

**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 Thủy Trâm

**NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM BỘ GENE TY THỂ CỦA MỘT SỐ LOÀI LINH
TRƯỜNG Ở TÂY NGUYÊN**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ SINH HỌC ỨNG DỤNG

Hà Nội - 2026

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 Thủy Trâm

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM BỘ GENE TY THỂ CỦA MỘT SỐ LOÀI LINH
TRƯỜNG Ở TÂY NGUYÊN

LUẬN ÁN TIẾN SĨ SINH HỌC ỨNG DỤNG

Ngành: Công nghệ sinh học

Mã số: 9 42 02 01

Xác nhận của Học viện

Khoa học và Công nghệ



Nguyễn Thị Trung

Người hướng dẫn 1

PGS.TS. Lê Thành Long

Người hướng dẫn 2

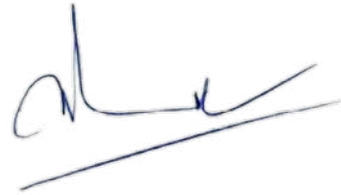
PGS.TS. Thái Kế Quân

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan luận án: “**Nghiên cứu đặc điểm bộ gene ty thể của một số loài Linh trưởng ở Tây Nguyên**” là công trình nghiên cứu của chính mình dưới sự hướng dẫn khoa học của tập thể hướng dẫn. Luận án sử dụng thông tin trích dẫn từ nhiều nguồn tham khảo khác nhau và các thông tin trích dẫn được ghi rõ nguồn gốc. Các kết quả nghiên cứu của tôi được công bố chung với các tác giả khác đã được sự nhất trí của đồng tác giả khi đưa vào luận án. Các số liệu, kết quả được trình bày trong luận án là hoàn toàn trung thực và chưa từng được công bố trong bất kỳ một công trình nào khác ngoài các công trình công bố của tác giả. Luận án được hoàn thành trong thời gian tôi làm nghiên cứu sinh tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Hà Nội, ngày 30 tháng 05 năm 2026

Nghiên cứu sinh



Nguyễn Thị Thủy Trâm

LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành luận án này, tôi đã nhận được rất nhiều sự quan tâm, hỗ trợ và tạo điều kiện từ các thầy cô, cơ quan, đồng nghiệp và gia đình.

Trước hết, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến **PGS.TS. Lê Thành Long** – người thầy đã tận tình hướng dẫn, định hướng khoa học, đồng hành và khích lệ tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu. Tôi cũng xin trân trọng cảm ơn **PGS.TS. Thái Kế Quân** đã luôn quan tâm, hỗ trợ và giúp tôi tháo gỡ những khó khăn chuyên môn trong quá trình thực hiện đề tài.

Tôi xin chân thành cảm ơn **Ban Lãnh đạo Viện Khoa học Sự sống; Phòng Công nghệ sinh học động vật; Ban Lãnh đạo Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Phòng Đào tạo và các phòng chức năng của Học viện** đã tạo điều kiện thuận lợi để tôi tiến hành nghiên cứu và triển khai các thí nghiệm. Tôi cũng xin gửi lời cảm ơn đến các thầy cô, đồng nghiệp và học viên tại Viện Khoa học Sự sống, đặc biệt là cô Thảo, chị Thúy, các bạn Dung, Huy, Cường đã hỗ trợ và đồng hành trong quá trình tôi thực hiện đề tài.

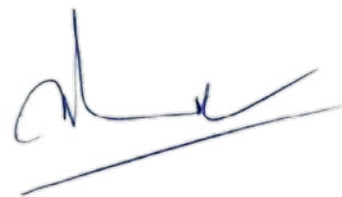
Bên cạnh đó, tôi xin gửi lời tri ân sâu sắc đến gia đình – nguồn động viên tinh thần to lớn để tôi có thể hoàn thành công việc nghiên cứu. Tôi biết ơn ba mẹ, chồng và các con đã luôn thấu hiểu, chia sẻ và là chỗ dựa vững chắc trong suốt quá trình học tập.

Cuối cùng, tôi xin trân trọng cảm ơn tất cả những cá nhân và tập thể mà tôi không thể nêu hết tên trong lời cảm ơn này nhưng đã có những đóng góp quý báu, góp phần giúp tôi hoàn thành luận án.

Xin chân thành cảm ơn!

Hà Nội, ngày 30 tháng 5 năm 2026

Nghiên cứu sinh



Nguyễn Thị Thủy Trâm

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	I
LỜI CẢM ƠN	II
DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT	V
DANH MỤC BẢNG	VI
DANH MỤC HÌNH	VIII
MỞ ĐẦU.....	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN VẤN ĐỀ NGHIÊN CỨU.....	5
1.1. BỐI CẢNH VÀ SỰ CẦN THIẾT CỦA NGHIÊN CỨU BẢO TỒN LINH TRƯỞNG	5
1.1.1. Tầm quan trọng của linh trưởng và tình trạng đe dọa toàn cầu.....	5
1.1.2. Vị thế của Việt Nam trong khủng hoảng bảo tồn linh trưởng	8
1.2. VAI TRÒ CỦA ADN TY THỂ TRONG NGHIÊN CỨU PHÁT SINH LOÀI	9
1.2.1. Đặc điểm cấu trúc và di truyền của hệ gene ty thể.....	9
1.2.2. Ứng dụng của ADN ty thể trong nghiên cứu linh trưởng	10
1.3. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU ADN TY THỂ TRÊN LINH TRƯỞNG TRONG VÀ	
NGOÀI NƯỚC	11
1.3.1. Tổng quan nghiên cứu ADN ty thể linh trưởng ở Việt Nam.....	11
1.3.2. Tổng quan nghiên cứu ADN ty thể linh trưởng ở trên thế giới.....	16
1.4. MỤC TIÊU NGHIÊN CỨU	24
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	26
2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU	26
2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	26
2.2.1. Tách chiết ADN và giải trình tự	26
2.2.2. Phương pháp lắp ráp hệ gene ty thể	28
2.2.3. Phân tích tin sinh học	29
2.2.4. Cây phát sinh loài	31
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	32
3.1. KẾT QUẢ GIẢI TRÌNH TỰ GENE	32
3.1.1. Kết quả chuẩn bị thư viện trình tự toàn bộ hệ gene linh trưởng.....	32
3.1.2. Kết quả giải trình tự toàn bộ hệ gene linh trưởng	33
3.2. ĐẶC ĐIỂM HỆ GENE TY THỂ HOÀN CHỈNH CỦA MỘT SỐ CÁ THỂ LINH TRƯỞNG	
.....	37
3.2.1 Đặc điểm hệ gene ty thể hoàn chỉnh của cá thể <i>Chà và chân xám</i>	
(<i>Pygathrix cinerea</i>) Tây Nguyên Việt Nam	37
3.2.1.1. Thành phần nucleotide	39
3.2.1.2. Các gene mã hóa Protein.....	41
3.2.1.3. Vùng giàu A + T	43
3.2.1.4. <i>tRNA</i> và <i>rRNA</i>	43
3.2.1.5. Vùng lặp và vùng liên gene.....	45
3.2.1.6. Cây phân loài của <i>Chà và chân xám</i> Tây Nguyên Việt Nam	47
3.2.1.7. Thảo luận.....	49

3.2.2. Đặc điểm hệ gene ty thể hoàn chỉnh của cá thể <i>Khỉ mặt đỏ</i> (<i>Macaca arctoides</i>) Tây Nguyên Việt Nam	51
3.2.2.1. Thành phần nucleotide	53
3.2.2.2. Các gene mã hóa Protein	57
3.2.2.3. Vùng giàu A + T	59
3.2.2.4. <i>tRNA</i> và <i>rRNA</i>	59
3.2.2.5. Vùng lặp và vùng liên gene	61
3.2.2.6. Thảo luận	63
3.2.3. Đặc điểm hệ gene ty thể hoàn chỉnh của cá thể <i>Chà và chân nâu</i> (<i>Pygathrix nemaeus</i>) Tây Nguyên Việt Nam	64
3.2.3.2. Các gene mã hóa Protein	69
3.2.3.3. Vùng giàu A + T	71
3.2.3.4. <i>tRNA</i> và <i>rRNA</i>	71
3.2.3.5. Vùng lặp và vùng liên gene	74
3.2.3.6. Thảo luận	74
3.2.4. Đặc điểm hệ gene ty thể hoàn chỉnh của cá thể <i>Chà và chân đen</i> (<i>Pygathrix nigripes</i>) Tây Nguyên Việt Nam	76
3.2.4.1. Thành phần nucleotide	78
3.2.4.2. Các gene mã hóa Protein	79
3.2.4.3. Vùng giàu A + T	82
3.2.4.4. Thành phần acid amin	82
3.2.4.5. Vùng lặp và vùng liên gene	84
3.2.4.6. Thảo luận	85
3.2.5. Đặc điểm hệ gene ty thể hoàn chỉnh của cá thể <i>Khỉ vàng</i> (<i>Macaca mulatta</i>) Tây Nguyên Việt Nam	87
3.2.5.1. Thành phần nucleotide	90
3.2.5.2. Các gene mã hóa Protein	93
3.2.5.4. <i>tRNA</i> và <i>rRNA</i>	95
3.2.5.5. Vùng lặp và vùng liên gene	97
3.2.5.6. Cây phân loài của <i>Khỉ vàng</i> với các loài linh trưởng khác	98
3.2.5.7. Thảo luận	99
3.3. PHÂN TÍCH SAI KHÁC TRÌNH TỰ TY THỂ PHỤC VỤ NGHIÊN CỨU PHÁT SINH LOÀI	100
3.3.1. Phân tích sai khác trình tự gene <i>16S rRNA</i> và mối quan hệ phát sinh loài của các cá thể linh trưởng khu vực Tây Nguyên Việt Nam	101
3.3.2. Phân tích sai khác trình tự gene <i>cytb</i> và mối quan hệ phát sinh loài của các cá thể linh trưởng khu vực Tây Nguyên Việt Nam	109
3.3.3. Phân tích sai khác trình tự gene <i>D-loop</i> và mối quan hệ phát sinh loài của các cá thể linh trưởng khu vực Tây Nguyên Việt Nam	115
3.3.4. Mối quan hệ phát sinh loài của một số cá thể linh trưởng khu vực Tây Nguyên Việt Nam	118
3.3.5. Thảo luận	120
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	122
KẾT LUẬN	122
KIẾN NGHỊ	122

DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT

Allopatric speciation: sự phân hóa địa lý

AT-skew: mức độ mất cân bằng giữa adenine (A) và thymine (T) trong một trình tự DNA

Cytochrome b: *Cytb*

D-loop : Displacement loop, vùng kiểm soát (Control Region, CR),

GC-skew: mức độ mất cân bằng giữa guanine (G) và thymine (T) trong một trình tự DNA

PCG: Protein Coding Gene, vùng gene mã hóa protein

P. cinerea : *Pygathrix cinerea*

Phylogenetics: phát sinh loài

Phylogenetic Tree: cây phát sinh loài

P. nemaesus : *Pygathrix nemaesus*

P. nigripes : *Pygathrix nigripes*

M. arctoides : *Macaca arctoides*

Mitogenome: hệ gene ty thể

Marker: chỉ thị

tRNA: transfer RNA – RNA vận chuyển

12S rRNA: RNA ribosome *12S*

16S rRNA: RNA ribosome *16S*

DANH MỤC BẢNG

Bảng 3. 1. Nồng độ các mẫu ADN của linh trưởng sau tách chiết.	32
Bảng 3. 2. Kết quả chuẩn bị thư viện trình tự toàn bộ hệ gene linh trưởng (Whole genome sequencing).	33
Bảng 3. 3. Vị trí và độ dài của 37 gene trong hệ gene ty thể hoàn chỉnh của cá thể <i>Chà và chân xám</i> Tây Nguyên Việt Nam	37
Bảng 3. 4. Các chỉ số thành phần nucleotide trong các vùng khác nhau của 22 gene ty thể đại diện cho loài linh trưởng.	40
Bảng 3. 5. Giá trị GC-skew và AT-skew trong các gene mã hóa protein (PCGs).	42
Bảng 3. 6. Các vị trí bắt cặp không khớp của <i>t-RNAs</i> . AA—amino acid acceptor, T-arm, AC—anticodon.	44
Bảng 3.7. Vị trí và độ dài của 37 gene trong hệ gene ty thể hoàn chỉnh của cá thể <i>Khỉ mặt đỏ</i> Tây Nguyên Việt Nam	51
Bảng 3. 8. Các chỉ số thành phần nucleotide trong các vùng khác nhau của 23 gene ty thể đại diện cho loài linh trưởng.	56
Bảng 3. 9. Giá trị GC-skew và AT-skew trong các gene mã hóa protein (PCGs).	58
Bảng 3. 10. Các cặp base không bắt cặp của <i>t-RNAs</i> . AA—amino acid acceptor, T-arm, AC—anticodon.	61
Bảng 3. 11. Vị trí và độ dài của 37 gene trong hệ gene ty thể hoàn chỉnh của cá thể <i>Chà và chân nâu</i> Tây Nguyên Việt Nam	64
Bảng 3. 12. Các chỉ số thành phần nucleotide trong các vùng khác nhau của 23 gene ty thể đại diện cho loài linh trưởng.	67
Bảng 3. 13. Giá trị GC-skew và AT-skew trong các gene mã hóa protein (PCGs).	70
Bảng 3. 14. Các cặp base không khớp của <i>t-RNAs</i> . AA—amino acid acceptor, T-arm, AC—anticodon.	72
Bảng 3. 15. Cấu trúc và đặc trưng của hệ gene ty thể hoàn chỉnh của <i>Chà và chân đen</i>	76
Bảng 3. 16. Thành phần nucleotide của 13 gene mã hóa protein trong hệ gene ty thể của <i>Chà và chân đen</i>	79
Bảng 3. 17. AT-skew, và GC-skew của <i>Chà và chân đen</i> Tây Nguyên Việt Nam.	81
Bảng 3. 18. Tỷ lệ phần trăm của thành phần axit amin trong toàn bộ hệ gene ty thể của các cá thể <i>chà và: Chà và chân đen</i> Tây Nguyên Việt Nam, <i>Chà và chân đen</i> Trung Quốc, và <i>Chà và chân nâu</i> Trung Quốc.	83
Bảng 3. 19. Hệ gene ty thể hoàn chỉnh của <i>Khỉ vàng</i> chứa 37 gene, chi tiết về vị trí và chiều dài của chúng.	87
Bảng 3. 20. Tỷ lệ % AT trên các đoạn gene của các loài linh trưởng.	88
Bảng 3. 21. Thành phần các nucleotide giữa các loài linh trưởng.	90
Bảng 3. 22. Các cặp base không khớp được tìm thấy trong các gene <i>tRNA</i> của <i>Khỉ vàng</i> Việt Nam.	95
Bảng 3. 23. Các vị trí khác biệt trên trình tự gene <i>16S rRNA</i> của cá thể <i>Chà và chân đen</i> Tây Nguyên Việt Nam và cá thể <i>Chà và chân đen</i> khác.	101
Bảng 3. 24. Các vị trí khác biệt trên trình tự gene <i>16S rRNA</i> của cá thể <i>Chà và chân nâu</i> Tây Nguyên Việt Nam và cá thể <i>Chà và chân nâu</i> khác	102
Bảng 3. 25. Các vị trí khác biệt trên trình tự gene <i>16S</i> của cá thể <i>Chà và chân xám</i> Tây Nguyên Việt Nam và cá thể <i>Chà và chân xám</i> khác	103
Bảng 3. 26. Các vị trí khác biệt trên trình tự gene <i>16S</i> của cá thể <i>Khỉ mặt đỏ</i> Tây Nguyên Việt Nam và cá thể <i>Khỉ mặt đỏ</i> khác	104

Bảng 3. 27. Các vị trí khác biệt trên trình tự gene <i>16S</i> của cá thể <i>Khi vàng</i> Tây Nguyên Việt Nam và cá thể <i>Khi vàng</i> khác	106
Bảng 3. 28. Các vị trí khác biệt trên trình tự gene <i>cytb</i> của cá thể <i>Chà vá chân đen</i> Tây Nguyên Việt Nam và cá thể <i>Chà vá chân đen</i> khác	109
Bảng 3. 29. Các vị trí khác biệt trên trình tự gene <i>cytb</i> của cá thể <i>Chà vá chân nâu</i> Tây Nguyên Việt Nam và cá thể <i>Chà vá chân nâu</i> khác	110
Bảng 3. 30. Các vị trí khác biệt trên trình tự gene <i>cytb</i> của cá thể <i>Chà vá chân xám</i> Tây Nguyên Việt Nam và cá thể <i>Chà vá chân xám</i> khác	111
Bảng 3. 31. Các vị trí khác biệt trên trình tự gene <i>cytb</i> của cá thể <i>Khi mặt đỏ</i> Tây Nguyên Việt Nam và cá thể <i>Khi mặt đỏ</i> khác	111
Bảng 3. 32. Các vị trí khác biệt trên trình tự gene <i>cytb</i> của cá thể <i>Khi vàng</i> Tây Nguyên Việt Nam và cá thể <i>Khi vàng</i> khác	112
Bảng 3. 33. Các vị trí khác biệt trên trình tự gene <i>D-loop</i> của cá thể <i>Chà vá chân xám</i> Tây Nguyên Việt Nam và cá thể <i>Chà vá chân xám</i> khác	115

DANH MỤC HÌNH

Hình 1. 1. Sự phân bố của các loài linh trưởng trên thế giới. Nguồn tham khảo từ <i>IUCN red list</i> và Estrada [1].	5
Hình 1. 2. Sự phân bố của các loài linh trưởng trên thế giới với tỉ lệ % các loài đang giảm và bị đe dọa.	8
Hình 1. 3. Sự khác nhau trên trình tự <i>cytochrome b</i> giữa các loài linh trưởng ở các khu vực Châu Á (có cả Việt Nam) và cây phát sinh loài dựa vào sự khác biệt trình tự này. (Zhang và cs, 1998)	19
Hình 1. 4. ADN ty thể của <i>chà vá</i>	24
Hình 2. Loài thú linh trưởng được lưu trữ trong bảo tàng	18
Hình 3. 1. Kết quả chạy PCR các mẫu linh trưởng; S001: <i>Chà vá chân xám</i> ; S002: <i>Khỉ mặt đỏ</i> ; S004: <i>Chà vá chân nâu</i> ; S006: <i>Chà vá chân đen</i> .	33
Hình 3. 2. Cấu trúc gene ty thể hoàn chỉnh của <i>Chà vá chân xám</i> Tây Nguyên Việt Nam.	34
Hình 3. 3. Cấu trúc gene ty thể hoàn chỉnh của <i>Chà vá chân đen</i> Tây Nguyên Việt Nam.	35
Hình 3. 4. Cấu trúc gene ty thể hoàn chỉnh của <i>Khỉ vàng</i> Tây Nguyên Việt Nam.	35
Hình 3. 5. Cấu trúc gene ty thể hoàn chỉnh của <i>Chà vá chân nâu</i> Tây Nguyên Việt Nam.	36
Hình 3. 6. Cấu trúc gene ty thể hoàn chỉnh của <i>Khỉ mặt đỏ</i> Tây Nguyên Việt Nam.	36
Hình 3. 7. Mức sử dụng codon đồng nghĩa tương đối (Relative Synonymous Codon Usage - RSCU) của các gene mã hóa protein trong ty thể <i>Chà vá chân xám</i> .	39
Hình 3. 8. Tần suất phần trăm thành phần axit amin trong toàn bộ hệ gene ty thể của các cá thể <i>chà vá</i> : <i>Chà vá chân xám</i> PP_623106, <i>Chà vá chân xám</i> JQ_821842, và <i>Chà vá chân đen</i> MH_064177.	40
Hình 3. 9. AT-skew và GC-skew trong 13 gene mã hóa protein gene ty thể <i>Chà vá chân xám</i> PP_623106.	42
Hình 3. 10. Cấu trúc thứ cấp của 22 gene <i>tRNA</i> của <i>Chà vá chân xám</i> Tây Nguyên Việt Nam. Màu đỏ đại diện cho các kết nối GC, trong khi màu xanh dương đại diện cho các kết nối AU.	46
Hình 3. 11. Cây phát sinh loài Maximum Likelihood của 55 hệ gene ty thể linh trưởng. PP623106 <i>Chà vá chân xám</i> màu xanh là <i>Chà vá chân xám</i> Tây Nguyên Việt Nam.	48
Hình 3. 12. Mức sử dụng codon đồng nghĩa tương đối (Relative Synonymous Codon Usage - RSCU) của các gene mã hóa protein trong ty thể <i>Khỉ mặt đỏ</i> .	54
Hình 3. 13. Tần suất phần trăm thành phần axit amin trong hệ gene ty thể của các cá thể <i>khỉ</i> : <i>Khỉ mặt đỏ</i> Tây Nguyên Việt Nam, <i>Khỉ mặt đỏ</i> Trung Quốc (KM_360179) và <i>khỉ đuôi lợn</i> Trung Quốc (KP_330231).	55
Hình 3. 14. AT-skew và GC-skew trong 13 gene mã hóa protein gene ty thể <i>Khỉ mặt đỏ</i> .	58
Hình 3. 15. Cấu trúc thứ cấp của 22 gene <i>tRNA</i> của <i>Khỉ mặt đỏ</i> Tây Nguyên Việt Nam. Màu đỏ đại diện cho các kết nối GC, trong khi màu xanh dương đại diện cho các kết nối AU.	62
Hình 3. 16. Mức sử dụng codon đồng nghĩa tương đối (Relative Synonymous Codon Usage - RSCU) của các gene mã hóa protein trong ty thể <i>Chà vá chân nâu</i> .	67
Hình 3. 17. Tần suất phần trăm thành phần axit amin trong toàn bộ hệ gene ty thể của các cá thể <i>chà vá</i> : <i>Chà vá chân nâu</i> Tây Nguyên Việt Nam, <i>Chà vá chân nâu</i> Trung Quốc, và <i>Chà vá chân đen</i> Trung Quốc	67

Hình 3. 18. AT-skew và GC-skew trong 13 gene mã hóa protein gene ty thể <i>Chà và chân nâu</i>	70
Hình 3. 19. Cấu trúc thứ cấp của 22 gene <i>tRNA</i> của <i>Chà và chân nâu</i> Tây Nguyên Việt Nam. Màu đỏ đại diện cho các kết nối GC, trong khi màu xanh dương đại diện cho các kết nối AU.	73
Hình 3. 20. AT-skew và GC- skew trên 13 gene mã hóa protein của hệ gene ty thể <i>Chà và chân đen</i> Tây Nguyên Việt Nam.	80
Hình 3. 21. Thành phần axit amin và tỷ lệ tương đối (%) của chúng trong hệ gene ty thể hoàn chỉnh của <i>Chà và chân đen</i> Tây Nguyên Việt Nam; <i>Chà và chân đen</i> Trung Quốc và <i>Chà và chân nâu</i> Trung Quốc.	83
Hình 3. 22. Sử Dụng Codon Đồng Nghĩa Tương Đối (RSCU) của các gene mã hóa protein ty thể trong <i>Khỉ vàng</i> Việt Nam.	92
Hình 3. 23. Tỷ lệ phần trăm tần suất thành phần axit amin trong toàn bộ hệ gene ty thể của các cá thể khỉ của chi <i>macaca</i> : <i>Khỉ vàng</i> Việt Nam; <i>Khỉ vàng</i> Myanmar; <i>Khỉ vàng</i> Trung Quốc.	93
Hình 3. 24. Giá trị AT- và GC-skew của 13 gene mã hóa protein trong hệ gene ty thể của <i>Khỉ vàng</i> Tây Nguyên Việt Nam.	94
Hình 3. 25. Cấu trúc thứ cấp của 22 gene <i>tRNA</i> của <i>Khỉ vàng</i> Việt Nam. Màu đỏ là kết nối GC, màu xanh là kết nối AU.	96
Hình 3. 26. Cây phát sinh loài của <i>Khỉ vàng</i> với các loài linh trưởng khác.	98
Hình 3. 27. Cây phát sinh loài linh trưởng Tây Nguyên từ trình tự <i>16S rRNA</i>	107
Hình 3. 28. Cây phát sinh loài linh trưởng Tây Nguyên từ trình tự gene <i>cytochrome b</i>	114
Hình 3. 29. Cây phát sinh loài linh trưởng Tây Nguyên từ trình tự gene <i>D-loop</i>	117
Hình 3. 30. Cây phát sinh loài linh trưởng Tây Nguyên từ trình tự của toàn hệ gene ty thể.	119

MỞ ĐẦU

Linh trưởng (Primates) là nhóm động vật có vú có mối quan hệ tiến hóa gần gũi với con người và đóng vai trò đặc biệt quan trọng trong các nghiên cứu về sinh học tiến hóa, sinh thái học, y sinh học và bảo tồn đa dạng sinh học. Bên cạnh giá trị khoa học, linh trưởng còn giữ vai trò then chốt trong hệ sinh thái rừng nhiệt đới, đặc biệt với chức năng phát tán hạt giống và duy trì cấu trúc quần xã thực vật. Do đó, sự suy giảm quần thể linh trưởng không chỉ ảnh hưởng đến bản thân các loài mà còn gây ra những hệ lụy nghiêm trọng đối với tính ổn định và khả năng phục hồi của hệ sinh thái.

Hiện nay, trên thế giới đã có hàng trăm hệ gene ty thể hoàn chỉnh của các loài linh trưởng được công bố và lưu trữ trên các cơ sở dữ liệu quốc tế như GenBank, đại diện cho phần lớn các họ và chi linh trưởng. Các dự án hệ gene quy mô lớn đã công bố dữ liệu hệ gene của hơn 200 loài linh trưởng nhằm nghiên cứu tiến hóa và đa dạng di truyền ở cấp độ toàn cầu (1).

Tuy nhiên, đối với linh trưởng Việt Nam, dữ liệu hệ gene ty thể hoàn chỉnh vẫn còn rất hạn chế. Việt Nam được ghi nhận là một trong những quốc gia có mức độ đa dạng loài linh trưởng cao trong khu vực Đông Nam Á, với khoảng 24–27 loài và phân loài thuộc ba họ chính, trong đó nhiều loài là đặc hữu và đang ở tình trạng nguy cấp hoặc cực kỳ nguy cấp theo phân loại của IUCN (2–4). Khu vực Tây Nguyên là một trong những vùng phân bố quan trọng của nhiều loài linh trưởng quý hiếm như *Chà vá chân xám* (*Pygathrix cinerea*), *Chà vá chân nâu* (*Pygathrix nemaeus*), *Chà vá chân đen* (*Pygathrix nigripes*), *Khỉ mặt đỏ* (*Macaca arctoides*) và *Khỉ vàng* (*Macaca mulatta*). Mặc dù vậy, số lượng hệ gene ty thể hoàn chỉnh được công bố cho các loài linh trưởng có nguồn gốc từ Việt Nam vẫn còn rất ít; nhiều loài linh trưởng tại Việt Nam chỉ được nghiên cứu thông qua một số marker ty thể riêng lẻ như *cytochrome b*, *16S rRNA* hoặc *D-loop*. Do sự thiếu hụt dữ liệu này, việc so sánh di truyền giữa các quần thể linh trưởng Việt Nam với các quần thể cùng loài ở các khu vực khác trong khu vực Đông Nam Á và trên thế giới còn gặp nhiều hạn chế. Điều này cũng làm giảm độ tin cậy của các phân tích phát sinh loài, đặc biệt trong việc xác định mối quan hệ tiến hóa giữa các loài hoặc đánh giá sự phân hóa di truyền giữa các quần thể địa lý.

Trong nhiều thập kỷ qua, các quần thể linh trưởng tại Tây Nguyên đang chịu sức ép ngày càng gia tăng do mất sinh cảnh, phân mảnh môi trường sống, săn bắt và buôn bán trái phép, cũng như tác động của biến đổi khí hậu. Trong bối cảnh đó, việc

nghiên cứu đặc điểm di truyền và mối quan hệ phát sinh loài của các loài linh trưởng có ý nghĩa đặc biệt quan trọng, không chỉ giúp làm rõ nguồn gốc tiến hóa và vị trí phân loại của các loài mà còn cung cấp cơ sở khoa học cho công tác bảo tồn. Trên thế giới, ADN ty thể đã được sử dụng rộng rãi như một công cụ hiệu quả trong nghiên cứu phát sinh loài nhờ các đặc điểm như di truyền theo dòng mẹ, không tái tổ hợp, tốc độ tiến hóa tương đối cao và kích thước hệ gene nhỏ. Các marker ty thể như *cytochrome b*, *16S rRNA* và vùng kiểm soát (*D-loop*), cũng như dữ liệu toàn bộ hệ gene ty thể (mitogenome), đã chứng minh khả năng phân giải tốt các mối quan hệ tiến hóa giữa các loài linh trưởng.

Mặc dù vậy, tại Việt Nam, các nghiên cứu di truyền linh trưởng vẫn còn hạn chế và phần lớn tập trung vào các đoạn gene đơn lẻ, với số lượng dữ liệu ADN ty thể hoàn chỉnh còn rất ít. Đặc biệt, đối với khu vực Tây Nguyên, cho đến nay vẫn thiếu các dữ liệu hệ thống về hệ gene ty thể hoàn chỉnh của các loài linh trưởng có nguồn gốc địa lý xác định. Khoảng trống dữ liệu này gây khó khăn cho việc so sánh tiến hóa, đánh giá quan hệ phát sinh loài cũng như đối chiếu các quần thể linh trưởng Việt Nam với các quần thể cùng loài đã được công bố trên thế giới.

Xuất phát từ thực tiễn đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm giải trình tự và phân tích hệ gene ty thể hoàn chỉnh của một số loài linh trưởng phân bố tại khu vực Tây Nguyên Việt Nam. Nghiên cứu tập trung vào việc mô tả đặc điểm cấu trúc, thành phần và tổ chức của hệ gene ty thể, so sánh sai khác trình tự với các dữ liệu đã công bố, đồng thời tái dựng mối quan hệ phát sinh loài của các loài nghiên cứu trong bối cảnh so sánh liên loài. Cách tiếp cận này không nhằm đánh giá đa dạng di truyền ở mức quần thể mà tập trung vào phân tích di truyền ở mức cá thể đại diện, phục vụ cho mục tiêu phát sinh loài và so sánh tiến hóa.

Việc bổ sung dữ liệu hệ gene ty thể hoàn chỉnh của các loài linh trưởng phân bố tại khu vực Tây Nguyên có ý nghĩa quan trọng. Dữ liệu này góp phần nâng cao độ phân giải của các phân tích phát sinh loài và bổ sung nguồn thông tin di truyền còn hạn chế của linh trưởng Việt Nam.

Kết quả của luận án cung cấp thêm dữ liệu ADN ty thể cho các loài linh trưởng Tây Nguyên, qua đó góp phần hoàn thiện cơ sở dữ liệu di truyền của linh trưởng Việt Nam. Đồng thời, các kết quả này tạo cơ sở khoa học cho các nghiên cứu về tiến hóa và hỗ trợ công tác bảo tồn các loài linh trưởng đang bị đe dọa.

Mục tiêu nghiên cứu

Mục tiêu tổng quát

Nghiên cứu này nhằm giải trình tự và phân tích đặc điểm hệ gene ty thể hoàn chỉnh của một số loài linh trưởng phân bố tại khu vực Tây Nguyên Việt Nam, qua đó so sánh sai khác trình tự di truyền và xác định mối quan hệ phát sinh loài của các loài nghiên cứu trong bối cảnh so sánh với các dữ liệu đã công bố trên thế giới.

Mục tiêu cụ thể

Phân tích đặc điểm cấu trúc, thành phần nucleotide và tổ chức gene của hệ gene ty thể hoàn chỉnh ở một số loài linh trưởng Tây Nguyên Việt Nam.

So sánh sai khác trình tự di truyền ty thể giữa các cá thể nghiên cứu và các trình tự tương đồng đã được công bố, phục vụ cho việc đánh giá quan hệ phát sinh loài.

Tái dựng cây phát sinh loài dựa trên các marker ty thể và toàn bộ hệ gene ty thể nhằm làm rõ vị trí phân loại và quan hệ tiến hóa của các loài linh trưởng nghiên cứu.

Câu hỏi nghiên cứu

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm trả lời các câu hỏi khoa học sau:

Hệ gene ty thể hoàn chỉnh của các loài linh trưởng phân bố tại Tây Nguyên Việt Nam có đặc điểm cấu trúc và tổ chức gene như thế nào?

Các trình tự gene ty thể của các cá thể linh trưởng Tây Nguyên khác biệt ở mức độ nào so với các trình tự đã được công bố trên cơ sở dữ liệu quốc tế?

Các marker ty thể (*16S rRNA*, *cytochrome b*, *D-loop*) và dữ liệu toàn bộ hệ gene ty thể có cho kết quả nhất quán trong việc xác định mối quan hệ phát sinh loài hay không?

Nội dung nghiên cứu

Thu thập mẫu và tiến hành tách chiết ADN, xây dựng thư viện và giải trình tự thể hệ mới nhằm thu nhận dữ liệu hệ gene ty thể hoàn chỉnh của một số loài linh trưởng Tây Nguyên Việt Nam.

Lắp ráp, chú giải và phân tích đặc điểm cấu trúc hệ gene ty thể, bao gồm thành phần nucleotide, các gene mã hóa protein, gene *tRNA*, *rRNA*, vùng giàu A+T và các vùng lặp – liên gene.

Phân tích và so sánh sai khác trình tự di truyền ty thể giữa các cá thể nghiên cứu với các trình tự đã công bố trên cơ sở dữ liệu quốc tế.

Xây dựng và phân tích cây phát sinh loài dựa trên các vùng gene ty thể (*16S rRNA*, *cytochrome b*, *D-loop*) và toàn bộ hệ gene ty thể nhằm làm rõ mối quan hệ tiến hóa của các loài linh trưởng nghiên cứu.

Những đóng góp mới của luận án

Luận án đã cung cấp dữ liệu hệ gene ty thể hoàn chỉnh của một số loài linh trưởng phân bố tại khu vực Tây Nguyên Việt Nam, góp phần bổ sung cơ sở dữ liệu hệ gene ty thể của linh trưởng Việt Nam.

Làm rõ đặc điểm cấu trúc và tổ chức hệ gene ty thể của các loài linh trưởng nghiên cứu.

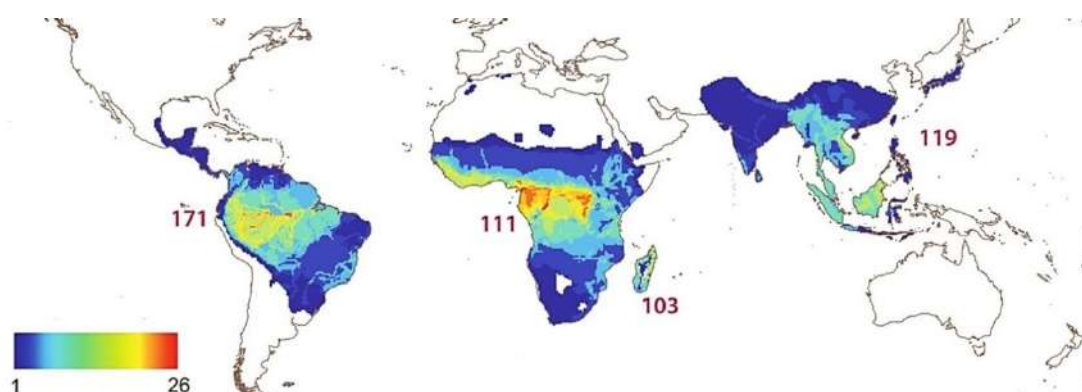
Xác định và củng cố mối quan hệ phát sinh loài của các loài linh trưởng Tây Nguyên Việt Nam trong bối cảnh so sánh với các loài cùng chi và cùng họ đã được công bố trên thế giới, cung cấp luận cứ khoa học phục vụ nghiên cứu tiến hóa và bảo tồn.

Chương 1. TỔNG QUAN VẤN ĐỀ NGHIÊN CỨU

1.1. Bối cảnh và sự cần thiết của nghiên cứu bảo tồn linh trưởng

1.1.1. Tầm quan trọng của linh trưởng và tình trạng đe dọa toàn cầu

Bộ linh trưởng (Primates) là một nhóm sinh vật đóng vai trò không thể thay thế trong hệ sinh thái toàn cầu, đóng vai trò trong việc duy trì đa dạng sinh học rừng nhiệt đới. Trên thế giới có khoảng 504 loài từ 79 chi và 16 họ (5) với trọng lượng từ 30g đến 200kg. Phần lớn các loài linh trưởng sống trong các khu rừng đất ẩm nhiệt đới, nhưng chúng cũng xuất hiện trong các khu vực rừng khô nhiệt đới, thảm thực vật ngập mặn trên mực nước triều cao, rừng ẩm trên núi, độ cao từ 1000m-4000m, rừng ôn đới lá rộng và lá rộng rụng lá, savan, đồng cỏ, đất ngập nước nội địa, vùng đá, và thậm chí cả sa mạc. Sự phân bố của linh trưởng trên thế giới tập trung ở 4 khu vực (Hình 1. 1) bao gồm: Châu Á (119 loài), Châu Phi (111 loài), Neotropics (Nam Mỹ) (171 loài), Madagascar (103 loài) và xuất hiện tự nhiên ở khoảng 90 quốc gia. 2/3 số loài linh trưởng tập trung ở 4 nước: Brazil, Madagascar, Indonesia và Công Gô.



Hình 1. 1. Sự phân bố của các loài linh trưởng trên thế giới. Nguồn tham khảo từ *IUCN red list* và Estrada (5).

Những biến động của linh trưởng cũng sẽ trực tiếp hoặc gián tiếp ảnh hưởng đến cấu trúc, chức năng và khả năng phục hồi của hệ sinh thái. Sự tiến hóa, sự phân bố địa lý của chúng cũng liên quan chặt chẽ đến sự đa dạng hóa của thực vật hạt kín. Nhiều loài linh trưởng đã được xác định hoặc nghi ngờ là loài thụ phấn quan trọng do chúng ăn các bộ phận của thực vật như hoa, mật hoa và một số loài ăn trái cây và hạt, cho phép chúng phân tán các hạt lớn và nhỏ trong khoảng cách xa, tăng cường khả năng tái sinh rừng. Vượn cáo là 1 loài linh trưởng sinh sống ở Madagascar có mối quan hệ phức tạp với những cây sinh hạt lớn ở khu vực chúng sinh sống và sự tuyệt chủng của loài vượn cáo này là nguyên nhân trực tiếp hoặc gián tiếp đã làm cho một số loài cây Malagasy suy giảm khả năng tồn tại (6). Ở Thái Lan, hạt của loài cây

Lapsi (*Choerospondias axillaris*) được phân tán nhờ loài vượn ở trong khu vực này, tuy nhiên việc săn bắn vượn đã ảnh hưởng tiêu cực đến sự tăng sinh của loài cây này. Sự biến mất của quần thể vượn *Atelidae* và *Cebidae* ở rừng rậm Amazon do bị săn bắn cũng đã làm suy giảm nghiêm trọng nhiều loài cây gỗ cứng, loài cây có ý nghĩa đối với tiềm năng lưu trữ carbon của rừng. Trường hợp không có sự phát tán của hạt giống hợp tử bởi các cây nguyên sinh, các quần thể thực vật có thể bị giảm tính di hợp tử di truyền và gia tăng sự phân hóa di truyền dưới quần thể, tăng sự phụ thuộc vào mật độ âm và giảm khả năng chọn lọc tự nhiên. Vì vậy, gián tiếp việc mất đi linh trưởng, động vật phát tán hạt giống, sẽ tác động nghiêm trọng đến con người. Với vai trò là những loài phát tán hạt giống quan trọng và là mắt xích trung tâm trong chuỗi thức ăn, sự suy giảm của quần thể linh trưởng có thể dẫn đến hiệu ứng domino, làm suy thoái cấu trúc và chức năng của hệ sinh thái mà chúng cư trú (5).

Về mặt tiến hóa, linh trưởng là nhóm có mối quan hệ tiến hóa gần gũi với con người, cung cấp những hiểu biết vô giá về lịch sử phát triển, hành vi xã hội, và các quá trình sinh học phức tạp của loài người (7). Các quần thể linh trưởng hoang dã cũng có thể nắm giữ những manh mối có giá trị về nguồn gốc và sự tiến hóa của các mầm bệnh quan trọng và các quá trình lây truyền bệnh tật tự nhiên, do đó mang lại rất nhiều lợi ích cho con người (8). Các mô hình động vật linh trưởng đã nâng cao hiểu biết của chúng ta rất nhiều về những căn bệnh trên con người. Các chứng bệnh như xơ vữa động mạch, bệnh hô hấp, HIV/AIDS, hay những rối loạn về sức khỏe tâm thần như bệnh lý tâm thần, phản ứng điều trị với thuốc kích thích thần kinh, chức năng não, hay những căn bệnh có liên quan đến miễn dịch học, di truyền và gene, điều hòa nội tiết sinh sản, động lực của ký sinh trùng trên con người đã được nghiên cứu rất nhiều từ mô hình thí nghiệm linh trưởng (9). Khi các loài linh trưởng trở nên quý hiếm hoặc tuyệt chủng tại địa phương, chúng ta có nguy cơ mất đi các mối quan hệ sinh thái, xã hội và văn hóa phức tạp đã phát triển giữa con người và các loài linh trưởng trong nhiều thiên niên kỷ. Vì vậy, việc nghiên cứu và bảo tồn Linh trưởng không chỉ là trách nhiệm sinh thái mà còn là một nhiệm vụ nhân văn, nhằm bảo vệ nguồn gene và di sản tiến hóa chung của Trái Đất.

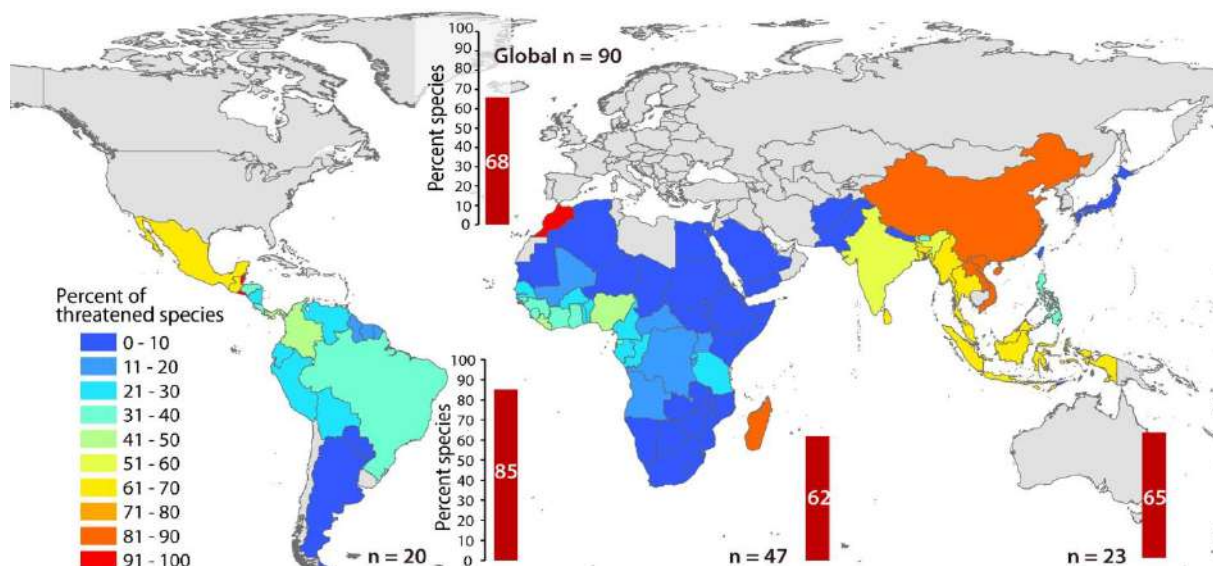
Trong hơn một thập kỷ qua, quần thể linh trưởng đang giảm dần trên thế giới bởi những tác động của con người như sự thu hẹp môi trường sống của linh trưởng do tốc độ đô thị hoá, khai thác rừng cho nông nghiệp, sự khai thác gỗ, nạn săn bắn, buôn bán trái phép, dịch bệnh. Trong 20 năm từ 1990-2010, diện tích đất nông nghiệp mở rộng ở các nước Châu Phi và Madagascar trong những khu vực có nhiều loài linh trưởng để phục vụ cho nông nghiệp ước chừng khoảng 1,5 triệu km² và gần 2 triệu

km² rừng mất overlap/intergenic. Hơn nữa, theo số liệu của Source of raw data FAOStat (<https://www.fao.org/faostat/en/#home>), việc khai thác dầu cọ quá mức cũng đã làm ở Nam Mỹ và Châu Phi được dự báo sẽ dẫn đến những hậu quả tiêu cực nghiêm trọng đối với các quần thể linh trưởng ở những khu vực đó. Ở châu Á, việc mở rộng các đồn điền cao su ở khu vực Tây Nam Trung Quốc đã khiến loài vượn đen má trắng phương bắc (*Nomascus leucogenys*) và vượn Hải Nam (*Nomascus hainanus*) gần như tuyệt chủng (10).

Trái đất đang trải qua các giai đoạn biến đổi khí hậu, linh trưởng là loài động vật có nhiều đặc điểm rất dễ bị tổn thương bởi các điều kiện sinh thái thay đổi như có sự phân bố địa lý hạn chế, tuổi sinh sản lần đầu muộn và thời kỳ sinh đẻ kéo dài. Biến đổi khí hậu cũng gây ra sự mất môi trường sống cho động vật, buộc chúng phải di chuyển ra khỏi khu vực được bảo vệ khiến chúng dễ bị tổn thương hơn trước do mầm bệnh mới, đối thủ cạnh tranh mới, nguồn cung cấp thực phẩm thay đổi, hoặc chúng có thể trở thành thức ăn cho các động vật khác, thậm chí là các hoạt động săn bắn của con người. Ngoài ra, biến đổi khí hậu thường xuyên và nghiêm trọng hơn có thể gây ra lũ lụt, hạn hán, hỏa hoạn, bão và các sự kiện El Niño – Southern Oscillation có thể ảnh hưởng đến nguồn cung cấp thực phẩm sẵn có cho các quần thể linh trưởng, với các tác động tiêu cực đến sức khỏe, khả năng sinh sản và tỷ lệ tử vong.

