạo ở mức độ vừa phải; phía trước và phía sau âm đạo phình ra, phần giữa hơi xơ cứng nhẹ. Ống âm đạo uốn khúc. Tuyến noãn hoàng dày đặc, đổ ra ngoài qua ba cặp ống noãn hoàng ở hai bên, mỗi nhóm gồm ba ống tạo thành ống noãn hoàng chung.



Hình 3.5A. *Tetrancistrum* sp.

a. Móc bụng; b. Móc lưng; c. Thanh bụng;
d. Thanh lưng; e. Cơ quan sinh dục đực

Các cặp móc lưng và bụng điển hình, móc bụng dày hơn, móc lưng mảnh hơn; chân móc phía trong dài hơn phía ngoài. Móc lưng dài 60-65 μm , rộng 36-42 μm . Móc bụng dài 46-54 μm , rộng 38-45 μm . Các thanh lưng và bụng hơi cong, chiều ngang đồng đều, có hình dạng giống nhau, thanh bụng lớn hơn thanh lưng. Thanh bụng dài 55-60 μm . Thanh lưng dài 47-50 μm .

Nhận xét: Giống *Tetrancistrum* Goto & Kikuchi, 1917 hiện có 17 loài được công bố ở vùng biển Ấn Độ - Thái Bình Dương, bao gồm 10 loài ở họ cá Diá (Siganidae), 5 loài ở họ cá Đuôi gai (Acanthuridae) và 2 loài ở họ cá Hồng (Lutjanidae) (theo Kritsky et al. [98]; Al Jufaili & Palm [101]). Các tiêu bản của loài *Tetrancistrum* sp. ký sinh trên cá Diá trơn (*S. fuscescens*) trong nghiên cứu này có cấu trúc cơ quan MCO khác biệt với các loài khác của giống, cả về hình dạng và kích thước nhưng còn thiếu các dẫn liệu hình thái học khác và sinh học phân tử để xác định là một loài mới cho khoa học. Loài mới *Tetrancistrum* sp. có kính thước cơ thể lớn nhất trong số các loài của giống, kể cả loài *T. indicum*; có cấu trúc MCO giống với loài *T. yamagutii* nhất, hình chữ J, loe ở phần cuối, giống kèn saxophone nhưng khác với loài *T. yamagutii* có cấu trúc MCO dạng ống với phần trước thẳng, đường kính

đều, phần sau hơi loe nhẹ và chiều dài nhỏ hơn (trung bình 97 μm) thì các mẫu vật của chúng tôi có kích thước trung bình 112 μm , phần trước hơi cong về mặt bụng và đường kính ống MCO không đều nhau.

KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT Ý KIẾN

Kết luận

1) Về tình hình nhiễm sán lá đơn chủ ở các loài cá biển tại khu vực đảo Cát Bà:

- Đã mổ khám 1.066 cá thể của 82 loài cá biển thuộc 36 họ, 18 bộ và ghi nhận 54,9% (45/82) loài nhiễm sán lá đơn chủ.

- Cường độ nhiễm trung bình SLĐC là 11,2 sán/cá, với mức dao động trong khoảng từ 1-240 sán/cá. Tổng cộng 3260 mẫu SLĐC thu được, gồm 2.792 mẫu bậc thấp và 468 mẫu bậc cao. Cường độ nhiễm trung bình của sán lá bậc thấp là 13,47 sán/cá cao hơn so với SLĐC bậc cao 5,68 sán/cá ($p < 0,01$).

- Yếu tố mùa không ảnh hưởng đến tỷ lệ, cường độ nhiễm SLĐC ở cá biển tự nhiên khu vực đảo Cát Bà.

(2) Về thành phần loài sán lá đơn chủ ở các loài cá biển tại khu vực đảo Cát Bà:

- Đã định loại và sắp xếp theo hệ thống phân loại hiện hành 45 loài sán lá đơn chủ thuộc 29 giống, 13 họ và 2 bộ. Giống *Haliotrema* và *Ligophorus* đa dạng nhất, với số loài ghi nhận lần lượt là 5 và 4.

- Đã mô tả và công bố 1 loài mới cho khoa học (*Heterobothrium phamvanluci* n. sp.), mô tả nhưng chưa công bố 2 loài mới cho khoa học (*Glyphidohaptor* sp., *Tetrancistrum* sp.).

- Bổ sung 9 loài mới cho khu hệ sán lá đơn chủ ở Việt Nam (*Glyphidohaptor sigani*, *Tetrancistrum indicum*, *T. sigani*, *Axine hemirhamphae*, *Neoaxine constricta*, *Microcotyle helotes*, *Polylabris mamaevi*, *Pseudaxine bychowskyi* và *Octoplectanocotyla* sp.), ghi nhận 6 loài vật chủ mới

- Phần lớn các loài (42 loài) sán lá đơn chủ chỉ ký sinh trên một loài vật chủ, chỉ 3 loài ký sinh ở nhiều hơn hai loài vật chủ, đó là các loài *Ligophorus fenestrum*, *L. hamulosus* và *Paradiplectanotrema trachuri*.

Đề xuất ý kiến

1) Hoàn thiện số liệu, dữ liệu về đặc điểm hình thái học và phân tích bổ sung các dẫn liệu sinh học phân tử (nếu cần) để công bố các loài mới cho khoa học trên các tạp chí khoa học chuyên ngành.

2) Điều tra bổ sung để hoàn thiện các dẫn liệu còn thiếu về thành phần loài và mức độ nhiễm sản lá đơn chủ ở các loài cá biển có giá trị kinh tế.

**DANH MỤC CÁC BÀI BÁO ĐÃ XUẤT BẢN
LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN**

- 1) Hoang-Ha Thi Nguyen, Ha Van Nguyen, Hoang Van Hien, Nguyen Ngoc Chinh, Vinh Thi Thanh Truong, Van Van Kim, Truong Dinh Hoai, Phuc Pham Duc, Stephen E. Greiman, Hung Manh Nguyen (2024). Marine fish parasites in the Cat Ba Archipelago, Vietnam: the results of 2010-2023 field surveys. *Systematic Parasitology*, 101: 20. <https://doi.org/10.1007/s11230-023-10145-w>
- 2) Hoang-Ha Thi Nguyen, Ha Van Nguyen, Hung Manh Nguyen (2024). New record and redescription of *Microcotyle helotes* Sandars, 1944 (Monogenea: Microcotylidae) in Viet Nam. *Academia Journal of Biology*, 46(2): 1-6. <https://doi.org/10.15625/2615-9023/19870>
- 3) Van Van Kim, Hoang-Ha Thi Nguyen, Vinh Thi Thanh Truong, Lua Thi Dang, Manh Duc Vu, Nguyen Ngoc Chinh, The Duc Nguyen, Quan Van Nguyen, Hung Manh Nguyen (2025). A new species of *Heterobothrium* (Monogenea: Diclidophoridae) from half-smooth golden pufferfish *Lagocephalus spadiceus* in the Gulf of Tonkin, Vietnam, with an identification key for the genus. *Regional Studies in Marine Science*, 81: 104007. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2024.104007>