Thế kỷ 21 chứng kiến sự gia tăng chưa từng có trong các mối đe dọa đối với sự sống còn của linh trưởng. Theo Liên minh Bảo tồn Thiên nhiên Quốc tế (IUCN), linh trưởng hiện là một trong những bộ động vật có xương sống bị đe dọa nghiêm trọng nhất. Năm 2017, theo số liệu của sách đỏ thế giới (the International Union for the Conservation of Nature Red List – IUCN red list) trên 60% loài linh trưởng, được đưa vào danh sách đang bị đe dọa tuyệt chủng (5) trong đó 87% số loài ở Madagascar đang bị đe dọa, 73% ở châu Á, 37% ở lục địa châu Phi và 36% ở Neotropics (Hình 1. 2).

Các nguyên nhân chính dẫn đến cuộc khủng hoảng này bao gồm: mất và suy thoái môi trường sống do phát triển nông nghiệp, khai thác gỗ, xây dựng cơ sở hạ tầng; săn bắt và buôn bán trái phép nhằm mục đích lấy thịt, vật nuôi cảnh, hoặc nguyên liệu cho y học cổ truyền; các mối đe dọa mới nổi như biến đổi khí hậu và nguy cơ lây truyền mầm bệnh (zoonotic diseases) giữa người và động vật hoang dã.



Hình 1. 2. Sự phân bố của các loài linh trưởng trên thế giới với tỉ lệ % các loài đang giảm và bị đe dọa.

Thanh màu biểu thị % số lượng linh trưởng đang bị đe dọa. Biểu đồ màu đỏ: quần thể linh trưởng đang bị đe dọa trên 4 khu vực trên thế giới. Nguồn tham khảo từ IUCN red list và Estrada và cs (5).

1.1.2. Vị thế của Việt Nam trong khủng hoảng bảo tồn linh trưởng

Việt Nam được công nhận là một trong những quốc gia có tính đa dạng sinh học cao trên thế giới và là trung tâm đặc hữu của nhiều loài linh trưởng với nhiều loài cực kỳ nguy cấp (Critically Endangered - CR) cư trú như *Voọc cát bà*, *Voọc mũi hếch*, và một số loài Vượn. Nếu không kể đến 4 nước có tỉ lệ sinh sống của linh trưởng nhiều 1 cách khác biệt này thì Việt Nam được đánh giá là một trong những quốc gia có mức độ đa dạng sinh học về các loài linh trưởng tương đối cao. Với đặc điểm về khí hậu và địa hình của Việt Nam, nơi đây đã thu hút được 24-27 loài và phân loài linh trưởng thuộc 03 họ đó là: họ Cu li (*Loridae*), họ Khỉ (*Cercopithecidae*) và họ Vượn (*Hylobatidae*) chọn làm nơi cư trú trong tổng số hơn 500 loài và phân loài được Tổ chức Bảo tồn thiên nhiên quốc tế (IUCN) công nhận (11). Đặc biệt, trong đó có 6 loài ghi nhận là đặc hữu của Việt Nam: Khỉ đuôi dài côn đảo (*Macaca fascicularis condorensis*), vọc Mông trắng (*Trachypithecus delacouri*), vọc Cát Bà (*Trachypithecus poliocephalus*), vọc Mũi hếch (*Voọc mũi hếch Bắc Bộ*), Chà và chân xám (*Pygathrix cinerea*), Vượn đen Đông Bắc (*Nomascus nasutus*). Thú linh trưởng được xem là những loài chỉ thị cho sức khỏe hệ sinh thái, thước đo của mức độ đa dạng sinh học, đồng thời đóng vai trò quan trọng đối với đời sống văn hóa, tinh thần và khoa học phục vụ con người.

Tuy nhiên, do áp lực dân số, khai thác tài nguyên thiếu bền vững, và sự kiểm soát lỏng lẻo tại nhiều khu vực, hầu hết các loài linh trưởng Việt Nam đều đang ở ngưỡng nguy cấp cao nhất với 90% linh trưởng đang đối mặt với nguy cơ đe dọa tuyệt chủng (12). Sự suy giảm nghiêm trọng về số lượng và sự phân mảnh của quần thể đã dẫn đến nguy cơ giao phối cận huyết và mất đa dạng di truyền, đe dọa nghiêm trọng đến khả năng tồn tại lâu dài của chúng.

Trước tình hình đó, công tác bảo tồn linh trưởng tại Việt Nam không chỉ đòi hỏi các biện pháp bảo vệ tại chỗ (in-situ conservation) mà còn cần sự hỗ trợ đặc lực từ khoa học. Việc nghiên cứu toàn diện về mặt sinh học, sinh thái, và đặc biệt là di truyền học phân tử, trở thành yêu cầu tiên quyết để xác định các đơn vị bảo tồn ưu tiên (Conservation Units) và xây dựng chiến lược quản lý quần thể hiệu quả, chính xác, và bền vững (5).

1.2. Vai trò của ADN ty thể trong nghiên cứu phát sinh loài

1.2.1. Đặc điểm cấu trúc và di truyền của hệ gene ty thể

Ty thể là một bào quan có hệ gene riêng biệt và được cho là có nguồn gốc từ vi khuẩn hiếu khí cổ đại, kết hợp với tổ tiên của tế bào nhân thực thông qua quá trình nội cộng sinh. ADN ty thể (mtDNA) là một phân tử di truyền nằm trong ty thể – bào quan có chức năng hô hấp tế bào – và chỉ được truyền theo dòng mẹ giúp theo dõi phả hệ dòng mẹ và lịch sử tiến hóa của quần thể mà không bị ảnh hưởng bởi sự tái tổ hợp từ bố. Đã từ lâu, người ta cho rằng, hệ gene ty thể là nguồn dữ liệu phong phú và dễ dàng phân tích cho việc phân tích di truyền quần thể. Tỷ lệ đột biến cao trung bình ước chừng nhanh hơn gấp 5 đến 10 lần so với hệ gene trong nhân (13) giúp phân giải tốt các mối quan hệ phát sinh loài gần (ví dụ: giữa các phân loài hoặc quần thể). Hiện nay, ADN ty thể được ứng dụng rộng rãi trong nghiên cứu phát sinh loài và bảo tồn các loài linh trưởng, đặc biệt là các loài nguy cấp tại khu vực Đông Nam Á – trong đó có Việt Nam. ADN ty thể không tái tổ hợp, tốc độ đột biến cao, kích thước nhỏ (~16.500 cặp base ở động vật có xương sống) và có số lượng bản sao lớn trong mỗi tế bào đảm bảo sự ổn định của trình tự, đơn giản hóa việc xây dựng cây phát sinh loài (phylogenetic tree) do không có sự pha trộn giữa các dòng. Trừ một vài trường hợp ngoại lệ, tất cả các hệ gene ty thể của động vật đều chứa 37 gene: hai gene rRNA, 13 gene cho protein và 22 gene *tRNA*. Hệ gene của ty thể, cùng với RNA và protein từ tế bào chất, sẽ giúp ty thể có thể tự sao chép, phiên mã, xử lý mRNA và dịch mã protein. Vì vậy, cùng với sự di truyền từ dòng mẹ, với kích thước nhỏ và đầy đủ chức năng của hệ gene ty thể, rất dễ giúp ADN ty thể trở thành công cụ lý tưởng để nghiên cứu phát sinh loài (phylogenetics) và lịch sử tiến hóa của sinh vật.

Hệ gene ty thể của động vật có xương sống, trong đó có linh trưởng, là phân tử DNA vòng kép có kích thước nhỏ, thường khoảng 16–17 kb, nhưng có ý nghĩa quan trọng trong nghiên cứu tiến hóa phân tử do vừa bảo tồn về tổ chức gene vừa biến đổi ở mức trình tự nucleotide. Ở động vật có vú, mtDNA thường gồm 37 gene, bao gồm 13 gene mã hóa protein, 22 gene tRNA và 2 gene rRNA; các protein do mtDNA mã hóa là những tiểu đơn vị tham gia vào các phức hợp enzyme của hệ phosphoryl hóa oxy hóa, giữ vai trò trung tâm trong chuyển hóa năng lượng tế bào (14). Do liên quan trực tiếp đến chức năng hô hấp tế bào, nhiều gene mã hóa protein ty thể chịu ràng buộc chức năng mạnh và thường tiến hóa dưới tác động của chọn lọc thanh lọc; tuy nhiên, tốc độ biến đổi giữa các gene không giống nhau, trong đó các gene thuộc nhóm cytochrome oxidase thường bảo tồn hơn, còn một số gene thuộc nhóm NADH dehydrogenase hoặc ATP synthase có thể tích lũy biến dị nhanh hơn. Bên cạnh đó, mtDNA động vật thường thể hiện xu hướng giàu A+T và bất đối xứng thành phần nucleotide giữa hai mạch, được phản ánh qua các chỉ số như AT-skew và GC-skew; các thiên lệch này có thể liên quan đến áp lực đột biến, cơ chế sao chép/phiên mã và lịch sử tiến hóa của hệ gene ty thể (15). Một đặc điểm cần lưu ý khác là mtDNA sử dụng bảng mã di truyền riêng, khác với mã di truyền chuẩn; ví dụ, ở ty thể động vật, UGA mã hóa tryptophan thay vì là codon kết thúc, do đó việc xác định codon khởi đầu, codon kết thúc và khung đọc mở cần dựa trên bảng mã ty thể phù hợp. Ngoài các vùng mã hóa, vùng điều khiển *D-loop* là vùng không mã hóa chính, có vai trò trong điều hòa sao chép và phiên mã mtDNA; do thường tích lũy biến dị nhanh, chứa các vị trí đa hình, motif lặp hoặc vùng siêu biến, *D-loop* được sử dụng rộng rãi trong nghiên cứu đa dạng di truyền, phân hóa quần thể, truy vết dòng mẹ và lịch sử tiến hóa gần (16). Vì vậy, khi nghiên cứu hệ gene ty thể ở linh trưởng, cần xem xét đồng thời hai xu hướng: tính bảo tồn về số lượng gene, trật tự gene và chức năng của các gene mã hóa protein; và tính biến đổi về thành phần nucleotide, thiên lệch A+T, mức độ biến dị của từng gene, vùng *D-loop* và khoảng cách di truyền giữa các loài.

1.2.2. Ứng dụng của ADN ty thể trong nghiên cứu linh trưởng

Phát sinh chủng loại (Phylogeny): Do không chịu ảnh hưởng của quá trình tái tổ hợp (recombination) như ADN nhân, hệ gene ty thể cho phép các nhà nghiên cứu truy nguyên trực tiếp dòng dõi tổ tiên theo hệ mẫu (matrilineal lineages). Các vùng gen như *Cytochrome b (Cytb)* hay *COI* thường được sử dụng để phân giải mối quan hệ giữa các loài (interspecies), trong khi vùng kiểm soát (*D-loop*) hỗ trợ phân tích quan hệ trong cùng một loài (intraspecies). Một trong những ứng dụng nổi bật nhất là phát hiện "Eva ty thể" – tổ tiên chung theo dòng mẹ của toàn bộ nhân loại – được

ước tính sống cách đây khoảng 150.000–200.000 năm ở châu Phi, dựa trên phân tích ADN ty thể của hàng trăm cá thể từ các châu lục khác nhau (17). Ngoài ra, ADN ty thể thường được sử dụng để xác định mối quan hệ giữa các loài, phân loài, quần thể, và trong giám định pháp y cũng như bảo tồn động vật hoang dã. Với sự phát triển của công nghệ giải trình tự gene thế hệ mới (NGS), ngày càng nhiều nghiên cứu sử dụng toàn bộ hệ gene ty thể thay vì chỉ một vài đoạn gene như *cytochrome b* hoặc COI, giúp nâng cao độ chính xác trong việc tìm ra mối quan hệ tiến hóa giữa các loài (18).

Ước tính thời gian phân tách (Molecular Clock): Tốc độ tích lũy đột biến của ADN ty thể diễn ra nhanh và tương đối ổn định theo thời gian. Điều này cho phép các nhà khoa học sử dụng nó như một "đồng hồ phân tử" để ước tính thời điểm phân tách của các nhóm linh trưởng, chẳng hạn như thời điểm tách biệt giữa người và tinh tinh, hay giữa các phân loài *Voọc*.

Đánh giá khác biệt di truyền: Khi một loài nào đó có mối quan hệ tiến hóa càng xa thì số lượng sự khác biệt trở nên lớn hơn. Việc đánh giá mức độ khác biệt di truyền là cốt lõi để hiểu về "sức khỏe" di truyền của các quần thể linh trưởng, đặc biệt là các loài đang bị đe dọa. Trong những năm trước đây, sau các nghiên cứu đa dạng ADN ty thể ở người, trình tự ADN ty thể đã được sử dụng để kiểm tra sự khác biệt di truyền của loài vượn (19–21). Các chỉ số như độ đa dạng haplotype và độ đa dạng nucleotide phản ánh mức độ biến dị di truyền hiện tại. Quần thể có độ đa dạng thấp thường đối mặt với nguy cơ suy thoái cận huyết cao. Dữ liệu ADN ty thể giúp tái hiện các sự kiện trong quá khứ như "hiệu ứng nút thắt cổ chai" (bottleneck effect) – khi số lượng cá thể giảm sút nghiêm trọng, hoặc sự bùng nổ dân số (population expansion). Phân tích ADN ty thể giúp xác định sự di cư và sự phân bố của các dòng gen theo địa lý, từ đó hiểu được cách các rào cản tự nhiên (sông, núi) ảnh hưởng đến sự cách ly của các quần thể linh trưởng.

1.3. Tổng quan nghiên cứu ADN ty thể trên linh trưởng trong và ngoài nước

1.3.1. Tổng quan nghiên cứu ADN ty thể linh trưởng ở Việt Nam

Nghiên cứu sự phát sinh loài ở Việt Nam có lịch sử lâu đời, bắt đầu từ thế kỷ 19 khi các nhà khoa học Pháp tiến hành khảo sát hệ động thực vật phong phú tại đây. Giai đoạn này chủ yếu dựa vào phân loại hình thái học, với những đóng góp của các nhà khoa học như Henri Mouhot và Alexandre Yersin, đặt nền móng cho việc mô tả nhiều loài động thực vật mới. Trong những năm 60 của thế kỷ XX, thế giới đã bắt đầu quan tâm tới công tác nghiên cứu và bảo tồn đa dạng sinh vật. Sự phát sinh loài và phân loại của các loài động vật có vú ban đầu dựa trên các đặc điểm hình thái

chung hoặc có nguồn gốc. Năm 1962; vườn quốc gia đầu tiên (Cúc Phương) được thành lập nhằm bảo tồn đa dạng sinh vật và loài linh trưởng quý hiếm và đặc hữu là loài *Voọc quần đùi trắng* (*Trachypithecus delacouri*). Bắt đầu từ thời gian này, những nghiên cứu về sinh học được triển khai sâu rộng hơn. Trung tâm Cứu hộ linh trưởng Nguy cấp (EPRC) tại VQG Cúc Phương là một trong những cơ sở hàng đầu Đông Nam Á, hiện đang chăm sóc và phục hồi 170 cá thể thuộc 15 loài linh trưởng nguy cấp. Các dự án hợp tác với các tổ chức quốc tế như Tổ chức Bảo tồn linh trưởng Quốc tế (IUCN Primate Specialist Group) và các viện nghiên cứu từ Đức, Nhật Bản, Mỹ đã thúc đẩy nghiên cứu di truyền, sinh thái và hành vi của các loài linh trưởng. Người Việt Nam đầu tiên có những công trình nghiên cứu về linh trưởng là Đào Văn Tiến. Năm 1957, ông công bố bài nghiên cứu "Một số ghi chép về động vật có vú ở miền Bắc Việt Nam", trong đó ghi nhận và phân loại các loài linh trưởng tại khu vực này, đánh dấu bước đi đầu tiên trong nghiên cứu linh trưởng tại Việt Nam (22–24). Các công trình của Đào Văn Tiến không chỉ giúp nâng cao hiểu biết về sự đa dạng và đặc điểm sinh thái của các loài linh trưởng mà còn tạo nền tảng khoa học cho các chương trình bảo tồn sau này, khiến ông được ghi nhận là người tiên phong trong nghiên cứu linh trưởng tại Việt Nam.

Giai đoạn năm 1975 đến nay các nghiên cứu và bảo tồn đa dạng sinh vật, được quan tâm và triển khai mạnh mẽ trên các vùng của cả nước và đạt được rất nhiều kết quả có giá trị. Đội ngũ cán bộ Việt Nam nghiên cứu về linh trưởng cũng phát triển và lớn mạnh không ngừng. Những kết quả nghiên cứu được thể hiện trong các công trình của Đào Văn Tiến; Võ Quý nhận được Giải thưởng hành tinh xanh -Blu Planet Prize (2003) và được công nhận là một nhà bảo tồn hàng đầu của Việt Nam; Nguyễn Cử đã đóng góp vào việc khảo sát và bảo tồn nhiều loài chim nguy cấp như gà lôi lam đuôi trắng (*Lophura hatinhensis*); Trần Triết được biết đến với các chương trình bảo tồn sếu đầu đỏ và các dự án nâng cao nhận thức về bảo vệ động vật hoang dã; Lê Xuân Cảnh là nhà khoa học tiêu biểu về sinh thái học, bảo tồn đa dạng sinh học nhằm bảo vệ các hệ sinh thái tự nhiên; Vũ Ngọc Long là người đi đầu trong các hoạt động bảo vệ rừng và nâng cao nhận thức cộng đồng về bảo tồn tài nguyên thiên nhiên; Hà Thăng Long đã vận động thành công việc mở rộng các khu bảo tồn và nâng cao nhận thức về bảo tồn *Voọc* trong cộng đồng; Nguyễn Quảng Trường là chuyên gia bò sát – lưỡng cư, có nhiều công bố về loài mới và đóng góp cho Danh lục Đỏ/Sách Đỏ Việt Nam. Các nhà bảo tồn trên đã và đang đóng góp to lớn trong việc bảo vệ đa dạng sinh học, từ rừng, núi, đến biển của Việt Nam. Họ không chỉ nghiên cứu và phát hiện các loài mới, mà còn tích cực bảo tồn các loài nguy cấp và nâng cao nhận thức cộng đồng về bảo vệ thiên nhiên.

Các nghiên cứu không chỉ bó hẹp do các cán bộ khoa học Việt Nam tiến hành, mà còn có sự hợp tác quốc tế sâu rộng với các chuyên gia linh trưởng và các tổ chức bảo tồn quốc tế. Kết quả của các điều tra, nghiên cứu về khu hệ linh trưởng của các địa phương, các vùng miền và các công trình nghiên cứu về sinh học, sinh thái của các loài linh trưởng ở Việt Nam đã được công bố trên các tạp chí khoa học trong nước và quốc tế. Nổi bật trong thời gian gần đây đã có rất nhiều công trình nghiên cứu chuyên sâu về linh trưởng Việt Nam của các tác giả trong và ngoài nước như: Nguyễn Cử (25), Nadler T (26). Năm 2020, một nghiên cứu tại dãy núi Kon Ka Kinh (Gia Lai) đã làm rõ tập tính kiếm ăn và sinh thái của *Chà vá chân xám* (*Pygathrix cinerea*), một trong những loài linh trưởng nguy cấp nhất thế giới (27) và đánh giá tác động của biến đổi khí hậu đến sự phân bố của cá thể *Chà vá chân xám* *Pygathrix cinerea* bằng mô hình học sinh thái (28). Trong khi đó, nghiên cứu tại Sơn Trà (Đà Nẵng) vào năm 2022 đã tập trung vào tập tính sinh sản và cấu trúc xã hội của *Chà vá chân nâu* (*Pygathrix nemaeus*), cho thấy loài này sở hữu cấu trúc bầy đàn phức tạp với hệ thống đa thế (29). Các nghiên cứu về sinh thái và tập tính của linh trưởng cũng đạt được nhiều tiến bộ lớn.

Tuy nhiên, các phân tích di truyền gần đây ngày càng đóng một vai trò quan trọng trong việc xác nhận hiện có hoặc thiết lập các nhóm thực vật và động vật có vú thường hoàn toàn khác nhau. Việc nhận diện các loài và xác định mối quan hệ giữa các loài cũng rất quan trọng trong sinh học, sinh thái học, tiến hóa, hệ thống học, quản lý động vật hoang dã, bảo tồn và khoa học pháp y. Trên thế giới hiện đã có nhiều công trình nghiên cứu về sự đa dạng sinh học cũng như những nghiên cứu về quan hệ di truyền giữa các loài linh trưởng. Áp dụng các phương pháp sinh học phân tử vào đánh giá độ bảo tồn loài, xây dựng cây phát sinh loài và dự đoán được thời gian phân loài dựa trên trình tự bảo tồn trong trình tự nucleotide của ty thể. Năm 1982, Goodman M. đã tìm ra các bằng chứng amino acid về sự phát sinh ở bộ Linh trưởng và *Eutheria*. Năm 1984, Charles G.Sibley và cộng sự đã nghiên cứu sự phát sinh loài của Liên họ Người (*Hominoid*) bằng phương pháp lai ADN-ADN. Nghiên cứu về động lực tiến hóa phân tử gene *cytochrome b* ở linh trưởng mũi cong (*strepsirrhine primates*) của A.D.Yoder và cộng sự năm 1996. Năm 2001, R.Noda và cộng sự đã phân tích sự đa dạng trình tự *16S* rRNA ty thể ở Liên họ Người (*Hominoid*). Ana K.Z.Guillen và cộng sự năm 2004 cũng đã nghiên cứu sự đa dạng gene ở Vượn lớn châu Phi dựa trên trình tự ADN ty thể. Juan C.Opazo và cộng sự (2006) đã phân tích mối quan hệ di truyền và thời gian phân loài ở khỉ Tân thế giới (*platyrrhini*) trên nhiều trình tự bảo tồn khác nhau. Năm 2014, Luca Pozzi và cộng sự cũng đã thực

hiện đánh giá quan hệ di truyền các loài linh trưởng và thời gian phân loài linh trưởng dựa trên toàn bộ trình tự gene ty thể (30).

Việt Nam là một trong những quốc gia có mức độ đa dạng loài linh trưởng cao nhất thế giới, với 24 đến 27 loài được ghi nhận, trong đó nhiều loài đặc hữu và nguy cấp như *Voọc cát bà* (*Trachypithecus poliocephalus*), *Voọc quần đùi trắng* (*Trachypithecus delacouri*), *Chà vá chân xám* (*Pygathrix cinerea*), và vượn đen má trắng phương Bắc (*Nomascus concolor*). Sự hiện diện của các loài linh trưởng này không chỉ góp phần tạo nên sự đặc sắc về sinh thái mà còn thu hút sự quan tâm của cộng đồng khoa học quốc tế trong việc nghiên cứu và bảo tồn.

Trong những năm gần đây, nhiều nghiên cứu đã tập trung vào việc điều tra và bảo tồn linh trưởng tại Việt Nam. Một trong những thành tựu đáng chú ý là nghiên cứu về đa dạng di truyền của các loài linh trưởng tại Khu Bảo tồn Thiên nhiên Xuân Liên vào năm 2020, do nhóm Lê Đức Minh thực hiện (31). Nghiên cứu này sử dụng phương pháp sinh học phân tử dựa trên trình tự gene *cytochrome b* và *16S* ty thể, giúp xác định sự đa dạng di truyền và cấu trúc quần thể của các loài linh trưởng. Kết quả nghiên cứu cung cấp dữ liệu quan trọng để bảo tồn các loài nguy cấp, đặc biệt là những loài có nguy cơ tuyệt chủng cao. Những kết quả này không chỉ làm sáng tỏ đặc điểm sinh thái của các loài mà còn hỗ trợ việc thiết lập các khu vực bảo vệ phù hợp.

Việt Nam là một trong những quốc gia có mức độ đa dạng sinh học cao nhất khu vực Đông Nam Á, đặc biệt là về thành phần các loài linh trưởng. Hiện nay, Việt Nam có khoảng 24-27 loài linh trưởng, trong đó nhiều loài là đặc hữu và đang ở tình trạng nguy cấp theo phân loại của IUCN (3,32). Các phát hiện gần đây đã nhấn mạnh rằng tiềm năng sinh học ở Việt Nam chưa được khám phá hết. Trong đó, nổi bật là việc mô tả hai loài linh trưởng mới cho khoa học: cá thể *Chà vá chân xám* (*Pygathrix cinerea*) vào năm 2007 và loài vượn Trung bộ (*Nomascus annamensis*) vào năm 2010 (26). Những phát hiện này không chỉ có ý nghĩa về mặt khoa học mà còn góp phần thúc đẩy nỗ lực bảo tồn và khẳng định vai trò then chốt của Việt Nam trong việc bảo vệ đa dạng sinh học toàn cầu.

Trước áp lực từ quá trình phát triển kinh tế, đô thị hóa và khai thác tài nguyên, Việt Nam đã tăng cường đầu tư và triển khai các chính sách nhằm bảo vệ hệ sinh thái tự nhiên. Theo thống kê, cả nước hiện có khoảng 2,2 triệu ha rừng đặc dụng, với 30 vườn quốc gia và 114 khu bảo tồn loài và sinh cảnh được thành lập (33). Các khu vực này là nơi cư trú của phần lớn quần thể linh trưởng còn sót lại tại Việt Nam. Tuy

nhiên, những nỗ lực này vẫn chưa đủ để ngăn chặn xu hướng suy giảm nghiêm trọng số lượng cá thể trong tự nhiên. Các mối đe dọa chính bao gồm mất sinh cảnh do chặt phá rừng, săn bắt và buôn bán trái phép động vật hoang dã, trong đó các loài linh trưởng thường là đối tượng bị nhắm đến.

Để bảo tồn và phục hồi các quần thể linh trưởng, cần thiết phải xây dựng một kế hoạch hành động quốc gia tổng thể. Kế hoạch này cần bao gồm: (1) Tăng cường khung pháp lý và thực thi các biện pháp xử lý nghiêm minh đối với các hành vi vi phạm (*Điều 244 Bộ luật hình sự năm 2015*); (2) Thành lập và vận hành hiệu quả các trung tâm cứu hộ động vật hoang dã, đặc biệt tập trung vào nhóm linh trưởng; (3) Quy hoạch và phát triển các khu bảo tồn ưu tiên cho sinh cảnh của các loài linh trưởng quý hiếm (*Luật Lâm nghiệp (2017) & Luật Đa dạng sinh học (2008)*); và (4) Tăng cường đầu tư cho nghiên cứu khoa học – đặc biệt là các nghiên cứu về phân bố, sinh thái, hành vi và di truyền học của các loài linh trưởng trong nước (34).

Trong bối cảnh đó, nghiên cứu về đa dạng di truyền có vai trò đặc biệt quan trọng. Thông qua các chỉ thị di truyền như gene ti thể (ví dụ: cytochrome b, 16S rRNA, *D-loop*), các nhà khoa học có thể tái dựng quan hệ phát sinh loài, xác định cấu trúc quần thể, mức độ giao phối cận huyết và phát hiện các quần thể biệt lập có nguy cơ tuyệt chủng cao. Điều này giúp xác định đơn vị bảo tồn ưu tiên và thiết kế chiến lược bảo tồn phù hợp với thực tiễn từng vùng (35). Tại Việt Nam, các nghiên cứu về gene ty thể ở các loài như *Voọc mũi hếch* (*Voọc mũi hếch Bắc Bộ*), vượn (*Nomascus spp.*) và khỉ mốc (*Macaca spp.*) đã chỉ ra mức độ đa dạng thấp ở nhiều quần thể, cho thấy sự cấp thiết trong công tác bảo tồn.

Bên cạnh ý nghĩa khoa học, nghiên cứu linh trưởng còn góp phần nâng cao nhận thức cộng đồng và thu hút sự hỗ trợ từ các tổ chức quốc tế. Các loài linh trưởng như *Chà vá chân nâu* hay *vượn đen má trắng* không chỉ là biểu tượng sinh thái mà còn có tiềm năng lớn trong phát triển du lịch sinh thái, đóng góp cho kinh tế địa phương nếu được quản lý bền vững (36).

Nghiên cứu về linh trưởng ở Việt Nam có vai trò không thể thay thế trong bảo tồn đa dạng sinh học. Đầu tư cho lĩnh vực này không chỉ là trách nhiệm bảo vệ di sản thiên nhiên của quốc gia, mà còn là một chiến lược lâu dài để đảm bảo sự phát triển bền vững trong tương lai.

Vai trò của nghiên cứu phát sinh loài ở Việt Nam vô cùng to lớn, không chỉ trong lĩnh vực khoa học mà còn ở các khía cạnh bảo tồn và phát triển bền vững. Các

ngiên cứu này giúp làm sáng tỏ quá trình tiến hóa, xác định các loài nguy cấp và thiết lập các chiến lược bảo vệ hệ sinh thái hiệu quả, góp phần bảo tồn di sản thiên nhiên quý giá của đất nước. Đồng thời, nghiên cứu phát sinh loài còn mang lại giá trị kinh tế và xã hội, thúc đẩy du lịch sinh thái và khai thác bền vững tài nguyên thiên nhiên. Tuy đối mặt với các thách thức về suy thoái môi trường và hạn chế nguồn lực, lĩnh vực này vẫn có triển vọng lớn nhờ ứng dụng công nghệ hiện đại và hợp tác quốc tế, hứa hẹn tiếp tục đóng góp cho khoa học toàn cầu và bảo tồn đa dạng sinh học trong tương lai.

1.3.2. Tổng quan nghiên cứu ADN ty thể linh trưởng ở trên thế giới

Trên thế giới, ADN ty thể được phát hiện vào những năm 1960 bởi Margit Nass và Sylvan Nass, và được nghiên cứu rộng rãi từ thập niên 1980 khi các nhà khoa học nhận ra tiềm năng to lớn của nó trong truy vết tổ tiên di truyền. Sau khi "Eva ty thể" được công bố (17); ADN ty thể nhanh chóng trở thành công cụ trung tâm trong di truyền học tiến hóa và nhân học. Các nghiên cứu đã sử dụng ADN ty thể để xây dựng cây phát sinh loài cho các nhóm động vật có xương sống (37).

Việc so sánh các trình tự ADN ty thể đóng vai trò trụ cột trong nghiên cứu phát sinh chủng loài học (phylogenetics), trong đó nó cho phép các nhà sinh học làm sáng tỏ mối quan hệ tiến hóa giữa các loài. Nó cũng cho phép việc kiểm tra mối liên hệ của các quần thể, và như vậy nó rất quan trọng trong lĩnh vực nhân chủng học và sinh học, thông qua việc dựng lại cây phả hệ theo dòng mẹ. Vì vậy, những trình tự của ty thể được sử dụng nhằm đánh giá phát sinh chủng loại trên nhiều đối tượng khác nhau. Trên thế giới, nghiên cứu về mối quan hệ phát sinh loài dựa trên trình tự các vùng gene ty thể cũng đã được thực hiện trên một số loài như Vượn lớn châu Phi (African great apes) và một số loài vượn khác (38,39). Đặc biệt các trình tự cytochrome b, *D-loop*, *16S* trên ADN ty thể là các trình tự được sử dụng nhiều để đánh giá sự đa dạng và mối quan hệ phát sinh loài của Linh trưởng như tinh tinh, bonobo, khỉ đột, đười ươi. Finstermeier đã xây dựng cây phát sinh loài của gần như toàn bộ các loài linh trưởng bằng cách sử dụng trình tự ADN ty thể hoàn chỉnh, cung cấp khung tham chiếu cho các nghiên cứu về tiến hóa, đa dạng và thích nghi (40).

ADN ty thể là công cụ di truyền quan trọng trong nghiên cứu tiến hóa do có đặc điểm di truyền theo dòng mẹ, không tái tổ hợp và có tốc độ tiến hóa nhanh. Các vùng khác nhau trong ADN ty thể tiến hóa với tốc độ không đồng đều, tạo điều kiện thuận lợi cho việc lựa chọn các chỉ thị (marker) di truyền phù hợp với từng mục tiêu nghiên cứu như phân tích đa dạng di truyền trong loài, xác định loài, hoặc khảo sát

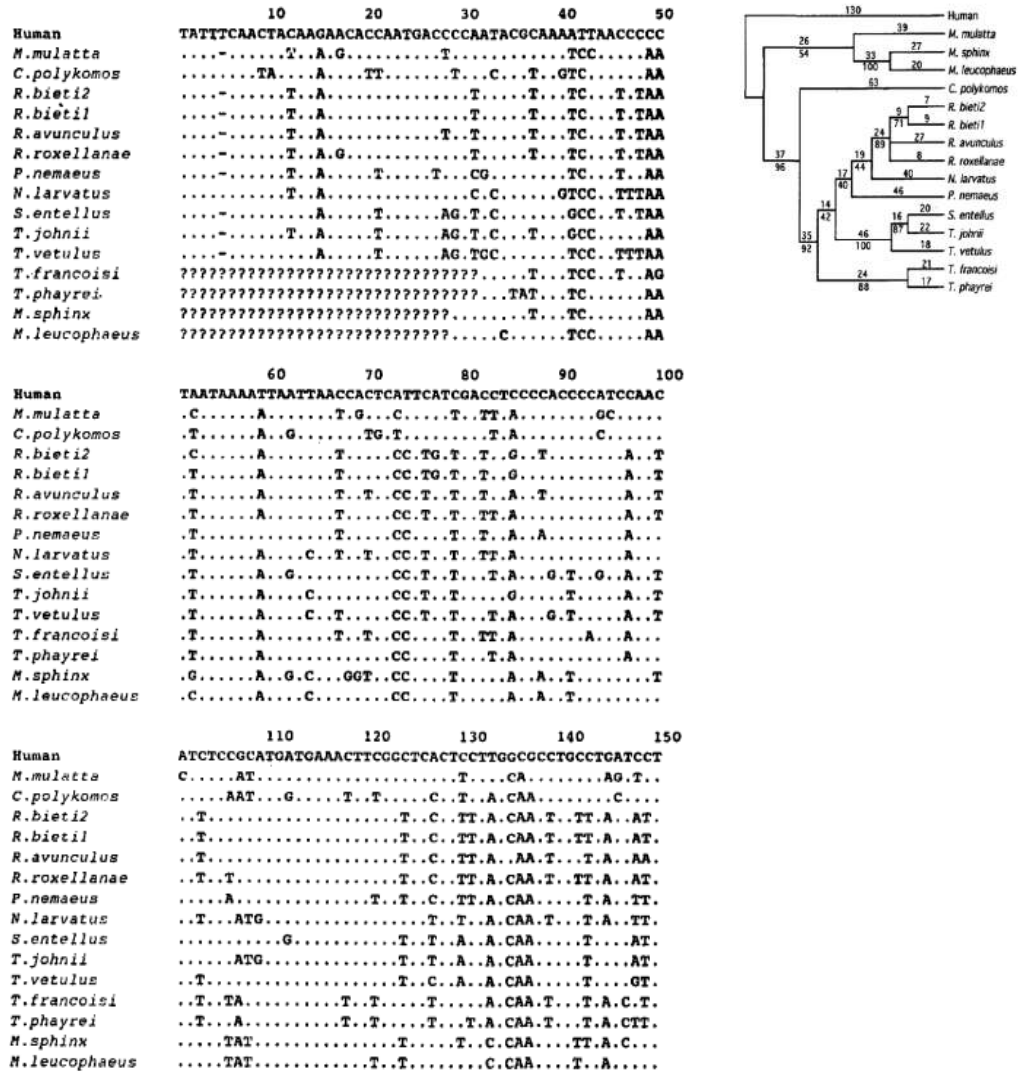
quan hệ phát sinh giữa các loài. Với đặc điểm di truyền theo dòng mẹ phổ biến ở hầu hết các loài động vật, ADN ty thể đặc biệt hữu ích trong việc truy vết phả hệ theo dòng mẹ. Ngoài ra, do không chịu ảnh hưởng của tái tổ hợp và nhiều đột biến xảy ra trên ADN ty thể là trung tính – không tác động đến khả năng sống sót của sinh vật – nên các kiểu gene được bảo tồn qua thời gian tiến hóa. Nhờ đó, ADN ty thể trở thành công cụ lý tưởng để phân tích mối quan hệ di truyền giữa các cá thể trong cùng loài hoặc giữa các loài khác nhau, từ đó ước tính được khoảng cách tiến hóa. Càng có quan hệ tiến hóa xa, mức độ khác biệt di truyền giữa các loài càng lớn. Năm 1998, Johns và cs đã thu thập khoảng 2000 trình tự gene *cytochrome b* của ty thể từ ngân hàng gene để tính toán và so sánh các mức độ khoảng cách di truyền giữa các loài cùng thể hệ, các chi họ và các lớp để phân loại động vật có xương sống (41). Kết quả cho thấy sự khác biệt về gene trong các nhóm động vật có xương sống, đặc biệt là lưỡng cư và bò sát. Sau đó, *cytochrome b* của ty thể cũng được ứng dụng có hiệu quả để khuếch đại và so sánh sự khác biệt giữa con người và các loài động vật gần với con người (42).

Gene Cytochrome b

ADN ty thể là trình tự gene được cho là ít biểu hiện sự biến đổi nhưng cho thấy đủ sự biến đổi giữa các điểm cụ thể để cho phép ước tính mức độ phát sinh loài. Các nghiên cứu đã sử dụng nhiều locus khác nhau trên hệ gene ty thể như *12S rRNA*, *16S rRNA*, *COII* và khác. Tuy nhiên, locus chính được sử dụng để phân biệt loài cho đến gần đây là *cytochrome b* xuất hiện giữa các base 14,747 và 15,887 trong ADN ty thể của người. *Cytochrome b* là một thành viên trong họ cytochrome (a, b và c). Mỗi phân tử mang 2 nhân heme có khối lượng khoảng 40 kDa và hấp thu ánh sáng ở bước sóng 556-560 nm. *Cytochrome b* có vai trò vận chuyển điện tử trong quá trình hô hấp ở ty thể. Gene *cytochrome b* được sử dụng rộng rãi trong nghiên cứu tiến hóa vì quá trình đột biến xảy ra chậm chạp. Nhiều phần của gene *cytochrome b* được bảo tồn do chức năng của nó còn hạn chế. Mặc dù gene *cytochrome b* đột biến chậm nhưng tỷ lệ những đột biến im lặng lại xảy ra rất cao. Vì vậy, *cytochrome b* có tính ổn định và biến đổi phù hợp để nghiên cứu sâu hơn về những mối quan hệ tiến hóa. Phần lớn những vị trí hay xảy ra biến động nằm trong vùng mã hóa cho màng vận chuyển, các gốc amin và gốc cacboxyl ở vùng đầu tận cùng. *Cytochrome b* xuất hiện trong các sinh vật sống ở các cấp độ phân loại khác nhau; trong đó phần chính của cytochromes b có trong 95,9% ở động vật, trong đó 99,2% ở sinh vật nhân chuẩn và 79,7% ở động vật có vú (43). Protein *cytochrome b* được mã hóa từ 1048 phân tử trong số 1689 phân tử, số lượng gốc axit amin trong *cytochrome b* có thể thay đổi từ 300 đến 563

axit amin và được đặc trưng bởi nhiều chuỗi aa khác nhau (*dựa vào cơ sở dữ liệu Swiss-Prot, Zamyatin và cs*). Dù chúng ta biết rằng, các phân tử protein có cùng độ dài nhưng khác về trình tự aa, có thể có cùng chức năng, do đó, dù khác nhau về các thứ tự aa, thì chức năng của *cytochrome b* sẽ không khác nhau. *Cytochrome b* đóng vai trò tham gia vào quá trình truyền điện tử trong ty thể, có chức năng trong quá trình biến đổi thức ăn thành ATP, và chính đặc điểm cấu trúc đặc biệt của *cytochrome b* cho phép nó trở thành 1 protein xuyên màng (44).

Trình tự gene *cytochrome b* là một chỉ thị di truyền quan trọng, không chỉ giúp làm rõ các mối quan hệ phát sinh loài mà còn đóng góp đáng kể trong các nghiên cứu về cấu trúc quần thể, sự tiến hóa và bảo tồn linh trưởng. Nhờ tính linh hoạt, tốc độ tiến hóa trung bình, *cytb* vẫn tiếp tục là một công cụ thiết yếu trong di truyền học phân tử hiện đại. Trình tự gene *cytochrome b* (*cytb*) trong ADN ty thể đã được sử dụng rộng rãi trong nghiên cứu phát sinh loài ở các loài linh trưởng, nhờ khả năng cung cấp tín hiệu di truyền mạnh mẽ cho việc tái dựng quan hệ tiến hóa. Một nghiên cứu kinh điển của Yoder et al. (1996) đã sử dụng trình tự *cytb* để phân tích mối quan hệ phát sinh loài giữa các loài linh trưởng thuộc nhóm Strepsirrhini (gồm vượn cáo và cu li) (45). Kết quả cho thấy dữ liệu *cytb* hỗ trợ giả thuyết rằng các loài vượn cáo Madagascar (Malagasy lemurs) và các loài loriforms Á-Phi (Asian-African lorises) là những nhóm có mối quan hệ chị em chặt chẽ, cung cấp bằng chứng di truyền cho sự hình thành đơn ngành trong các nhóm này. Năm 1998; sự khác nhau trên trình tự *cytochrome b* giữa các loài linh trưởng ở các khu vực Châu Á (có cả Việt Nam) (Hình 1. 3) để phân tích mối quan hệ phát sinh loài, cho thấy khi Cựu Thế Giới chia thành hai phân họ, với Colobus (châu Phi) tách nhánh sớm nhất, trong khi *Rhinopithecus* và *Nasalis* tạo thành nhóm chị em với *Pygathrix*. Ngoài ra, ba loài *Voọc mũi hếch Bắc Bộ*, *R. roxellanae* và *R. bieti* có quan hệ gần gũi và nên được xếp vào cùng một phân chi, hỗ trợ giả thuyết rằng tổ tiên của khỉ colobine châu Á di cư từ châu Phi vào cuối Pliocene hoặc đầu Pleistocene (46).



Hình 1. 3. Sự khác nhau trên trình tự *cytochrome b* giữa các loài linh trưởng ở các khu vực Châu Á (có cả Việt Nam) và cây phát sinh loài dựa vào sự khác biệt trình tự này. (46)

Tiếp theo, Nascimento et al. (2005) đã tiến hành phân tích phát sinh loài và cấu trúc di truyền quần thể ở hai loài khỉ rú Nam Mỹ là *Alouatta caraya* và *Alouatta belzebul* thông qua dữ liệu trình tự gene *cytb*. Nghiên cứu cho thấy có sự chia sẻ các haplotype tương đồng giữa các quần thể cách xa nhau về mặt địa lý. Điều này được lý giải là do sự tồn tại của các dạng đa hình tổ tiên vẫn được duy trì trong quần thể hiện tại, phản ánh những lịch sử tiến hóa lâu dài và phức tạp trong dòng giống của loài.

Trong vòng một thập kỷ gần đây, *cytb* tiếp tục là chỉ thị di truyền quan trọng trong nghiên cứu phát sinh loài linh trưởng. Pozzi và cs đã sử dụng *cytb* cùng với các chỉ thị khác để làm rõ hơn cây phát sinh loài của các loài linh trưởng Strepsirrhini, từ

đó củng cố các giả thuyết về đa dạng sinh học và tiến hóa độc lập trên đảo Madagascar (30). Bên cạnh đó, Nater và cs đã kết hợp dữ liệu *cytb* với toàn bộ hệ gene để xác nhận sự phân tách loài giữa hai phân loài đười ươi *Pongo tapanuliensis* và *Pongo abelii*, đánh dấu sự phát hiện loài đười ươi thứ ba và mới nhất (47). Gần đây hơn, Reis đã sử dụng *cytb* cùng nhiều gene ti thể để hiệu chỉnh thời gian phân kỳ giữa các loài linh trưởng, giúp cải thiện độ chính xác trong phân tích niên đại phát sinh loài (48).

Bên cạnh vai trò trong việc xác định mối quan hệ phát sinh loài, gene *cytb* còn được sử dụng trong các nghiên cứu quần thể nhằm đánh giá mức độ đa dạng di truyền, cấu trúc quần thể và các mô hình lịch sử di cư. Ví dụ, các nghiên cứu ở khỉ mũ (*Sapajus*) và khỉ nhện (*Ateles*) đã sử dụng *cytb* để xác định các dòng di truyền khác biệt giữa các quần thể phân bố tại các khu vực sinh thái khác nhau của rừng Amazon và Trung Mỹ. Điều này giúp tái dựng lịch sử phân bố của loài và định hướng các chiến lược bảo tồn (49).

Gene *cytb* cũng rất hữu ích trong việc phát hiện loài mới hoặc loài có quan hệ gần. Nhiều trường hợp trước đây được xem là cùng một loài, sau khi phân tích *cytb* đã được phân tách thành các loài riêng biệt do có sự khác biệt rõ ràng về di truyền. Điều này đặc biệt quan trọng trong các vùng có mức độ đa dạng cao như Madagascar, Amazon, hay Đông Nam Á – nơi có nhiều loài linh trưởng chưa được nhận diện đầy đủ. *Cytb* đã đóng vai trò trung tâm trong việc làm sáng tỏ các phức hệ loài (species complexes) trong họ *Lemuridae*, *Callitrichidae*, và *Cercopithecidae*.

Gene *D-loop*

D-loop, hay còn gọi là vùng kiểm soát (control region), là phần không mã hóa dài nhất của hệ gene ty thể. Dù không trực tiếp mã hóa protein, vùng này có vai trò điều hòa trong sao chép và phiên mã ADN ty thể. *D-loop* có tốc độ đột biến cao, đặc biệt trong các loài có tỷ lệ sinh sản nhanh, điều này làm cho nó trở thành công cụ lý tưởng trong nghiên cứu quần thể và mức độ cá thể.

Dựa trên giả thuyết được Clayton đề xuất từ năm 1982 và vẫn được công nhận đến nay, vùng *D-loop* trong ADN ty thể đóng vai trò trung gian trong quá trình sao chép nặng, theo mô hình sao chép dịch chuyển sợi (strand-displacement model) (50). Trong mô hình này, sự tổng hợp của sợi ADN mới bắt đầu từ các đoạn RNA mồi có nguồn gốc từ promoter của sợi nhẹ (Light Strand Promoter – LSP), khởi phát tại vị trí OH trên sợi nặng (H) và thường kết thúc ở vùng gene Pro-*tRNA*. Tên gọi “*D-*

loop” bắt nguồn từ cấu trúc đặc trưng của nó gồm ba sợi: một sợi con mới tổng hợp thay thế tạm thời sợi mẹ, tạo nên một vòng lặp chuyển vị (*displacement loop*). *D-loop* là vùng không mã hóa dài khoảng 1 kilobase trong tổng số khoảng 16 kilobase của hệ gene ty thể người, đóng vai trò là vùng điều hòa chính cho sự sao chép và phiên mã. Các nghiên cứu cho thấy trình tự *D-loop* có khả năng hình thành cấu trúc thứ cấp dạng thân-vòng giống như *tRNA*, và thường có sự chèn hoặc mất đoạn làm thay đổi kích thước của vùng này giữa các loài (51,52). Đặc biệt, *D-loop* chứa nhiều trình tự lặp lại có độ dài và số lượng biến đổi, góp phần tạo ra sự khác biệt về kích thước hệ gene ty thể giữa các loài mà không liên quan đến số lượng gene mã hóa. Do đó, *D-loop*, còn được gọi là vùng kiểm soát (*control region*), là một đặc điểm tiến hóa linh hoạt của hệ gene ty thể và thường được sử dụng trong các nghiên cứu về di truyền quần thể và tiến hóa loài (51–53).

Sự biến thiên di truyền cao trong *D-loop* phản ánh các quá trình lịch sử như phân tán, nút thắt cổ chai di truyền (*bottleneck*), hoặc tái tổ hợp di cư. Ví dụ, nghiên cứu của Vilà trên chó sói và chó nhà cho thấy rằng *D-loop* giúp làm rõ nguồn gốc đơn thuần của chó từ sói xám (54). Ngoài ra, vùng này cũng được ứng dụng rộng rãi trong nghiên cứu động vật hoang dã, giúp truy vết nguồn gốc cá thể như trong nghiên cứu của (55) về loài thằn lằn ở Úc. Tuy nhiên, tốc độ tiến hóa cao cũng gây ra sự tích tụ đột biến trung tính hoặc có thể gây nhầm lẫn trong phân tích các mối quan hệ sâu xa do hiện tượng bão hòa đột biến. Do đó, *D-loop* thường được sử dụng kết hợp với các gene mã hóa khác để tăng độ chính xác của phân tích phát sinh loài (56).

Trong vòng 10 năm trở lại đây, nhiều nghiên cứu đã khai thác vùng *D-loop* của ADN ty thể như một chỉ thị phân tử hiệu quả trong việc phân tích đa dạng di truyền và tiến hóa ở động vật. Ở dê Galla tại Kenya, phân tích 600 bp của *D-loop* đã ghi nhận 90 vị trí biến dị và 68 haplotype, cho thấy mức độ đa dạng di truyền rất cao, đồng thời AMOVA cũng chỉ ra rằng phần lớn biến dị tồn tại trong quần thể (57). Nghiên cứu ở bò bản địa Thổ Nhĩ Kỳ cũng xác định được 31 haplotype từ 62 mẫu cá thể, phản ánh sự tồn tại của nhiều haplogroup và khả năng lai giữa các giống bò taurine và indicine (58). Đối với bò Yak Bắc Á, phân tích toàn bộ ADN ty thể với hơn 500 mẫu đã xác định ba nhánh di truyền lớn với thời điểm tách nhánh khoảng 0,5 triệu năm trước, củng cố vai trò của *D-loop* trong phân tích phát sinh loài (59). Về voi châu Á, tổng quan từ nhiều quốc gia cho thấy sự tồn tại của hai clade lớn (α và β), có khả năng phân hoá khoảng 1,5 triệu năm trước và không phân bố theo địa lý cụ thể, điều này cho thấy mức độ di cư và pha trộn gene mạnh (60). Ở Việt Nam, nghiên cứu trên năm giống vịt nội ghi nhận 17 haplotype với đa dạng nucleotide khá

cao, phù hợp cho nghiên cứu phát sinh loài phân tử và bảo tồn nguồn gene (61). Những phát hiện này cho thấy vùng *D-loop* không chỉ giúp giải thích rõ hơn về cấu trúc di truyền và sự đa dạng trong quần thể mà còn góp phần làm sáng tỏ các mối quan hệ phát sinh loài và lịch sử tiến hoá của nhiều loài động vật.

Gene 16S rRNA

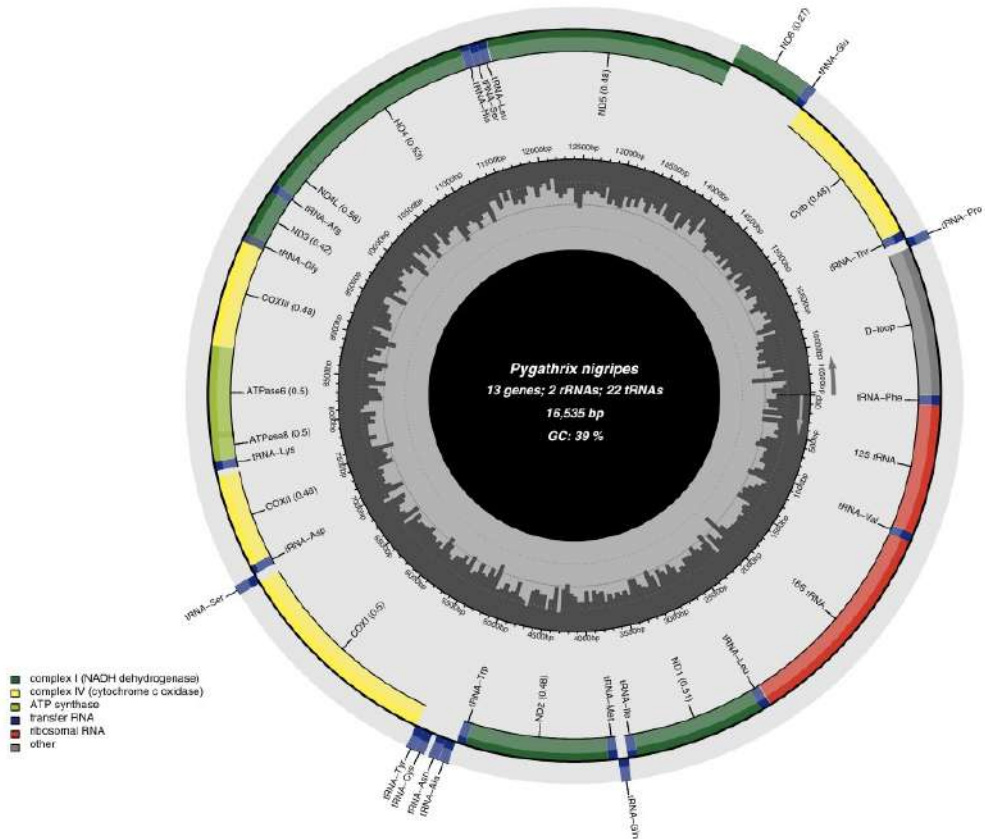
Một trong những trình tự gene trên ADN ty thể cũng thường được sử dụng trong nghiên cứu phát sinh loài là trình tự gene *16S rRNA*. Trình tự này thuộc tiểu đơn vị nhỏ của ribosome ty thể và có mặt ở hầu hết các sinh vật sống, do đó là chỉ thị phân tử hữu ích trong các phân tích tiến hóa. Trong một nghiên cứu tiêu biểu, Noda và cs (2001) đã giải trình tự gene *16S rRNA* của ADN ty thể từ 35 cá thể tinh tinh, 13 bonobo, 10 khỉ đột, 16 đười ươi và 23 cá thể vượn. Kết hợp dữ liệu thu được với các trình tự đã công bố, họ phát hiện rằng mức độ đa dạng di truyền ở các loài vượn người cao hơn ở người. Phân tích cây phát sinh loài từ dữ liệu này cũng cho thấy hai phân loài đười ươi là Sumatra và Bornean được phân tách rõ rệt, trong đó đười ươi Sumatra có đa dạng nucleotide cao hơn đáng kể. Một số loài vượn không hình thành các cụm đơn ngành, cho thấy sự biến thiên di truyền trong loài có thể tương đương với mức biến thiên giữa các loài trong chi *Hylobates* (39).

Phân tử *16S rRNA* có cấu trúc thứ cấp phức tạp gồm bốn domain, hình thành bởi các đoạn cặp base không hoàn toàn và tạo ra những đoạn phồng (loops) đặc trưng. Cấu trúc này cho phép phân tử ổn định và có thể tồn tại qua thời gian tiến hóa dài. Trình tự gene *16S* chứa các vùng bảo tồn cao (conserved) được duy trì ở nhiều loài và các vùng biến đổi (variable) phản ánh sự khác biệt về mặt tiến hóa giữa các loài hoặc dòng vi sinh vật. Có ít nhất tám vùng biến đổi chính (V1–V8), mỗi vùng dài khoảng 18–20 bp, xen kẽ với các vùng bán bảo tồn (semi-conserved) (62).

Gần đây, công nghệ giải trình tự thế hệ mới (NGS) đã cho phép khuếch đại và phân tích trình tự *16S rRNA* trên quy mô lớn. Các nghiên cứu sử dụng phương pháp phân cụm theo đơn vị phân loại vận hành (OTU) hoặc các phương pháp giải trình tự amplicon theo đơn phân tử (ASV) đã làm rõ hơn sự đa dạng di truyền và phân loại vi sinh vật trong nhiều hệ sinh thái (63,64).

Tại Việt Nam, nghiên cứu về ADN ty thể bắt đầu phát triển mạnh từ đầu những năm 2000 với nhiều công trình giải trình tự các đoạn ADN ty thể ở người, động vật bản địa và các loài có nguy cơ tuyệt chủng. Ví dụ, nhiều nghiên cứu đã ứng dụng gene COI và *cytb* để nhận diện loài gà rừng, rắn, cá, và các động vật có vú nhỏ trong

chương trình bảo tồn và phân loại học. Gần đây, các nhà khoa học cũng thực hiện các nghiên cứu ADN ty thể toàn bộ ở người Việt để hiểu rõ cấu trúc di truyền dân cư và mối quan hệ với các quần thể Đông Á khác (65). Trong lĩnh vực bảo tồn, ADN ty thể đóng vai trò quan trọng giúp xác định loài, tránh lai tạp và lập kế hoạch tái thả hiệu quả. ADN ty thể được ứng dụng rộng rãi trong nghiên cứu phát sinh loài và bảo tồn các loài linh trưởng, đặc biệt là các loài nguy cấp tại khu vực Đông Nam Á – trong đó có Việt Nam. Trong hơn hai thập kỷ qua, nghiên cứu về ADN ty thể ở linh trưởng Việt Nam đã đạt được nhiều tiến triển đáng kể. Năm 2007, Roos và cộng sự đã phân tích hệ thống phân loại của linh trưởng ở Việt Nam và Đông Nam Á dựa trên gene ty thể, mở đường cho các phân tích sau này (66). Hệ thống phân loại linh trưởng Việt Nam cũng được cập nhật nhiều lần giữa 2007–2014 dựa trên phân tích ADN ty thể của các chi như *Pygathrix*, *Trachypithecus* và *Nomascus* (67). Năm 2010, Thịnh cùng nhóm tại Viện Nghiên cứu và Cứu hộ linh trưởng (EPRC) Cúc Phương chính thức mô tả loài mới *Nomascus annamensis* bằng cách sử dụng dữ liệu ADN ty thể *cytochrome b* kết hợp phân tích hình thái (68). Năm 2019, dựa trên dữ liệu ADN ty thể cứu hộ từ Việt Nam, các nghiên cứu đã chứng minh rằng loài *Trachypithecus crepusculus* có nguồn gốc lai (35). Nghiên cứu đáng chú ý khác là năm 2022, Roos và cộng sự đã giải trình tự toàn bộ ADN ty thể của loài *Nomascus siki*, tiết lộ sự không chính xác trong ghi nhận địa lý mẫu vật và nhấn mạnh vai trò của dữ liệu ADN ty thể trong phân loại chính xác hơn (69). Ngoài ra, nghiên cứu về *Chà vá chân nâu* ở Quảng Bình – mặc dù chưa công bố trên tạp chí quốc tế – đã thu thập mẫu *cytb* để đánh giá hiện trạng quần thể cho kế hoạch thiết lập khu bảo tồn.



Hình 1. 4. ADN ty thể của *Chà vá* (70)

1.4. Mục tiêu nghiên cứu

Hiện nay, dữ liệu về toàn bộ hệ gene ty thể của nhiều loài linh trưởng tại Việt Nam vẫn còn hạn chế, thậm chí thiếu hụt đối với một số nhóm. Điều này gây khó khăn trong việc xác định chính xác mối quan hệ giữa các phân loài hoặc quần thể địa phương, cũng như làm giảm độ tin cậy của các ước tính về thời gian phân tách trong lịch sử tiến hóa của chúng. Nghiên cứu của Yoder (45) đã chứng minh rằng trình tự *cytochrome b* có thể cung cấp tín hiệu phát sinh loài rõ ràng cho các nhóm linh trưởng Strepsirrhini, trong khi nghiên cứu của Noda (39) chỉ ra rằng gene *16S rRNA* có tính bảo tồn cao nhưng vẫn đủ biến đổi để phân biệt các loài trong chi *Hylobates*. *D-loop*, *16S rRNA* và *cytochrome b* là những chỉ thị phân tử quan trọng giúp đánh giá mức độ tương đồng – khác biệt di truyền giữa các loài, qua đó hỗ trợ tái dựng cây phát sinh loài một cách tin cậy. Tuy nhiên, cần lưu ý rằng việc phân tích đơn lẻ từng chỉ thị vẫn có những giới hạn nhất định. Trong những năm gần đây, các nghiên cứu dựa trên toàn bộ hệ gene ty thể được xem là có độ phân giải cao hơn và phản ánh chính xác hơn mối quan hệ tiến hóa. Dù vậy, số lượng nghiên cứu công bố theo hướng này

vẫn còn hạn chế, nên việc mở rộng dữ liệu hệ gene ty thể sẽ đặc biệt quan trọng cho các phân tích phát sinh loài trong tương lai.

Mục tiêu tổng quát:

Giải trình tự và phân tích đặc điểm hệ gene ty thể hoàn chỉnh của một số loài linh trưởng phân bố tại khu vực Tây Nguyên Việt Nam, từ đó so sánh sai khác trình tự và xác định mối quan hệ phát sinh loài của các loài nghiên cứu trong bối cảnh so sánh với các dữ liệu đã công bố trên thế giới.

Mục tiêu cụ thể:

Phân tích đặc điểm cấu trúc, thành phần nucleotide và tổ chức gene của hệ gene ty thể hoàn chỉnh ở một số loài linh trưởng Tây Nguyên Việt Nam.

So sánh sai khác trình tự di truyền ty thể giữa các cá thể nghiên cứu và các trình tự tương đồng đã được công bố, phục vụ cho việc đánh giá quan hệ phát sinh loài.

Tái dựng cây phát sinh loài dựa trên các marker ty thể và toàn bộ hệ gene ty thể nhằm làm rõ vị trí phân loại và quan hệ tiến hóa của các loài linh trưởng nghiên cứu.

Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là các mẫu tươi của các loài thú linh trưởng hiện đang lưu giữ tại Bảo tàng Sinh học – Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên. Các loài này đã được định danh về mặt hình thái (Hình 2) bởi GS. Đặng Huy Huỳnh từ những năm 1990 lưu trữ ở dạng tiêu bản tại bảo tàng và 1 phần mẫu mô tươi được cắt và lưu trữ trong điều kiện -80°C bao gồm các tiêu bản như (Bảng 2. 1).

Bảng 2. 1. Một số loài thú linh trưởng được sử dụng trong nghiên cứu.

STT	Tên thường gọi	Tên khoa học	Số lượng
1	Chà vá chân đen	<i>Pygathrix nigripes</i>	1
2	Khỉ mặt đỏ	<i>Macaca arctoides</i>	1
3	Chà vá chân nâu	<i>Pygathrix nemaeus</i>	1
4	Khỉ vàng	<i>Macaca mulatta</i>	1
5	Chà vá chân xám	<i>Pygathrix cinerea</i>	1



Hình 2. Loài thú linh trưởng được lưu trữ trong bảo tàng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Tách chiết ADN và giải trình tự

Mẫu mô các cá thể linh trưởng khu vực Tây Nguyên Việt Nam lưu trữ trong bảo tàng lưu trữ mẫu tươi tại Bảo tàng Sinh học – Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên, sau khi được sự cho phép của cơ quan có thẩm quyền đã được thu nhận được rửa sạch bằng dung dịch muối sinh lý 0,9%. Sau đó, mẫu mô được trữ lạnh trong eppendorf 1,5ml và chuyển nhanh về phòng thí nghiệm để thực hiện thí nghiệm.

Đầu tiên, ADN tổng số được chiết xuất từ mô của các cá thể linh trưởng bằng bộ kit QIAamp ADN Mini (Qiagene) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Bộ kit hoạt

động dựa trên nguyên lý công nghệ màng silica đã được thương mại hóa rộng rãi. Quy trình chuẩn của bộ kit không yêu cầu các bước đặc biệt để tách riêng ADN ty thể, do đó, tổng lượng ADN (cả hai loại ADN nhân và ADN ty thể) được thu nhận.

Thu nhận ADN tổng bao gồm các bước:

Ly giải tế bào: Các đệm ly giải mạnh (như Buffer AL) và enzyme Proteinase K được sử dụng để phá vỡ màng tế bào và màng nhân, giải phóng tất cả các thành phần bên trong, bao gồm cả ADN hệ gene và ADN ty thể.

Gắn kết ADN: Trong điều kiện đệm có nồng độ muối và pH thích hợp, tất cả các phân tử ADN (kích thước lớn hay nhỏ) sẽ gắn kết một cách chọn lọc và hiệu quả với màng silica trong cột ly tâm.

Rửa: Các bước rửa với Buffer AW1 và AW2 loại bỏ tạp chất, protein và các chất ức chế PCR khác (ví dụ như cation hóa trị hai) mà không làm ảnh hưởng đến sự gắn kết của ADN trên màng.

Rửa giải: ADN tinh sạch được rửa giải khỏi màng silica bằng đệm elution có nồng độ muối thấp (Buffer AE) hoặc nước cất.

Thu nhận ADN ty thể (sử dụng REPLI-g Mitochondrial ADN Kit) bao gồm các bước

Chuẩn bị và biến tính ADN: Cho 1–10 μL ADN tổng số đã tinh sạch bằng QIAamp DNA Mini Kit vào ống phản ứng. Bổ sung nước không chứa nuclease để điều chỉnh thể tích cuối cùng lên 20 μL .

ADN tổng số được tách chiết bằng QIAamp DNA Mini Kit. Sau đó, ADN ty thể được làm giàu từ ADN tổng số bằng REPLI-g Mitochondrial DNA Kit dựa trên nguyên lý khuếch đại đẳng nhiệt Multiple Displacement Amplification, nhằm khuếch đại chọn lọc toàn bộ hệ gene ty thể phục vụ giải trình tự.

Chuẩn bị hỗn hợp khuếch đại (Master Mix): cho 27 μL REPLI-g mt Reaction Buffer vào 2 μL bộ mt Primer Mix (cho linh trường); sau đó trộn đều hỗn hợp này.

Trộn mẫu và ủ nhiệt: Thêm 29 μL hỗn hợp khuếch đại vào ống chứa 20 μL ADN mẫu.

Biến tính: Ủ mẫu trong 5 phút ở 75°C.

Làm nguội: Nhanh chóng làm nguội về nhiệt độ phòng (15–25°C).

Phản ứng khuếch đại (Amplification)

Thêm Enzyme: Thêm 1 μL REPLI-g Midi ADN Polymerase (giữ lạnh trên đá) vào ống phản ứng. Trộn đều.

Khuếch đại: Ủ mẫu trong 8 giờ ở 33°C . Phản ứng đẳng nhiệt này đã làm giàu ADN ty thể.

Bắt hoạt Enzyme: Bắt hoạt enzyme bằng cách ủ mẫu trong 3 phút ở 65°C .

Kit này sử dụng công nghệ khuếch đại gen tổng thể bằng dịch chuyển chuỗi đa điểm (MDA) có chọn lọc, sử dụng các cặp mồi chuyên biệt chỉ bám vào ADN ty thể.

Chất lượng mẫu ADN được đánh giá bằng một số phương pháp: đo nồng độ bằng phương pháp huỳnh quang (Qubit), đo tỷ lệ OD260/OD280 bằng phương pháp đo độ hấp thụ, và điện di trên gel agarose để xác định kích thước ADN. Chỉ những mẫu đáp ứng các tiêu chí về chất lượng (nồng độ $\geq 2 \text{ ng}/\mu\text{L}$, lượng $\geq 90 \text{ ng}$, và OD260/OD280 ≥ 1.70) mới được xem là phù hợp cho các bước thí nghiệm giải trình tự toàn hệ gene bằng bộ kit NEBNext Ultra II DNA Library Prep Kit for Illumina. Các mẫu có kích thước DNA $< 1000 \text{ bp}$ bị loại bỏ.

Sau đó, thư viện giải trình tự toàn hệ gene được chuẩn bị bằng bộ kit NEBNext Ultra II DNA Library Prep Kit for Illumina (New England Biolabs) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Nồng độ thư viện được xác định bằng phương pháp huỳnh quang và kích thước trung bình của thư viện được xác định bằng máy Bioanalyzer (Agilent) theo hướng dẫn đánh giá thư viện của Illumina. Các mẫu được xem là phù hợp để giải trình tự khi nồng độ $\geq 0.50 \text{ ng}/\mu\text{L}$ (đối với kích thước gene $< 1 \text{ Gb}$) hoặc $\geq 2 \text{ ng}/\mu\text{L}$ (đối với kích thước gene $> 1 \text{ Gb}$). Các thư viện sau đó được giải trình tự bằng phương pháp giải trình tự thế hệ mới 150 PE trên máy NovaSeq (Illumina) (71).

2.2.2. Phương pháp lắp ráp hệ gene ty thể

Hệ gene ty thể được lắp ráp lại *de novo* sử dụng công cụ GetOrganelle với các thông số tối ưu để lắp ráp *de novo* trình tự hệ gene mẫu và chất lượng được đánh giá bằng Quast. (Lắp ráp *de novo* là phương pháp xây dựng trình tự hệ gene từ các đoạn đọc ngắn hoặc dài mà không cần dựa trên trình tự hệ gene tham chiếu). Kết quả lắp ráp cho thấy chiều dài contig phù hợp với kích thước của hệ gene ty thể, khoảng 16 kb. Dữ liệu trình tự thô ban đầu được làm sạch bằng công cụ fastp v0.23.1 trước khi lắp ráp. Chất lượng lắp ráp được đánh giá bằng công cụ Quast v5.2.0 và sắp xếp các đoạn đọc khớp vào các contig đã lắp ráp. Việc này cho phép phát hiện các vùng có độ phủ thấp bất thường so với các vùng lân cận. Hệ gene ty thể được chú thích sử dụng hệ thống chú thích MITOS (phiên bản 6b33f95) với cơ sở dữ liệu ty thể chuyên

dụng, cũng như Mito WebServer và MitoFish. Mito Annotator được sử dụng để tạo bản đồ di truyền của toàn bộ hệ gene ty thể linh trưởng.

2.2.3. Phân tích tin sinh học

Phân tích sinh tin học bắt đầu bằng việc làm sạch dữ liệu trình tự thô bằng công cụ fastp v0.23.1 (72), loại bỏ các nucleotide có chất lượng kém, không đáng tin cậy hoặc không xác định (loại N) dựa trên điểm Phred (73). Sau khi làm sạch, các đoạn đọc được lắp ráp *de novo* bằng công cụ GetOrganelle (v1.7.7.0) (74). Dữ liệu trình tự thô, sau khi được tối ưu hóa, lắp ráp *de novo* và chú thích hệ gene, được lưu trữ ở định dạng tệp FASTQ, chứa thông tin đọc và trình tự cùng với điểm chất lượng tương ứng. Chất lượng lắp ráp *de novo* được đánh giá bằng công cụ Quast v5.2.0 và sắp xếp cục bộ các đoạn đọc vào các contig đã lắp ráp (73) và căn chỉnh cục bộ của các đoạn đọc lên các contig đã được lắp ráp. Điều này cho phép phát hiện các vùng có giá trị độ phủ sâu bất thường thấp so với các vùng lân cận, điều này đã được ghi nhận trong kết quả lắp ráp. Lắp ráp được chú thích bằng hệ thống chú thích MITOS (phiên bản 6b33f95) (75) với một cơ sở dữ liệu ty thể chuyên biệt.

Gene ty thể được chú thích bằng Mito WebServer phiên bản 2.1.9 (75) và Mito Fish phiên bản 4.03 (76). Mito Annotator phiên bản 4.03 (76) đã được áp dụng để tạo ra một bản đồ gene của toàn bộ hệ gene ty thể linh trưởng. Trình tự hệ gene ty thể được thực hiện dựa trên các tiêu chí: (i) contig thu được có dạng vòng và kích thước phù hợp với hệ gene ty thể của linh trưởng; (ii) có đầy đủ bộ gene đặc trưng của mtDNA động vật có xương sống, gồm 13 PCGs, 22 tRNA và 2 rRNA; (iii) trật tự gene và hướng phiên mã tương đồng với các hệ gene ty thể tham chiếu đã công bố; (iv) các gene mã hóa protein có khung đọc mở phù hợp khi dịch mã bằng bảng mã di truyền ty thể động vật có xương sống; (v) không ghi nhận các stop codon bất thường hoặc đột biến lệch khung lớn trong các gene mã hóa protein; (vi) trình tự có mức tương đồng cao với các hệ gene ty thể của các loài gần gũi trên GenBank.

Thành phần axit amin và nucleotide đã được đánh giá và so sánh cho tất cả 55 hệ gene ty thể của loài linh trưởng bằng cách sử dụng MEGA 11: $AT\text{-skew} = (A - T)/(A + T)$ và $GC\text{-skew} = (G - C)/(G + C)$. Các chuỗi *t-RNA* đã được căn chỉnh với các gene của các loài tương tự. Bằng cách so sánh với các gene ty thể khác của *Pygathrix*, xác định PCGs, *rRNAs* và vùng giàu A+T bằng so sánh/chú giải. Giá trị Sử dụng Codon Đồng nghĩa Tương đối (RSCU) của toàn bộ hệ gene ty thể linh trưởng đã được tính toán bằng MEGA 11. RSCU cho biết tần suất tương đối của một codon nhất định so với các codon khác có thể mã hóa cho cùng một axit amin. Chỉ số này giúp nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình dịch mã, sự chọn lọc tự nhiên,

và các đặc điểm tiến hóa của gene. Cấu trúc thứ cấp của các dự đoán *t-RNA* đã được xác định bằng phần mềm *tRNAscan-SE* phiên bản 2.0 (77) và *Mitos WebServer*(75).

Phân tích các gene mã hóa protein và chức năng của chúng

Các gene mã hóa protein trong hệ gene ty thể rất cần thiết cho nhiều chức năng tế bào, chủ yếu là sản xuất năng lượng thông qua con đường phosphoryl hóa oxy hóa. Ở linh trưởng, những gene này bao gồm các gene mã hóa cho các tiểu đơn vị của NADH dehydrogenase (ND), cytochrome c oxidase (COX) và ATP synthase, tất cả đều quan trọng cho quá trình tổng hợp ATP. Những biến thể trong các gene này có thể ảnh hưởng đến hiệu quả chuyển hóa và sức khỏe tổng thể, làm cho chúng trở nên quan trọng trong việc hiểu các thích nghi của loài, đặc biệt là đối với các áp lực môi trường (78).

Phân tích tỷ lệ A-T trong hệ gene ty thể

Sự phong phú tương đối của adenine và thymine (A-T) so với guanine và cytosine (G-C) trong các chuỗi gene đóng vai trò quan trọng trong các quá trình tiến hóa, ảnh hưởng đến các yếu tố như tỷ lệ đột biến và thiên lệch sử dụng codon. Những biến đổi trong nội dung A-T và G-C có thể ảnh hưởng đến hiệu suất dịch mã protein và khả năng thích ứng, định hình các quỹ đạo tiến hóa của loài theo các áp lực môi trường. Tỷ lệ A-T, đo lường sự phong phú tương đối của adenine (A) và thymine (T) trong hệ gene ty thể, là một chỉ số quan trọng về các áp lực tiến hóa. Các biến thể trong tỷ lệ A-T có thể phản ánh động lực quần thể lịch sử và sự thích ứng với các sinh cảnh sinh thái. Nghiên cứu cho thấy các loài có nội dung A-T cao có thể trải qua các áp lực chọn lọc khác nhau, ảnh hưởng đến quỹ đạo tiến hóa của chúng (Błażej *et al.*, 2017).

Phân tích Codon Usage Bias và ý nghĩa tiến hóa

Codon usage bias, đề cập đến việc ưu tiên sử dụng một số codon hơn những codon khác trong các gene mã hóa protein, bị ảnh hưởng bởi các yếu tố như áp lực đột biến và chọn lọc tự nhiên. Các nghiên cứu cho thấy sự thay thế nucleotide ưu tiên có thể có những tác động đáng kể đến hiệu suất dịch mã protein và sức khỏe tổng thể (Anderson *et al.*, 1981). Trong *Chà vá chân đen*, việc hiểu ưu tiên sử dụng codon là điều cần thiết để làm rõ cách mà thành phần gene ảnh hưởng đến sự thích ứng và thành công tiến hóa.

Nghiên cứu so sánh giữa các loài linh trưởng

Các nghiên cứu hệ gene so sánh giữa các loài *Chà vá* khác nhau sẽ giúp tiết lộ các mẫu hình khác biệt trong cấu trúc gene ty thể. Ví dụ, nghiên cứu của Liedigk (79)

cho thấy sự biến đổi trong AT-skew giữa các loài *Chà vá* tương quan với các sinh cảnh sinh thái và sự thích ứng tiến hóa. Những phân tích so sánh như vậy có thể cung cấp những cái nhìn quý giá về mối quan hệ tiến hóa giữa các loài trong chi này và phản ứng của chúng đối với các thách thức môi trường.

Hiểu biết về sự đa dạng gene được thể hiện qua các gene mã hóa protein ty thể là điều thiết yếu để phát triển các chiến lược bảo tồn có mục tiêu. Tran nhấn mạnh rằng các quần thể có sự đa dạng gene lớn hơn có khả năng thích ứng tốt hơn với các môi trường đang thay đổi, do đó giảm nguy cơ tuyệt chủng (80). Việc giám sát di truyền, kết hợp với dữ liệu hệ gene ty thể, nên trở thành một phân tích cực trong kế hoạch bảo tồn cho các loài đang bị đe dọa nghiêm trọng.

2.2.4. Cây phát sinh loài

Để xác định vị trí phát sinh loài của các mẫu nghiên cứu trong mối quan hệ với các loài linh trưởng khác, bộ dữ liệu gồm 13 gene mã hóa protein ty thể (PCGs) của 55 loài được căn chỉnh và phân tích bằng phương pháp Tối đa hóa khả năng — Maximum Likelihood (ML) trong phần mềm IQ-TREE phiên bản 2.2.2.6 (81). Mô hình thay thế phù hợp cho tập dữ liệu đã được chọn bằng ModelFinder phiên bản 2.2.0 (82) tích hợp trong IQ-TREE, dựa trên tiêu chí Bayesian Information Criterion (BIC). Hỗ trợ nhánh đã được thu được bằng cách sử dụng phương pháp bootstrap siêu nhanh (83). Bên cạnh đó, một số cây phát sinh loài cũng được xây dựng bằng phần mềm MEGA11 trên các bộ trình tự đã căn chỉnh. Đối với các gene mã hóa protein, cả ba vị trí codon gồm vị trí thứ nhất, thứ hai và thứ ba đều được đưa vào phân tích; các vùng không mã hóa được sử dụng khi phù hợp với cấu trúc của bộ dữ liệu phân tích.

Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả giải trình tự gene

3.1.1. Kết quả chuẩn bị thư viện trình tự toàn bộ hệ gene linh trưởng

Nồng độ ADN của các mẫu linh trưởng sau tách chiết dao động từ 2,67–9,94 ng/ μ L (≥ 2 ng/ μ L), với tổng lượng ADN thu được từ 133,5–497 ng (Bảng 3. 1). Tỷ lệ hấp thụ quang học OD260/OD280 nằm trong khoảng 1,70–1,96 (≥ 1.70), phù hợp với ngưỡng đánh giá ADN có độ tinh sạch tốt ($\approx 1,7$ – $2,0$) cho thấy tất cả các mẫu đều đạt tiêu chuẩn về chất lượng và số lượng để sử dụng cho xây dựng thư viện giải trình tự thế hệ mới (NGS). Trong số các mẫu phân tích, mẫu *Chà vá chân đen* có nồng độ và tổng lượng ADN cao nhất (9,94 ng/ μ L; 497 ng), trong khi mẫu *Khỉ vàng* có giá trị thấp nhất (2,67 ng/ μ L; 133,5 ng); tuy nhiên, tất cả các mẫu đều vượt ngưỡng tối thiểu cần thiết cho xây dựng thư viện giải trình tự thế hệ mới.

Bảng 3. 1. Nồng độ các mẫu ADN của linh trưởng sau tách chiết.

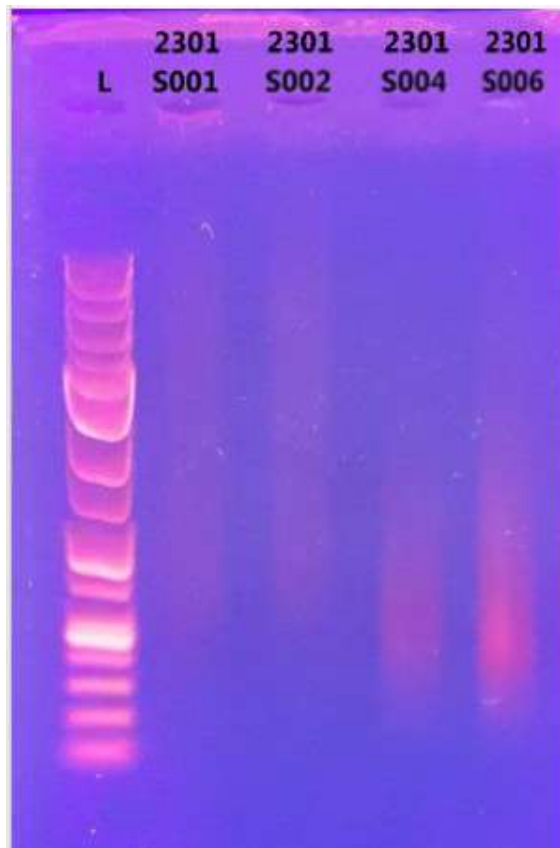
STT	Tên mẫu	Nồng độ ng/ μ l	OD260/280	Lượng (ng)
1	<i>Chà vá chân đen</i>	9.94	1.81	497.00
2	<i>Khỉ mặt đỏ</i>	5.82	1.72	291.00
3	<i>Chà vá chân nâu</i>	5.2	1.7	260.00
4	<i>Khỉ vàng</i>	2.67	1.96	133.50
5	<i>Chà vá chân xám</i>	6.42	1.72	321.00

Kết quả chuẩn bị thư viện giải trình tự toàn bộ hệ gene cho thấy nồng độ thư viện của các mẫu dao động trong khoảng từ 2,17 đến 57,00 ng/ μ L (Bảng 3. 2). Trong đó, các mẫu *Chà vá chân nâu*, *Khỉ mặt đỏ* và *Chà vá chân xám* có nồng độ thư viện cao, lần lượt đạt 57,00 ng/ μ L, 55,00 ng/ μ L và 51,00 ng/ μ L. Ngược lại, mẫu *Khỉ vàng* có nồng độ thư viện thấp nhất (2,17 ng/ μ L). Kích thước trung bình của các đoạn ADN trong thư viện nằm trong khoảng 412–554 bp. Mẫu *Khỉ mặt đỏ* có kích thước trung bình lớn nhất (554 bp), trong khi mẫu *Chà vá chân nâu* có kích thước trung bình nhỏ nhất (412 bp). Các giá trị này phù hợp với yêu cầu kỹ thuật của các nền tảng giải trình tự thế hệ mới, đảm bảo cho quá trình giải trình tự và phân tích dữ liệu ở các bước tiếp theo.

Bảng 3. 2. Kết quả chuẩn bị thư viện trình tự toàn bộ hệ gene linh trưởng (Whole genome sequencing).

STT	Tên mẫu	Nồng độ thư viện (ng/ul)	Kích thước trung bình (bp)
1	<i>Chà vá chân đen</i>	30.2	460
2	<i>Khỉ mặt đỏ</i>	55.00	554
3	<i>Chà vá chân nâu</i>	57.00	412
4	<i>Khỉ vàng</i>	2.17	522
5	<i>Chà vá chân xám</i>	51.00	513

Kết quả điện di sản phẩm PCR (Hình 3. 1) cho thấy các mẫu *Chà vá chân xám*, *Khỉ mặt đỏ*, *Chà vá chân nâu* và *Chà vá chân đen* đều xuất hiện các băng ADN rõ ràng đảm bảo cho các bước xử lý tiếp theo trong quy trình xây dựng thư viện

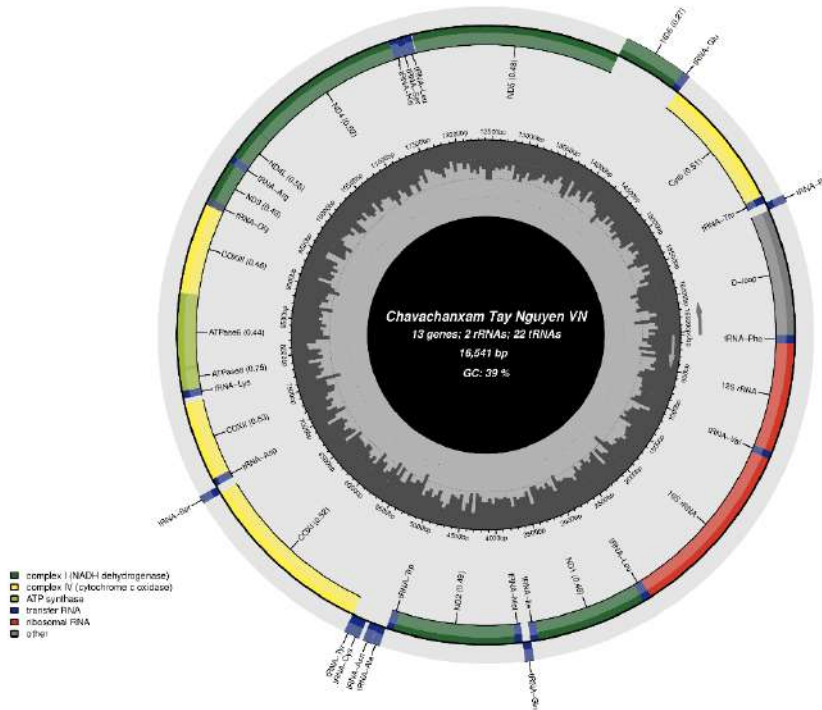


Hình 3. 1. Kết quả chạy PCR các mẫu linh trưởng; S001: *Chà vá chân xám*; S002: *Khỉ mặt đỏ*; S004: *Chà vá chân nâu*; S006: *Chà vá chân đen*.

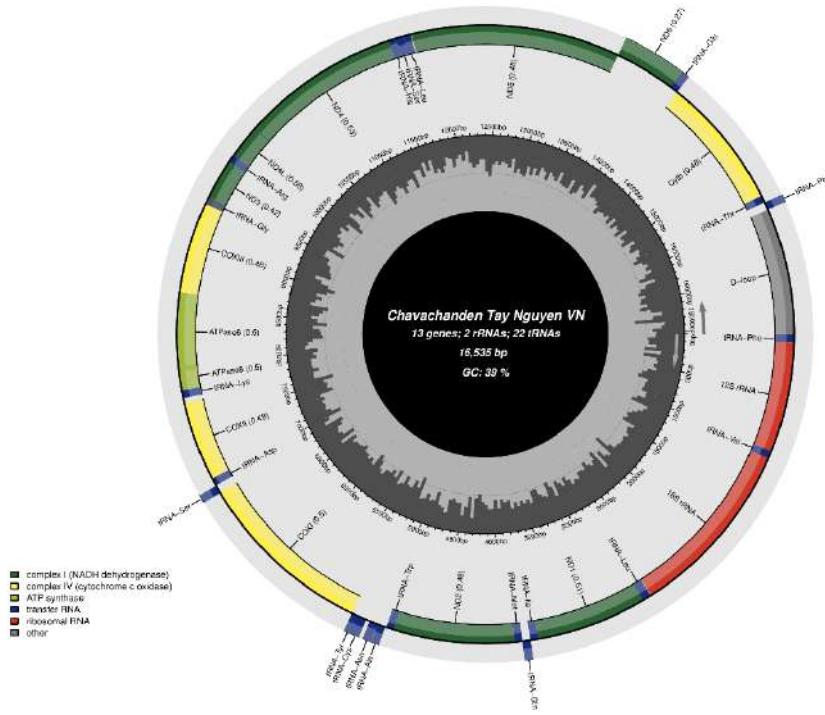
3.1.2. Kết quả giải trình tự toàn bộ hệ gene linh trưởng

Đã thành công giải trình tự toàn bộ hệ ty thể của 5 cá thể linh trưởng ở Tây Nguyên (Bảng S1, S2, S3, S4, S5). Gene ty thể dạng vòng được mô tả với các gene

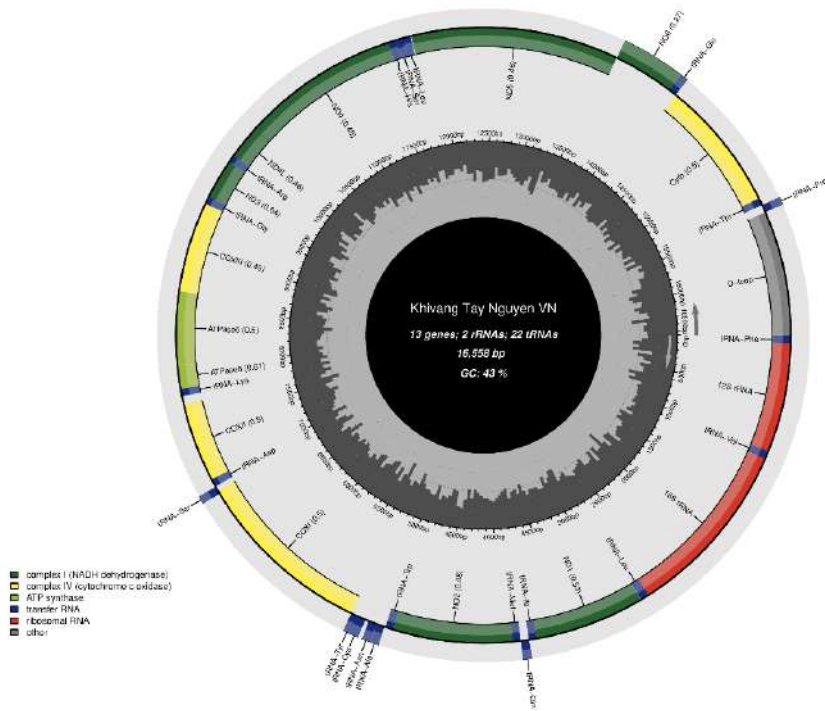
được biểu diễn bằng các khối màu. Vùng điều khiển được hiển thị bằng màu xám, các gene 16S (*rRNA* lớn) và 12S (*rRNA* nhỏ) được hiển thị bằng màu đỏ, 22 gene transfer RNA (*tRNA*) được ghi nhãn bằng màu xanh đậm, và 13 gene mã hóa protein (PCGs) được hiển thị bằng màu xanh lá cây và màu vàng. Các gene nằm trên sợi H được hiển thị trên vòng ngoài, trong khi các gene nằm trên sợi L được hiển thị trên vòng trong.



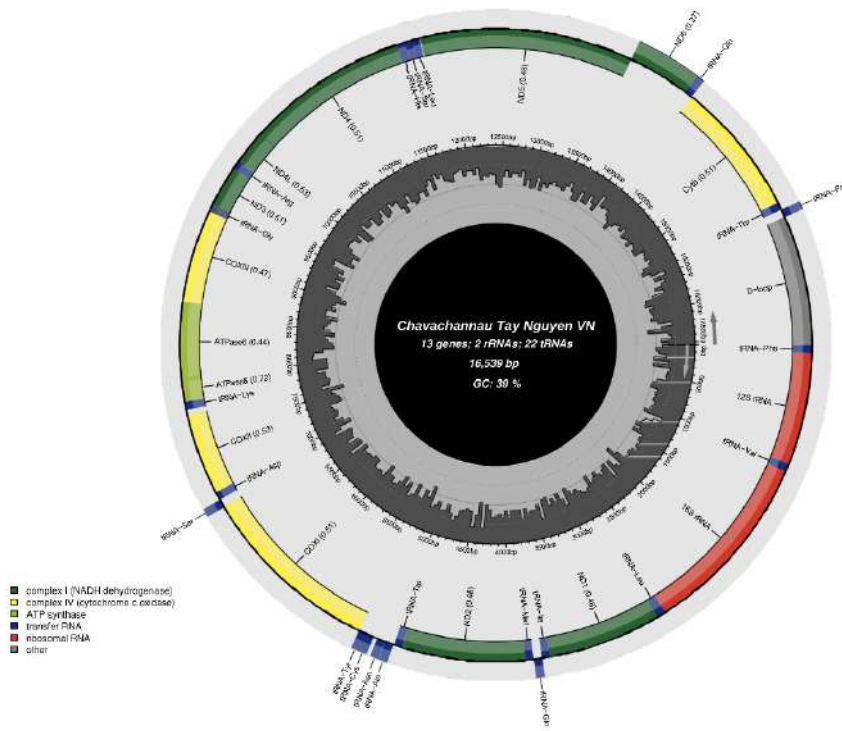
Hình 3. 2. Cấu trúc gene ty thể hoàn chỉnh của *Chà và chân xám* Tây Nguyên Việt Nam



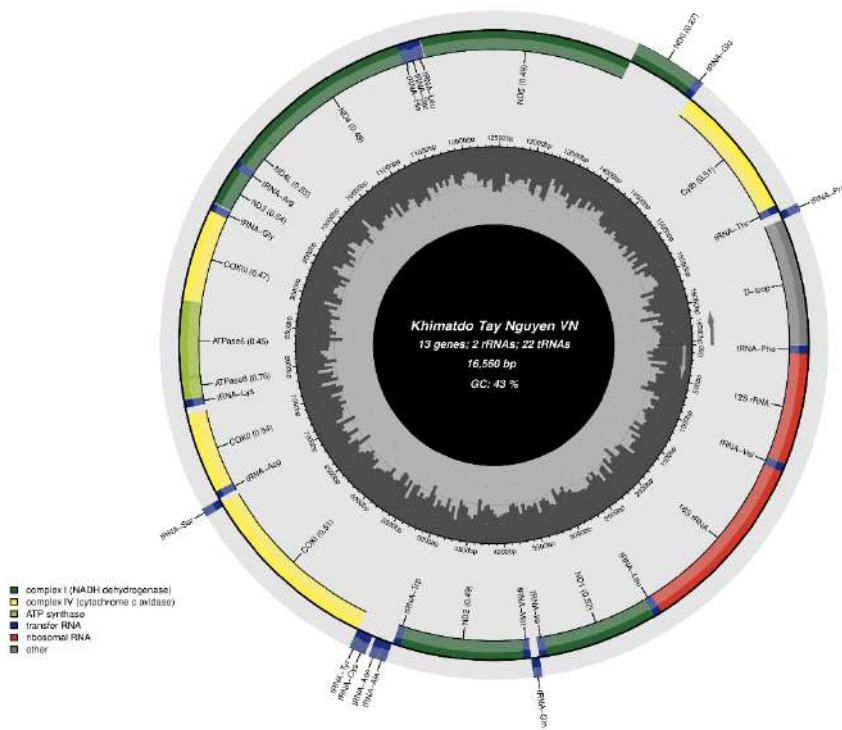
Hình 3. 3. Cấu trúc gene ty thể hoàn chỉnh của *Chà và chân đen* Tây Nguyên Việt Nam.



Hình 3. 4. Cấu trúc gene ty thể hoàn chỉnh của *Khỉ vàng* Tây Nguyên Việt Nam.



Hình 3. 5. Cấu trúc gene ty thể hoàn chỉnh của *Chà và chân nâu* Tây Nguyên Việt Nam.



Hình 3. 6. Cấu trúc gene ty thể hoàn chỉnh của *Khi mặt đỏ* Tây Nguyên Việt Nam.

3.2. Đặc điểm hệ gene ty thể hoàn chỉnh của một số cá thể linh trưởng

3.2.1 Đặc điểm hệ gene ty thể hoàn chỉnh của cá thể *Chà và chân xám* (*Pygathrix cinerea*) Tây Nguyên Việt Nam

Gene ty thể hoàn chỉnh của *Chà và chân xám* bao gồm 16,541 cặp base (bp) và chứa 37 gene điển hình có trong ty thể của loài linh trưởng (Hình 3. 2; Bảng 3. 3). Những gene này bao gồm một vùng điều khiển (*D-loop*); hai gene ribosomal RNA (rRNA: 12S rRNA và 16S rRNA); 22 gene transfer RNA (*tRNA*); và 13 gene mã hóa protein (PCGs). Phần lớn các gene nằm trên sợi H, ngoại trừ gene ND6 và tám gene *tRNA* (*tRNA*-Gln, *tRNA*-Ala, *tRNA*-Asn, *tRNA*-Cys, *tRNA*-Tyr, *tRNA*-Ser, *tRNA*-Glu) nằm trên sợi L. Gene ty thể của *Chà và chân xám* thể hiện các trình tự tổ chức gene tương tự như các loài *Chà và khác*. Tuy nhiên, đáng chú ý rằng chuỗi ADN ty thể của *Chà và chân xám* Tây Nguyên Việt Nam được phân tích trong nghiên cứu này có kích thước lớn hơn một chút (16,541 bp) so với các chuỗi đã được công bố trước đó, bao gồm *Chà và chân xám* (JQ_821842, 16,535 bp) và *Chà và chân đen* (MH_064177, 16,536 bp) (84).

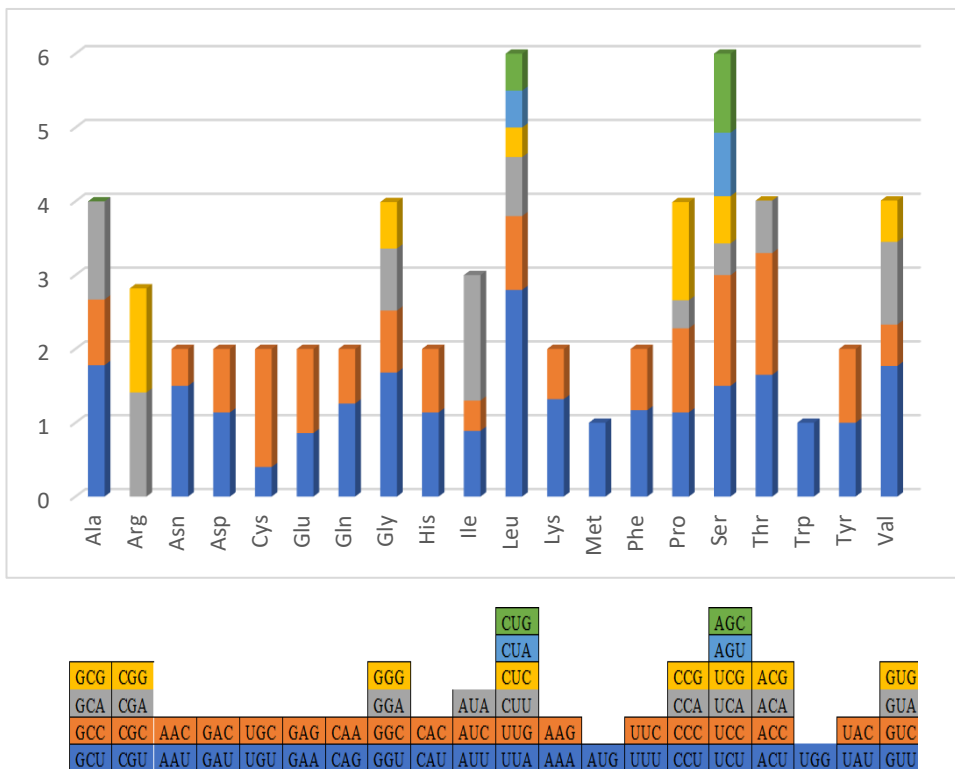
Bảng 3. 3. Vị trí và độ dài của 37 gene trong hệ gene ty thể hoàn chỉnh của cá thể *Chà và chân xám* Tây Nguyên Việt Nam .

Tên	Bắt đầu	Kết thúc	Mạch	Chiều dài	Overlap/ intergenic nucleotide
<i>trnF</i> (ttc)	137	207	+	71	0
<i>rrnS</i>	208	1156	+	949	0
<i>trnV</i> (gta)	1157	1222	+	66	-2
<i>rrnL</i>	1221	2785	+	1565	0
<i>trnL2</i> (tta)	2786	2860	+	75	2
<i>nad1</i>	2863	3813	+	951	4
<i>trnI</i> (atc)	3818	3887	+	70	-3
<i>trnQ</i> (caa)	3885	3956	-	72	0
<i>trnM</i> (atg)	3957	4024	+	68	0
<i>nad2</i>	4025	5062	+	1038	4
<i>trnW</i> (tga)	5067	5133	+	67	7

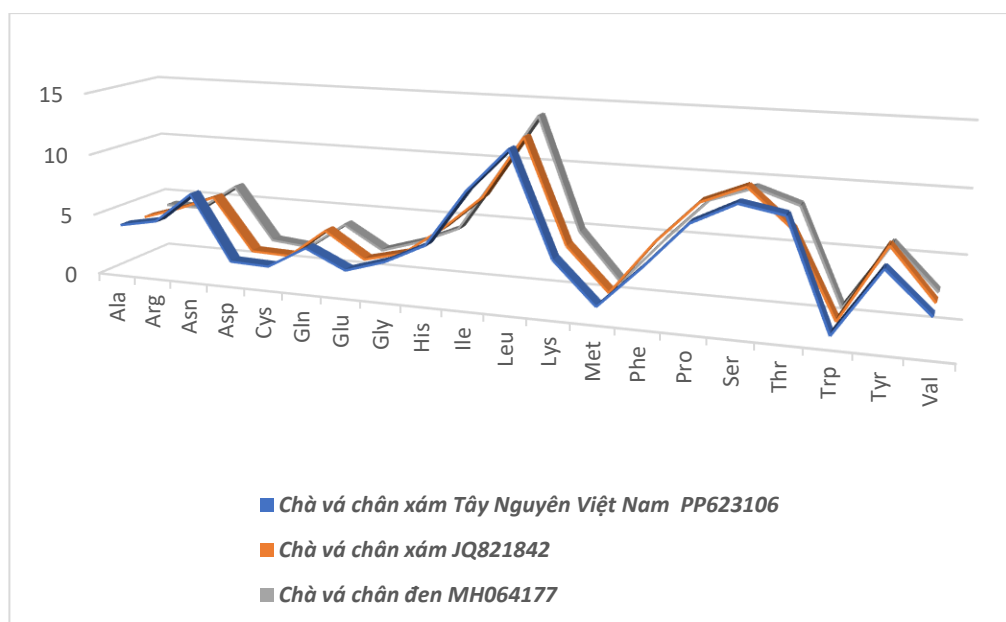
<i>tRNA(gca)</i>	5141	5209	-	69	1
<i>trnN(aac)</i>	5211	5283	-	73	32
<i>trnC(tgc)</i>	5316	5381	-	66	0
<i>trnY(tac)</i>	5382	5446	-	65	1
<i>cox1</i>	5448	6989	+	1542	0
<i>trnS2(tca)</i>	6990	7058	-	69	3
<i>trnD(gac)</i>	7062	7130	+	69	1
<i>cox2</i>	7132	7791	+	660	68
<i>trnK(aaa)</i>	7860	7927	+	68	1
<i>atp8</i>	7929	8111	+	183	-22
<i>atp6</i>	8090	8764	+	675	5
<i>cox3</i>	8770	9552	+	783	1
<i>trnG(gga)</i>	9554	9620	+	67	0
<i>nad3</i>	9621	9965	+	345	1
<i>trnR(cga)</i>	9967	10,031	+	65	0
<i>nad4l</i>	10,032	10,325	+	294	-4
<i>nad4</i>	10,322	11,689	+	1368	10
<i>trnH(cac)</i>	11,700	11,768	+	69	0
<i>trnS1(agc)</i>	11,769	11,827	+	59	0
<i>trnL1(cta)</i>	11,828	11,898	+	71	3
<i>nad5</i>	11,902	13,701	+	1800	15
<i>nad6</i>	13,717	14,235	-	519	0
<i>trnE(gaa)</i>	14,236	14,304	-	69	4
<i>Cytb</i>	14,309	15,442	+	1134	7
<i>trnT(aca)</i>	15,450	15,514	+	65	2
<i>trnP(cca)</i>	15,517	15,583	-	67	

3.2.1.1. Thành phần nucleotide

Gene ty thể của *Chà và chân xám* Tây Nguyên Việt Nam thể hiện hàm lượng A + T cao, chiếm 61,1%, tương tự như *Chà và chân xám khác* (61,1%) nhưng khác một chút so với các mẫu *Chà và chân nâu* (61,3%) và *Chà và chân đen* (61,4%) (Bảng 3. 4). Tương tự như các loài linh trưởng khác, hệ gene ty thể của *Chà và chân xám* thể hiện sự ưu tiên mạnh mẽ về A/T trong việc sử dụng codon (Hình 3. 7). Phân tích so sánh tần suất axit amin giữa ba cá thể *Chà và* cho thấy phân bố rất tương đồng, như được thể hiện qua hàm lượng A + T, AT-skew và GC-skew tương đương (Hình 3. 8). Các chỉ số này, thường được sử dụng để đánh giá mô hình thành phần nucleotide trong các gene ty thể, nhấn mạnh tính bảo tồn của tần suất axit amin trong chi *chà vá*. Các axit amin phổ biến nhất ở *Chà và chân xám* Tây Nguyên Việt Nam và các mẫu *Chà và chân xám khác* bao gồm *Ala* (3.9–4%), *Asp* (1.8%), *Cys* (1.7%), *Asn* (6.1–7.1%), *Gln* (3.5–4.1%), *Ile* (7.9–9.1%), *Phe* (4.4–5.4%), và *Thr* (7.3–9.1%).



Hình 3. 7. Mức sử dụng codon đồng nghĩa tương đối (Relative Synonymous Codon Usage - RSCU) của các gene mã hóa protein trong ty thể *Chà và chân xám*. Với giá trị RSCU lớn hơn 1 cho thấy codon đó được sử dụng nhiều hơn so với kỳ vọng, trong khi giá trị nhỏ hơn 1 cho thấy mức sử dụng thấp hơn.



Hình 3. 8. Tần suất phần trăm thành phần axit amin trong toàn bộ hệ gene ty thể của các cá thể chà vát: Cà vát chân xám PP_623106, Cà vát chân xám JQ_821842, và Cà vát chân đen MH_064177.

Bảng 3. 4. Các chỉ số thành phần nucleotide trong các vùng khác nhau của 22 gene ty thể đại diện cho loài linh trưởng.

Số gia nhập	Gene mã hóa protein (PCGs)	16S (rrnL)		12S (rrnS)					
		Độ dài	AT (%)	Độ dài (bp)	AT (%)	Độ dài (bp)	AT (%)		
<i>Cà vát chân xám Tây Nguyên</i>	PP_623106	16,541	61.1	11,292	61	1565	60	949	59.4
<i>Cà vát chân xám</i>	JQ_821842	16,535	61.1	11,292	61	1562	59.9	948	59.4
<i>Cà vát chân nâu</i>	JF_293096	16559	61.3	11,292	61	1564	59.7	948	59.4
<i>Cà vát chân đen</i>	MH_064177	16,534	61.4	11,304	62	1563	59.7	949	58.8
<i>Khỉ đuôi lợn</i>	KP_330231	17,050	57.2	11,310	57	1562	57.8	947	54.6
<i>Vọc sọc đầu đen</i>	KU_899140	16,548	61.9	11,277	62	1563	61	935	58.3
<i>Khỉ vùi</i>	DQ_355298	16,570	60.9	11,298	61	1568	59.9	949	57.5

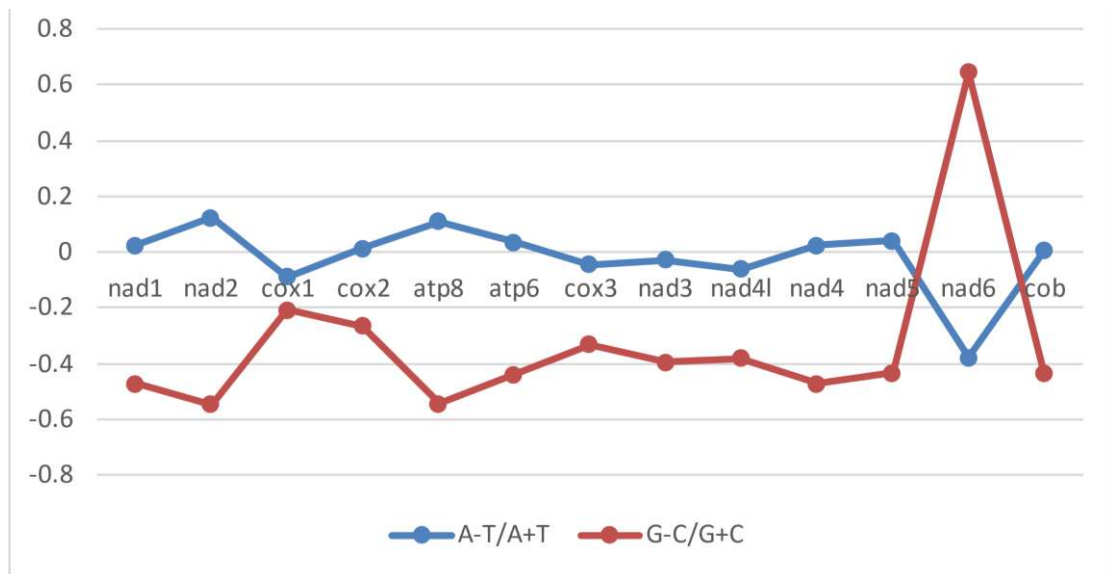
<i>Voọc mũi hếch vàng</i>	KM_504390	16,552	61.5	11,292	62	722	59.6	949	58.2
<i>Voọc mũi hếch xám</i>	JQ_821836	16,553	61.6	11,295	62	1571	60	949	58.3
<i>Voọc mũi hếch đen</i>	JQ_821839	16,550	61.5	11,298	62	1570	59.7	949	58
<i>Voọc mũi hếch Bắc Bộ</i>	JF_293093	16,552	61.6	11,289	62	1572	60.2	949	58.5
<i>Khỉ cộc</i>	KM_360179	16,559	56.7	11,313	56	1566	57.3	951	55.8
<i>Khỉ vàng</i>	JQ_821843	16,564	56.8	11,310	56	1560	57.4	947	55.6
<i>Khỉ đầu chó</i>	NC_001992	16,521	56.3	11,292	56	1572	57.7	947	55.1
<i>Khỉ tai mào trắng</i>	KM_588314	16,499	59.7	11,280	59	1555	60.5	953	56.6
<i>Homo sapiens neanderthalensis</i>	NC_011137	16,565	55.6	11,283	55	1560	57.2	954	54.4
<i>Homo sapiens neanderthalens</i>	OM_062614	16,565	55.7	11,283	55	1560	57.3	954	54.4
<i>Khỉ mũ trán trắng</i>	NC_002763	16,554	60.9	11,268	61	1556	60.2	958	57.6

3.2.1.2. Các gene mã hóa Protein

Gene ty thể của *Chà vá chân xám* chứa 13 gene mã hóa protein điển hình (PCGs), tổng chiều dài lên tới 11,292 bp và chiếm 68,27% tổng thể của gene ty thể. Mười hai trong số các gene này nằm trên sợi H (mạnh nặng), trong khi gene nad6 nằm trên sợi L (mạch nhẹ). Tổng hàm lượng A + T của các PCGs là 61,4%, dao động từ 58,7% (cox3) đến 68,9% (atp8). Tỷ lệ A + T này phù hợp với thành phần nucleotide tổng thể của gene ty thể *Chà vá chân xám*.

Các chỉ số AT-skew và GC-skew dùng để đánh giá độ biến thiên thành phần nucleotide trên các PCGs; phần lớn các PCGs của *Chà vá chân xám* cho thấy AT-skew dương (Bảng 3. 5), nghĩa là tần suất xuất hiện của axit amin adenine cao hơn thymine. Mô hình này cũng được quan sát ở các loài linh trưởng khác, trong đó phần lớn các PCGs có GC-skew âm, dao động từ -0.35 đến -0.42, cho thấy thành phần nucleotide thiên về C. Tuy nhiên, nad6 lại khác biệt với xu hướng này, thể hiện GC-skew dương (0.644) và AT-skew âm (-0.378). Mô hình này tương tự như những gì

được quan sát ở các mẫu *Chà và chân xám khác* (-0.387 và 0.648) và *Chà và chân đen* (-0.341 và 0.596) (Hình 3. 9).



Hình 3. 9. AT-skew và GC-skew trong 13 gene mã hóa protein gene ty thể *Chà và chân xám* PP_623106.

Bảng 3. 5. Giá trị GC-skew và AT-skew trong các gene mã hóa protein (PCGs).

	Số gia nhập	T(U)	C	A	G	Tổng	AT-Skew	GC-Skew
<i>Chà và chân xám</i> Tây Nguyên Việt Nam	PP_623106	30.9	26.1	30.5	12.5	868.6	-0.00605	-0.35278
<i>Chà và chân xám</i>	JQ_821842	30.9	26.1	30.5	12.5	868.6	-0.0062	-0.35277
<i>Chà và chân nâu</i>	JF_293096	30.9	26.1	30.5	12.5	868.6	-0.00678	-0.35155
<i>Chà và chân đen</i>	MH_064177	31.2	25.9	30.6	12.3	807.4	-0.01002	-0.35463
<i>Khỉ đuôi lợn</i>	KP_330231	26.5	30.9	30.2	12.3	870	0.065732	-0.42945
<i>Voọc sọc đầu đen</i>	KU_899140	31.5	25.4	30.9	12.2	867.5	-0.00896	-0.34998
<i>Khỉ vòi</i>	DQ_355298	30.5	26.7	30.6	12.2	869.10	0.001593	-0.37082
<i>Voọc mũi hếch vàng</i>	KM_504390	31.4	25.6	30.8	12.2	868.6	-0.01054	-0.35253
<i>Voọc mũi hếch xám</i>	JQ_821836	31.6	25.5	30.6	12.4	868.8	-0.01638	-0.34612
<i>Voọc mũi hếch đen</i>	JQ_821839	31.5	25.6	30.7	12.2	869.1	-0.01181	-0.35612

<i>Voọc mũi hếch Bắc Bộ</i>	JF_293093	31.5	25.5	30.8	12.3	868.4	-0.01138	-0.34898
<i>Khỉ cộc</i>	KM_360179	26.4	31	30	12.5	870.20	0.063577	-0.4244
<i>Khỉ vàng</i>	JQ_821843	26.6	31	29.8	12.6	870	0.056444	-0.42052
<i>Khỉ đầu chó</i>	NC_001992	26.2	31.2	29.7	12.9	868.60	0.061768	-0.41663
<i>Khỉ tai mèo trắng</i>	KM_588314	28.3	27.8	31.1	12.9	867.70	0.046296	-0.36736
<i>Homo sapiens neanderthalensis</i>	OM_062614	26.2	31.9	28.8	13.1	867.80	0.046422	-0.41631
<i>Khỉ mũ trán trắng</i>	NC_002763	29.9	26.7	31.3	12.1	866.8	0.02306	-0.37663

3.2.1.3. Vùng giàu A + T

Vùng điều khiển (*D-loop*), nằm giữa gene *trnP* và gene *trnF*, có chiều dài 1094 cặp base (vị trí 15,584–16,541 và tiếp tục từ 1–136). Kích thước này là điển hình cho các gene ty thể của động vật có xương sống (52).

Kích thước của vùng này ở *Chà và chân xám* Tây Nguyên Việt Nam lớn hơn so với các mẫu *Chà và chân xám* khác JQ_821842 (1092 bp; 15,444–16,535 nt) và *Chà và chân đen* (1092 bp; 15,443–16,534 nt), *Khỉ vàng* (1085 bp; 15,480–16,564), *Khỉ đầu chó* (1076 bp; 15,446–16,521 nt), và *Khỉ tai mèo trắng* (1079 bp; 15,421–16,499 nt), nhưng ngắn hơn so với *Homo sapiens* (1121 bp; 16,022–16,567 nt, 1–575 nt). Sự biến đổi kích thước này chủ yếu được cho là do sự khác biệt về số lượng bản sao và các lặp lại nối tiếp trong vùng (85). Vùng điều khiển thể hiện mức độ biến đổi cao so với các khu vực khác của gene ty thể, phản ánh sự hiện diện của nhiều lặp lại nối tiếp (TRs) và sự biến đổi trong số lượng bản sao của chúng (85). Không có sự thiếu hụt lặp lại rõ ràng nào được quan sát trong vùng điều khiển của *Chà và chân xám* Tây Nguyên Việt Nam.

3.2.1.4. *tRNA* và *rRNA*

Hình 3.10 không chỉ nhằm minh họa hình dạng của tRNA, mà còn cho thấy các gene tRNA được dự đoán có khả năng gấp cuộn thành cấu trúc thứ cấp đặc trưng của tRNA ty thể. Phần lớn tRNA có cấu trúc dạng lá chẻ ba/thùy ba với các vùng thân và vòng chức năng như vòng anticodon, vòng TΨC và vòng D. Một số tRNA ty thể ở động vật có thể có cấu trúc rút gọn hoặc sai khác so với tRNA nhân, chẳng hạn tRNA-Ser thường có cấu trúc biến đổi ở nhánh DHU. Các đặc điểm này phản ánh tính bảo tồn nhưng đồng thời cũng cho thấy sự chuyên hóa của hệ thống dịch mã trong ty thể. Tám gene *tRNA* nằm trên sợi L, trong khi các gene còn lại nằm trên sợi

H (Hình 3. 10) (Bảng 3. 3). Các gene *tRNA* có kích thước dao động từ 59 bp (cho *trnS1*) đến 75 bp (cho *trnL2*). Thành phần nucleotide trung bình của các gene *tRNA* là A: 32,7%, T: 30,4%, G: 19,3%, và C: 17,5%. Gene *trnT* có hàm lượng GC cao nhất (50,8%), trong khi *trnD* và *trnH* có hàm lượng thấp nhất (23,2%). 6 gene *tRNA* trong *Chà vá chân xám* chứa tổng cộng 11 cặp base không khớp nhau. Những sự không khớp này được tìm thấy trong thân chấp nhận axit amin (AA) (amino acid acceptor stem), thân pseudouridine (TΨC), và thân anticodon (AC) (Bảng 3. 6).

Gene ty thể của *Chà vá chân xám* cũng chứa hai gene ribosomal RNA (*rRNA*): đơn vị ribosome lớn (*16S rRNA*) và đơn vị ribosome nhỏ (*12S rRNA*). Gene *16S rRNA* nằm giữa các gene *trnV* và *trnL2*, trong khi gene *12S rRNA* nằm giữa các gene *trnF* và *trnV*. Sắp xếp này là điển hình cho hầu hết động vật có xương sống, trong đó gene *trnV* tách biệt các đơn vị ribosome lớn và nhỏ (86). Gene *12S rRNA* dài 949 bp, và gene *16S rRNA* dài 1565 bp. Những kích thước này tương tự như những gì tìm thấy ở các mẫu *Chà vá chân xám* khác (948 bp và 1562 bp, tương ứng). Hàm lượng A + T của gene *16S rRNA* là 60%, và hàm lượng A + T của gene *12S rRNA* là 59,4%. Các giá trị này phù hợp với những gì quan sát được ở các loài linh trưởng khác, bao gồm các mẫu *Chà vá chân xám* JQ_821842 (59,9% cho *16S* và 59,4% cho *12S*) và *Chà vá chân đen* MH_064177 (60% cho *16S* và 58,8% cho *12S*) (Bảng 3. 4).

Bảng 3. 6. Các vị trí bắt cặp không khớp của *t-RNAs*. AA—amino acid acceptor, T-arm, AC—anticodon.

<i>tRNA</i>	Cặp base không khớp	thân	Tần số
Phenylalanine GAA	A-C	AC	1
Valine TAC	A-C	AC	1
Methionine CAT	A-G	AA	1
	U-U	T-arm	2
	C-U	T-arm	1
Glycine TCC	A-U	T-arm	1
	A-C	AC	1
	A-A	AA	1
Serine GCT	A-A	AC	1
	A-A	AC	1
Threonine TGT	U-C	AA	1

3.2.1.5. Vùng lặp và vùng liên gene

Phân tích so sánh các gene ty thể tiết lộ một số trường hợp chồng chéo gene:

atp8 và *atp6*: Một sự chồng chéo 22 bp được quan sát nhất quán giữa các gene *atp8* và *atp6* ở *Chà vá chân xám* Tây Nguyên Việt Nam, các mẫu *Chà vá chân xám* khác và *Chà vá chân đen*.

trnV và *rrnL*: Một sự chồng chéo 2 bp được tìm thấy ở *Chà vá chân xám* Tây Nguyên Việt Nam, các cá thể *Chà vá chân xám* khác, và *Chà vá chân đen*.

trnI và *trnQ*: Một sự chồng chéo 3 bp có mặt ở *Chà vá chân xám* Tây Nguyên Việt Nam, các cá thể *Chà vá chân xám* khác, và *Chà vá chân đen*.

nad4L và *nad4*: Một sự chồng chéo 4 bp được quan sát ở *Chà vá chân xám* Tây Nguyên Việt Nam và các mẫu *Chà vá chân xám* khác.

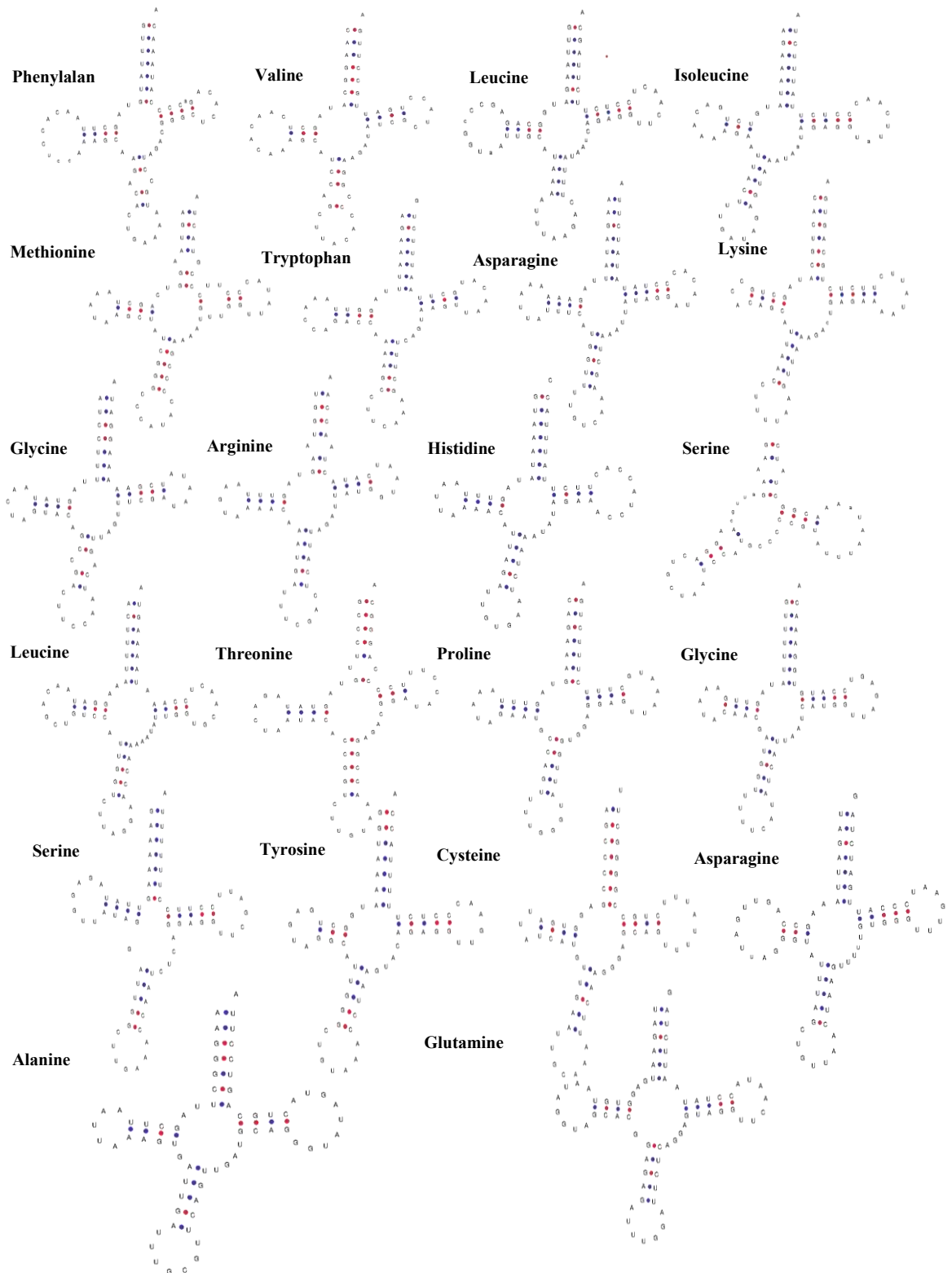
cytb-0 và *cytb-1*: Một sự chồng chéo 8 bp chỉ được tìm thấy ở *Chà vá chân đen*.

Những sự chồng chéo này, đặc biệt là sự chồng chéo 22 bp giữa *atp8* và *atp6*, cùng với 2 bp giữa *trnV* và *rrnL*, là phổ biến trong các loài vượn và nằm trên sợi H.

Gene ty thể của *Chà vá chân xám* chứa khoảng hai mươi vùng khoảng cách liên gene không mã hóa, có kích thước dao động từ 1 bp đến 68 bp. Trong khi những vùng này trước đây được coi là không chức năng, các nghiên cứu gần đây cho thấy một số có thể đóng vai trò điều chỉnh trong việc biểu hiện gene.

Vùng khoảng cách liên gene dài nhất trong *Chà vá chân xám* dài 68 bp, nằm giữa *trnK* và *cox2*. Vùng này ngắn hơn đáng kể so với vùng 172 bp tìm thấy ở các mẫu *Chà vá chân xám* JQ_821842 vùng 167 bp trong *Chà vá chân đen* MH_064177.

Chiều dài của các vùng khoảng cách liên gene thay đổi giữa các loài vượn, với *Chà vá chân xám* có các vùng khoảng cách ngắn hơn so với *Chà vá chân nâu* (194 bp với 20 vùng) và *Khi đuôi lợn* (182 bp với 22 vùng), nhưng dài hơn so với *Chà vá chân đen* (167 bp với 20 vùng). Các vùng khoảng cách liên gene giữa *Chà vá chân xám* và *Chà vá chân đen* nhìn chung khá tương đồng, ngoại trừ vùng giữa *nad5* và *trnL1*, dài 15 bp ở *Chà vá chân xám* và 37 bp ở *Chà vá chân đen*.



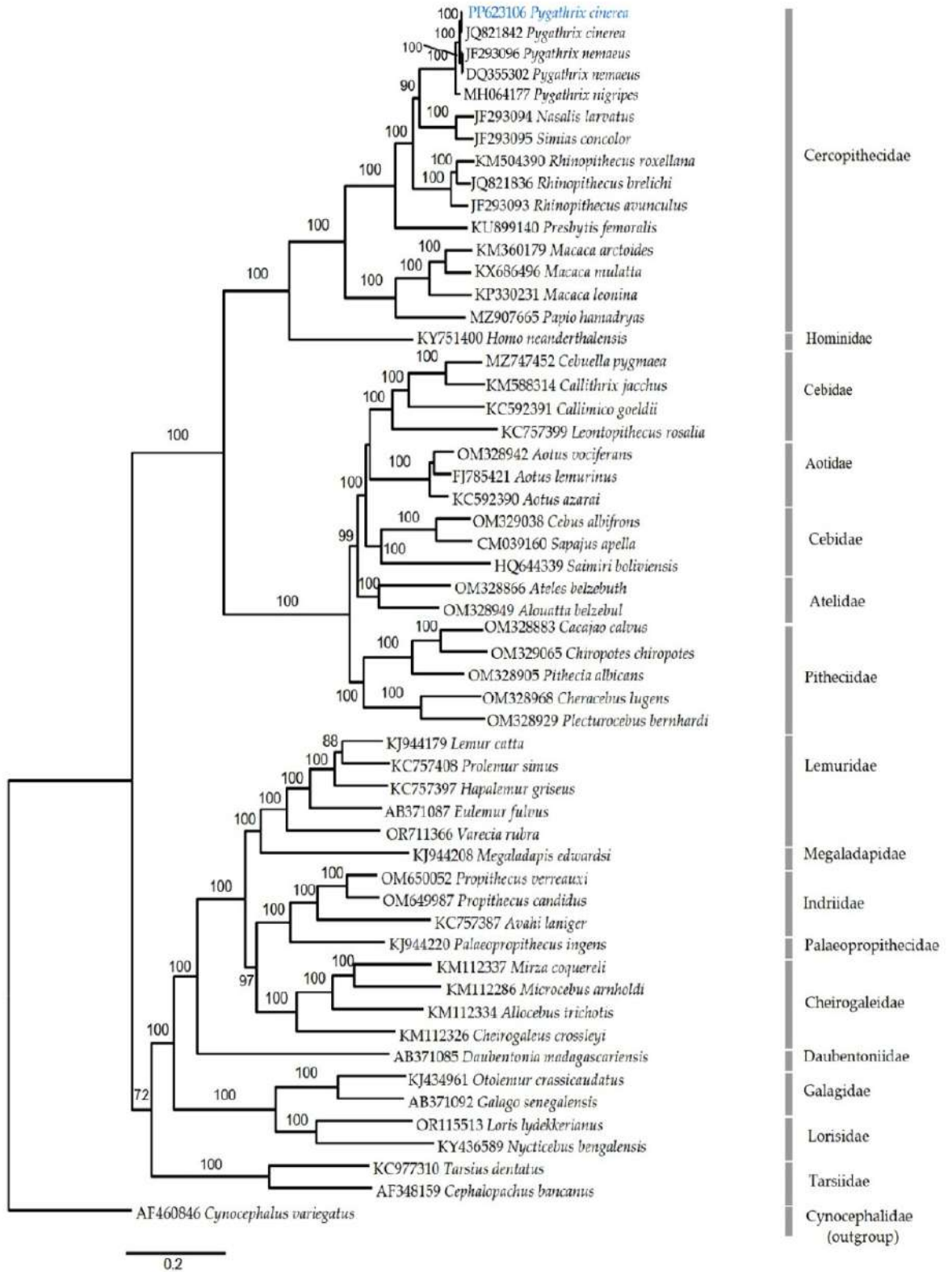
Hình 3. 10. Cấu trúc thứ cấp của 22 gene *tRNA* của Cà và chân xám Tây Nguyên Việt Nam. Màu đỏ đại diện cho các kết nối GC, trong khi màu xanh dương đại diện cho các kết nối AU.

3.2.1.6. Cây phát sinh loài của *Chà vá chân xám* Tây Nguyên Việt Nam

Mô hình Tamura–Nei và phương pháp Maximum Likelihood đã được sử dụng để phân tích lịch sử tiến hóa (87). Các nhánh trong cây cho thấy tỷ lệ cây mà trong đó các taxa liên quan được nhóm lại với nhau. Cây kết quả có log likelihood cao nhất là (-433,849.22). Bằng cách áp dụng các thuật toán Neighbor-Join và BioNJ trên ma trận khoảng cách cặp tính toán bằng mô hình Tamura–Nei, các cây ban đầu cho tìm kiếm heuristic đã được tạo tự động. Topology với giá trị log likelihood tốt nhất sau đó được chọn. Phân tích này bao gồm 55 hệ gene ty thể. Các phân tích tiến hóa được thực hiện bằng phần mềm MEGA11. Dữ liệu đầu vào là tập trình tự đã được căn chỉnh, bao gồm toàn bộ các vị trí codon thứ nhất, thứ hai và thứ ba của các gene mã hóa protein, đồng thời có bổ sung các vùng không mã hóa khi phù hợp với mục tiêu phân tích (86).

Cấu trúc cây của các loài linh trưởng nhất quán theo phương pháp Maximum Likelihood và phân tích với hỗ trợ bootstrap (>70). Các họ hàng gần nhất còn sống của họ Cercopithecidae (họ Khỉ cụ thể giới: gồm khỉ, chà vá...) là Hominidae. Cây được gốc từ nhóm ngoài *Cynocephalus variegatus* dựa trên nghiên cứu của Mason và cs (88). Trong phân tích này, *Cynocephalus variegatus* thuộc bộ Dermoptera được lựa chọn làm nhóm ngoài nhằm định gốc cây phát sinh loài của các loài linh trưởng. Kết quả cây cho thấy cấu trúc phân nhóm của các họ linh trưởng phù hợp với phân loại học hiện nay và tương đồng với các nghiên cứu đã công bố trước đây (37,89–92).

Cây phát sinh loài được xây dựng bằng cách sử dụng toàn hệ gene ty thể của hơn 50 loài linh trưởng cho thấy rõ rằng các loài *Pygathrix* (*Chà vá chân xám*, *Chà vá chân nâu*, và *Chà vá chân đen*) tạo thành một nhánh đơn ngành được hỗ trợ tốt (Hình 3. 11). Trong các nghiên cứu trước, vị trí tương đối của *Pygathrix* và *Nasalis* gần hơn so với *Rhinopithecus*, và nghiên cứu hiện tại đã xác nhận điều này (40,84). Một nguồn gốc chung của nhóm này hiện nay được chấp nhận rộng rãi, mặc dù các mối quan hệ phát sinh loài giữa các chi và loài của nó vẫn phần lớn chưa được biết đến (84). Nghiên cứu này cho thấy mối quan hệ này giữa các loài linh trưởng và xác nhận rằng các loài *Chà vá* (chi *Pygathrix*) là một dòng tiến hóa riêng biệt trong nhóm khỉ mũi lạ. Nhánh *Pygathrix* có mối quan hệ gần nhất với các chi *Nasalis* (khỉ mũi) và *Simias* (khỉ *Mentawai*). Cùng nhau, ba chi này tạo thành một nhóm đơn ngành lớn hơn của các cá thể khỉ mũi lạ, điều này nhất quán với các nghiên cứu hình thái và phân tử trước đây.



Hình 3. 11. Cây phát sinh loài Maximum Likelihood của 55 hệ gene ty thể linh trưởng. PP623106 *Chà và chân xám* màu xanh là *Chà và chân xám* Tây Nguyên Việt Nam.

Chuỗi gene ty thể của *Chà vá chân xám* được tạo ra trong nghiên cứu này (mã số gia nhập GenBank PP_623106) khác biệt đáng kể so với một gene ty thể *Chà vá chân xám* đã được công bố trước đó (mã số gia nhập GeneBank JQ_821842), với 43 sự khác biệt nucleotide. Điều này gợi ý sự hiện diện của các dòng gene khác nhau trong loài này. Sự khác biệt giữa mẫu nghiên cứu và trình tự JQ821842 có thể liên quan đến biến dị di truyền trong loài hoặc khác biệt về nguồn gốc địa lý của mẫu. Tuy nhiên, với cỡ mẫu hạn chế và dữ liệu chỉ dựa trên ADN ty thể, chưa thể suy luận về sự tồn tại của phân loài ẩn hay các đơn vị tiến hóa quan trọng. Các phân tích mở rộng trên nhiều cá thể, nhiều quần thể và bổ sung chỉ thị di truyền nhân là cần thiết để làm rõ vấn đề này.

Chuỗi gene ty thể được tạo ra trong nghiên cứu này được xác nhận chắc chắn trong nhánh *Pygathrix*, khẳng định sự phân loại loài của mẫu là *Chà vá chân xám*. Tuy nhiên, những khác biệt gene lớn so với gene ty thể *Chà vá chân xám* đã được công bố trước đó gợi ý rằng cần có thêm nhiều nghiên cứu về quần thể để tìm hiểu lịch sử tiến hóa và cấu trúc quần thể của loài linh trưởng này đang bị đe dọa nghiêm trọng.

3.2.1.7. Thảo luận

Cấu trúc và tổ chức hệ gen ty thể của cá thể *Chà vá chân xám* Tây Nguyên Việt Nam (PP_623106) tuân theo khuôn mẫu điển hình của động vật có vú, bao gồm 37 gen với trật tự sắp xếp bảo tồn cao. Kích thước hệ gen (16,541 bp) và hàm lượng A+T (61,1%) nằm trong khoảng giá trị đã được báo cáo cho chi *Pygathrix* (Bảng 3.4), phản ánh tính ổn định ở cấp bậc chi.

Trong 37 gene của hệ gene ty thể, 13 gene mã hóa protein tham gia trực tiếp vào chuỗi truyền electron và quá trình phosphoryl hóa oxy hóa. Cụ thể, các gene *nad1*, *nad2*, *nad3*, *nad4*, *nad4L*, *nad5* và *nad6* mã hóa các tiểu đơn vị của phức hợp I; *cytb* mã hóa tiểu đơn vị của phức hợp III; *cox1*, *cox2* và *cox3* mã hóa các tiểu đơn vị của phức hợp IV; *atp6* và *atp8* mã hóa các tiểu đơn vị liên quan đến phức hợp V/ATP synthase. Do các protein này liên quan trực tiếp đến chuyển hóa năng lượng, biến dị trong các gene mã hóa protein ty thể có thể cung cấp thông tin về lịch sử tiến hóa, quan hệ di truyền và mức độ phân hóa giữa các dòng mẫu. Tuy nhiên, với cỡ mẫu còn hạn chế và chưa có dữ liệu chức năng/kiểu hình đi kèm, luận án chưa đủ cơ sở để kết luận trực tiếp rằng các biến dị này gây khác biệt kiểu hình hoặc thích nghi sinh thái.

Vùng điều khiển của *Chà vá chân xám* Tây Nguyên Việt Nam có kích thước lớn hơn một chút (1094 bp) so với các mẫu *Chà vá chân xám* khác (1092 bp); những đột biến này có thể liên quan đến ảnh hưởng của chọn lọc và trôi gene, hỗ trợ quan

điểm về một dòng tiến hóa riêng biệt (93); tuy nhiên, sự khác biệt hai nucleotide này nằm trong vùng các chuỗi lặp lại và do đó không có ý nghĩa sinh học, vì mẫu hình này cũng được quan sát thấy ở các loài linh trưởng khác không trải qua hiện tượng thất cổ chai cá thể hoặc phân kỳ tiến hóa nhanh chóng (94). Do đó, sự khác biệt kích thước nhỏ này không đủ để rút ra kết luận về các dòng tiến hóa khác biệt hoặc sự đa dạng ở cấp độ quần thể.

Các lặp lại liên tiếp và GC-skew được quan sát trong vùng điều khiển tương thích với các loài linh trưởng khác, nhấn mạnh tính bảo tồn của những yếu tố điều tiết này. Cấu trúc và thành phần cụ thể của những yếu tố này có thể ảnh hưởng đến việc khởi đầu sao chép hoặc điều chỉnh phiên mã (95).

Sự bảo tồn đáng kể về kích thước gene *rRNA* và hàm lượng A + T giữa các loài *Chà vá* nhấn mạnh vai trò cơ bản của chúng trong tổng hợp protein ty thể (96) làm nổi bật giá trị của những gene này như những dấu ấn đáng tin cậy cho phân tích phát sinh, đặc biệt là trong việc giải quyết các mối quan hệ giữa các taxa gần gũi (97,98). Mặc dù các gene rRNA thường được bảo tồn cao, có bốn vị trí chèn nucleotide được tìm thấy trong *rrnS* và *rrnL* có thể dẫn đến việc điều khiển biểu hiện gene ở cấp độ dịch mã, và mẫu hình sửa đổi rRNA này có thể xảy ra để đáp ứng với sự thay đổi môi trường, giai đoạn phát triển và trạng thái bệnh lý (99) hoặc chỉ ra một quỹ đạo tiến hóa độc đáo của *Chà vá chân xám* Tây Nguyên Việt Nam.

Sự hiện diện của tất cả 22 gene *tRNA* với các anticodon trong *Chà vá chân xám* là cần thiết cho việc dịch chính xác các protein ty thể. Tính bảo tồn của những gene này nhấn mạnh vai trò cơ bản của chúng trong việc duy trì chức năng ty thể. Sự biến đổi trong kích thước gene *tRNA* và hàm lượng GC, được quan sát ở *Chà vá chân xám* Tây Nguyên Việt Nam, có thể phản ánh sự khác biệt trong biểu hiện và điều chỉnh gene (100).

Việc xác định các cặp base không khớp trong một số gene *tRNA*, đặc biệt là ở các thân AA, TΨC và AC, là điều thú vị. Những sự không khớp này có thể ảnh hưởng đến cấu trúc và chức năng của *tRNA*.

Các sự chồng chéo gene được quan sát giữa một cặp gene (*atp8* và *atp6*; *trnV* và *rrnL*) trong các loài *Chà vá* gợi ý một ý nghĩa chức năng tiềm năng vượt ra ngoài những sự trùng hợp ngẫu nhiên. Những sự chồng chéo này có thể đóng vai trò điều tiết trong biểu hiện gene, có khả năng ảnh hưởng đến phiên mã hoặc dịch mã của những gene này (101).

Các vùng khoảng cách liên gene, mặc dù trước đây được coi là không chức năng, hiện đang được công nhận như những yếu tố điều khiển tiềm năng (102). Sự

biến đổi trong chiều dài các khoảng cách giữa các gene khác nhau giữa các loài *Pygathrix*, với các khoảng cách dài hơn ở *Chà vá chân nâu* và *Macaca leonina* so với *Chà vá chân xám*, gợi ý một vai trò tiềm năng trong việc điều khiển biểu hiện gene (103).

Sai khác trình tự được ghi nhận trong *Chà vá chân xám* Tây Nguyên Việt Nam, đặc biệt là trong vùng điều khiển và các gene *tRNA*, nhấn mạnh tầm quan trọng của việc bảo tồn sự đa dạng gene của nó. Sự đa dạng này là rất quan trọng cho khả năng thích ứng và sức mạnh trong bối cảnh thay đổi và đe dọa môi trường. Sự khác biệt di truyền quan sát được ở mẫu *Chà vá chân xám* Tây Nguyên Việt Nam và mẫu *Chà vá chân xám khác* có thể được xem là dữ liệu tham khảo ban đầu cho các nghiên cứu bảo tồn di truyền.

Các sai khác trình tự quan sát được giữa cá thể *Chà vá chân xám* Tây Nguyên và các mẫu công bố trước đây cho thấy khả năng tồn tại nhiều dòng dõi ty thể trong phạm vi phân bố của loài tại Việt Nam. Tuy nhiên, nghiên cứu này không nhằm đánh giá cấu trúc quần thể, mà cung cấp dữ liệu nền phục vụ so sánh phát sinh loài và định hướng cho các nghiên cứu di truyền quần thể sau này đối với một loài linh trưởng cực kỳ nguy cấp.

3.2.2. Đặc điểm hệ gene ty thể hoàn chỉnh của cá thể *Khỉ mặt đỏ* (*Macaca arctoides*) Tây Nguyên Việt Nam

Gene ty thể hoàn chỉnh của *Khỉ mặt đỏ* bao gồm 16,675 cặp base (bp) và chứa 37 gene điển hình có trong ty thể của loài linh trưởng (Hình 3. 6; Bảng 3.7), phần lớn các gene nằm trên sợi H, ngoại trừ gene ND6 và tám gene *tRNA* (*tRNA-Glu*, *tRNA-Pro*, *tRNA-Gln*, *tRNA-Ala*, *tRNA-Asn*, *tRNA-Cys*, *tRNA-Tyr*, *tRNA-Ser*) nằm trên sợi L. Gene ty thể của *Khỉ mặt đỏ* thể hiện các trình tự tổ chức gene tương tự như các loài thú linh trưởng khác như *Chà vá chân xám*, *Chà vá chân đen*, *Chà vá chân nâu*, *Khỉ vàng*. Tuy nhiên, đáng chú ý rằng chuỗi ADN ty thể của *Khỉ mặt đỏ* Tây Nguyên Việt Nam được phân tích trong nghiên cứu này có kích thước lớn hơn chút (16,675 bp) so với *Khỉ mặt đỏ* Trung Quốc (KM_360179, 16,559 bp) là 116 cặp nucleotide và nhỏ hơn *khỉ đuôi lợn Trung Quốc* (KP_330231, 17,050 bp) với 375 cặp nucleotide. Bảng 3.7. Vị trí và độ dài của 37 gene trong hệ gene ty thể hoàn chỉnh của cá thể *Khỉ mặt đỏ* Tây Nguyên Việt Nam .

Tên	Bắt đầu	Kết thúc	Mạch	Chiều dài	Overlap/intergenic
<i>cytb_b</i>	7	558	+	552	3

<i>trnT(aca)</i>	566	629	+	64	1
<i>trnP(cca)</i>	631	698	-	68	1,084
<i>trnF(ttc)</i>	1782	1853	+	72	0
<i>rrnS</i>	1854	2804	+	951	0
<i>trnV(gta)</i>	2805	2873	+	69	-2
<i>rrnL</i>	2872	4438	+	1,567	-2
<i>trnL2(tta)</i>	4439	4513	+	75	2
<i>nad1</i>	4516	5466	+	951	4
<i>trnI(atc)</i>	5471	5539	+	69	-3
<i>trnQ(caa)</i>	5537	5607	-	71	0
<i>trnM(atg)</i>	5608	5675	+	68	0
<i>nad2</i>	5676	6707	+	1032	10
<i>trnW(tga)</i>	6718	6784	+	67	3
<i>tRNA(gca)</i>	6792	6860	-	69	1
<i>trnN(aac)</i>	6862	6934	-	73	32
<i>trnC(tgc)</i>	6967	7035	-	69	1
<i>trnY(tac)</i>	7036	7100	-	65	31
<i>cox2</i>	7132	7791	+	660	68
<i>trnK(aaa)</i>	7860	7927	+	68	1
<i>atp8</i>	7929	8111	+	183	-22
<i>atp6</i>	8090	8764	+	675	5
<i>cox3</i>	8770	9552	+	783	1
<i>trnG(gga)</i>	9554	9620	+	67	0
<i>nad3</i>	9621	9965	+	345	1
<i>trnR(cga)</i>	9967	10,031	+	65	0
<i>nad4l</i>	10,032	10,325	+	294	-4
<i>nad4</i>	10,322	11,689	+	1368	0

<i>trnH(cac)</i>	11,700	11,768	+	69	0
<i>trnSI(agc)</i>	11,769	11,827	+	59	0
<i>trnL1(cta)</i>	11,828	11,898	+	71	3
<i>nad5</i>	11,902	13,701	+	1800	15
<i>nad6</i>	13,717	14,235	-	519	0
<i>trnE(gaa)</i>	14,236	14,304	-	69	4
<i>Cytb</i>	14,309	15,442	+	1134	7
<i>trnT(aca)</i>	15,450	15,514	+	65	2
<i>trnP(cca)</i>	15,517	15,583	-	67	

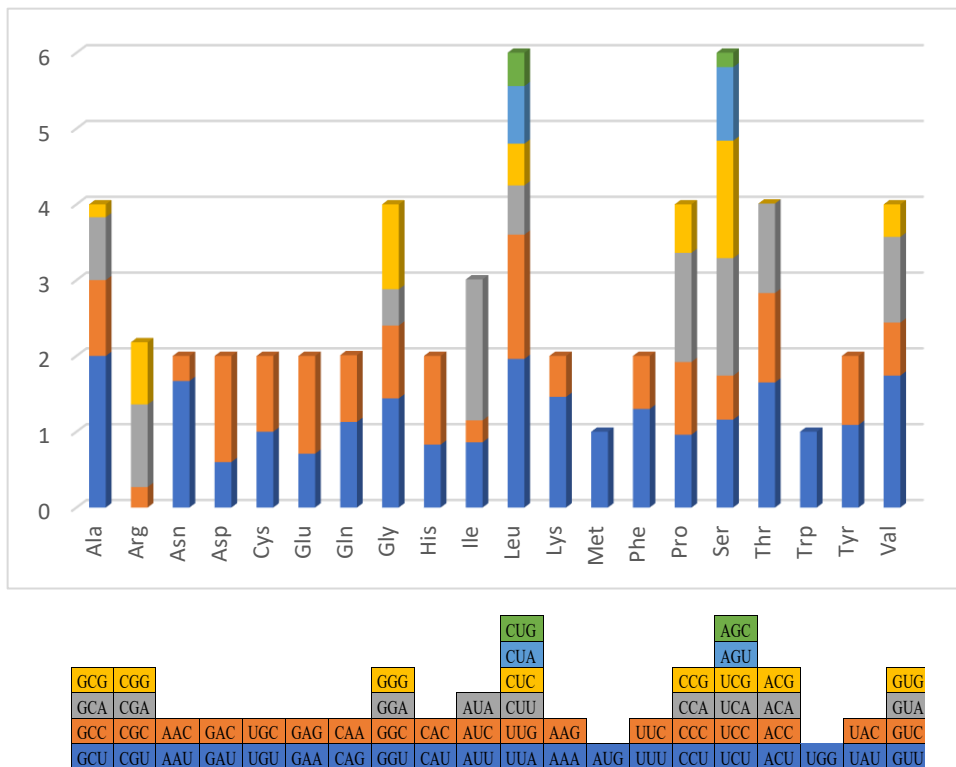
3.2.2.1. Thành phần nucleotide

Tỷ lệ A/T của toàn bộ hệ gene ty thể dao động từ 55,6% đến 61,9%. Tỷ lệ A/T toàn bộ hệ gene ty thể của *Khỉ mặt đỏ* dao động từ 56,7–57%, thấp hơn rõ rệt so với các loài *Chà vá* (trên 61%) nhưng tương đồng với các loài *khỉ* khác như *Khỉ vàng*, *khỉ đầu chó* và *khỉ đuôi lợn* (Bảng 3. 8).

Phân bố tần suất axit amin trong toàn bộ hệ gene ty thể của ba cá thể *khỉ*: *Khỉ mặt đỏ* Tây Nguyên Việt Nam, *Khỉ mặt đỏ* Trung Quốc (KM_360179) và *khỉ đuôi lợn* Trung Quốc (KP_330231) nhìn chung tương đối đồng đều và có xu hướng tương đồng cao. Các axit amin chiếm tỷ lệ cao nhất ở cả ba cá thể bao gồm *Leucine (Leu)*, *Serine (Ser)*, *Isoleucine (Ile)*, *Phenylalanine (Phe)* và *Valine (Val)* Hình 3. 12 . Đây là những axit amin thường gặp trong các protein mã hóa bởi hệ gene ty thể, phản ánh đặc điểm bảo tồn của các gene liên quan đến chuỗi hô hấp tế bào. So sánh giữa hai cá thể *Khỉ mặt đỏ* (Việt Nam và Trung Quốc) cho thấy sự tương đồng rất rõ rệt về tần suất của hầu hết các axit amin, với chênh lệch phần trăm không đáng kể. Trong khi đó, *khỉ đuôi lợn* Trung Quốc vẫn có sự phân bố axit amin tương tự về tổng thể, nhưng xuất hiện một số sai khác nhỏ ở một vài axit amin như *Leu*, *Ser* hoặc *Ala*. Các axit amin có tần suất thấp như *Cysteine (Cys)*, *Tryptophan (Trp)* và *Histidine (His)* đều duy trì ở mức thấp và ổn định giữa ba cá thể, phản ánh tính bảo tồn chức năng của các protein ty thể và áp lực chọn lọc mạnh lên các vị trí mã hóa quan trọng.

Sự khác biệt về cấu trúc protein ty thể của *Khỉ mặt đỏ* giữa hai khu vực địa lý không đáng kể, phù hợp với mối quan hệ di truyền gần gũi và mức độ sai khác thấp. Đối với *khỉ đuôi lợn*, sự khác biệt về thành phần axit amin chỉ ở mức phần trăm nhỏ, phản ánh mức độ khác biệt di truyền nhất định nhưng chưa đủ lớn để làm thay đổi xu hướng chung của thành phần axit amin trong các gene ty thể.

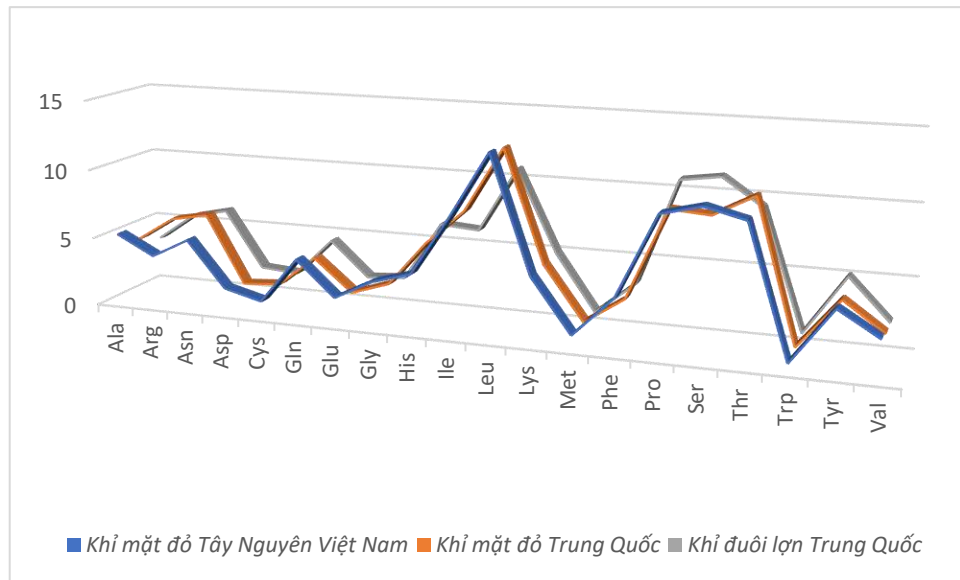
Gene ty thể của *Khi mặt đỏ* Tây Nguyên Việt Nam và mẫu tham chiếu (KM_360179) đều có độ dài hệ gene ty thể tương đương nhau (16.559–16.675 bp), cho thấy tính ổn định cao về mặt cấu trúc. Vùng PCGs của *Khi mặt đỏ* đạt chiều dài khoảng 11.301–11.313 bp, tương đồng với các loài *khi* khác trong chi *Macaca*. Điều này cho thấy *Khi mặt đỏ* mang đặc trưng thành phần nucleotide điển hình của chi *Macaca*, phản ánh mối quan hệ phát sinh chủng loại gần gũi trong nhóm này. Xét riêng từng vùng, PCGs của *Khi mặt đỏ* có tỷ lệ A/T khoảng 56–56,7%, trong khi *rrnL* đạt khoảng 57,3–57,6% và *rrnS* khoảng 55,6–55,8%. Sự chênh lệch không lớn giữa các vùng cho thấy áp lực chọn lọc tương đối đồng đều trên hệ gene ty thể của loài này. Đặc biệt, tỷ lệ A/T thấp hơn ở vùng *rrnS* phản ánh mức độ bảo tồn cao của gene *ribosome 12S*, phù hợp với chức năng thiết yếu trong bộ máy dịch mã ty thể. Nhìn chung, thành phần nucleotide ty thể của *Khi mặt đỏ* thể hiện tính ổn định cao, ít biến động giữa các cá thể và mang đặc trưng trung gian giữa nhóm *khi* và nhóm *chà vá*, góp phần củng cố vị trí phân loại và mối quan hệ tiến hóa của loài trong bộ linh trưởng.



Hình 3. 12. Mức sử dụng codon đồng nghĩa tương đối (Relative Synonymous Codon Usage - RSCU) của các gene mã hóa protein trong ty thể *Khi mặt đỏ*.

Phân tích chỉ số RSCU của các gen mã hóa protein trong hệ gene ty thể của *Khi mặt đỏ* cho thấy đặc điểm giàu A/T phổ biến của hệ gene ty thể ở các loài linh trưởng. Các codon kết thúc bằng A hoặc U có giá trị RSCU lớn hơn 1 và được sử dụng ưu tiên, trong khi nhiều codon kết thúc bằng G hoặc C có RSCU thấp hoặc

không xuất hiện trong hệ gene ty thể. Xu hướng này thể hiện rõ ở các amino acid có nhiều codon đồng nghĩa như leucine, serine, threonine và alanine. RSCU của *Khỉ mặt đỏ* nhìn chung tương đồng với các loài thú linh trưởng khác. Với giá trị RSCU lớn hơn 1 cho thấy codon đó được sử dụng nhiều hơn so với kỳ vọng, trong khi giá trị nhỏ hơn 1 cho thấy mức sử dụng thấp hơn.



Hình 3. 13. Tần suất phần trăm thành phần axit amin trong hệ gene ty thể của các cá thể *khỉ*: *Khỉ mặt đỏ* Tây Nguyên Việt Nam, *Khỉ mặt đỏ* Trung Quốc (KM_360179) và *khỉ đuôi lợn* Trung Quốc (KP_330231).

Phân bố tần suất axit amin trong toàn bộ hệ gene ty thể của ba cá thể *khỉ*: *Khỉ mặt đỏ* Tây Nguyên Việt Nam, *Khỉ mặt đỏ* Trung Quốc (KM_360179) và *khỉ đuôi lợn* Trung Quốc (KP_330231) nhìn chung tương đối đồng đều và có xu hướng tương đồng cao. Các axit amin chiếm tỷ lệ cao nhất ở cả ba cá thể bao gồm *Leucine (Leu)*, *Serine (Ser)*, *Isoleucine (Ile)*, *Phenylalanine (Phe)* và *Valine (Val)* (Hình 3. 13). Đây là những axit amin thường gặp trong các protein mã hóa bởi hệ gene ty thể, phản ánh đặc điểm bảo tồn của các gene liên quan đến chuỗi hô hấp tế bào. So sánh giữa hai cá thể *Khỉ mặt đỏ* (Việt Nam và Trung Quốc) cho thấy sự tương đồng rất lớn về tần suất của hầu hết các axit amin, với chênh lệch phần trăm không đáng kể. Trong khi đó, *khỉ đuôi lợn* Trung Quốc vẫn có sự phân bố axit amin tương tự về tổng thể, nhưng xuất hiện một số sai khác nhỏ ở một vài axit amin như *Leu*, *Ser* hoặc *Ala*. Các axit amin có tần suất thấp như *Cysteine (Cys)*, *Tryptophan (Trp)* và *Histidine (His)* đều duy trì ở mức thấp và ổn định giữa ba cá thể, phản ánh tính bảo tồn chức năng của các protein ty thể và áp lực chọn lọc mạnh lên các vị trí mã hóa quan trọng.

Điều này cho thấy cấu trúc protein ty thể của *Khi mặt đỏ* giữa hai khu vực địa lý vẫn được duy trì ổn định, phù hợp với mối quan hệ gần về mặt di truyền và sự khác biệt ở mức độ thấp, đối với *Khi đuôi lợn* thể hiện khác biệt ở mức độ phần trăm thấp phản ánh sự sai khác di truyền ở mức thấp, nhưng chưa đủ lớn để làm thay đổi xu hướng chung của thành phần axit amin trong các gene ty thể.

Bảng 3. 8. Các chỉ số thành phần nucleotide trong các vùng khác nhau của 23 gene ty thể đại diện cho loài linh trưởng.

	Số gia nhập	Gene mã hóa protein (PCGs)							
		<i>16S (rrnL)</i>		<i>12S (rrnS)</i>		<i>16S (rrnL)</i>		<i>12S (rrnS)</i>	
		Độ dài	AT (%)	Độ dài (bp)	AT (%)	Độ dài (bp)	AT (%)	Độ dài (bp)	AT (%)
<i>Khi mặt đỏ</i> Tây Nguyên Việt Nam		16,675	57	11301	56.7	1,567	57.6	951	55.6
<i>Khi mặt đỏ</i> Trung Quốc	KM_360179	16,559	56.7	11,313	56	1566	57.3	951	55.8
<i>Khi đuôi lợn</i> Trung Quốc	KP_330231	17,050	57.2	11,310	57	1562	57.8	947	54.6
<i>Chà và chân xám</i> Tây Nguyên	PP_623106	16,541	61.1	11,292	61	1565	60	949	59.4
<i>Chà và chân xám</i>	JQ_821842	16,535	61.1	11,292	61	1562	59.9	948	59.4
<i>Chà và chân nâu</i>	JF_293096	16559	61.3	11,292	61	1564	59.7	948	59.4
<i>Chà và chân đen</i>	MH_064177	16,534	61.4	11,304	62	1563	59.7	949	58.8
<i>Khi đuôi lợn</i>	KP_330231	17,050	57.2	11,310	57	1562	57.8	947	54.6
<i>Voọc sọc đầu đen</i>	KU_899140	16,548	61.9	11,277	62	1563	61	935	58.3
<i>Khi vòi</i>	DQ_355298	16,570	60.9	11,298	61	1568	59.9	949	57.5
<i>Voọc mũi hếch vàng</i>	KM_504390	16,552	61.5	11,292	62	722	59.6	949	58.2
<i>Voọc mũi hếch xám</i>	JQ_821836	16,553	61.6	11,295	62	1571	60	949	58.3
<i>Voọc mũi hếch đen</i>	JQ_821839	16,550	61.5	11,298	62	1570	59.7	949	58
<i>Voọc mũi hếch Bắc Bộ</i>	JF_293093	16,552	61.6	11,289	62	1572	60.2	949	58.5

<i>Khi vàng</i>	JQ_821843	16,564	56.8	11,310	56	1560	57.4	947	55.6
<i>Khi đầu chó</i>	NC_001992	16,521	56.3	11,292	56	1572	57.7	947	55.1
<i>Khi tai mèo trắng</i>	KM_588314	16,499	59.7	11,280	59	1555	60.5	953	56.6
<i>Homo sapiens neanderthalensis</i>	NC_011137	16,565	55.6	11,283	55	1560	57.2	954	54.4
<i>Homo sapiens neanderthalens</i>	OM_062614	16,565	55.7	11,283	55	1560	57.3	954	54.4
<i>Khi mũ trán trắng</i>	NC_002763	16,554	60.9	11,268	61	1556	60.2	958	57.6
<i>Cheo cheo đốm Ấn Độ</i>	NC_037993	16,444	61.4	11,310	61	1576	61.6	958	56.4

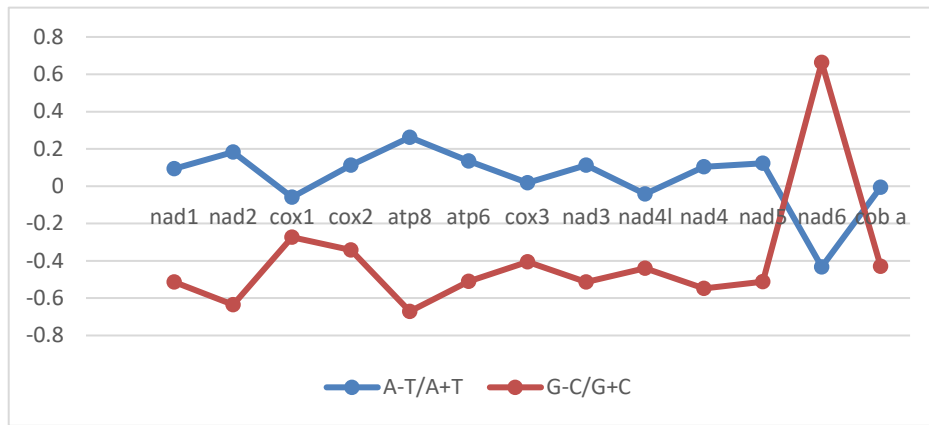
3.2.2.2. Các gene mã hóa Protein

Gene ty thể của *Khi mặt đỏ* chứa 13 gene mã hóa protein điển hình (PCGs), tổng chiều dài lên tới 11,301 bp và chiếm 67,78% tổng thể của gene ty thể. Mười hai trong số các gene này nằm trên sợi H (mạnh nặng), trong khi gene *nad6* nằm trên sợi L (mạch nhẹ). Các chỉ số AT-skew và GC-skew dùng để đánh giá độ biến thiên thành phần nucleotide trên các PCGs.

Giá trị AT-skew của 13 gene mã hóa protein trong hệ gene ty thể *Khi mặt đỏ* nhìn chung đều mang giá trị dương (Bảng 3. 9), cho thấy A xuất hiện với tần suất cao hơn T trên mạch được phân tích. Mức độ AT-skew khác nhau giữa các gene, trong đó một số gene như *ND1*, *ND2*, *COX1* và *COX2* có AT-skew cao hơn so với các gene còn lại, phản ánh sự thiên lệch rõ rệt về thành phần adenine trong các vùng này (Hình 3. 14). Ngược lại, GC-skew của hầu hết các gene đều mang giá trị âm, cho thấy C chiếm ưu thế so với G trong các gene mã hóa protein ty thể. Mức độ GC-skew giữa các gene có sự biến động nhất định, với các gene thuộc nhóm *ND* (đặc biệt *ND4* và *ND5*) thể hiện GC-skew âm mạnh hơn, trong khi các gene *ATP6*, *ATP8* và *COX* có giá trị GC-skew âm thấp hơn. Sự khác biệt về biên độ AT-skew và GC-skew giữa các gene cho thấy tính không đồng nhất về thành phần nucleotide trong các gene mã hóa protein của gene ty thể *Khi mặt đỏ*. Tuy nhiên, xu hướng chung vẫn được duy trì ổn định, với thiên lệch A và C là đặc điểm nổi bật xuyên suốt 13 gene được phân tích.

Khi mặt đỏ Tây Nguyên Việt Nam có AT-skew = 0,0598 và GC-skew = -0,4212, trong khi *Khi mặt đỏ* Trung Quốc (KM_360179) có AT-skew = 0,0653 và GC-skew = -0,4253 (Bảng 3. 9). Như vậy, cá thể Trung Quốc có AT-skew cao hơn nhẹ (chênh lệch ~0,0055), cho thấy mức ưu thế của A so với T nhỉnh hơn so với cá thể Việt Nam. Đồng thời, GC-skew âm mạnh hơn ở cá thể Trung Quốc (-0,4253 so

với $-0,4212$), phản ánh C chiếm ưu thế so với G rõ hơn. Tuy nhiên, cả hai cá thể đều duy trì cùng xu hướng AT-skew dương và GC-skew âm, cho thấy mức độ thiên lệch nucleotide tương đồng và ổn định giữa hai cá thể ở 2 vùng khác nhau.



Hình 3. 14. AT-skew và GC-skew trong 13 gene mã hóa protein gene ty thể *Khỉ mặt đỏ*.

Bảng 3. 9. Giá trị GC-skew và AT-skew trong các gene mã hóa protein (PCGs).

	Số gia nhập	T(U)	C	A	G	Tổng	AT-Skew	GC-Skew
<i>Khỉ mặt đỏ</i> Tây Nguyên Việt Nam		26.6	30.8	30.0	12.5	807.20	0.059797	-0.42116
<i>Khỉ mặt đỏ</i> Trung Quốc	KM_360179	26.4	31.0	30.0	12.5	870.20	0.065256	-0.42529
<i>Khỉ đuôi lợn</i>	KP_330231	26.5	30.9	30.2	12.3	870	0.065732	-0.42945
<i>Chà và chân xám</i>	JQ_821842	30.9	26.1	30.5	12.5	868.6	-0.0062	-0.35277
<i>Chà và chân nâu</i>	JF_293096	30.9	26.1	30.5	12.5	868.6	-0.00678	-0.35155
<i>Chà và chân đen</i>	MH_064177	31.2	25.9	30.6	12.3	807.4	-0.01002	-0.35463
<i>Voọc sọc đầu đen</i>	KU_899140	31.5	25.4	30.9	12.2	867.5	-0.00896	-0.34998
<i>Khỉ vôi</i>	DQ_355298	30.5	26.7	30.6	12.2	869.1	0.001593	-0.37082
<i>Voọc mũi hếch vàng</i>	KM_504390	31.4	25.6	30.8	12.2	868.6	-0.01054	-0.35253
<i>Voọc mũi hếch xám</i>	JQ_821836	31.6	25.5	30.6	12.4	868.8	-0.01638	-0.34612
<i>Voọc mũi hếch đen</i>	JQ_821839	31.5	25.6	30.7	12.2	869.1	-0.01181	-0.35612
<i>Voọc mũi hếch Bắc Bộ</i>	JF_293093	31.5	25.5	30.8	12.3	868.4	-0.01138	-0.34898

<i>Khi vàng</i>	JQ_821843	26.6	31	29.8	12.6	870	0.056444	-0.42052
<i>Khi đầu chó</i>	NC_001992	26.2	31.2	29.7	12.9	868.60	0.061768	-0.41663
<i>Khi tai mèo trắng</i>	KM_588314	28.3	27.8	31.1	12.9	867.70	0.046296	-0.36736
<i>Homo sapiens neanderthalensis</i>	OM_062614	26.2	31.9	28.8	13.1	867.80	0.046422	-0.41631
<i>Khi mũ trán trắng</i>	NC_002763	29.9	26.7	31.3	12.1	866.8	0.02306	-0.37663

3.2.2.3. Vùng giàu A + T

Vùng điều khiển (*D-loop*) của *Khi mặt đỏ* nằm giữa hai gene *trnP* và *trnF*, có chiều dài 1083 cặp base, tương ứng với các vị trí 699–1781 trên hệ gene ty thể. Kích thước này nằm trong khoảng điển hình của vùng *D-loop* ở động vật có xương sống, vốn thường dao động quanh 1,0–1,2 kb (53).

So sánh với các loài linh trưởng khác cho thấy kích thước vùng *D-loop* của *Khi mặt đỏ* Tây Nguyên Việt Nam tương đương với cá thể *Khi mặt đỏ* Trung Quốc (KM_360179) (1083 bp; 16,006–16,559 và tiếp nối từ 1–529). Kích thước này cũng gần tương đồng với các loài thuộc họ Cercopithecidae và Colobinae như *Chà vá chân đen* (1092 bp; 15,443–16,534 nt), *Khi vàng* (1085 bp; 15,480–16,564 nt), *khi đầu chó* (1076 bp; 15,446–16,521 nt) và *khi tai mèo trắng* (1079 bp; 15,421–16,499 nt). Ngược lại, vùng *D-loop* của *Khi mặt đỏ* có kích thước nhỏ hơn nhiều so với *khi đuôi lợn* Trung Quốc (1592 bp; 16,500–17,050 và tiếp nối từ 1–1041), trong khi ở *Homo sapiens* vùng này dài 1121 bp (16,022–16,567 nt và 1–575 nt).

Sự khác biệt về chiều dài vùng *D-loop* giữa các loài được cho là chủ yếu bắt nguồn từ sự biến đổi về số lượng và độ dài của các lặp lại nối tiếp (tandem repeats, TRs), cũng như sự khác nhau trong số lượng bản sao của các motif lặp này (85,88). Đây là đặc điểm phổ biến của vùng *D-loop*, một vùng không mã hóa nhưng đóng vai trò trung tâm trong quá trình khởi đầu sao chép và phiên mã của hệ gene ty thể.

Do chịu áp lực chọn lọc thấp hơn so với các gene mã hóa protein, vùng *D-loop* thường thể hiện mức độ biến đổi trình tự cao nhất trong toàn bộ hệ gene ty thể. Sự hiện diện của nhiều lặp lại nối tiếp và sự dao động về số lượng bản sao của chúng làm cho vùng này dễ phát sinh đột biến chèn/xóa (indels), từ đó dẫn đến sự khác biệt đáng kể về chiều dài giữa các loài và thậm chí giữa các quần thể trong cùng một loài.

3.2.2.4. *tRNA* và *rRNA*

Cấu trúc của 22 gene *tRNA* trong hệ gene ty thể của *Khi mặt đỏ* Tây Nguyên Việt Nam có cấu trúc lá chẻ ba (cloverleaf structure) (Hình 3. 15). Trong số đó, tám gene

tRNA (*trn^{Gln}*, *trn^{Ala}*, *trn^{Asn}*, *trn^{Cys}*, *trn^{Tyr}*, *trn^{Ser}*, *trn^{Glu}* và *trn^{Pro}*) nằm trên sợi L, trong khi 14 gene *tRNA* còn lại nằm trên sợi H, phù hợp với mô hình tổ chức gene ty thể đã được ghi nhận ở các loài linh trưởng khác. Các gene *tRNA* của *Khỉ mặt đỏ* có chiều dài dao động từ 59 bp đến 75 bp, trong đó *trnS1* (agc) là gene ngắn nhất (59 bp) và *trnL2* (tta) là gene dài nhất (75 bp). Thành phần nucleotide của các gene *tRNA* cho thấy sự ưu thế của A và T, phản ánh đặc trưng giàu A+T của hệ gene ty thể. Mặc dù có sự khác nhau nhất định về chiều dài và hình thái các vòng các *tRNA*, cấu trúc tổng thể dạng lá clover vẫn được duy trì ở tất cả các gene, cho thấy mức độ bảo tồn cao của hệ thống *tRNA* ty thể ở loài này.

Về anticodon, tất cả 22 gene *tRNA* đều mang bộ ba anticodon đặc trưng, được xác định tại vòng đối mã, phù hợp với bảng mã di truyền ty thể của động vật có xương sống. Các anticodon được ghi nhận bao gồm UGU (Thr), GAA (Phe), UAC (Val), UAA và UAG (Leu), GAU (Ile và Met), UCA (Trp), GUC (Asp), UUU (Lys), UCC (Gly), UGG (Arg và Pro), GCU (Ser), UUC (Glu), GUA (Tyr), GCA (Cys), GUU (Asn), GUG (His), UGC (Ala) và UUG (Gln). Đáng chú ý, một số axit amin như Leucine được mã hóa bởi hai gene *tRNA* khác nhau, trong khi *trnI* và *trnM* cùng mang anticodon GAU, phản ánh đặc điểm phổ biến của hệ gene ty thể và cơ chế giải mã linh hoạt trong quá trình dịch mã. Nhìn chung, sự hiện diện đầy đủ và nhất quán của các anticodon cho thấy hệ thống *tRNA* ty thể của *Khỉ mặt đỏ* được tổ chức hoàn chỉnh, đảm bảo chức năng nhận diện codon và tham gia hiệu quả vào quá trình tổng hợp protein ty thể.

Ngoài cấu trúc lá chẻ ba điển hình, 2 gene *tRNA* trong ty thể *Khỉ mặt đỏ* chứa tổng cộng 6 cặp base không khớp (Bảng 3. 10). Cụ thể, *tRNA-Methionine* ghi nhận ba dạng cặp base không bắt cặp, bao gồm A–G, A–U và A–C, với tổng tần số là 5 lần. Trong đó, một cặp A–G xuất hiện tại thân nhận axit amin (AA stem), trong khi bốn cặp không bắt cặp còn lại (A–U với tần số 3 và A–C với tần số 1) được ghi nhận tại thân TΨC (T-arm). Điều này cho thấy vùng TΨC của *trnM* có mức độ biến đổi cao hơn so với thân nhận axit amin. Đối với *tRNA-Arginine* (*trnR*, anticodon TCG), chỉ ghi nhận một cặp base không bắt cặp dạng A–A, xuất hiện tại thân nhận axit amin (AA stem). So với *trnM*, số lượng cặp base không bắt cặp ở *trnR* thấp hơn đáng kể. Nhìn chung, các cặp base không bắt cặp trong các gene *tRNA* của *Khỉ mặt đỏ* chủ yếu tập trung ở thân nhận axit amin và thân TΨC, trong khi không ghi nhận sự không bắt cặp tại thân đối mã (anticodon stem), cho thấy vùng liên quan trực tiếp đến nhận diện codon được bảo tồn cao.

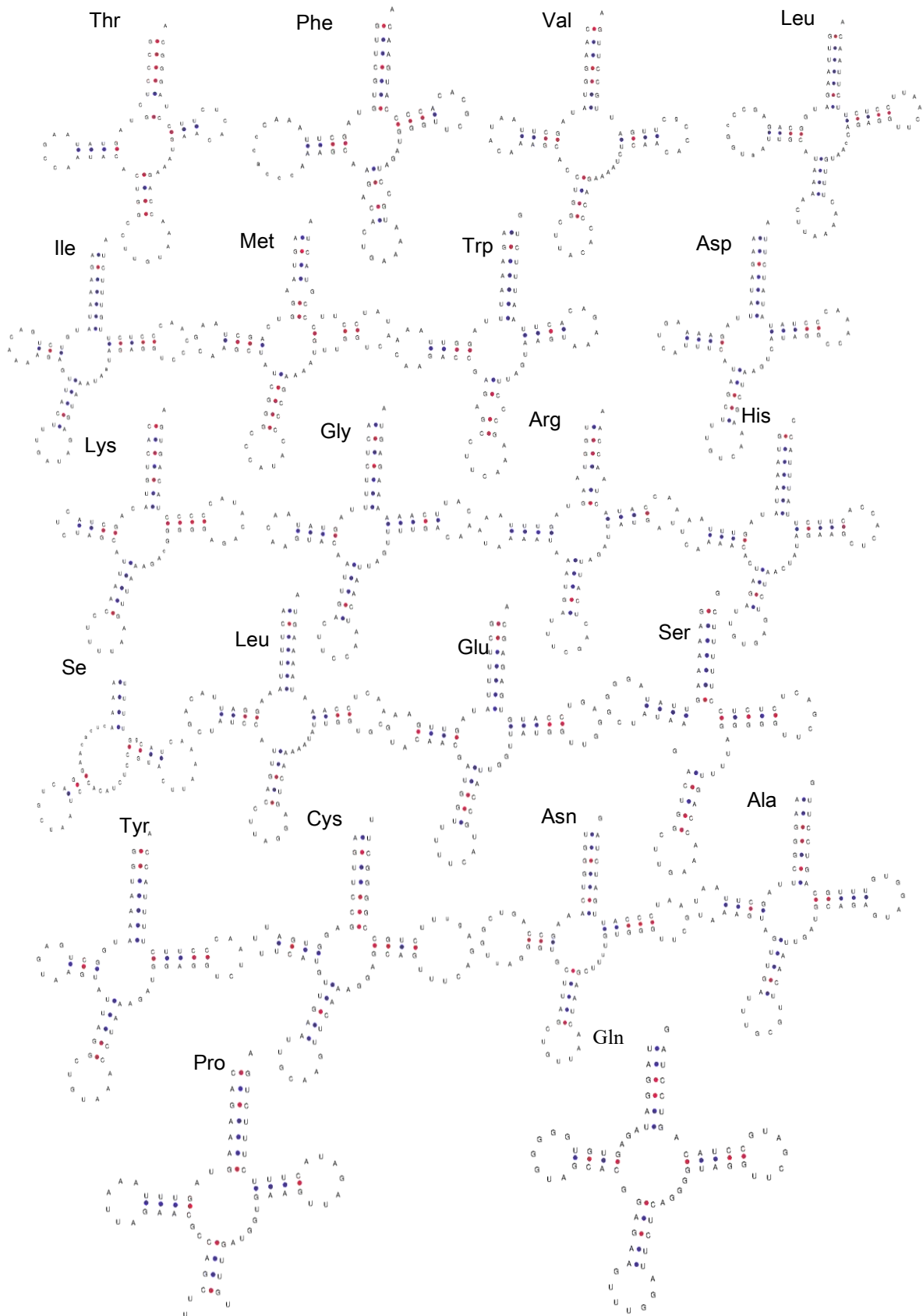
Bảng 3. 10. Các cặp base không bắt cặp của *t-RNAs*. AA—amino acid acceptor, T-arm, AC—anticodon.

<i>tRNA</i>	Cặp base không khớp	thân	Tần số
Methionine CAT	A-G	AA	1
	A-U	T-arm	3
	A-C	T-arm	1
Arginine TCG	A-A	AA	1

3.2.2.5. Vùng lặp và vùng liên gene

Phân tích vùng liên gene và vùng lặp trên hệ gene ty thể của *Khi mặt đỏ* cho thấy sự hiện diện của một số trường hợp chồng chéo gene (vùng lặp), phản ánh kiểu tổ chức gene điển hình của hệ gene ty thể ở linh trưởng (Bảng 3.7). Cụ thể, một vùng chồng chéo 22 bp được ghi nhận giữa hai gene *atp8* và *atp6*, trong đó *atp8* và *atp6* nằm chồng lên nhau. Đây là vùng liên gene phổ biến và được bảo tồn cao trong hệ gene ty thể của động vật có xương sống. Ngoài ra, sự chồng chéo 2 bp được quan sát giữa *trnV* và *rrnL*, sự chồng chéo 3 bp giữa *trnI* và *trnQ*, và sự chồng chéo 4 bp giữa *nad4L* và *nad4*. Các vùng lặp này đều có giá trị overlap/intergenic âm và chủ yếu nằm trên sợi H, tương tự như mô hình đã được ghi nhận ở nhiều loài linh trưởng khác.

Bên cạnh các vùng lặp, gene ty thể của *Khi mặt đỏ* Tây Nguyên Việt Nam còn chứa nhiều vùng khoảng cách liên gene không mã hóa, thể hiện bằng các giá trị overlap/intergenic dương. Các vùng liên gene này có chiều dài dao động từ 1 bp đến 68 bp, phân bố rải rác giữa các gene mã hóa protein, *tRNA* và *rRNA*. Vùng liên gene dài nhất (68 bp) được ghi nhận giữa *trnY* và *cox2*, trong khi các vùng liên gene đáng kể khác bao gồm 32 bp giữa *trnN* và *trnC*, 31 bp giữa *trnY* và gene kế cận, và 15 bp giữa *nad5* và *nad6*. Ngoài ra, nhiều vùng liên gene ngắn (1–4 bp) cũng được ghi nhận, cho thấy cấu trúc hệ gene ty thể tương đối chặt chẽ.



Hình 3. 15. Cấu trúc thứ cấp của 22 gene *tRNA* của *Khỉ mặt đỏ* Tây Nguyên Việt Nam. Màu đỏ đại diện cho các kết nối GC, trong khi màu xanh dương đại diện cho các kết nối AU.

3.2.2.6. Thảo luận

Trong nghiên cứu này, hệ gene ty thể hoàn chỉnh của *Khỉ mặt đỏ* Tây Nguyên Việt Nam đã được xác định và phân tích chi tiết, cung cấp thêm dữ liệu di truyền quan trọng cho loài linh trưởng này. Hệ gene ty thể của *Khỉ mặt đỏ* Tây Nguyên Việt Nam thể hiện mức độ tương đồng cao với cá thể *Khỉ mặt đỏ* Trung Quốc, phản ánh tính ổn định di truyền của loài này trong phạm vi phân bố rộng ở khu vực châu Á. Sự sai khác về kích thước tổng thể chủ yếu xuất phát từ vùng không mã hóa, đặc biệt là vùng điều khiển (*D-loop*), trong khi số lượng và vị trí 37 gene ty thể vẫn được bảo tồn. Điều này cho thấy cấu trúc hệ gene ty thể của *Khỉ mặt đỏ* có tính ổn định cao, phù hợp với đặc điểm chung của các loài trong chi *Macaca* (52,104).

Thành phần nucleotide của hệ gene ty thể *Khỉ mặt đỏ* thể hiện xu hướng giàu A+T trung bình (~56–57%), thấp hơn nhiều so với các loài thuộc họ *Colobinae* (>61%), nhưng tương đồng với các loài khỉ Cựu Thế giới khác như *Khỉ vàng*, *khỉ đầu chó* và *khỉ đuôi lợn*. Sự khác biệt này phản ánh áp lực chọn lọc và lịch sử tiến hóa khác nhau giữa hai nhóm Cercopithecinae và Colobinae. Việc các vùng PCGs, *rrnL* và *rrnS* có tỷ lệ A+T tương đối gần nhau cho thấy áp lực chọn lọc tương đối đồng đều trên các vùng chức năng chính của ty thể, trong đó *rrnS* có A+T thấp hơn nhẹ, phù hợp với vai trò bảo tồn cao của gene ribosomal *12S*.

Phân tích AT-skew và GC-skew của các gene mã hóa protein cho thấy xu hướng AT-skew dương và GC-skew âm ổn định, phản ánh sự ưu thế của A so với T và C so với G trên mạch được phân tích. Mô hình thiên lệch này tương đồng giữa cá thể *Khỉ mặt đỏ* Việt Nam và Trung Quốc, cho thấy tính bảo tồn về cơ chế sao chép và phiên mã ty thể giữa các khu vực địa lý. Sự khác biệt nhỏ về biên độ skew giữa các gene nhiều khả năng liên quan đến vị trí gene trên mạch và áp lực chức năng khác nhau trong chuỗi hô hấp ty thể.

Kết quả phân tích RSCU và tần suất axit amin cho thấy hệ gene ty thể của *Khỉ mặt đỏ* có mức độ sử dụng codon ưu tiên kết thúc bằng A hoặc U, phù hợp với nền nucleotide giàu A+T. Sự tương đồng rất cao về thành phần axit amin giữa hai cá thể *Khỉ mặt đỏ* (Việt Nam và Trung Quốc) cho thấy mức độ phân hóa di truyền thấp, trong khi các sai khác nhỏ so với khỉ đuôi lợn cho thấy sự phân hóa loài nhưng không làm thay đổi xu hướng chức năng tổng thể của protein ty thể (105).

Vùng điều khiển (*D-loop*) của *Khỉ mặt đỏ* có chiều dài 1083 bp, nằm trong khoảng điển hình của động vật có xương sống và tương đồng với nhiều loài linh trưởng khác (106). Sự khác biệt lớn về chiều dài *D-loop* giữa *Khỉ mặt đỏ* và *khỉ đuôi*

lợn Trung Quốc cho thấy vai trò của các lặp lại nối tiếp (tandem repeats) trong việc tạo nên biến thiên kích thước vùng này. Do chịu áp lực chọn lọc thấp, *D-loop* trở thành vùng biến đổi cao, có giá trị lớn trong các nghiên cứu về đa dạng di truyền, phân hóa quần thể và lịch sử tiến hóa của loài.

Những sai khác nhỏ quan sát được giữa *Khỉ mặt đỏ* và các loài *macaca* khác có ý nghĩa chủ yếu ở cấp độ phân loại loài, không làm thay đổi xu hướng chức năng chung của protein ty thể. Điều này củng cố giá trị của dữ liệu ADN ty thể trong việc làm rõ mối quan hệ phát sinh loài trong chi *macaca*.

3.2.3. Đặc điểm hệ gene ty thể hoàn chỉnh của cá thể *Chà và chân nâu* (*Pygathrix nemaeus*) Tây Nguyên Việt Nam

Gene ty thể hoàn chỉnh của *Chà và chân nâu* bao gồm 16,539 cặp base (bp) và chứa 37 gene điển hình có trong ty thể của loài linh trưởng (Hình 3. 5; Bảng 3. 11). ADN ty thể của *Chà và chân nâu* Tây Nguyên Việt Nam (16,539 bp) được phân tích trong nghiên cứu này có kích thước nhỏ hơn *Chà và chân nâu* (JF_293096) 16,559 bp là 20 bp và lớn hơn so với *Chà và chân nâu* (NC008220) 15,467bp là 1,072 cặp nucleotide. Tuy nhiên kích thước của *Chà và chân nâu* (NC008220) được công bố không có số liệu của vùng *D-loop*, do đó sự chênh lệch về kích thước này phù hợp với độ dài điển hình của khoảng 1092 bp của vùng này.

Bảng 3. 11. Vị trí và độ dài của 37 gene trong hệ gene ty thể hoàn chỉnh của cá thể *Chà và chân nâu* Tây Nguyên Việt Nam

Tên	Bắt đầu	Kết thúc	Mạch	Chiều dài	Overlap/int ergenic
<i>cytb_b</i>	7	558	+	552	7
<i>trnT(aca)</i>	566	629	+	64	1
<i>trnP(cca)</i>	631	698	-	68	1,083
<i>trnF(ttc)</i>	1782	1853	+	72	0
<i>rrnS</i>	1854	2804	+	951	0
<i>trnV(gta)</i>	2805	2873	+	69	-2
<i>rrnL</i>	2872	4438	+	1567	-2
<i>trnL2(tta)</i>	4439	4513	+	75	2
<i>nad1</i>	4516	5466	+	951	4

trnI(atac)	5471	5539	+	69	-3
trnQ(caa)	5537	5607	-	71	0
trnM(atg)	5608	5675	+	68	0
nad2	5676	6707	+	1032	10
trnW(tga)	6718	6784	+	67	3
tRNA(gca)	6792	6860	-	69	1
trnN(aac)	6862	6934	-	73	32
trnC(tgc)	6967	7035	-	69	0
trnY(tac)	7036	7100	-	65	4
cox1	7105	8643	+	1539	2
trnS2(tca)	8646	8714	-	69	3
trnD(gac)	8718	8785	+	68	1
cox2	8787	9446	+	660	86
trnK(aaa)	9533	9599	+	67	1
atp8	9601	9801	+	201	-40
atp6	9762	10436	+	675	5
cox3	10442	11224	+	783	1
trnG(gga)	11226	11293	+	68	0
nad3	11294	11638	+	345	1
trnR(cga)	11640	11704	+	65	0
nad4l	11705	11998	+	294	-4
nad4	11995	13365	+	1371	7
trnH(cac)	13373	13441	+	69	0
trnS1(aga)	13442	13500	+	59	0
trnL1(cta)	13501	13571	+	71	6
nad5	13578	15377	+	1800	2
nad6	15390	15911	-	522	0

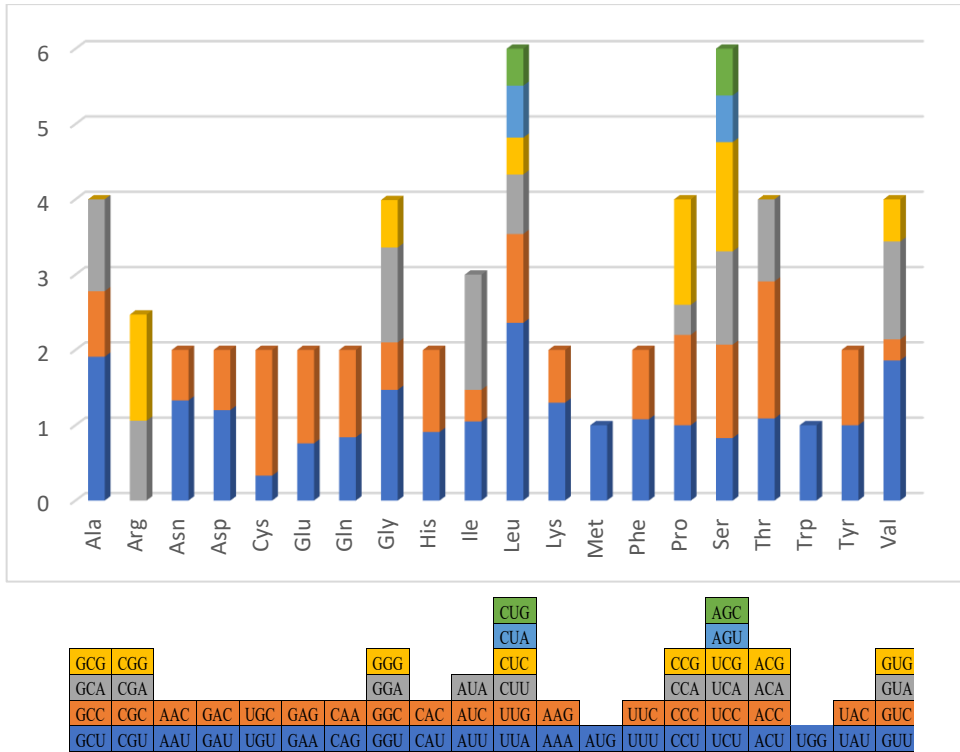
trnE(gaa)	15912	15980	-	69	4
cytb_a	15985	16560	+	576	

3.2.3.1. Thành phần nucleotide

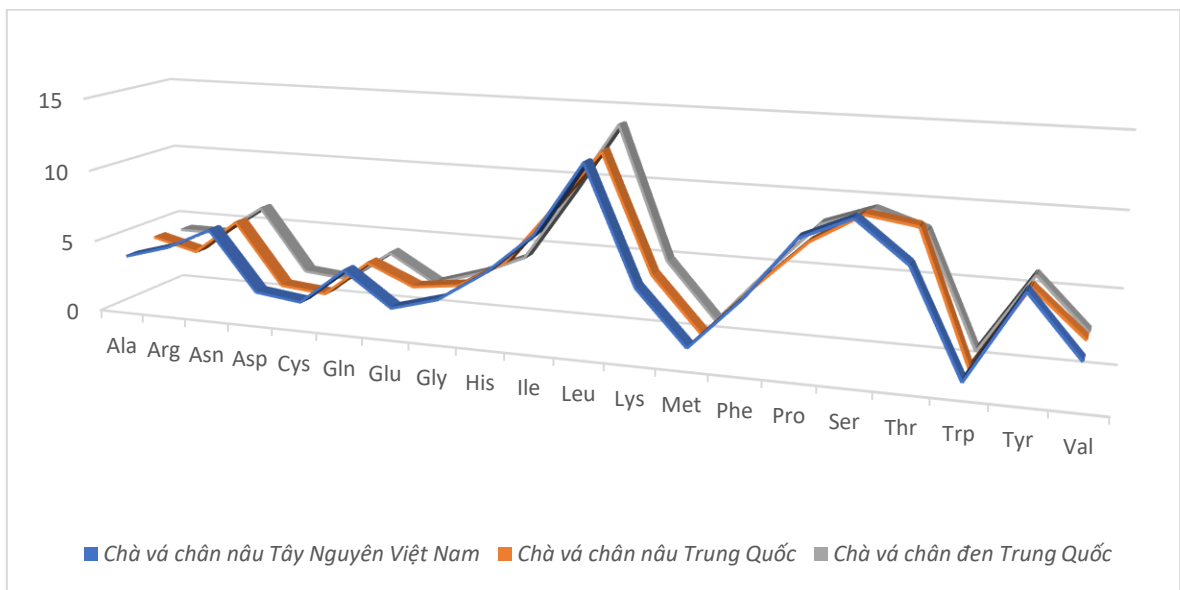
Gene ty thể của *Chà và chân nâu* Tây Nguyên Việt Nam thể hiện hàm lượng A + T 61.1% nhỏ hơn cá thể *Chà và chân nâu* ở khu vực khác NC008220 và *Chà và chân nâu* JF_293096 cùng có hàm lượng A + T chiếm 61.3% (Bảng 3. 12). Tương tự như các loài linh trưởng khác, hàm lượng ADN ty thể của *Chà và chân nâu* thể hiện sự thiên lệch sử dụng codon rõ rệt. Phần lớn các codon kết thúc bằng A hoặc U có giá trị RSCU > 1, trong khi nhiều codon kết thúc bằng G hoặc C có RSCU < 1 hoặc không xuất hiện trong hệ gene ty thể. Xu hướng này được ghi nhận rõ ở các amino acid có nhiều codon đồng nghĩa như leucine, serine, alanine và proline, phản ánh ưu thế của các codon giàu A/U trong hệ gene ty thể của loài (Bảng 3. 12).

Sự phân bố tần suất (%) của 20 axit amin trong toàn bộ các gene mã hóa protein ty thể của ba cá thể linh trưởng gồm *Chà và chân nâu* Tây Nguyên Việt Nam, *Chà và chân nâu* Trung Quốc) và *Chà và chân đen* Trung Quốc rất tương đồng (Hình 3. 17). Trong số đó, *Leu* là axit amin chiếm tần suất cao nhất ở cả ba cá thể, dao động khoảng 12–14%. Tiếp theo là các axit amin có tần suất tương đối cao như *Ser* và *Thr*, đạt khoảng 7–9%. Các axit amin khác như *Ala*, *Ile*, *Pro* và *Val* có tần suất trung bình, phân bố khá đồng đều giữa các cá thể. Ngược lại, *Trp* và *Met* là những axit amin có tần suất thấp nhất, chỉ chiếm khoảng dưới 1–2%. Nhìn chung, sự khác biệt về tần suất axit amin giữa ba cá thể là rất nhỏ, không ghi nhận sự thay đổi rõ rệt về thứ hạng hay xu hướng phân bố của các axit amin.

RSCU của các codon trong 13 gene mã hóa protein ty thể của cá thể *Chà và chân nâu* (Hình 3. 16), các codon được sử dụng ưu tiên chủ yếu là những codon giàu A/T, đặc biệt là các codon kết thúc bằng A hoặc T. Ngược lại, phần lớn các codon giàu G/C, nhất là các codon kết thúc bằng G hoặc C, có giá trị RSCU thấp. Xu hướng này được ghi nhận đồng nhất ở hầu hết các axit amin có nhiều codon đồng nghĩa như *Leu*, *Ser*, *Ala*, *Thr* và *Pro*. Đối với các axit amin chỉ được mã hóa bởi một codon duy nhất trong hệ gene ty thể như *Met* (AUG) và *Trp* (UGG), giá trị RSCU bằng 1, phản ánh sự không tồn tại của thiên lệch sử dụng codon đồng nghĩa đối với các axit amin này.



Hình 3. 16. Mức sử dụng codon đồng nghĩa tương đối (Relative Synonymous Codon Usage - RSCU) của các gene mã hóa protein trong ty thể *Chà và chân nâu*.



Hình 3. 17. Tàn suất phần trăm thành phần axit amin trong toàn bộ hệ gene ty thể của các cá thể *chà và*: *Chà và chân nâu* Tây Nguyên Việt Nam, *Chà và chân nâu* Trung Quốc, và *Chà và chân đen* Trung Quốc

Bảng 3. 12. Các chỉ số thành phần nucleotide trong các vùng khác nhau của 23 gene ty thể đại diện cho loài linh trưởng.

Số gia nhập	Gene mã hóa protein (PCGs)	16S (<i>rrnL</i>)		12S (<i>rrnS</i>)					
		Độ dài (bp)	AT (%)	Độ dài (bp)	AT (%)				
<i>Chà vá chân nâu</i> Tây Nguyên		16,539	61.1	11292	61.5	1564	59.5	948	59.4
<i>Chà vá chân nâu</i>	NC008220	15,467	61.3	11292	61.4	1564	59.7	948	59.4
<i>Chà vá chân nâu</i>	JF_293096	16559	61.3	11,292	61	1564	59.7	948	59.4
<i>Khỉ mặt đỏ</i>	KM_360179	16,559	56.7	11,313	56	1566	57.3	951	55.8
<i>Khỉ đuôi lợn</i>	KP_330231	17,050	57.2	11,310	57	1562	57.8	947	54.6
<i>Chà vá chân xám</i>	JQ_821842	16,535	61.1	11,292	61	1562	59.9	948	59.4
<i>Chà vá chân đen</i>	MH_064177	16,536	61.4	11,304	62	1563	59.7	949	58.8
<i>Khỉ đuôi lợn</i>	KP_330231	17,050	57.2	11,310	57	1562	57.8	947	54.6
<i>Voọc sọc đầu đen</i>	KU_899140	16,548	61.9	11,277	62	1563	61	935	58.3
<i>Khỉ vòi</i>	DQ_355298	16,570	60.9	11,298	61	1568	59.9	949	57.5
<i>Voọc mũi hếch</i> <i>vàng</i>	KM_504390	16,552	61.5	11,292	62	722	59.6	949	58.2
<i>Voọc mũi hếch xám</i>	JQ_821836	16,553	61.6	11,295	62	1571	60	949	58.3
<i>Voọc mũi hếch đen</i>	JQ_821839	16,550	61.5	11,298	62	1570	59.7	949	58
<i>Voọc mũi hếch Bắc</i> <i>Bộ</i>	JF_293093	16,552	61.6	11,289	62	1572	60.2	949	58.5
<i>Khỉ mặt đỏ</i>	KM_360179	16,559	56.7	11,313	56	1566	57.3	951	55.8
<i>Khỉ vàng</i>	JQ_821843	16,564	56.8	11,310	56	1560	57.4	947	55.6
<i>Khỉ đầu chó</i>	NC_001992	16,521	56.3	11,292	56	1572	57.7	947	55.1
<i>Khỉ tai mèo trắng</i>	KM_588314	16,499	59.7	11,280	59	1555	60.5	953	56.6
<i>Homo sapiens</i> <i>neanderthalensis</i>	NC_011137	16,565	55.6	11,283	55	1560	57.2	954	54.4
<i>Homo sapiens</i> <i>neanderthalens</i>	OM_062614	16,565	55.7	11,283	55	1560	57.3	954	54.4
<i>Khỉ mũ trán trắng</i>	NC_002763	16,554	60.9	11,268	61	1556	60.2	958	57.6

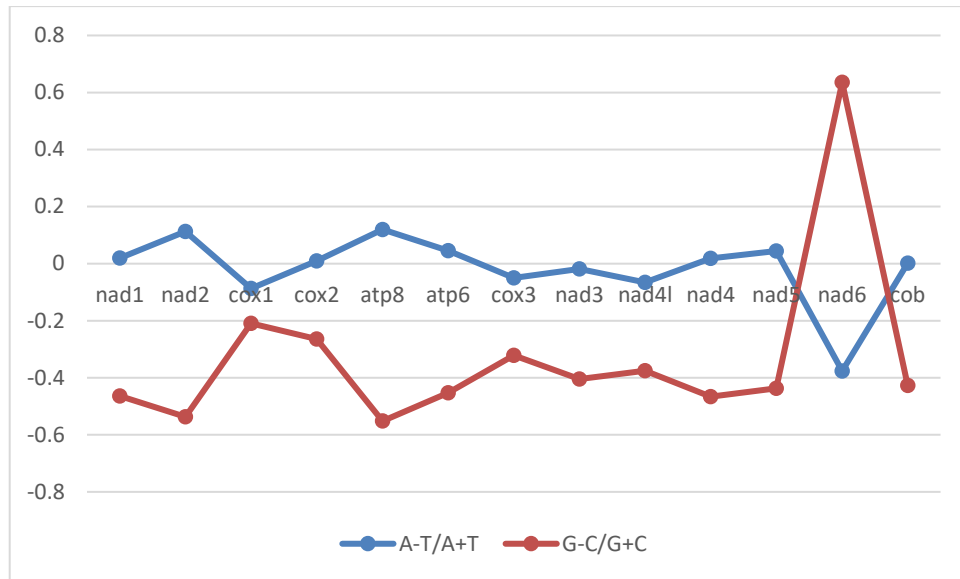
Cheo cheo đốm Ấn Độ NC_037993 16,444 61.4 11,310 61 1576 61.6 958 56.4

3.2.3.2. Các gene mã hóa Protein

Gene ty thể của *Chà và chân nâu* Tây Nguyên Việt Nam chứa 13 gene mã hóa protein điển hình (PCGs), với tổng chiều dài khoảng 11,3 kb, chiếm phần lớn chiều dài hệ gene ty thể hoàn chỉnh. Trong số này, 12 gene nằm trên mạch nặng (H-strand), trong khi gene *nad6* nằm trên mạch nhẹ (L-strand), phù hợp với mô hình tổ chức gene ty thể đặc trưng của linh trưởng. Các chỉ số AT-skew và GC-skew cho thấy giá trị AT-skew của 13 gene mã hóa protein trong hệ gene ty thể *Chà và chân nâu* nhìn chung đều mang giá trị âm, phản ánh T xuất hiện với tần suất cao hơn A trên mạch được phân tích (3. 13). Mức độ AT-skew có sự khác biệt giữa các gene, trong đó một số gene như *nad1*, *nad2*, *cox1* và *cox2* thể hiện AT-skew âm rõ rệt hơn so với các gene còn lại, cho thấy mức độ thiên lệch mạnh về thành phần thymine trong các vùng này (Hình 3. 18). Ngược lại, GC-skew của hầu hết các gene mã hóa protein đều mang giá trị âm, cho thấy C chiếm ưu thế so với G trong các gene ty thể của *Chà và chân nâu*. Mức độ GC-skew giữa các gene có sự biến động nhất định, trong đó các gene thuộc nhóm NAD, đặc biệt là *nad4* và *nad5*, có GC-skew âm mạnh hơn, trong khi các gene *atp6*, *atp8* và các gene *cox* thường có giá trị GC-skew âm thấp hơn. Sự khác biệt về biên độ AT-skew và GC-skew giữa các gene phản ánh tính không đồng nhất về thành phần nucleotide trong các gene mã hóa protein của hệ gene ty thể *Chà và chân nâu*.

Tuy nhiên, xu hướng chung vẫn được duy trì ổn định, với AT-skew âm và GC-skew âm là đặc điểm nổi bật xuyên suốt 13 gene mã hóa protein được phân tích, cho thấy sự bất đối xứng nucleotide nhất quán trong hệ gene ty thể của loài này.

Ở cấp độ toàn bộ các gene mã hóa protein, cá thể *Chà và chân nâu* Tây Nguyên Việt Nam có AT-skew âm và GC-skew âm, phản ánh ưu thế của T so với A và của C so với G. So sánh với các cá thể *Chà và chân nâu* khác đã công bố cho thấy mức độ skew giữa các cá thể chỉ dao động nhẹ, không làm thay đổi xu hướng tổng thể. Do đó, độ thiên lệch nucleotide trong các gene mã hóa protein ty thể của *Chà và chân nâu* là tương đối ổn định, bất chấp sự khác biệt về nguồn gốc địa lý.



Hình 3. 18. AT-skew và GC-skew trong 13 gene mã hóa protein gene ty thể *Chà và chân nâu*.

Bảng 3. 13. Giá trị GC-skew và AT-skew trong các gene mã hóa protein (PCGs).

	Số gia nhập	T(U)	C	A	G	Tổng	AT-Skew	GC-Skew
<i>Chà và chân nâu</i> Tây Nguyên Việt Nam		31.0	26	30.5	12.5	868.6	-0.00749	-0.35205
<i>Chà và chân nâu</i>	JF_293096	30.9	26.1	30.5	12.5	868.6	-0.00678	-0.35155
<i>Chà và chân nâu</i>	NC008220	30.9	26.1	30.5	12.5	868.6	-0.00678	-0.35155
<i>Chà và chân đen</i>	MH_064177	31.2	25.9	30.6	12.3	807.4	-0.01002	-0.35463
<i>Chà và chân xám</i>	PP_623106	30.9	26.1	30.5	12.5	868.6	-0.00605	-0.35278
<i>Chà và chân xám</i>	JQ_821842	30.9	26.1	30.5	12.5	868.6	-0.0062	-0.35277
<i>Khỉ đuôi lợn</i>	KP_330231	26.5	30.9	30.2	12.3	870	0.065732	-0.42945
<i>Voọc sọc đầu đen</i>	KU_899140	31.5	25.4	30.9	12.2	867.5	-0.00896	-0.34998
<i>Khỉ vòi</i>	DQ_355298	30.5	26.7	30.6	12.2	869.1	0.001593	-0.37082
<i>Voọc mũi hếch vàng</i>	KM_504390	31.4	25.6	30.8	12.2	868.6	-0.01054	-0.35253
<i>Voọc mũi hếch xám</i>	JQ_821836	31.6	25.5	30.6	12.4	868.8	-0.01638	-0.34612
<i>Voọc mũi hếch đen</i>	JQ_821839	31.5	25.6	30.7	12.2	869.1	-0.01181	-0.35612
<i>Voọc mũi hếch Bắc Bộ</i>	JF_293093	31.5	25.5	30.8	12.3	868.4	-0.01138	-0.34898

<i>Khỉ cộc</i>	KM_360179	26.4	31	30	12.5	870.2	0.063577	-0.4244
<i>Khỉ vàng</i>	JQ_821843	26.6	31	29.8	12.6	870	0.056444	-0.42052
<i>Khỉ đầu chó</i>	NC_001992	26.2	31.2	29.7	12.9	868.6	0.061768	-0.41663
<i>Khỉ tai mèo trắng</i>	KM_588314	28.3	27.8	31.1	12.9	867.7	0.046296	-0.36736
<i>Homo sapiens neanderthalensis</i>	OM_062614	26.2	31.9	28.8	13.1	867.8	0.046422	-0.41631
<i>Khỉ mũ trán trắng</i>	NC_002763	29.9	26.7	31.3	12.1	866.8	0.02306	-0.37663

3.2.3.3. Vùng giàu A + T

Vùng điều khiển (*D-loop*), nằm giữa gene *trnP* và gene *trnF*, có chiều dài 1083 cặp base (vị trí 699–1,871). Kích thước này là điển hình cho các gene ty thể của động vật có xương sống (52). Kích thước của vùng này ở *Chà vá chân nâu* Tây Nguyên Việt Nam tương tự so với các mẫu *Chà vá chân nâu* khác JF_293096 (1092 bp; vị trí 15468–16559) cũng như *Chà vá chân đen* (1092 bp; 15,443–16,534 nt), *Khỉ vàng* (1085 bp; 15,480–16,564), *Khỉ đầu chó* (1076 bp; 15,446–16,521 nt), và *Khỉ tai mèo trắng* (1079 bp; 15,421–16,499 nt), và ngắn hơn so với *Homo sapiens* (1121 bp; 16,022–16,567 nt, 1–575 nt). Sự biến đổi kích thước này chủ yếu được cho là do sự khác biệt về số lượng bản sao và các lặp lại nối tiếp trong vùng (85). Vùng điều khiển thể hiện mức độ biến đổi cao so với các khu vực khác của gene ty thể, phản ánh sự hiện diện của nhiều lặp lại nối tiếp (TRs) và sự biến đổi trong số lượng bản sao của chúng (85).

3.2.3.4. *tRNA* và rRNA

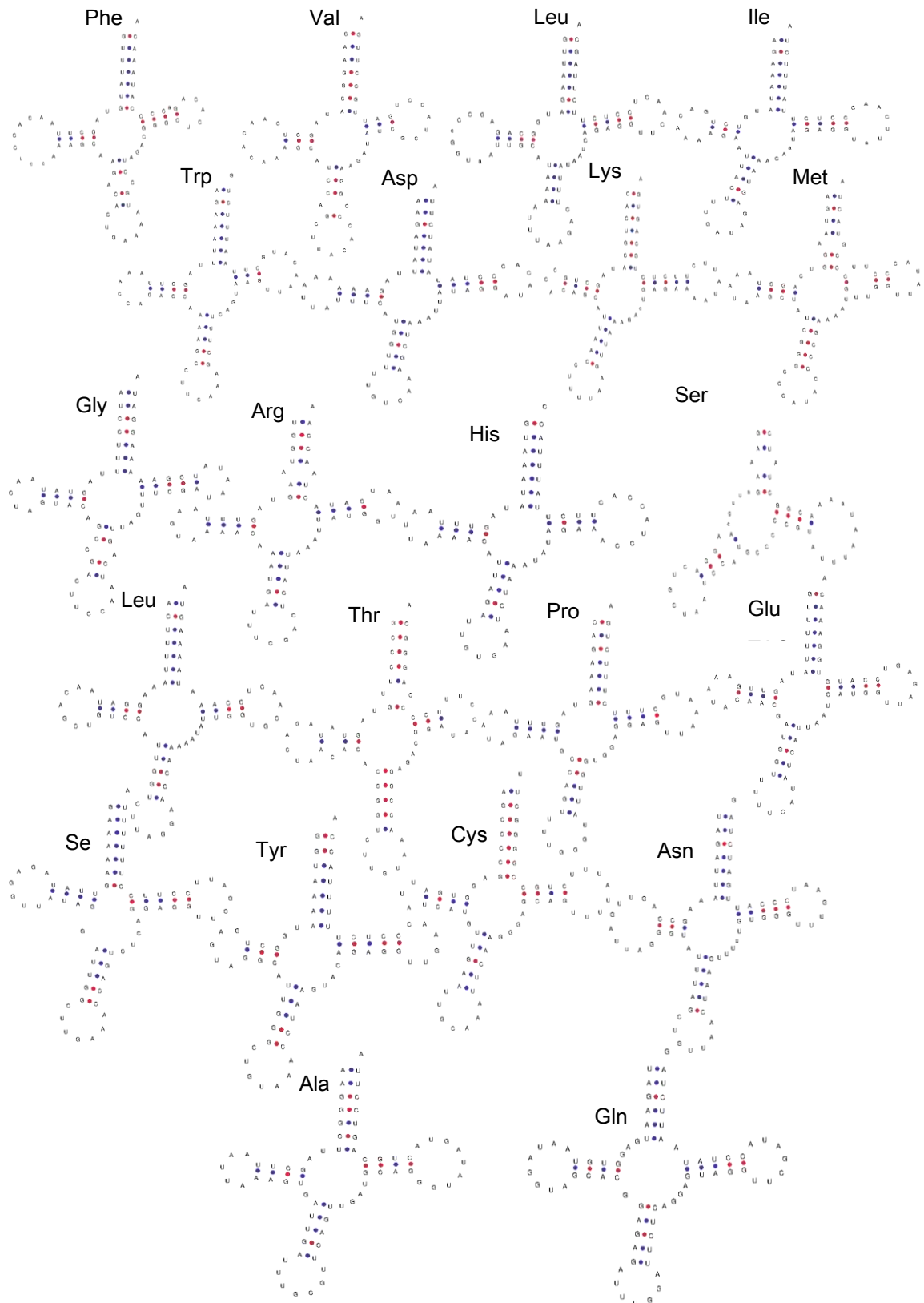
Toàn bộ 22 gene transfer RNA (*tRNA*) trong hệ gene ty thể của *Chà vá chân nâu* Tây Nguyên Việt Nam (Hình 3. 19) có tám gene *tRNA* nằm trên mạch nhẹ (L-strand), trong khi các gene *tRNA* còn lại nằm trên mạch nặng (H-strand) (Bảng 3.4). Tất cả 22 gene *tRNA* được xác định trong hệ gene ty thể của *Chà vá chân nâu* đều mang anticodon tương thích với những gì đã được ghi nhận ở các loài linh trưởng khác, cho thấy mức độ bảo tồn cao về chức năng dịch mã. Chiều dài các gene *tRNA* dao động từ 59 bp đến 75 bp, trong đó *trnS1* là gene có kích thước nhỏ nhất (59 bp) và *trnL2* là gene có kích thước lớn nhất (75 bp). Các gene *tRNA* nhìn chung có kích thước ngắn và tương đối đồng đều, phù hợp với đặc điểm của *tRNA* ty thể ở linh trưởng. Một số gene *tRNA* trong hệ gene ty thể *Chà vá chân nâu* được ghi nhận chứa các cặp base không khớp, với tổng cộng 9 vị trí không bắt cặp được phát hiện ở nhiều gene *tRNA* khác nhau (Bảng 3. 14). Cụ thể, *tRNA*-Methionine (*trnM*) là gene ghi nhận nhiều cặp base không khớp nhất, với bốn dạng không bắt cặp, bao gồm A–G tại thân

nhận axit amin (AA stem) (1 lần), cùng với U–U (2 lần), C–U (1 lần) và A–U (1 lần) tại thân TΨC (T-arm). Điều này cho thấy thân TΨC của *trnM* có mức độ biến đổi cao hơn so với thân nhận axit amin, phản ánh tính linh hoạt cấu trúc của vùng này. Đối với *tRNA*-Arginine (*trnR*, anticodon CGA), chỉ ghi nhận một cặp base không khớp dạng A–A, xuất hiện tại thân nhận axit amin, cho thấy mức độ biến đổi cấu trúc thấp hơn đáng kể so với *trnM*. Tương tự, *tRNA*-Serine (*trnS*) ghi nhận hai cặp base không khớp, bao gồm một cặp A–A tại thân nhận axit amin và một cặp A–A tại thân anticodon (AC stem). Ngoài ra, *tRNA*-Phenylalanine (*trnF*) và *tRNA*-Valine (*trnV*) mỗi gene ghi nhận một cặp base không khớp dạng A–C, đều xuất hiện tại thân anticodon. *tRNA*-Glycine (*trnG*) ghi nhận một cặp không khớp C–A tại thân anticodon, trong khi *tRNA*-Threonine (*trnT*) có hai cặp base không khớp, bao gồm U–C tại thân nhận axit amin và A–C tại nhánh D (D-arm).

Nhìn chung, các cặp base không bắt cặp trong các gene *tRNA* của *Chà và chân nâu* phân bố chủ yếu tại thân nhận axit amin, thân TΨC và thân anticodon, trong khi số lượng không bắt cặp tại các vùng này là thấp và phân tán, không tập trung quá mức vào một gene duy nhất (ngoại trừ *trnM*). Điều này cho thấy mặc dù tồn tại một số biến đổi cấu trúc cục bộ, cấu trúc chế ba tổng thể và chức năng dịch mã của các *tRNA* ty thể vẫn được bảo tồn.

Bảng 3. 14. Các cặp base không khớp của *t-RNAs*. AA—amino acid acceptor, T-arm, AC—anticodon.

<i>tRNA</i>	Cặp base không khớp	thân	Tần số
Phenylalanine	A-C	AC	1
Valine	A-C	AC	1
Methionine	A-G	AA	1
	U-U	T-arm	2
	C-U	T-arm	1
	A-U	T-arm	1
Glycine	C-A	AC	1
Arginine TCG	A-A	AA	1
Serine	A-A	AA	1
	A-A	AC	1
Threonine	U-C	AA	1
	A-C	D arm	1



Hình 3. 19. Cấu trúc thứ cấp của 22 gene *tRNA* của *Chà và chân nâu* Tây Nguyên Việt Nam. Màu đỏ đại diện cho các kết nối GC, trong khi màu xanh dương đại diện cho các kết nối AU.

3.2.3.5. Vùng lặp và vùng liên gene

Phân tích so sánh các gene ty thể của *Chà vá chân nâu* Tây Nguyên Việt Nam cho thấy một số vùng lặp (overlapping genes) và vùng liên gene, phản ánh đặc điểm sắp xếp chặt chẽ của hệ gene ty thể. Cụ thể, gene *atp8* và *atp6* có một vùng lặp dài 40 bp, được xác định tại ranh giới giữa hai gene này. Đây là dạng chồng chéo phổ biến trong hệ gene ty thể của động vật có xương sống và đã được ghi nhận rộng rãi ở các loài linh trưởng, cho thấy mức độ bảo tồn cao của cấu trúc gene trong vùng này. Ngoài ra, gene *trnV* và *rrnL* ghi nhận một sự chồng chéo 2 bp, tương tự như mô hình đã được quan sát ở nhiều loài linh trưởng khác. Gene *trnI* và *trnQ* cũng có sự chồng chéo 3 bp, trong khi gene *nad4L* và *nad4* có 4 bp chồng lên nhau. Các trường hợp chồng chéo này đều xảy ra trên mạch nặng (H-strand) và phù hợp với các đặc điểm đã được mô tả ở hệ gene ty thể linh trưởng. Nhìn chung, các vùng liên gene trong hệ gene ty thể *Chà vá chân nâu* chủ yếu xuất hiện giữa các gene mã hóa protein hoặc giữa gene *tRNA* và rRNA, với độ dài chồng chéo ngắn (từ 2–40 bp), cho thấy áp lực chọn lọc nhằm duy trì kích thước hệ gene ty thể nhỏ gọn.

Bên cạnh các vùng liên gene, hệ gene ty thể của *Chà vá chân nâu* cũng chứa nhiều vùng khoảng cách liên gene không mã hóa. Các vùng liên gene này có kích thước dao động từ 1 bp đến 86 bp, phân bố rải rác giữa các gene ty thể. Trong số đó, vùng liên gene dài nhất (86 bp) nằm giữa *cox2* và *trnK*, tiếp theo là một số vùng có kích thước trung bình như 32 bp giữa *trnN* và *trnC*.

Tổng thể, số lượng và chiều dài các vùng liên gene ở *Chà vá chân nâu* Tây Nguyên Việt Nam cho thấy hệ gene ty thể có mức độ nén cao, với phần lớn các vùng liên gene có kích thước ngắn. Mặc dù trước đây các vùng này thường được xem là không mang chức năng, nhiều nghiên cứu gần đây cho rằng một số vùng liên gene có thể tham gia vào điều hòa sao chép và phiên mã gene ty thể.

So sánh với các loài linh trưởng khác cho thấy *Chà vá chân nâu* có hệ thống vùng lặp và vùng liên gene tương đồng với các loài *Chà vá* và linh trưởng, phản ánh tính bảo tồn cao trong tổ chức hệ gene ty thể, đồng thời vẫn duy trì một mức độ biến thiên nhất định ở các vùng không mã hóa.

3.2.3.6. Thảo luận

Hệ gene ty thể của *Chà vá chân nâu* Tây Nguyên Việt Nam có chiều dài và tổ chức trình tự tương đồng với các mẫu đã công bố, trong đó sự khác biệt về tổng kích thước chủ yếu bắt nguồn từ mức độ hoàn chỉnh của vùng điều khiển trong các dữ liệu tham chiếu. Điều này cho thấy các sai khác về chiều dài ADN ty thể không nhất thiết

phản ánh biến thiên sinh học thực sự. So sánh kích thước hệ gene cho thấy cá thể *Chà và chân nâu* Tây Nguyên Việt Nam có chiều dài nhỏ hơn mẫu JF_293096 (16.559 bp) nhưng lớn hơn mẫu NC008220 (15.467 bp). Sự chênh lệch đáng kể với NC008220 chủ yếu bắt nguồn từ việc thiếu số liệu vùng *D-loop* trong hệ gene này. Trên thực tế, chiều dài vùng *D-loop* của *Chà và chân nâu* Tây Nguyên Việt Nam đạt 1.083 bp, tương đương với các mẫu *Chà và chân nâu* và *Chà và* khác (~1.085–1.092 bp), cho thấy sự khác biệt về tổng chiều dài hệ gene không phản ánh sai khác sinh học thực sự, mà chủ yếu do khác biệt trong chú giải và mức độ hoàn chỉnh của trình tự công bố (52,104).

Hệ gene ty thể của *Chà và chân nâu* Tây Nguyên Việt Nam có hàm lượng A+T đạt 61,1%, thấp hơn nhẹ so với các mẫu *Chà và chân nâu* khác (61,3%) nhưng vẫn nằm trong khoảng đặc trưng của linh trưởng. Xu hướng giàu A/T này là đặc điểm phổ biến của ADN ty thể động vật, đặc biệt ở các loài linh trưởng, và có liên quan mật thiết đến cơ chế sao chép, phiên mã cũng như áp lực chọn lọc ở cấp độ phân tử (53,107)

Sự thiên lệch A/T cao đóng vai trò quan trọng trong việc hình thành thiên lệch sử dụng codon đồng nghĩa, khi các codon kết thúc bằng A hoặc U được sử dụng ưu tiên hơn so với các codon kết thúc bằng G hoặc C. Điều này đã được quan sát rõ rệt trong phân tích RSCU của *Chà và chân nâu*, đặc biệt ở các amino acid có nhiều codon đồng nghĩa như *Leu*, *Ser*, *Ala* và *Pro*. Xu hướng này phù hợp với các nghiên cứu trước đây trên hệ gene ty thể linh trưởng và động vật có xương sống, cho thấy mối liên hệ chặt chẽ giữa thành phần nucleotide và chiến lược sử dụng codon (105,108).

Phân tích AT-skew và GC-skew trong 13 gene mã hóa protein của *Chà và chân nâu* Tây Nguyên Việt Nam cho thấy AT-skew âm và GC-skew âm, phản ánh ưu thế của T so với A và của C so với G trên mạch được phân tích. Kiểu bất đối xứng nucleotide này là đặc điểm phổ biến của gene ty thể động vật và được cho là hệ quả của cơ chế sao chép bất đối xứng của ADN ty thể, trong đó hai mạch chịu các áp lực đột biến khác nhau trong quá trình sao chép (53,109). Sự khác biệt về biên độ AT-skew và GC-skew giữa các gene, đặc biệt là các gene thuộc nhóm *NAD* (như *nad4* và *nad5*), cho thấy tính không đồng nhất về thành phần nucleotide giữa các PCGs. Tuy nhiên, xu hướng skew tổng thể vẫn ổn định và tương đồng giữa các cá thể *Chà và chân nâu* có nguồn gốc địa lý khác nhau, cho thấy độ thiên lệch nucleotide của hệ gene ty thể mang tính bảo tồn cao, ít chịu ảnh hưởng bởi sự phân hóa quần thể (107).

Việc chỉ ghi nhận 9 cặp base không khớp, trong toàn bộ 22 gene *tRNA* của *Chà và chân nâu* Tây Nguyên Việt Nam có cấu trúc thứ cấp dạng chữ ba điển hình phân

bổ chủ yếu ở thân nhận axit amin, thân TΨC và thân anticodon, cho thấy mặc dù tồn tại biến đổi cấu trúc cục bộ, cấu trúc tổng thể và chức năng dịch mã của *tRNA* vẫn được duy trì ổn định. Đặc biệt, sự tập trung mismatch ở *trnM* phản ánh tính linh hoạt cao hơn của một số *tRNA* nhất định, điều đã được ghi nhận ở nhiều loài động vật khác (110). Hai gene *rRNA* (*12S rRNA* và *16S rRNA*) của *Chà vá chân nâu* có chiều dài và hàm lượng A+T (59,4–59,5%) tương đương với các loài *Chà vá* và linh trưởng khác. Do vai trò thiết yếu trong cấu trúc ribosome ty thể, các gene rRNA thường chịu áp lực chọn lọc mạnh, dẫn đến mức độ bảo tồn cao cả về kích thước lẫn thành phần nucleotide.

Vùng điều khiển (*D-loop*) của *Chà vá chân nâu* Tây Nguyên Việt Nam có chiều dài 1.083 bp, phù hợp với khoảng kích thước điển hình của động vật có xương sống. Sự biến thiên chiều dài *D-loop* giữa các loài và cá thể chủ yếu liên quan đến số lượng và kiểu lặp nối tiếp (tandem repeats), vốn là nguyên nhân chính tạo ra tính đa hình cao của vùng này (47,99).

Các vùng chồng chéo gene như *atp8–atp6* (40 bp), *trnV–rrnL* (2 bp), *trnI–trnQ* (3 bp) và *nad4L–nad4* (4 bp) đều được ghi nhận ở *Chà vá chân nâu*, tương đồng với các loài *Chà vá* khác. Những vùng chồng chéo này phản ánh áp lực tiến hóa nhằm tối ưu hóa không gian hệ gene ty thể, một đặc điểm điển hình của ADN ty thể động vật (111). Ngược lại, các vùng liên gene không mã hóa thể hiện sự biến thiên lớn hơn về chiều dài, góp phần tạo ra khác biệt nhẹ về tổng kích thước hệ gene giữa các loài và cá thể.

Những biến thiên được ghi nhận chủ yếu tập trung ở vùng không mã hóa và các khoảng liên gene, gợi ý vai trò tiềm năng của các vùng này trong điều hòa biểu hiện gene ty thể. Tuy nhiên, các sai khác này cần được xem xét thận trọng do nghiên cứu chỉ sử dụng một cá thể đại diện.

3.2.4. Đặc điểm hệ gene ty thể hoàn chỉnh của cá thể *Chà vá chân đen* (*Pygathrix nigripes*) Tây Nguyên Việt Nam

Nghiên cứu này cho kết quả hệ gene ty thể hoàn chỉnh đầu tiên của *Chà vá chân đen* Tây Nguyên Việt Nam, gồm 16,535 bp (Hình 3. 3) với trúc đặc trưng, có kích thước nhỏ hơn hệ gene ty thể của hai mẫu *Chà vá chân đen* khác được thu thập ở Nanning, Trung Quốc (16,536 bp) (112).

Bảng 3. 15. Cấu trúc và đặc trưng của hệ gene ty thể hoàn chỉnh của *Chà vá chân đen*

Tên	Bắt đầu	Kết thúc	Mạch	Chiều dài
-----	---------	----------	------	-----------

<i>nad6_a</i>	22	276	L	255
<i>trnE(gaa)</i>	277	345	L	69
<i>cytb</i>	350	1483	H	1134
<i>trnT(aca)</i>	1491	1554	H	64
<i>trnP(cca)</i>	1557	1623	L	67
<i>A + T rich region</i>	1624	2716	-	1093
<i>trnF(ttc)</i>	2717	2787	H	71
<i>rrnS</i>	2788	3736	H	949
<i>trnV(gta)</i>	3737	3802	H	66
<i>rrnL</i>	3801	5362	H	1562
<i>trnL2(tta)</i>	5363	5437	H	75
<i>nad1</i>	5440	6390	H	951
<i>trnI(atc)</i>	6395	6464	H	70
<i>trnQ(caa)</i>	6462	6533	L	72
<i>trnM(atg)</i>	6534	6601	H	68
<i>nad2</i>	6602	7639	H	1038
<i>trnW(tga)</i>	7644	7710	H	67
<i>tRNA(gca)</i>	7719	7787	L	69
<i>trnN(aac)</i>	7789	7861	L	73
<i>trnC(tgc)</i>	7894	7959	L	66
<i>trnY(tac)</i>	7960	8024	L	65
<i>cox1</i>	8026	9567	H	1542
<i>trnS2(tca)</i>	9568	9636	L	69
<i>trnD(gac)</i>	9640	9707	H	68
<i>cox2</i>	9709	10368	H	660
<i>trnK(aaa)</i>	10436	10503	H	68
<i>atp8</i>	10505	10687	H	183
<i>atp6</i>	10666	11340	H	675
<i>cox3</i>	11346	12128	H	783
<i>trnG(gga)</i>	12130	12196	H	67

<i>nad3</i>	12197	12541	H	345
<i>trnR(cga)</i>	12543	12607	H	65
<i>nad4l</i>	12608	12901	H	294
<i>nad4</i>	12898	14265	H	1368
<i>trnH(cac)</i>	14276	14344	H	69
<i>trnS1(agc)</i>	14345	14403	H	59
<i>trnL1(cta)</i>	14404	14474	H	71
<i>nad5</i>	14478	16277	H	1800
<i>nad6_b</i>	16290	16535	L	246

Hệ gene ty thể của *Chà vá chân đen* Tây Nguyên Việt Nam đã được giải trình tự, cho thấy sự đa dạng của các gene mã hóa protein với các độ dài khác nhau. Đáng chú ý, gene dài nhất được xác định là *cytochrome b (cytb)* với kích thước 1,134 bp, trong khi gene ngắn nhất là *ATP8* với kích thước 183 bp (Bảng 3. 15). Thành phần nucleotide tổng thể cho thấy sự phong phú cao hơn của adenine (A) và thymine (T) so với guanine (G) và cytosine (C), sự giàu có A-T này là đặc trưng của nhiều hệ gene ty thể của linh trưởng.

3.2.4.1. Thành phần nucleotide

Với tỷ lệ phần trăm của mỗi nucleotide cho từng gene, cùng với tổng số nucleotide cho gene đó. Các giá trị trung bình trên tất cả các gene là: Thymine (T): 31.24%; Guanine (G): 12.37% (Bảng 3. 16) cho thấy sự giàu có A-T chung, điều này là đặc trưng của nhiều hệ gene ty thể. *Nad6a* (22-276): Gene này cho thấy tỷ lệ T rất cao (43.92%) và tỷ lệ C thấp (9.41%). *Nad1* (5440-6390): Hiện thị thành phần nucleotide cân bằng hơn, với T chiếm 29.13%, A chiếm 30.70% và C chiếm 29.65%. *Nad6b* (16290-16535): thể hiện tỷ lệ C rất thấp (5.28%) và tỷ lệ G cao (32.52%). *Atp8* (10505-10687): Có tỷ lệ A cao nhất (38.8%), đóng vai trò trong các quá trình chuyển hóa, có khả năng tăng cường tổng hợp ATP trong ty thể.

Các giá trị trung bình cho thấy các xu hướng chung trong việc sử dụng nucleotide: Có sự ưu tiên cho A và T (giàu A-T) so với C và G (thiếu G-C) và tỷ lệ G thấp ở tất cả các gene có thể ảnh hưởng đến tính ổn định và chức năng của hệ gene. Thành phần nucleotide có thể phản ánh các vai trò chức năng của các gene này. Các gene có tỷ lệ T và A cao hơn có thể được biểu hiện tích cực hơn hoặc tham gia vào các con đường chuyển hóa quan trọng. Sự biến đổi trong thành phần nucleotide cũng

có thể cung cấp cái nhìn về các thích ứng tiến hóa, chẳng hạn như phản ứng với các áp lực môi trường hoặc thay đổi môi trường sống.

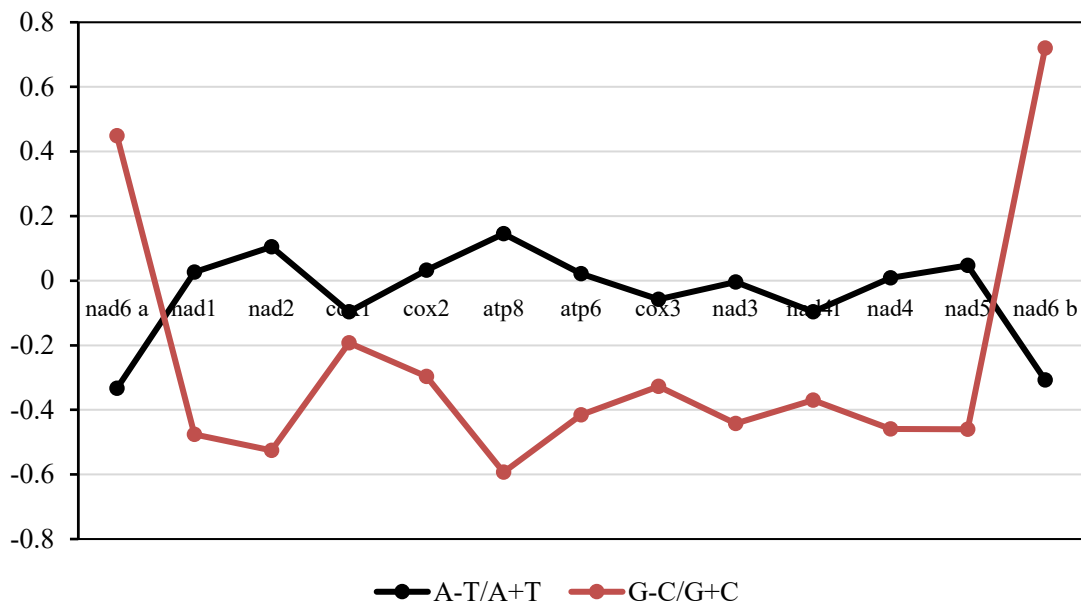
Bảng 3. 16. Thành phần nucleotide của 13 gene mã hóa protein trong hệ gene ty thể của *Chà vá chân đen*.

	T(U)	C	A	G	Tổng
22-276 - nad6 a	43.92157	9.411765	21.96078	24.70588	255
5440-6390 + nad1	29.12723	29.653	30.70452	10.51525	951
6602-7639 + nad2	28.42004	27.842	35.06744	8.67052	1038
8026-9567 + cox1	32.36057	24.44877	26.6537	16.53696	1542
9709-10368 + cox2	29.84848	24.84848	31.81818	13.48485	660
10505-10687 + atp8	28.96175	25.68306	38.79781	6.557377	183
10666-11340 + atp6	30.07407	27.25926	31.40741	11.25926	675
11346-12128 + cox3	31.41762	26.94764	27.96935	13.66539	783
12197-12541 + nad3	32.46377	25.50725	32.17391	9.855072	345
12608-12901 + nad4l	34.69388	25.17007	28.57143	11.56463	294
12898-14265 + nad4	31.21345	27.04678	31.72515	10.01462	1368
14478-16277 + nad5	30.27778	26.61111	33.27778	9.833333	1800
16290-16535 - nad6 b	40.65041	5.284553	21.54472	32.52033	246
Trung bình	31.2426	25.66075	30.72978	12.36686	780

3.2.4.2. Các gene mã hóa Protein

Hầu hết các cá thể *chà vá*, bao gồm *Chà vá chân đen*, *Chà vá chân xám*, và *Chà vá chân nâu*, cho thấy thành phần nucleotide tương tự với A và T có phần phong phú hơn C và G (Bảng 3. 16). Các cá thể khi của chi *macaca* thể hiện sự giảm đáng kể trong A và T, kèm theo sự gia tăng tương ứng trong C, điều này gợi ý về các áp lực tiến hóa khác nhau hoặc các thích ứng chức năng. Nội dung GC trung bình dường như cao hơn ở các cá thể khi của chi *macaca*, được phản ánh qua GC-skew âm của

chúng, chỉ ra một thành phần nucleotide cân bằng hơn so với các cá thể *chà vá*.



Hình 3. 20. AT và GC skew trên 13 gene mã hóa protein của hệ gene ty thể *Chà vá chân đen* Tây Nguyên Việt Nam.

Các giá trị AT-skew và GC-skew của 13 gene mã hóa protein trong hệ gene ty thể của *Chà vá chân đen* Tây Nguyên Việt Nam (Hình 3. 20) cho thấy các gene như *nad1*, *nad2*, *cox1*, *cox2*, *atp6*, *cox3*, *nad3*, *nad4*, *nad5* đều thể hiện xu hướng này với mức độ khác nhau. Ngược lại, hai đoạn gene *nad6* (*nad6a* và *nad6b*) có giá trị AT-skew âm rõ rệt, phản ánh sự ưu thế của T so với A, cho thấy đặc điểm phân bố nucleotide khác biệt của gene này so với các gene mã hóa protein còn lại. Đối với GC-skew, hầu hết các gene có giá trị âm, thể hiện sự ưu thế của C so với G trong thành phần nucleotide. Xu hướng này được ghi nhận nhất quán ở đa số các gene thuộc cả nhóm NADH dehydrogenase, cytochrome c oxidase và ATP synthase. Một số gene như *cox1* và *cox3* cho thấy GC-skew ít âm hơn, phản ánh mức độ chênh lệch giữa G và C thấp hơn so với các gene khác.

Phân tích thành phần nucleotide và các chỉ số skew cho thấy các cá thể nghiên cứu có xu hướng phân bố nucleotide tương đối đồng nhất (Bảng 3. 17). Kết quả phân tích AT-skew và GC-skew của hệ gene ty thể cho thấy *Chà vá chân đen* Tây Nguyên Việt Nam và cá thể *Chà vá chân đen* MH_064177 có thành phần nucleotide và xu hướng thiên lệch base gần như tương đồng. Cụ thể, cá thể *Chà vá chân đen* Tây Nguyên Việt Nam có tỷ lệ T = 31,2%, A = 30,7%, C = 25,7% và G = 12,4%, trong khi cá thể MH_064177 có các giá trị tương ứng là T = 31,2%, A = 30,6%, C = 25,9% và G = 12,3%. Cả hai cá thể đều thể hiện rõ ưu thế của A+T so với C+G trong hệ gene ty thể

Giá trị AT-skew của hai cá thể *Chà vá chân đen* đều âm nhẹ, lần lượt là $-0,00827$ (Tây Nguyên Việt Nam) và $-0,01002$ (MH_064177), cho thấy hàm lượng T nhỉnh hơn A (Bảng 3. 17). Đồng thời, GC-skew đều mang giá trị âm rõ ($-0,34959$ và $-0,35463$), phản ánh sự ưu thế của C so với G trong thành phần nucleotide. Mức độ sai khác giữa hai cá thể là rất nhỏ, cho thấy mô hình thiên lệch nucleotide được bảo tồn cao trong nội bộ loài *Chà vá chân đen*, bất kể sự khác biệt về nguồn gốc địa lý. So sánh nội bộ giữa các cá thể *Chà vá chân đen* cho thấy các chỉ số skew ổn định và nhất quán, không ghi nhận sự đảo chiều AT-skew hay GC-skew. Kết quả phân tích cho thấy cấu trúc phân bố nucleotide trong hệ gene ty thể của *Chà vá chân đen* ít biến đổi. Những kết quả này cung cấp cơ sở dữ liệu định lượng quan trọng cho các phân tích tiếp theo về so sánh nội loài và đánh giá mức độ biến thiên di truyền trong hệ gene ty thể của *Chà vá chân đen*.

Bảng 3. 17. AT-skew, và GC-skew của *Chà vá chân đen* Tây Nguyên Việt Nam

	Số gia nhập	T(U)	C	A	G	Tổng	AT-Skew	GC-Skew
<i>Chà vá chân đen</i> Tây Nguyên Việt Nam		31.2	25.7	30.7	12.4	780.0	-0.00827	-0.34959
<i>Chà vá chân đen</i> MH_064177		31.2	25.9	30.6	12.3	807.4	-0.01002	-0.35463
<i>Chà vá chân xám</i> JQ_821842		30.9	26.1	30.5	12.5	868.6	-0.0062	-0.35277
<i>Chà vá chân nâu</i> JF_293096		30.9	26.1	30.5	12.5	868.6	-0.00678	-0.35155
<i>Macaca leonina</i> KP_330231		26.5	30.9	30.2	12.3	870	0.065732	-0.42945
<i>Presbytis femoralis</i> KU_899140		31.5	25.4	30.9	12.2	867.5	-0.00896	-0.34998
<i>Nasalis larvatus</i> DQ_355298		30.5	26.7	30.6	12.2	869.1	0.001593	-0.37082
<i>Rhinopithecus roxellana</i> KM_504390		31.4	25.6	30.8	12.2	868.6	-0.01054	-0.35253
<i>Rhinopithecus brelichi</i> JQ_821836		31.6	25.5	30.6	12.4	868.8	-0.01638	-0.34612
<i>Rhinopithecus bieti</i> JQ_821839		31.5	25.6	30.7	12.2	869.1	-0.01181	-0.35612
<i>Rhinopithecus avunculus</i> JF_293093		31.5	25.5	30.8	12.3	868.4	-0.01138	-0.34898
<i>Macaca arctoides</i> KM_360179		26.4	31	30	12.5	870.2	0.063577	-0.4244
<i>Macaca mulatta</i> JQ_821843		26.6	31	29.8	12.6	870	0.056444	-0.42052

<i>Papio hamadryas</i>	NC_001992	26.2	31.2	29.7	12.9	868.6	0.061768	-0.41663
<i>Callithrix jacchus</i>	KM_588314	28.3	27.8	31.1	12.9	867.7	0.046296	-0.36736
<i>Homo sapiens neanderthalensis</i>	OM_062614	26.2	31.9	28.8	13.1	867.8	0.046422	-0.41631
<i>Cebus albifrons</i>	NC_002763	29.9	26.7	31.3	12.1	866.8	0.02306	-0.37663

3.2.4.3. Vùng giàu A + T

Vùng *D-loop* trong hệ gene ty thể của *Chà vá chân đen* Tây Nguyên Việt Nam có chiều dài 1.093 bp, kéo dài từ vị trí 1624 đến 2716, nằm giữa hai gene *trnP* và *trnF* (Bảng 3. 15). Đây là vùng không mã hóa dài nhất trong toàn bộ hệ gene ty thể của loài, chiếm tỷ lệ đáng kể trong tổng chiều dài genome. Vị trí và kích thước của vùng *D-loop* phù hợp với cấu trúc điển hình của hệ gene ty thể ở linh trưởng, nơi vùng này thường nằm giữa các gene *tRNA* và đóng vai trò trung tâm trong điều hòa sao chép và phiên mã ty thể. Sự tồn tại của vùng không mã hóa dài, giàu A+T cho thấy đây là khu vực có mức độ biến thiên nucleotide cao hơn so với các gene mã hóa protein và *rRNA*, đồng thời có tiềm năng chứa các yếu tố điều hòa như điểm khởi đầu sao chép mạch nặng và mạch nhẹ, cũng như các trình tự liên quan đến kiểm soát phiên mã. Kết quả xác định vùng *D-loop* trong nghiên cứu này cung cấp cơ sở dữ liệu quan trọng cho các phân tích tiếp theo về biến dị di truyền và tiến hóa phân tử của *Chà vá chân đen* ở Việt Nam

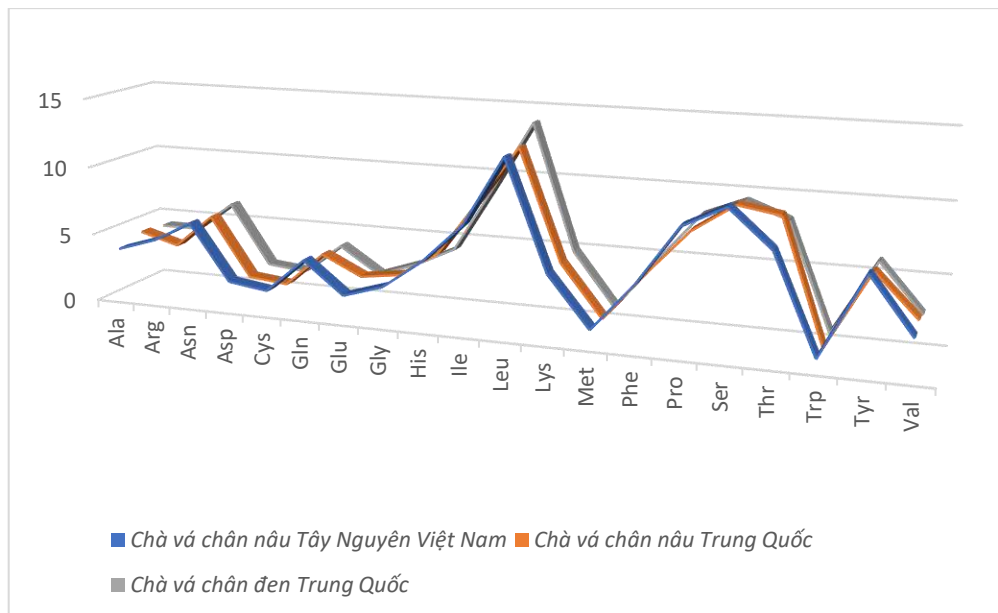
3.2.4.4. Thành phần acid amin

Thành phần axit amin và tỷ lệ tương đối (%) của ba cá thể *chà vá*, bao gồm *Chà vá chân đen* Tây Nguyên Việt Nam, *Chà vá chân đen* Trung Quốc và *Chà vá chân nâu* Trung Quốc cho thấy phổ axit amin của ba cá thể có cấu trúc tương đối tương đồng, phản ánh tính bảo tồn cao của các gene mã hóa protein ty thể trong nội bộ nhóm *Chà vá* (Hình 3. 21). Ở cả ba cá thể, leucine (*Leu*) là axit amin chiếm tỷ lệ cao nhất, dao động từ 12,7% đến 13,9%, tiếp theo là isoleucine (*Ile*) (8,7–9,5%), serine (*Ser*) (8,9–9,8%), threonine (*Thr*) (8,3–9,3%) và proline (*Pro*) (7,8–8,2%). Nhóm các axit amin này chiếm tỷ trọng lớn trong tổng thành phần axit amin, phản ánh vai trò chủ đạo của chúng trong cấu trúc và chức năng của các protein ty thể.

So sánh giữa các cá thể, *Chà vá chân đen* Tây Nguyên Việt Nam có tỷ lệ *Ile* (9,5%) và *Val* (3,5%) cao hơn nhẹ so với hai cá thể còn lại, trong khi *Chà vá chân đen* Trung Quốc thể hiện tỷ lệ *Leu* (13,9%) và *Ser* (9,4%) cao nhất trong ba cá thể. Đối với *Chà vá chân nâu* Trung Quốc, tỷ lệ *His* (4,8%), *Ser* (9,8%) và *Thr* (9,3%)

cao hơn so với hai cá thể *Chà vá chân đen*, cho thấy sự khác biệt nhẹ về phân bố axit amin giữa các loài trong cùng chi (Bảng 3. 18). Các axit amin có tỷ lệ thấp như methionine (*Met*) (1,1% ở cả ba cá thể), tryptophan (*Trp*) (0,6–0,8%) và cysteine (*Cys*) (1,4–1,6%) thể hiện mức độ biến thiên rất nhỏ giữa các cá thể. Điều này cho thấy các axit amin hiếm trong protein ty thể được duy trì ổn định, bất kể nguồn gốc địa lý hay loài.

Tổng hợp các kết quả trên cho thấy thành phần và tỷ lệ axit amin trong hệ gene ty thể của các cá thể *Chà vá* có mức độ tương đồng cao, đồng thời tồn tại một số khác biệt nhỏ về tỷ lệ tương đối của từng axit amin giữa các cá thể. Những khác biệt này phản ánh sự biến thiên ở mức độ loài, đồng thời cung cấp cơ sở dữ liệu quan trọng cho các phân tích tiếp theo về tiến hóa protein ty thể và so sánh liên loài trong chi *Pygathrix*.



Hình 3. 21. Thành phần axit amin và tỷ lệ tương đối (%) của chúng trong hệ gene ty thể hoàn chỉnh của *Chà vá chân đen* Tây Nguyên Việt Nam; *Chà vá chân đen* Trung Quốc và *Chà vá chân nâu* Trung Quốc.

Bảng 3. 18. Tỷ lệ phần trăm của thành phần axit amin trong toàn bộ hệ gene ty thể của các cá thể *chà vá*: *Chà vá chân đen* Tây Nguyên Việt Nam, *Chà vá chân đen* Trung Quốc, và *Chà vá chân nâu* Trung Quốc.

	<i>Chà vá chân đen</i> Tây Nguyên Việt Nam	<i>Chà vá chân đen</i> Trung Quốc	<i>Chà vá chân nâu</i> Trung Quốc
Ala	4.7	4.2	4.4

Arg	4	4.2	3.6
Asn	6.1	6.3	6
Asp	2	1.9	1.7
Cys	1.4	1.6	1.4
Gln	3.9	3.8	3.9
Glu	2	1.9	2.5
Gly	3.3	2.9	2.9
His	3.8	4.3	4.8
Ile	9.5	9	8.7
Leu	13	13.9	12.7
Lys	5	4.9	4.8
Met	1.1	1.1	1.1
Phe	4.8	4.8	4.6
Pro	7.9	8.2	7.8
Ser	8.9	9.4	9.8
Thr	8.7	8.3	9.3
Trp	0.8	0.7	0.6
Tyr	5.7	6	6.1
Val	3.5	2.6	3.1

3.2.4.5. Vùng lặp và vùng liên gene

Các vùng liên gene trong hệ gene ty thể của *Chà vá chân đen* chủ yếu có chiều dài ngắn; vùng liên gene giữa *nad6_a* (kết thúc tại vị trí 276) và *trnE(gaa)* (bắt đầu tại vị trí 277) không ghi nhận khoảng cách, cho thấy hai gene này được sắp xếp liền kề. Một vùng liên gene nhỏ được ghi nhận giữa *trnE(gaa)* (345) và *cytb* (350), với khoảng cách 4 bp, cho thấy sự tồn tại của một đoạn không mã hóa ngắn. Giữa *cytb* và *trnT(aca)* tồn tại khoảng cách 7 bp (1483–1491), phản ánh một vùng liên gene điển hình có kích thước nhỏ. Các vùng liên gene ngắn (từ 2–10 bp) tiếp tục được ghi nhận giữa nhiều cặp gene *tRNA* liền kề, như *trnT(aca)/trnP(cca)*, *trnF(ttc)/rrnS*,

rrnS/trnV(gta) và *trnV(gta)/rrnL*. Đặc biệt, vùng giàu A+T (A+T-rich region) là vùng liên gene dài nhất trong hệ gene ty thể, với chiều dài 1.093 bp, nằm giữa *trnP(cca)* và *trnF(ttc)*. Đây là vùng không mã hóa có vai trò điều hòa, được xem là trung tâm khởi đầu sao chép và phiên mã hệ gene ty thể. Sự hiện diện của vùng liên gene lớn này là đặc điểm phổ biến và mang tính bảo tồn ở hệ gene ty thể linh trưởng.

Bên cạnh các vùng liên gene, một số vùng lặp gene (chồng chéo) cũng được ghi nhận trong hệ gene ty thể của *Chà vá chân đen* Tây Nguyên Việt Nam. Cặp gene *atp8* (10505–10687) và *atp6* (10666–11340) có sự chồng chéo 22 bp, trong đó đoạn cuối của *atp8* trùng với đoạn đầu của *atp6*. Đây là vùng lặp gene điển hình, đã được ghi nhận phổ biến trong hệ gene ty thể của nhiều loài động vật có vú và linh trưởng. Cặp gene *trnI(atac)* (6395–6464) và *trnQ(caa)* (6462–6533) có sự chồng chéo 3 bp, phản ánh mức độ nén cao trong nhóm gene *tRNA*. Một vùng lặp nhỏ 2 bp được ghi nhận giữa *trnV(gta)* và *rrnL*, cho thấy sự sắp xếp chặt chẽ giữa gene *tRNA* và gene rRNA.

Các vùng lặp gene này có kích thước nhỏ (từ 2–22 bp), không làm gián đoạn khung đọc mở của các gene mã hóa protein, đồng thời phản ánh cơ chế tổ chức genome ty thể tối ưu, trong đó các gene có thể chia sẻ một phần trình tự nucleotide nhằm giảm thiểu độ dài tổng thể của hệ gene.

3.2.4.6. Thảo luận

Nghiên cứu này lần đầu tiên công bố hệ gene ty thể hoàn chỉnh của *Chà vá chân đen* Tây Nguyên Việt Nam, một loài linh trưởng đang bị đe dọa nghiêm trọng (113). Loài này đối mặt với những mối đe dọa đáng kể từ sự phá hủy môi trường sống, săn trộm và phân mảnh, chủ yếu là do nạn phá rừng và mở rộng nông nghiệp (26,32). Nghiên cứu gần đây dự đoán rằng phân bố của *Chà vá chân đen* có thể giảm đáng kể, với ước tính mất 66,19% diện tích hiện tại vào năm 2070 do biến đổi khí hậu (114). Hiểu biết về cấu trúc gene của *Chà vá chân đen* là điều cần thiết để phát triển các chiến lược bảo tồn hiệu quả nhằm bảo vệ loài đặc biệt này (115).

Kích thước này tương đương và chỉ sai khác rất nhỏ so với các cá thể *Chà vá chân đen* được công bố trước đó, cho thấy tính bảo tồn cao về tổ chức hệ gene ty thể trong nội bộ loài. Các nghiên cứu ADN ty thể gần đây trên linh trưởng đều ghi nhận rằng kích thước và vị trí gene của ADN ty thể rất ổn định, trong khi sự khác biệt chủ yếu tập trung ở mức độ nucleotide và vùng không mã hóa (40,116). Do đó, kết quả của nghiên cứu này củng cố quan điểm rằng ADN ty thể của *Chà vá chân*

đen duy trì cấu trúc bảo tồn mạnh, phản ánh áp lực chọn lọc cao lên các thành phần chức năng cốt lõi của hệ gene ty thể.

Thành phần nucleotide của 13 gene mã hóa protein cho thấy hệ gene ty thể của *Chà và chân đen* Tây Nguyên Việt Nam có xu hướng giàu A+T và nghèo G+C, với giá trị trung bình A+T chiếm trên 60%. Sự giàu A+T trong ADN ty thể thường được giải thích bởi cơ chế đột biến không đối xứng trong quá trình sao chép, trong đó mạch ADN tồn tại ở trạng thái đơn sợi trong thời gian dài dễ tích lũy các đột biến chuyển vị theo hướng tăng A và T. Đồng thời, nhiều nghiên cứu gần đây nhấn mạnh rằng áp lực chọn lọc chức năng cũng đóng vai trò quan trọng trong việc duy trì thiên lệch này, do các codon giàu A/T có thể làm tăng hiệu quả phiên mã và dịch mã của protein ty thể.

Đáng chú ý, sự biến thiên thành phần nucleotide giữa các gene trong hệ gene ty thể *Chà và chân đen* không đồng đều. Các gene như *nad6* và *atp8* thể hiện mức độ thiên lệch A/T cao hơn đáng kể so với các gene khác, trong khi các gene có kích thước lớn như *cox1*, *nad4* và *nad5* có thành phần nucleotide cân bằng hơn. Hiện tượng này đã được ghi nhận trong nhiều nghiên cứu gần đây và được cho là phản ánh sự khác biệt về áp lực chọn lọc chức năng giữa các gene ty thể ((117,118). Kết quả phân tích AT-skew và GC-skew cho thấy *Chà và chân đen* Tây Nguyên Việt Nam và các cá thể *Chà và chân đen* khác có mô hình skew gần như tương đồng, với AT-skew âm nhẹ và GC-skew âm rõ rệt, sự nhất quán này phản ánh tính ổn định cao của mô hình phân bố nucleotide trong nội bộ loài, bất chấp sự khác biệt về nguồn gốc địa lý (119).

Các nghiên cứu gần đây chỉ ra rằng skew nucleotide là đặc trưng mang tính “chữ ký tiến hóa” (evolutionary signature) của ADN ty thể, ít biến động hơn so với trình tự nucleotide riêng lẻ (120) (121). Do đó, sự tương đồng về AT/GC-skew giữa các cá thể *Chà và chân đen* cho thấy ADN ty thể của loài này chịu áp lực tiến hóa tương đối đồng nhất.

Phân tích thành phần axit amin cho thấy phổ axit amin trong các protein ty thể của *Chà và chân đen* Tây Nguyên Việt Nam rất tương đồng với các cá thể *Chà và chân đen* khác. Các axit amin như leucine, isoleucine, serine, threonine và proline chiếm tỷ lệ cao nhất, trong khi methionine, tryptophan và cysteine luôn ở mức thấp. Mô hình này phù hợp với các nghiên cứu gần đây cho thấy protein ty thể có xu hướng giàu các axit amin kỵ nước, đặc biệt là leucine và isoleucine, nhằm duy trì cấu trúc không gian và chức năng của các phức hợp hô hấp nằm trong màng trong

ty thể. Sự khác biệt nhỏ về tỷ lệ tương đối axit amin giữa các cá thể *Chà vá chân đen* được xem là biến thiên mức thấp, không đủ để gây ảnh hưởng đáng kể đến chức năng protein.

3.2.5. Đặc điểm hệ gene ty thể hoàn chỉnh của cá thể *Khỉ vàng (Macaca mulatta)* Tây Nguyên Việt Nam

Cấu trúc hệ gene ty thể hoàn chỉnh của *Khỉ vàng* cho thấy một cấu trúc tròn gồm 16,566 bp với các 37 gene được biểu diễn bằng các khối màu (Hình 3. 4). Vùng điều khiển xuất hiện màu xám, trong khi các gene *16S* (rRNA lớn) và *12S* (rRNA nhỏ) được chỉ định bằng màu đỏ. 22 gene RNA vận chuyển (*tRNA*) được đánh dấu bằng màu xanh đậm, và 13 gene mã hóa protein (PCGs) được hiển thị bằng màu xanh lá và vàng; chi tiết vị trí và độ dài của từng gene được thể hiện trong (Bảng 3. 19).

Bảng 3. 19. Hệ gene ty thể hoàn chỉnh của *Khỉ vàng* chứa 37 gene, chi tiết về vị trí và chiều dài của chúng.

Tên	Bắt đầu	Kết thúc	Mạch	Chiều dài	Vùng lặp
<i>trnF</i> (ttc)	248	319	H	72	0
<i>rrnS</i>	320	1266	H	947	0
<i>trnV</i> (gta)	1267	1335	H	69	0
<i>rrnL</i>	1334	2894	H	1561	0
<i>trnL2</i> (tta)	2895	2969	H	75	2
<i>nad1</i>	2972	3922	H	951	4
<i>trnI</i> (atc)	3927	3995	H	69	0
<i>trnQ</i> (caa)	3993	4064	L	72	1
<i>trnM</i> (atg)	4066	4133	H	68	0
<i>nad2</i>	4134	5165	H	1032	10
<i>trnW</i> (tga)	5176	5242	H	67	7
<i>tRNA</i> (gca)	5250	5318	L	69	1
<i>trnN</i> (aac)	5320	5392	L	73	32
<i>trnC</i> (tgc)	5425	5493	L	69	0
<i>trnY</i> (tac)	5494	5556	L	63	4
<i>cox1</i>	5561	7099	H	1539	2
<i>trnS2</i> (tca)	7102	7170	L	69	3

<i>trnD(gac)</i>	7174	7241	H	68	1
<i>cox2</i>	7243	7902	H	660	97
<i>trnK(aaa)</i>	8000	8063	H	64	1
<i>atp8</i>	8065	8259	H	195	0
<i>atp6</i>	8226	8900	H	675	5
<i>cox3</i>	8906	9688	H	783	1
<i>trnG(gga)</i>	9690	9757	H	68	0
<i>nad3</i>	9758	10102	H	345	1
<i>trnR(cga)</i>	10104	10168	H	65	0
<i>nad4l</i>	10169	10462	H	294	0
<i>nad4</i>	10459	11829	H	1371	7
<i>trnH(cac)</i>	11837	11905	H	69	0
<i>trnS1(agg)</i>	11906	11964	H	59	0
<i>trnL1(cta)</i>	11965	12035	H	71	6
<i>nad5</i>	12042	13841	H	1800	12
<i>nad6</i>	13854	14375	L	522	0
<i>trnE(gaa)</i>	14376	14444	L	69	4
<i>Cytb</i>	14449	15585	H	1137	4
<i>trnT(aca)</i>	15590	15653	H	64	1
<i>trnP(cca)</i>	15655	15722	L	68	206

Bảng 3. 20. Tỷ lệ % AT trên các đoạn gene của các loài linh trưởng

	Số gia nhập	Gene mã hóa protein16S (<i>rrnL</i>) 12S (<i>rrnS</i>) (PCGs)							
		Chiều dài		Chiều dài		Chiều dài		Chiều dài	
		AT (%)	AT (%)	AT (%)	AT (%)	AT (%)	AT (%)		
Khỉ vàng Tây Nguyên Việt Nam		16566	56.9	11304	57	1561	57.4	947	55.2
Khỉ vàng Myanmar	JQ_821843	16,564	56.8	11,310	56	1560	57.4	947	55.6
Khỉ đuôi lợn	KP_330231	17,050	57.2	11,310	57	1562	57.8	947	54.6
Khỉ vòi	DQ_355298	16,570	60.9	11,298	61	1568	59.9	949	57.5

<i>Chà và chân đen</i>	MH_064177	16,536	61.4	11,304	62	1563	59.7	949	58.8
<i>Voọc sọc đầu đen</i>	KU_899140	16,548	61.9	11,277	62	1563	61	935	58.3
<i>Voọc mũi hếch vàng</i>	KM_504390	16,552	61.5	11,292	62	722	59.6	949	58.2
<i>Voọc mũi hếch xám</i>	JQ_821836	16,553	61.6	11,295	62	1571	60	949	58.3
<i>Voọc mũi hếch đen</i>	JQ_821839	16,550	61.5	11,298	62	1570	59.7	949	58
<i>Voọc mũi hếch Bắc Bộ</i>	JF_293093	16,552	61.6	11,289	62	1572	60.2	949	58.5
<i>Khỉ vàng</i>	JQ_821843	16,564	56.8	11,310	56	1560	57.4	947	55.6
<i>Khỉ đầu chó</i>	NC_001992	16,521	56.3	11,292	56	1572	57.7	947	55.1
<i>Khỉ tai mào trắng</i>	KM_588314	16,499	59.7	11,280	59	1555	60.5	953	56.6
<i>Homo sapiens neanderthalensis</i>	NC_011137	16,565	55.6	11,283	55	1560	57.2	954	54.4
<i>Homo sapiens neanderthalens</i>	OM_062614	16,565	55.7	11,283	55	1560	57.3	954	54.4
<i>Khỉ mũ trán trắng</i>	NC_002763	16,554	60.9	11,268	61	1556	60.2	958	57.6
<i>Chà và chân đen</i>	MH_064177	16,536	61.4	11,304	62	1563	59.7	949	58.8
<i>Khỉ đuôi lợn</i>	KP_330231	17,050	57.2	11,310	57	1562	57.8	947	54.6
<i>Voọc sọc đầu đen</i>	KU_899140	16,548	61.9	11,277	62	1563	61	935	58.3

Sự sắp xếp này là đặc trưng cho các hệ gene ty thể và phản ánh một tổ chức gọn gàng, nâng cao hiệu quả phiên mã và sao chép. Các gene chủ yếu nằm trên sợi nặng (H strand), với chiều dài khác nhau; ví dụ, gene *nad5* là dài nhất với 1800 cặp bazơ, trong khi *trnK* là ngắn nhất với 64 cặp bazơ. Sự biến đổi trong chiều dài gene này gợi ý về các vai trò chức năng và áp lực tiến hóa khác nhau, đặc biệt trong chuyển hóa năng lượng và tổng hợp protein, điều này rất quan trọng cho khả năng thích nghi của loài với các môi trường đa dạng (118).

Phân tích các vùng giữa các gene trong hệ gene ty thể hoàn chỉnh của *Khỉ vàng* cho thấy tổng cộng 366 nucleotide giữa các gene qua 36 khoảng cách giữa gene. Đáng chú ý, vùng giữa gene *trnF* và *trnP* dài nhất là 206 nucleotide, trong khi vùng ngắn nhất là giữa *trnL2* và *nad1*, chỉ có 2 nucleotide. Những phát hiện này gợi ý về sự biến đổi trong tiềm năng điều hòa của các vùng giữa gene, với các khoảng cách dài hơn có thể chỉ ra các khu vực cho các yếu tố điều hòa, trong khi các khoảng cách ngắn hơn phản ánh một tổ chức hệ gene gọn gàng hơn. Sự hiện diện của các nucleotide giữa các gene là rất quan trọng để hiểu biết về điều hòa gene và chức năng ty thể, cung cấp cái nhìn sâu sắc về các thích ứng tiến hóa của loài này (122).

3.2.5.1. Thành phần nucleotide

Bảng 3. 21. Thành phần các nucleotide giữa các loài linh trưởng.

	Số gia nhập	T(U)	C	A	G	Tổng AT-Skew	GC-Skew	
<i>Khỉ vàng Tây Nguyên Việt Nam</i>		27.6	30.9	29.9	12.5	868.60.0579211	-0.42392	
<i>Khỉ vàng Myanmar</i>	JQ_821843	26.6	31	29.8	12.6	870	0.056444	-0.42052
<i>Khỉ đuôi lợn</i>	KM_36017926.4	31	30	12.5	870.20.063577	-0.4244		
<i>Papio hamadryas</i>	NC_001992	26.2	31.2	29.7	12.9	868.60.061768	-0.41663	
<i>Callithrix jacchus</i>	KM_58831428.3	27.8	31.1	12.9	867.70.046296	-0.36736		
<i>Homo sapiens neanderthalensis</i>	OM_06261426.2	31.9	28.8	13.1	867.80.046422	-0.41631		
<i>Cebus albifrons</i>	NC_002763	29.9	26.7	31.3	12.1	866.80.02306	-0.37663	

Thành phần nucleotide của hệ gene ty thể của *Khỉ vàng* Tây Nguyên Việt Nam cho thấy tỷ lệ AT là 56.9%. Hệ gene ty thể hoàn chỉnh dài 16,566 cặp base, trong đó vùng mã hóa protein chiếm 11,304 cặp base. Trong hệ gene này, tỷ lệ AT trong các gene mã hóa protein (PCGs) là 57%, trong khi RNA ribosome lớn (*rrnL*) và RNA ribosome nhỏ (*rrnS*) có tỷ lệ AT lần lượt là 57.4% và 55.2% (Bảng 3. 21).

Đáng chú ý, *Khỉ vàng* Việt Nam và *Khỉ vàng* Myanmar có các đặc điểm hệ gene ty thể rất giống nhau, với chỉ một số khác biệt nhỏ. *Khỉ vàng* Việt Nam có chiều dài hệ gene là 16,566 bp và tỷ lệ AT là 56.9%, trong khi *Khỉ vàng* Myanmar ngắn hơn một chút với 16,564 bp và tỷ lệ AT là 56.8%. Các cá thể khỉ của chi *macaca* khác như *Macaca arctoides* cũng có chiều dài hơi ngắn hơn với tỷ lệ AT là 56.7%. Tỷ lệ AT rất quan trọng để hiểu các động lực tiến hóa vì nó có thể ảnh hưởng đến sự ổn định và chức năng của ADN ty thể.

Phân tích thành phần nucleotide cho thấy các gene mã hóa protein (PCGs) trong *Khỉ vàng* có tỷ lệ AT hơi cao hơn là 57%. Ngược lại, các gene RNA ribosome lớn (*rrnL*) và RNA ribosome nhỏ (*rrnS*) cho thấy tỷ lệ AT lần lượt là 57.4% và 55.2%. Sự biến đổi trong tỷ lệ AT giữa các vùng hệ gene khác nhau nhấn mạnh tầm quan trọng chức năng của thành phần nucleotide liên quan đến biểu hiện gene và các quá trình chuyên hóa. Các nghiên cứu so sánh với các loài linh trưởng khác, đặc biệt là *Pygathrix* và *Presbytis*, cho thấy sự gia tăng đáng kể trong tỷ lệ AT, làm nổi bật sự khác biệt di truyền giữa các loài linh trưởng và cung cấp cái nhìn về các thích ứng tiến hóa hình thành các hệ gene ty thể qua các dòng họ khác nhau (Bergey et al. 2020) (106).

Cả *Khỉ vàng* Việt Nam và *Khỉ vàng* Myanmar đều có chiều dài chuỗi mã hóa protein tương đương, với biến thể Việt Nam đo được 11,304 bp và biến thể Myanmar

là 11,310 bp. Chiều dài của các gene RNA ribosomal là giống nhau ở cả hai cá thể, với *rrnL* là 1,561 bp và *rrnS* là 947 bp. Những sự tương đồng này gợi ý một mối quan hệ di truyền gần gũi giữa hai cá thể, có thể chỉ ra tổ tiên chung gần đây và các áp lực tiến hóa tương tự.

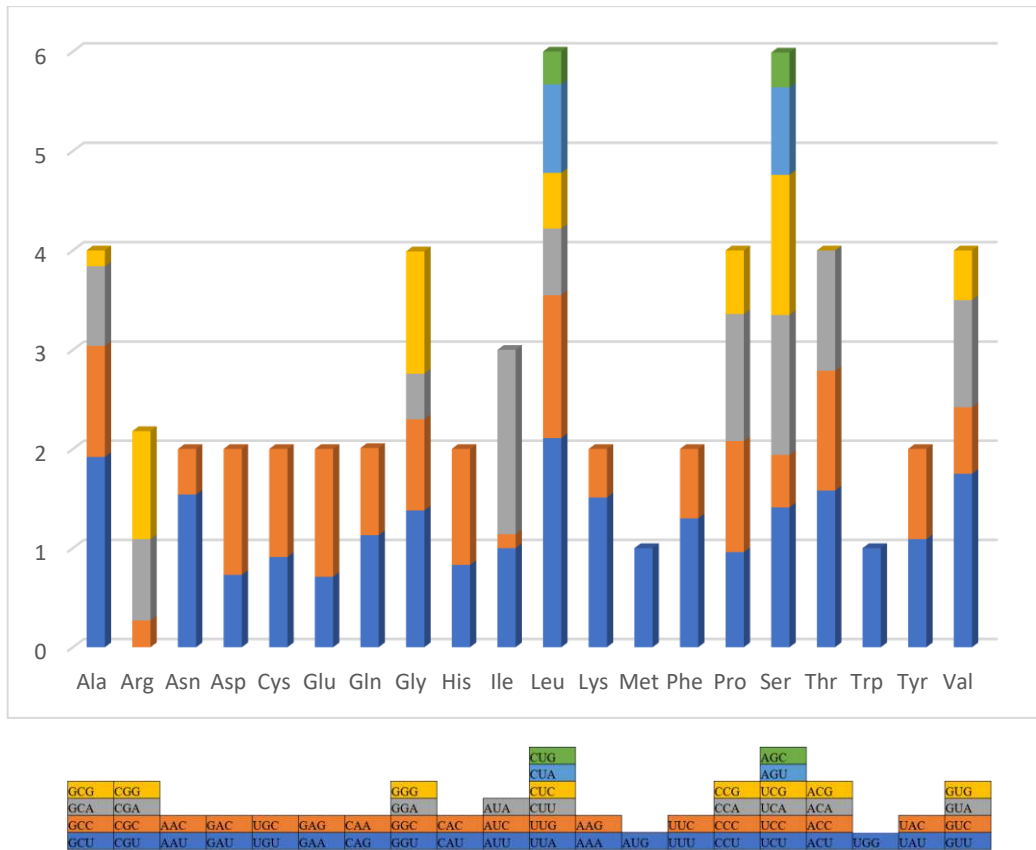
Các giá trị GC-skew và AT-skew của các gene mã hóa protein (PCGs) ở các loài linh trưởng khác nhau, bao gồm *Khỉ vàng* Việt Nam cung cấp cái nhìn sâu sắc về thành phần nucleotide và các động lực tiến hóa tiềm năng của hệ gene ty thể; GC-skew được tính là $(G - C) / (G + C)$, trong khi AT-skew được tính là $(A - T) / (A + T)$. Các chỉ số này

Đối với *Khỉ vàng*, GC-skew có giá trị là -0.42392, cho thấy sự chiếm ưu thế của C so với G trong hệ gene ty thể. GC-skew âm này gợi ý một thiên lệch có thể ảnh hưởng đến các quá trình sao chép và sửa chữa ADN ty thể, cũng như sự ổn định tổng thể của nó (123). Ngược lại, AT-skew có giá trị là 0.0579211, điều này có thể phản ánh một thích ứng chức năng trong bối cảnh chuyển hóa năng lượng và hiệu quả của ty thể.

Dữ liệu so sánh từ các cá thể khỉ của chi *macaca* khác, chẳng hạn như *Khỉ vàng* Myanmar và *Khỉ đuôi lợn*, cho thấy các xu hướng tương tự trong các giá trị thiên lệch nucleotide, củng cố ý tưởng về các mô hình tiến hóa bảo tồn trong chi này. Các phân tích thiên lệch này rất quan trọng để hiểu các áp lực tiến hóa tác động lên các hệ gene ty thể, vì chúng có thể tiết lộ những cái nhìn về chức năng gene, động lực sao chép và các chiến lược thích ứng tiềm năng trong các môi trường khác nhau.

3.2.5.2. Các gene mã hóa protein

Sự ưu tiên sử dụng codon quan sát được là quan trọng vì nó có thể ảnh hưởng đến hiệu quả của biểu hiện gene và tổng hợp protein, từ đó tác động đến chức năng ty thể và chuyển hóa năng lượng. Hiểu biết về những mô hình sử dụng codon này là rất cần thiết, vì chúng không chỉ phản ánh các áp lực tiến hóa đã hình thành hệ gene ty thể mà còn cung cấp cái nhìn về cách mà những linh trưởng này đã thích ứng với các sinh cảnh sinh thái của chúng (124).



Hình 3. 22. Sử Dụng Codon Đồng Nghĩa Tương Đối (RSCU) của các gene mã hóa protein ty thể trong *Khỉ vàng* Việt Nam.

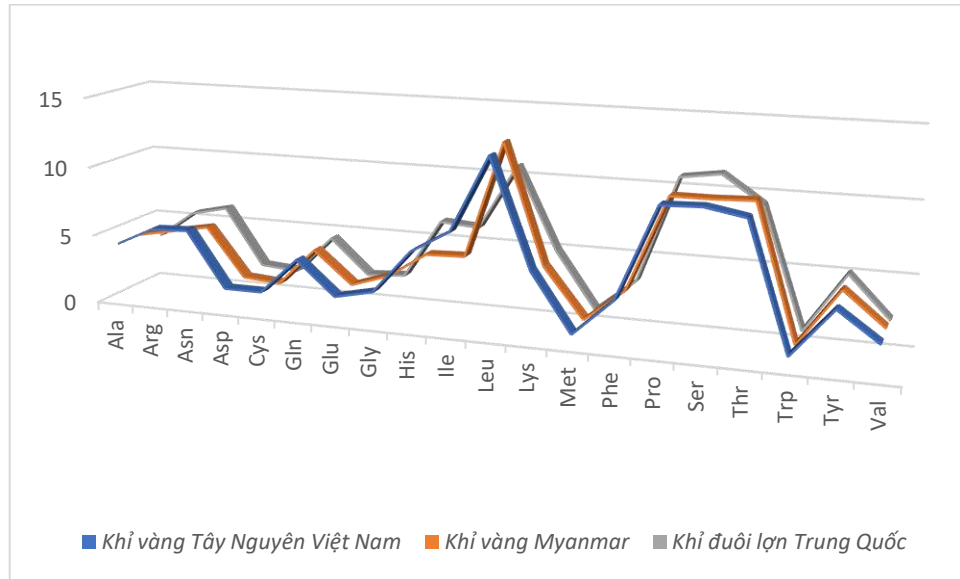
Trong bối cảnh này, các axit amin leucine (*Leu*) và serine (*Ser*) thường thể hiện các giá trị RSCU cao, gợi ý rằng các codon tương ứng được ưa chuộng trong các gene ty thể của loài này. Sự ưa chuộng cho một số codon nhất định có thể được quy cho nhiều yếu tố, bao gồm sự sẵn có của các *tRNA* tương ứng và hiệu quả tổng thể của cơ chế dịch mã, điều này rất quan trọng cho việc tổng hợp hiệu quả các protein ty thể.

Các phân tích so sánh về các mô hình RSCU giữa các cá thể khỉ của chi *macaca* khác nhau có thể làm rõ hơn các mối quan hệ tiến hóa và các thích ứng chức năng. Bằng cách kiểm tra cách sử dụng codon thay đổi giữa các loài liên quan, các nhà nghiên cứu có thể xác định các xu hướng tiến hóa bảo tồn và phân kỳ, nhấn mạnh tác động của các áp lực môi trường cụ thể lên cấu trúc và chức năng của các gene ty (125). Những so sánh này có thể cho thấy rằng một số codon được ưa chuộng phổ biến giữa các loài, cho thấy áp lực chọn lọc mạnh mẽ, trong khi những codon khác có thể thể hiện sự biến đổi, cho thấy các thích ứng với các bối cảnh sinh thái cụ thể.

Hơn nữa, những kết quả này có những ý nghĩa đối với các chiến lược bảo tồn. Việc xác định các mô hình sử dụng codon trong hệ gene ty thể nhấn mạnh tầm quan

trọng của việc duy trì sự đa dạng di truyền trong các cá thể *Khỉ vàng*. Sự khác biệt di truyền là rất quan trọng cho khả năng thích nghi và sự bền bỉ của loài, đặc biệt là trước những thay đổi môi trường và mất mát môi trường sống (126,127). Bằng cách hiểu biết về cấu trúc di truyền và các thích ứng tiến hóa của *Macaca mulatta*, các nỗ lực bảo tồn có thể được điều chỉnh tốt hơn để bảo vệ không chỉ loài mà còn cả sự biến đổi di truyền của nó, điều này là cần thiết cho sự sống còn lâu dài của nó.

3.2.5.2. Các gene mã hóa Protein

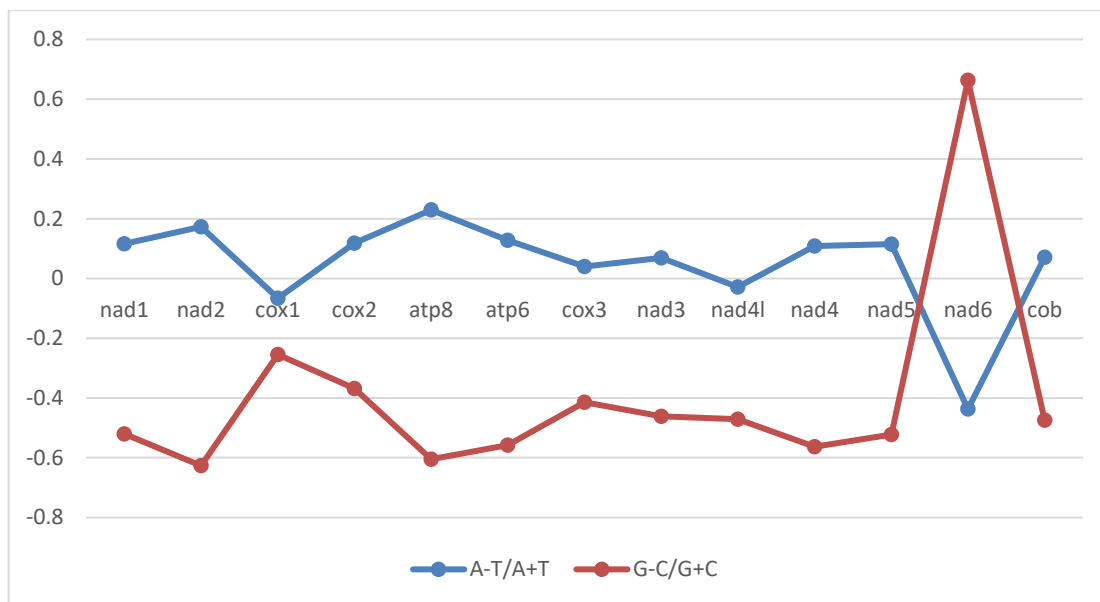


Hình 3. 23. Tỷ lệ phần trăm tần suất thành phần axit amin trong toàn bộ hệ gene ty thể của các cá thể khỉ của chi *macaca* : *Khỉ vàng* Việt Nam; *Khỉ vàng* Myanmar; *Khỉ đuôi lợn* Trung Quốc.

Tỷ lệ phần trăm tần suất thành phần axit amin trong hệ gene ty thể của *Khỉ vàng* Việt Nam (Hình 3. 23) cung cấp cái nhìn sâu sắc về sự phân bố của các axit amin trong các protein ty thể, điều này rất quan trọng cho nhiều chức năng chuyển hóa và sản xuất năng lượng. Các axit amin như methionine và tryptophan được đại diện với tần suất thấp, điều này có thể ảnh hưởng đến các động lực chức năng tổng thể của các protein ty thể. Ngược lại, kết quả cho thấy rằng một số axit amin chiếm ưu thế trong thành phần của các protein ty thể được mã hóa trong hệ gene. Đặc biệt, leucine và serine nổi bật như những axit amin phong phú nhất, phản ánh vai trò thiết yếu của chúng trong chức năng ty thể và tổng hợp protein. Những phát hiện này phù hợp với nghiên cứu trước đây nhấn mạnh sự phổ biến của các axit amin này trong các protein ty thể ở nhiều loài khác nhau (70,128).

Phân tích thành phần axit amin không chỉ cung cấp cái nhìn tổng quan về khả năng mã hóa protein của hệ gene ty thể trong *Khỉ vàng* mà còn cho phép so sánh với

các loài linh trưởng khác. Những so sánh như vậy có thể làm sáng tỏ các thích ứng tiến hóa và tầm quan trọng chức năng của các protein ty thể qua các dòng khác nhau (Spuhler 1988). Sự kiểm tra chi tiết này nâng cao hiểu biết của chúng ta về các động lực tiến hóa và vai trò sinh hóa của các protein ty thể trong *Khỉ vàng* Việt Nam.



Hình 3. 24. Giá trị AT- và GC-skew của 13 gene mã hóa protein trong hệ gene ty thể của *Khỉ vàng* Tây Nguyên Việt Nam.

Giá trị AT- và GC-skew cho 13 gene mã hóa protein (PCGs) trong hệ gene ty thể của *Khỉ vàng* Tây Nguyên Việt Nam như *nad1*, *nad2*, *cox1*, và *atp6*, có giá trị dương, cho thấy sự phong phú tương đối của adenine (A) so với thymine (T). Xu hướng này gợi ý về việc tối ưu hóa hiệu suất phiên mã, điều này rất quan trọng cho các yêu cầu chuyên hóa cao của chức năng ty thể. Ngược lại, GC-skew âm nhất quán trong các gene này cho thấy sự chiếm ưu thế của cytosine (C) so với guanine (G), điều này có thể nâng cao sự ổn định của ADN ty thể và ảnh hưởng đến động lực biểu hiện gene.

Các giá trị skew quan sát được (Hình 3. 24) phản ánh các thích ứng tiến hóa của những gene này đối với vai trò của chúng trong chuyển hóa năng lượng và hiệu suất hô hấp. Ví dụ, các gene như *nad5* và *cox2* cũng cho thấy AT-skew dương, cũng có tầm quan trọng chức năng của chúng trong chuỗi vận chuyển điện tử và tổng hợp ATP. Sự hiện diện của GC-skew âm trong các PCGs gợi ý một cấu trúc hệ gene bảo tồn hỗ trợ chức năng ty thể hiệu quả. Tổng thể, những mô hình này không chỉ làm nổi bật các động lực tiến hóa phức tạp trong *Khỉ vàng* mà còn nhấn mạnh tầm quan

trọng của các gene này trong việc duy trì khả năng thích nghi chuyên hóa trong các môi trường đa dạng.

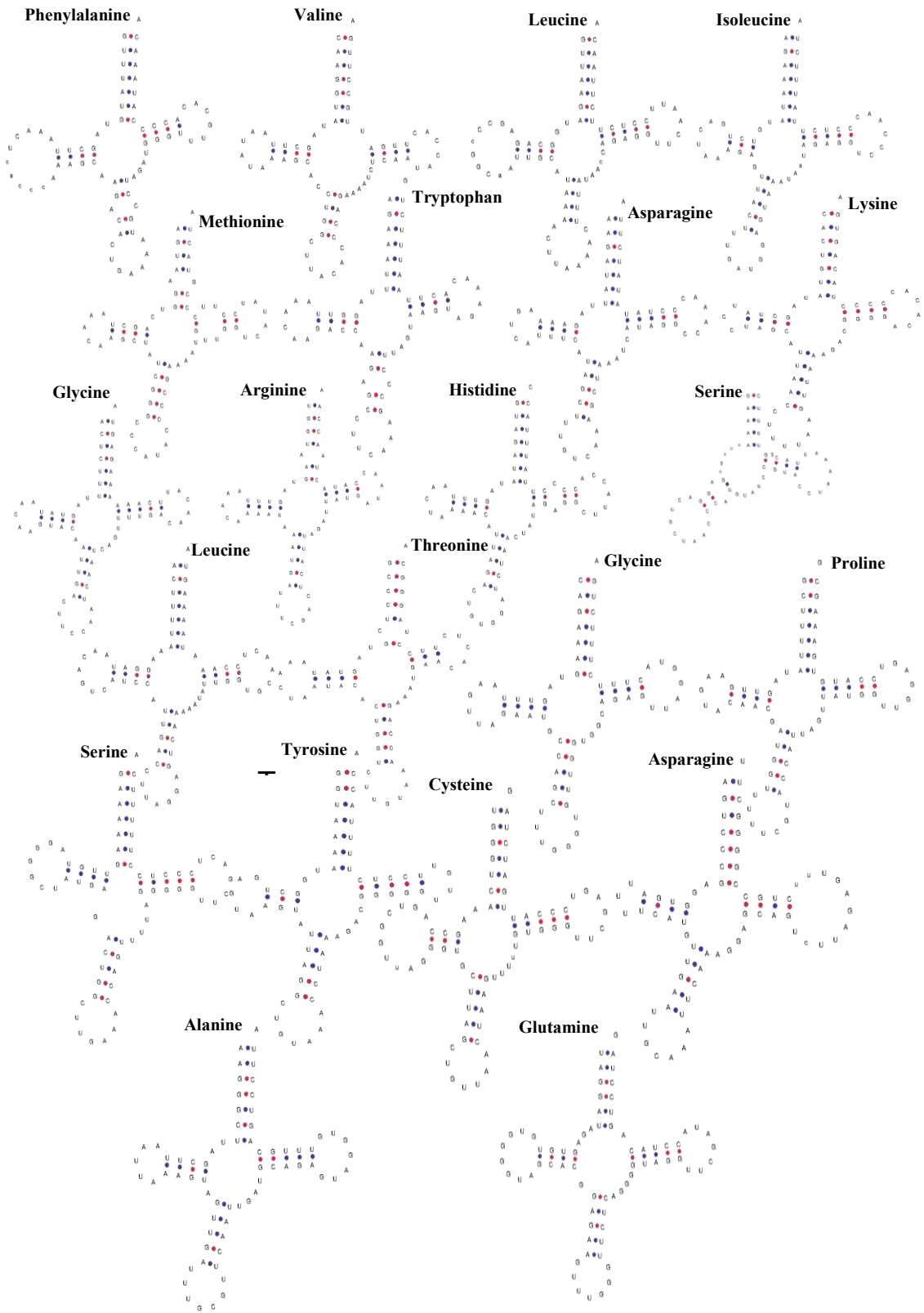
3.2.5.4. *tRNA* và *rRNA*

Bảng 3. 22. Các cặp base không khớp được tìm thấy trong các gene *tRNA* của *Khỉ vàng* Việt Nam.

<i>tRNA</i>	Các Cặp Base Không Khớp	Thân	Tần suất
Phenylalanine GAA	A-C	AC	1
Tryptophan TCA	A-C	AC	1
Methionine CAT	A-G	AA	1
	U-U	T-arm	2
Arginine TCG	A-A	AA	1
Histidine	A-C	T-arm	1
Threonine TGT	C-U	AA	1
Threonine TGT	C-U	AA	1

Cặp base không khớp được tìm thấy trong các gene *tRNA* của *Khỉ vàng* Việt Nam (Bảng 3. 22) rất quan trọng để hiểu biết về tính toàn vẹn cấu trúc và hiệu suất chức năng của các phân tử *tRNA*. Ví dụ, các cặp không khớp như A-C trong *tRNA* cho phenylalanine và tryptophan, cũng như A-G trong methionine, chỉ ra sự sai lệch so với cặp base Watson-Crick tiêu chuẩn. Những sai lệch này có thể ảnh hưởng đến sự ổn định và gấp nếp của *tRNA*, có khả năng ảnh hưởng đến khả năng của nó trong việc vận chuyển chính xác các axit amin trong quá trình tổng hợp protein.

Sự hiện diện của các cặp base không khớp trong các vùng thân của *tRNA*, đặc biệt là trong vùng tiếp nhận axit amin (AA) và T-arm, gợi ý về các thích ứng tiến hóa có thể nâng cao tính linh hoạt hoặc khả năng chức năng của những *tRNA* này trong bối cảnh ty thể. Hiểu biết về những biến thể này cung cấp cái nhìn sâu sắc về các áp lực tiến hóa đã hình thành hệ gene ty thể của *Macaca mulatta*, nhấn mạnh cách mà những linh trưởng này đã điều chỉnh cấu trúc *tRNA* của họ để tối ưu hóa chức năng ty thể và hiệu suất tổng hợp protein.



Hình 3. 25. Cấu trúc thứ cấp của 22 gene *tRNA* của *Khỉ vàng* Việt Nam. Màu đỏ là kết nối GC, màu xanh là kết nối AU.

Các phân tử *tRNA* được minh họa với các thân và vòng tương ứng trong cấu trúc cấp của 22 gene *tRNA* trong hệ gene ty thể của *Khỉ vàng* Việt Nam (Hình 3. 25) cho thấy sự gấp nếp tinh vi cần thiết cho chức năng của chúng. Trong hình, các kết nối được mã hóa màu: các cặp GC được chỉ định bằng màu đỏ, trong khi các cặp AU được hiển thị bằng màu xanh. Mã màu này làm nổi bật các tương tác cặp base quan trọng cho tính ổn định và chức năng của từng *tRNA*.

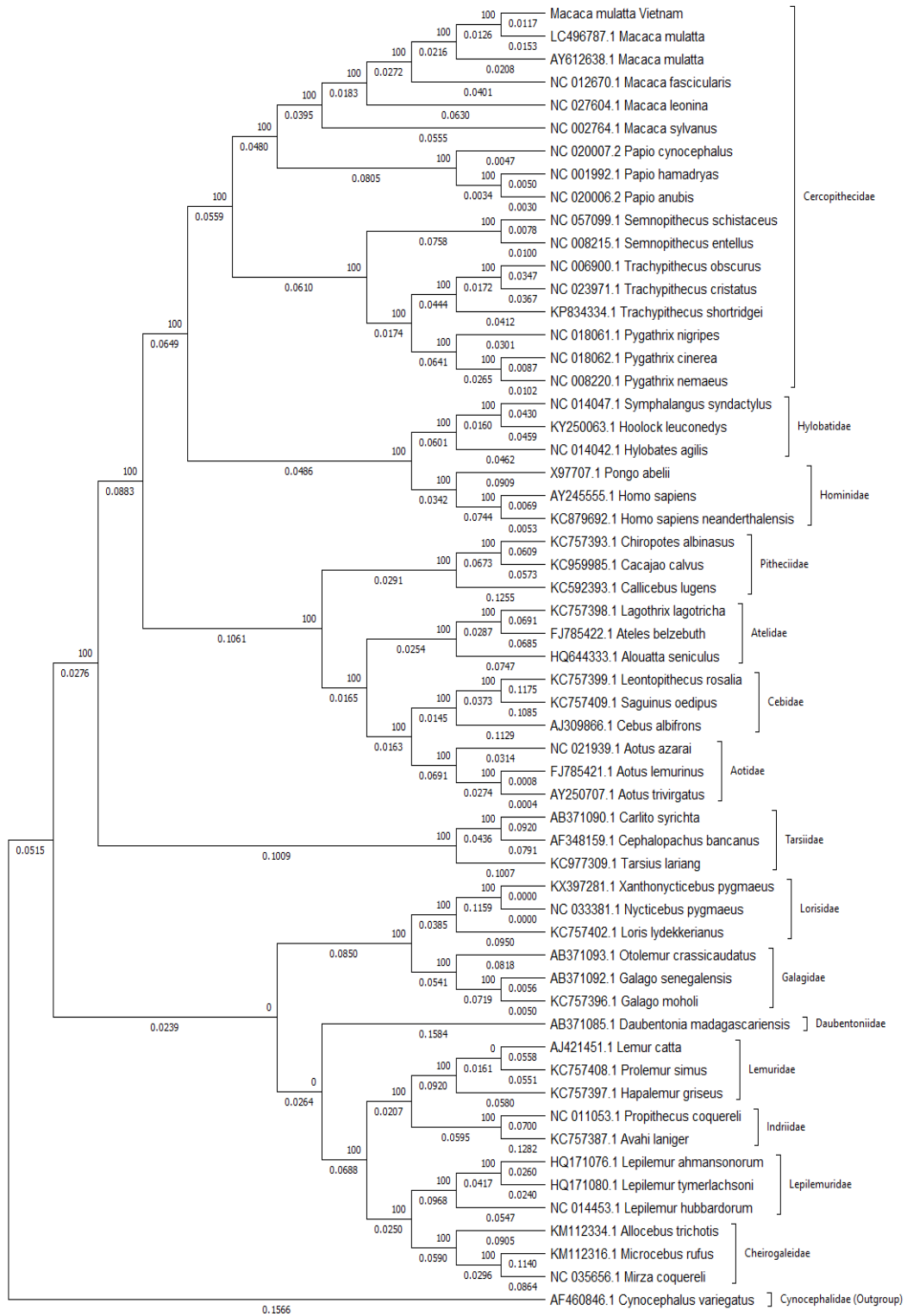
Cấu trúc thứ cấp của các gene *tRNA* rất quan trọng cho vai trò của chúng trong dịch mã, vì những phân tử này chịu trách nhiệm mang các axit amin đến ribosome trong quá trình tổng hợp protein. Sự hiện diện của các cặp base GC và AU ảnh hưởng đến sự ổn định của cấu trúc *tRNA*, với các cặp GC thường cung cấp liên kết mạnh hơn nhờ vào ba liên kết hydro so với hai liên kết hydro được hình thành bởi các cặp AU (Hình 3. 25).

3.2.5.5. Vùng lặp và vùng liên gene

Phân tích cấu trúc hệ gene ty thể hoàn chỉnh của *Khỉ vàng* cho thấy sự tồn tại phổ biến của các vùng liên gene ngắn xen kẽ giữa các gene mã hóa protein, *tRNA* và rRNA, phản ánh mức độ nén cao và tổ chức chặt chẽ của ADN ty thể (Bảng 3. 19). Phần lớn các gene được sắp xếp liền kề hoặc chỉ cách nhau từ 1–10 bp, điển hình như giữa *trnL2(tta)* và *nad1* (2 bp), *nad1* và *trnI(ata)* (4 bp), *nad2* và *trnW(tga)* (10 bp), cũng như giữa nhiều cặp gene *tRNA* liền kề. Ngoài ra, một số vùng liên gene có kích thước trung bình hơn cũng được ghi nhận, đáng chú ý là khoảng cách 32 bp giữa *trnN(aac)* và *trnC(tgc)*, 97 bp giữa *cox2* và *trnK(aaa)*, và đặc biệt là vùng liên gene lớn 206 bp giữa *trnP(cca)* và gene kế tiếp. Sự hiện diện của các vùng liên gene với độ dài khác nhau cho thấy hệ gene ty thể của *Khỉ vàng*, mặc dù mang đặc trưng nén cao, vẫn duy trì một số đoạn không mã hóa có thể liên quan đến điều hòa phiên mã RNA ty thể.

Bên cạnh các vùng liên gene, các vùng lặp gene (chồng chéo) cũng được ghi nhận với tần suất đáng kể trong hệ gene ty thể của *Khỉ vàng*. Một số cặp gene có sự chồng chéo ngắn từ 1–7 bp, điển hình như *trnQ(caa)/trnI(ata)* (1 bp), *trnW(tga)/nad2* (7 bp), *cox1/trnS2(tca)* (2 bp), *atp6/atp8* (5 bp), và *nad4/nad4l* (7 bp). Đáng chú ý, gene *nad5* có vùng chồng chéo 12 bp với gene lân cận, phản ánh mức độ nén cao của các gene mã hóa protein trong hệ gene ty thể. Các vùng lặp này đều có kích thước nhỏ và không làm gián đoạn khung đọc của các gene, cho thấy sự thích nghi của ADN ty thể theo hướng tối ưu hóa không gian di truyền trong khi vẫn bảo đảm tính toàn vẹn chức năng của các gene thiết yếu.

3.2.5.6. Cây phân loài của *Khỉ vàng* với các loài linh trưởng khác



Hình 3. 26. Cây phát sinh loài của *Khỉ vàng* với các loài linh trưởng khác

Cây phân loài cho thấy *Khỉ vàng* Việt Nam có mối quan hệ gần gũi với các loài khỉ khác, như *Macaca fascicularis* (*khỉ đuôi dài*) và *Khỉ vàng* từ các khu vực khác nhau. Sự tập hợp gần gũi này gợi ý rằng các loài này chia sẻ một

tổ tiên chung gần đây, cho thấy rằng chúng đã phân kỳ tương đối gần đây trong các khía cạnh tiến hóa. Những sự tương đồng di truyền này phản ánh các thích ứng của chúng với các môi trường và lịch sử sống tương tự, nhấn mạnh các kết nối tiến hóa trong chi *Macaca*.

Ngược lại, khi so sánh *Khỉ vàng* Việt Nam với các linh trưởng có quan hệ xa hơn, chẳng hạn như các thành viên trong họ Hominidae (ví dụ, con người và tinh tinh), sự khác biệt di truyền đáng kể rõ ràng. Các nhánh dài hơn dẫn đến những loài này cho thấy một lịch sử tiến hóa lâu dài và sự phân hóa di truyền lớn hơn. Sự khác biệt này có thể được quy cho các yếu tố như môi trường sống, hành vi và các thích ứng sinh thái đã phát triển qua hàng triệu năm. Mỗi quan hệ này làm nổi bật các con đường tiến hóa đã dẫn đến những đặc điểm riêng biệt quan sát được trong chi *Macaca* so với các họ linh trưởng khác.

3.2.5.7. Thảo luận

Hệ gene ty thể của *Khỉ vàng* Việt Nam cho thấy mức độ tương đồng cao với cá thể *Khỉ vàng* khu vực Myanmar, phản ánh mối quan hệ tiến hóa gần và lịch sử phân bố liên tục của loài trong khu vực Đông Nam Á lục địa. Các sai khác nucleotide quan sát được, đặc biệt trong một số gene mã hóa protein, có thể liên quan đến thích ứng sinh thái địa phương (129).

Nghiên cứu làm nổi bật các mối quan hệ phức tạp trong chi *macaca*. Các nghiên cứu trước đây đã chỉ ra sự phân kỳ gene di truyền đáng kể giữa các cá thể khỉ của chi *macaca*, cho thấy các động lực tiến hóa phức tạp được hình thành bởi các áp lực môi trường và thích ứng với môi trường sống. Những khác biệt quan sát được ở các gene mã hóa protein, đặc biệt là trong gene *nadl*, đóng vai trò quan trọng trong chuỗi vận chuyển điện tử, có thể phản ánh các thích ứng với các sinh cảnh sinh thái cụ thể (130). Những biến thể này rất quan trọng để hiểu cách mà những linh trưởng này đã tiến hóa để phát triển trong các môi trường đa dạng, bao gồm cả các khu vực đô thị.

Phân tích thành phần nucleotide cho thấy tỷ lệ AT là 56.9% trong hệ gene ty thể, với các vùng mã hóa protein có tỷ lệ AT hơi cao hơn (57%). Sự ưu tiên sử dụng nucleotide này có thể ảnh hưởng đến sự ổn định và chức năng của ADN ty thể, tác động đến quá trình sao chép và phiên mã (123). Phân tích mức sử dụng codon đồng nghĩa tương đối (RSCU) cho thấy sự ưa thích đối với một số codon, đặc biệt là đối với leucine và serine, có thể tăng cường hiệu suất dịch mã. Sự ưa thích này rất quan

trọng để tối ưu hóa quá trình tổng hợp protein nhằm đáp ứng các nhu cầu chuyên hóa đa dạng khi có biến động về môi trường (124).

Phân tích các vùng giữa gene cho thấy sự biến đổi trong tiềm năng điều chỉnh, với các vùng giữa gene dài hơn có thể chỉ ra các khu vực cho các yếu tố điều chỉnh. Sự quan sát 366 nucleotide giữa gene nhấn mạnh tầm quan trọng của những vùng này trong việc điều chỉnh gene và chức năng ty thể. Khả năng điều chỉnh này đặc biệt quan trọng để hiểu cách mà *Khi vàng* thích ứng với các thách thức môi trường, vì các yếu tố điều chỉnh đóng vai trò thiết yếu trong biểu hiện gene ty thể và các phản ứng chuyên hóa (122).

Việc xác định các cặp base không khớp trong các gene *tRNA* cho thấy những thích ứng cấu trúc có thể nâng cao sự linh hoạt và khả năng chức năng của *tRNA* trong bối cảnh ty thể. Các cặp không khớp, như A-C và A-G, cho thấy sự sai lệch so với cặp base tiêu chuẩn, điều này có thể ảnh hưởng đến sự ổn định của các phân tử *tRNA* và khả năng của chúng trong việc vận chuyển chính xác các axit amin trong quá trình tổng hợp protein. Những biến thể này gợi ý về các áp lực tiến hóa đã hình thành cấu trúc *tRNA* để tối ưu hóa chức năng ty thể (70).

Nghiên cứu này đã thành công trong việc mô tả hệ gene ty thể hoàn chỉnh của *Khi vàng* Việt Nam, lấp đầy một khoảng trống quan trọng trong hiểu biết của chúng ta về cấu trúc di truyền và các thích ứng tiến hóa của loài này. Những hiểu biết thu được từ thành phần nucleotide, mối quan hệ phả hệ và các cơ chế điều chỉnh đóng góp vào kiến thức rộng hơn về di truyền và tiến hóa của linh trưởng. Hơn nữa, nghiên cứu này nhấn mạnh tầm quan trọng của đa dạng di truyền trong các chiến lược bảo tồn, vì việc duy trì sự biến đổi di truyền là rất cần thiết cho khả năng thích ứng và sự bền bỉ của các cá thể *Khi vàng* trước những thay đổi môi trường. Các nghiên cứu trong tương lai nên tập trung vào việc điều tra các tác động chức năng của những biến thể di truyền quan sát được và khám phá tiềm năng của các nỗ lực bảo tồn nhằm tăng cường đa dạng di truyền trong loài này.

3.3. Phân tích sai khác trình tự ty thể phục vụ nghiên cứu phát sinh loài

Trong nghiên cứu tiến hóa phân tử và bảo tồn sinh học, việc sử dụng các trình tự gene ty thể như *16S rRNA*, *cytb*, *D-loop* và toàn bộ hệ gene ty thể đã trở thành công cụ then chốt để xác định mối quan hệ phát sinh loài giữa các nhóm động vật, đặc biệt là linh trưởng (37). Việt Nam là nơi có đa dạng sinh học cao với nhiều loài linh trưởng đặc hữu có nguy cơ tuyệt chủng cao (131). Việc tiến hành xây dựng và phân tích cây phát sinh loài từ bốn vùng gene khác nhau của ADN ty thể – bao gồm

16S rRNA, *cytb*, vùng *D-loop* và toàn bộ hệ gene ty thể – có thể đánh giá tính nhất quán và giá trị bảo tồn của từng cây. Mỗi vùng gene phản ánh một khía cạnh khác nhau của tiến hóa và cấu trúc di truyền. Gene *16S rRNA* cung cấp độ phân giải ổn định ở cấp độ loài hoặc chi, với ưu điểm là độ bảo tồn cao và khả năng định danh rõ ràng các nhánh lớn. *Cytb* thể hiện tốc độ tiến hóa tốt hơn cho các nhánh gần, phù hợp với việc xác định mối quan hệ giữa các cá thể trong cùng một loài. Các mẫu linh trưởng tại Tây Nguyên từ các cá thể khác nhau có sự phân tách đáng kể trên cây *cytb*. Vùng *D-loop* có tốc độ tiến hóa nhanh, giúp nhận diện sự phân hóa nội bộ rõ rệt. Tuy nhiên, chính vì biến động cao nên dữ liệu dễ bị nhiễu, đòi hỏi xử lý thận trọng trong quá trình căn chỉnh và phân tích. Toàn bộ hệ gene ty thể kết hợp cả ba loại thông tin trên, mang lại độ phân giải cao nhất và nhất quán với cả ba cây đơn lẻ. Đây là công cụ mạnh mẽ để tái tạo lịch sử phát sinh loài toàn diện nhất.

3.3.1. Phân tích sai khác trình tự gene *16S rRNA* và mối quan hệ phát sinh loài của các cá thể linh trưởng khu vực Tây Nguyên Việt Nam

Bảng 3. 23. Các vị trí khác biệt trên trình tự gene *16S rRNA* của cá thể *Chà và chân đen* Tây Nguyên Việt Nam và cá thể *Chà và chân đen* khác

	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	4	4	4	4	4	5			
	2	3	6	0	3	4	6	7	8	9	0	1	2	5	6	7	0	2	3	9	1	5	6	7	8	2
<i>Chà và chân đen</i> Tây Nguyên Việt Nam	T	T	G	G	A	G	G	C	C	C	G	G	T	T	T	G	T	A	A	A	G	T	T	A	T	C
<i>Chà và chân đen</i> NC018061	C	.	T	A	T	C	A	A	A	A	C	C	C	C	C	A	C	C	T	T	G	G	A	T	A	A
<i>Chà và chân đen</i> MH_064177	C	C	T	A	T	C	A	-	-	A	C	C	C	C	C	A	C	C	T	T	A	G	A	T	A	A
<i>Chà và chân đen</i> JQ821840	C	.	T	A	T	C	A	A	A	A	C	C	C	C	C	A	C	C	T	T	G	G	A	T	A	A
	5	5	5	5	5	5	5	6	6	6	6	6	6	7	7	7	7	7	7	8	8	8	8	8	8	8
	3	4	5	6	7	8	9	1	3	6	7	8	9	0	1	2	5	6	8	2	3	4	5	6	7	8
<i>Chà và chân đen</i> Tây Nguyên Việt Nam	A	G	A	G	G	T	T	A	C	C	T	C	T	T	C	T	G	C	C	G	T	T	C	A	C	A
<i>Chà và chân đen</i> NC018061	T	A	T	T	A	A	A	C	T	A	C	A	A	G	T	A	A	A	G	A	G	G	A	G	A	T
<i>Chà và chân đen</i> MH_064177	T	A	T	T	A	A	A	C	T	A	C	A	A	A	T	A	A	A	G	A	G	G	A	G	A	T
<i>Chà và chân đen</i> JQ821840	T	A	T	T	A	A	A	C	T	A	C	A	A	G	T	A	A	A	G	A	G	G	A	G	A	T
					1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	4	4	4	5	5	6	6	6
	8	9	9	9	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	5	1	5	9	5	7	1	2	6
	9	0	5	7	0	2	3	0	1	2	4	5	7	8	9	0	3	0	9	8	1	3	3	8	4	7
<i>Chà và chân đen</i> Tây Nguyên Việt Nam	G	T	C	T	A	T	A	T	A	T	C	T	C	C	C	A	C	A	G	C	C	G	G	C	G	T
<i>Chà và chân đen</i> NC018061	A	G	T	A	C	G	G	A	G	A	A	C	G	T	A	C	T	G	A	T	T	A	G	T	G	T
<i>Chà và chân đen</i> MH_064177	A	G	T	A	C	G	G	A	G	A	A	C	G	T	A	C	C	A	G	C	C	G	A	C	A	G
<i>Chà và chân đen</i> JQ821840	A	G	T	A	C	G	G	A	G	A	A	C	G	T	A	C	T	G	A	T	T	A	G	T	G	T

					1	1	1	
	6	7	7	7	9	1	1	2
	8	5	5	7	8	2	8	2
	4	6	8	6	2	1	9	2
<i>Chà và chân đen</i> Tây Nguyên Việt Nam	G	A	C	C	T	C	C	T
<i>Chà và chân đen</i> NC018061	G	G	T	T	T	C	G	C
<i>Chà và chân đen</i> MH_064177	A	A	C	C	C	T	C	T
<i>Chà và chân đen</i> JQ821840	G	G	T	T	T	C	G	C

Cá thể *Chà và chân đen* Tây Nguyên thể hiện nhiều sai khác nucleotide so với các mẫu đối chiếu (NC018061, MH_064177, JQ821840) với gần 60 vị trí biến đổi (Bảng 3. 23). Tại vị trí 1236, cá thể *Chà và chân đen* Tây Nguyên mang nucleotide T, trong khi cả ba mẫu đối chiếu đều mang C. Ở cụm vị trí 1278–1280, trình tự của cá thể *Chà và chân đen* Tây Nguyên là G–G–T, khác với kiểu gen đồng nhất C–C–C của các mẫu còn lại. Tại vị trí 1339, cá thể Tây Nguyên mang A, trong khi các mẫu đối chiếu lần lượt mang T (NC018061) và G (MH_064177, JQ821840). Ngoài các sai khác đơn lẻ, nhiều chuỗi đột biến liên tiếp được ghi nhận. Trong đoạn 1508–1513, cá thể Tây Nguyên có trình tự C–C–C–C–C, trong khi cả ba mẫu đối chiếu đều mang T–T–T–T–T. Tương tự, tại đoạn 1607–1610, cá thể *Chà và chân đen* Tây Nguyên mang A–T–T–T, khác biệt so với kiểu gen G–C–C–C của các mẫu tham chiếu. Một số vị trí như 1510, 1512 và 1721 cho thấy sự không đồng nhất giữa các mẫu đối chiếu.

Sự khác biệt này thể hiện tính khác biệt di truyền giữa cá thể *Chà và chân đen* Tây Nguyên và các cá thể *Chà và chân đen* từ các vùng địa lý khác.

Trên cây phát sinh loài dựa trên trình tự gene *16S* (Hình 3. 27), cá thể *Chà và chân đen* Tây Nguyên nằm ở một nhánh riêng biệt rõ rệt, tách biệt với các mẫu tham chiếu. Việc cá thể nghiên cứu nằm trong một nhánh riêng biệt trên cây phát sinh loài đã khẳng định giá trị của bộ dữ liệu hệ gen ty thể hoàn chỉnh, đóng góp làm nền tảng di truyền cho loài linh trưởng đặc hữu, nguy cấp này

Bảng 3. 24. Các vị trí khác biệt trên trình tự gene *16S rRNA* của cá thể *Chà và chân nâu* Tây Nguyên Việt Nam và cá thể *Chà và chân nâu* khác

		4	4	4	6	6	7	8	8	8
	5	0	0	9	1	2	1	0	5	5
	3	1	2	0	1	4	0	4	1	4
<i>Chà và chân nâu</i> Tây Nguyên Việt Nam	T	C	C	T	C	C	T	C	C	C
<i>Chà và chân nâu</i> NC008220	C	T	T	C	T	T	C	C	T	C

<i>Chà và chân nâu</i> JF_293096	C	T	C	C	T	T	C	T	T	T
<i>Chà và chân nâu</i> DQ355302	C	T	T	C	T	T	C	C	T	C

10 vị trí nucleotide khác biệt trong trình tự gene *16S rRNA* giữa cá thể *Chà và chân nâu* Tây Nguyên Việt Nam và ba mẫu tham chiếu trên thế giới (NC008220, JF_293096, DQ355302) (Bảng 3. 24), các biến dị chủ yếu là thay thế base T↔C hoặc C↔T. Cá thể *Chà và chân nâu* Tây Nguyên thể hiện kiểu gene T-C-C-T-C-C-T-C-C-C ở 10 vị trí này, trong khi các mẫu tham chiếu có xu hướng ngược lại (C-T-T-C-T-T-C-T-T-C). Ở vị trí 4450–4452; cá thể *Chà và chân nâu* Tây Nguyên mang bộ ba T-C-C so với C-T-T (NC008220), C-T-C (JF_293096). Các vị trí 4460–4461; cá thể *Chà và chân nâu* Tây Nguyên C-C, trong khi mẫu đối chiếu chủ yếu là T-T → thể hiện sự thay đổi đồng loạt; vị trí 4515; cá thể *Chà và chân nâu* Tây Nguyên mang C trong khi mẫu JF_293096 là T.

Bảng 3. 25. Các vị trí khác biệt trên trình tự gene *16S* của cá thể *Chà và chân xám* Tây Nguyên Việt Nam và cá thể *Chà và chân xám* khác

																			1	1	1	1	1	1	1	1
	1	2	3	3	3	3	4	4	4	4	4	5	5	5	5	6	7	8	0	0	2	3	3	3	4	4
	2	5	0	1	2	9	1	4	6	8	9	0	4	5	6	6	5	9	3	5	8	1	9	9	7	7
	0	6	7	2	9	0	0	0	8	8	9	5	0	0	7	5	0	1	5	1	3	1	3	5	4	5
	5	1	5	9	1	1	8	2	4	2	2	9	8	1	2	7	3	1	4	3	1	9	6	1	3	3
<i>Chà và chân xám</i> Tây Nguyên Việt Nam	G	A	T	T	G	T	A	C	C	T	C	C	C	G	C	G	T	C	A	T	A	G	T	T	A	T
<i>Chà và chân xám</i> NC088556	G	A	T	T	G	T	A	C	C	T	C	C	C	G	C	G	T	C	A	T	A	G	T	T	A	T
<i>Chà và chân xám</i> NC018063	A	G	C	C	A	C	C	T	T	C	T	T	T	A	T	A	C	T	G	C	G	A	C	C	G	C
<i>Chà và chân xám</i> JQ_821842	A	G	C	C	A	C	C	T	T	C	T	T	T	A	T	A	C	T	G	C	G	A	C	C	G	C
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	4	5	5	5	5	5	5	5	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	9	0	3	8	8	8	8	9	0	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	9	2	7	0	1	1	2	7	6	3	2	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	2	1	5	9	3	5	3	5	0	0	7	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>Chà và chân xám</i> Tây Nguyên Việt Nam	T	C	T	C	T	C	G	G	C	T	A	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
<i>Chà và chân xám</i> NC088556	T	C	T	C	T	C	G	G	C	T	A	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
<i>Chà và chân xám</i> NC018063	C	T	C	T	C	T	A	A	T	C	G	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
<i>Chà và chân xám</i> JQ_821842	C	T	C	T	C	T	A	A	T	C	G	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C

Cá thể *Chà và chân xám* Tây Nguyên có các vị trí nucleotide giống với mẫu NC088556, nhưng khác biệt so với hai mẫu khác (NC018063, JQ_821842) (Bảng 3. 25). Các điểm khác biệt lên tới hơn 30 vị trí; sự khác biệt xảy ra tại

<i>Khi mặt đỏ</i> Tây Nguyên Việt Nam	A	G	G	A	T	T	T	T	A	T	A	A	C	C	C	T	A	A	A	T	A	G	A	A	G	G
<i>Khi mặt đỏ</i> KJ567055	G	T	T	C	G	C	G	G	G	A	T	C	G	G	T	C	G	G	T	C	C	T	T	C	A	C
<i>Khi mặt đỏ</i> KM350179	G	T	T	C	G	C	G	G	G	A	T	C	G	G	T	C	G	G	T	C	C	T	T	C	A	C
<i>Khi mặt đỏ</i> 16S NC025201	G	T	T	C	G	C	G	G	G	A	T	C	G	G	T	C	G	G	T	C	C	T	T	C	A	C
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	5	5	5	5	5	5	6	6	6	6	6	6	7	7	7	7	7	8	8	8	8	8	8	8	8	9
	2	3	4	7	8	9	0	1	3	5	6	8	0	1	2	7	8	0	1	3	4	6	7	8	9	0
<i>Khi mặt đỏ</i> Tây Nguyên Việt Nam	A	A	G	G	T	A	A	C	T	G	T	A	C	G	T	G	A	G	G	G	C	C	T	T	G	G
<i>Khi mặt đỏ</i> KJ567055	T	T	C	C	C	T	G	T	C	A	A	G	A	C	A	A	G	A	A	A	A	G	C	C	C	A
<i>Khi mặt đỏ</i> KM350179	T	T	C	C	C	T	G	T	C	A	A	G	A	C	A	A	G	A	A	A	A	G	C	C	C	A
<i>Khi mặt đỏ</i> 16S NC025201	T	T	C	C	C	T	G	T	C	A	A	G	A	C	A	A	G	A	A	A	A	G	C	C	C	A
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	4	4	4	4	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	9	9	9	9	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	2	2	2	2	3	3	3	4
	1	3	4	5	7	1	2	3	4	5	6	8	9	0	4	8	9	4	6	7	9	0	2	3	4	3
<i>Khi mặt đỏ</i> Tây Nguyên Việt Nam	A	A	A	A	C	G	T	A	T	A	G	T	T	A	C	G	C	G	C	T	A	C	C	C	C	C
<i>Khi mặt đỏ</i> KJ567055	C	T	C	T	A	C	G	C	C	T	T	A	C	T	T	T	G	A	T	C	T	A	T	T	T	A
<i>Khi mặt đỏ</i> KM350179	C	T	C	A	A	C	G	C	C	T	T	A	T	T	T	T	G	A	T	C	T	A	T	T	T	A
<i>Khi mặt đỏ</i> 16S NC025201	C	T	C	T	A	C	G	C	C	T	T	A	C	T	T	T	G	A	T	C	T	A	T	T	T	A
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	4	5	5	5	5	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	4	2	5	7	8	1	2	5	6	7	9															
<i>Khi mặt đỏ</i> Tây Nguyên Việt Nam	T	A	G	T	T	T	T	C	T	T	A															
<i>Khi mặt đỏ</i> KJ567055	C	T	A	C	C	A	A	A	-	-	-															
<i>Khi mặt đỏ</i> KM350179	C	T	A	C	C	A	A	A	G	G	T															
<i>Khi mặt đỏ</i> 16S NC025201	C	T	A	C	C	A	A	A	-	-	-															

Cá thể *Khi mặt đỏ* Tây Nguyên có hơn 70 vị trí biến đổi nucleotide so với các mẫu tham chiếu khác (KJ567055, KM350179, NC025201) (Kết quả này phản ánh sự khác biệt di truyền ở hệ gene ty thể giữa các mẫu được so sánh.

Bảng 3. 26). Các biến đổi xuất hiện trên toàn trình tự, chủ yếu là các thay thế $T \leftrightarrow C$, $A \leftrightarrow G$, và $C \leftrightarrow G$. Một số chuỗi liên tục thể hiện các biến đổi đặc trưng, như từ vị trí 1508–1513, mẫu Tây Nguyên mang C–C–C–C–C, trong khi các mẫu đối chiếu mang T–T–T–T–T. Đặc biệt, chuỗi từ 1607–1610: *Khi mặt đỏ* Tây Nguyên mang A–T–T–T, trong khi các mẫu khác mang G–C–C–C. So sánh chi tiết: vị trí 1124: Tây Nguyên có T, trong khi mẫu đối chiếu có C; vị trí 1361: G so với A →

phản ánh sự chuyển G→A phổ biến ở các dòng tiến hóa khác biệt; vị trí 1721–1725: A–C–A–T–C ở mẫu Tây Nguyên khác biệt rõ rệt với các mẫu khác mang G–G–T–G–T; nhiều vị trí khác như 1865, 1885, 1903... thể hiện xu hướng biến đổi trùng nhau giữa các mẫu đối chiếu, trong khi cá thể linh trưởng ở Tây Nguyên lại mang dạng duy nhất.

Mức độ biến dị nucleotide giữa *Khỉ mặt đỏ* Tây Nguyên và các mẫu khác tương đối cao so với một loài thông thường. *Khỉ mặt đỏ* Tây Nguyên cũng thể hiện rõ sự phân hóa trên cây phát sinh loài (Hình 3. 27), xuất hiện riêng biệt và không hòa lẫn với các nhánh mẫu tham chiếu.

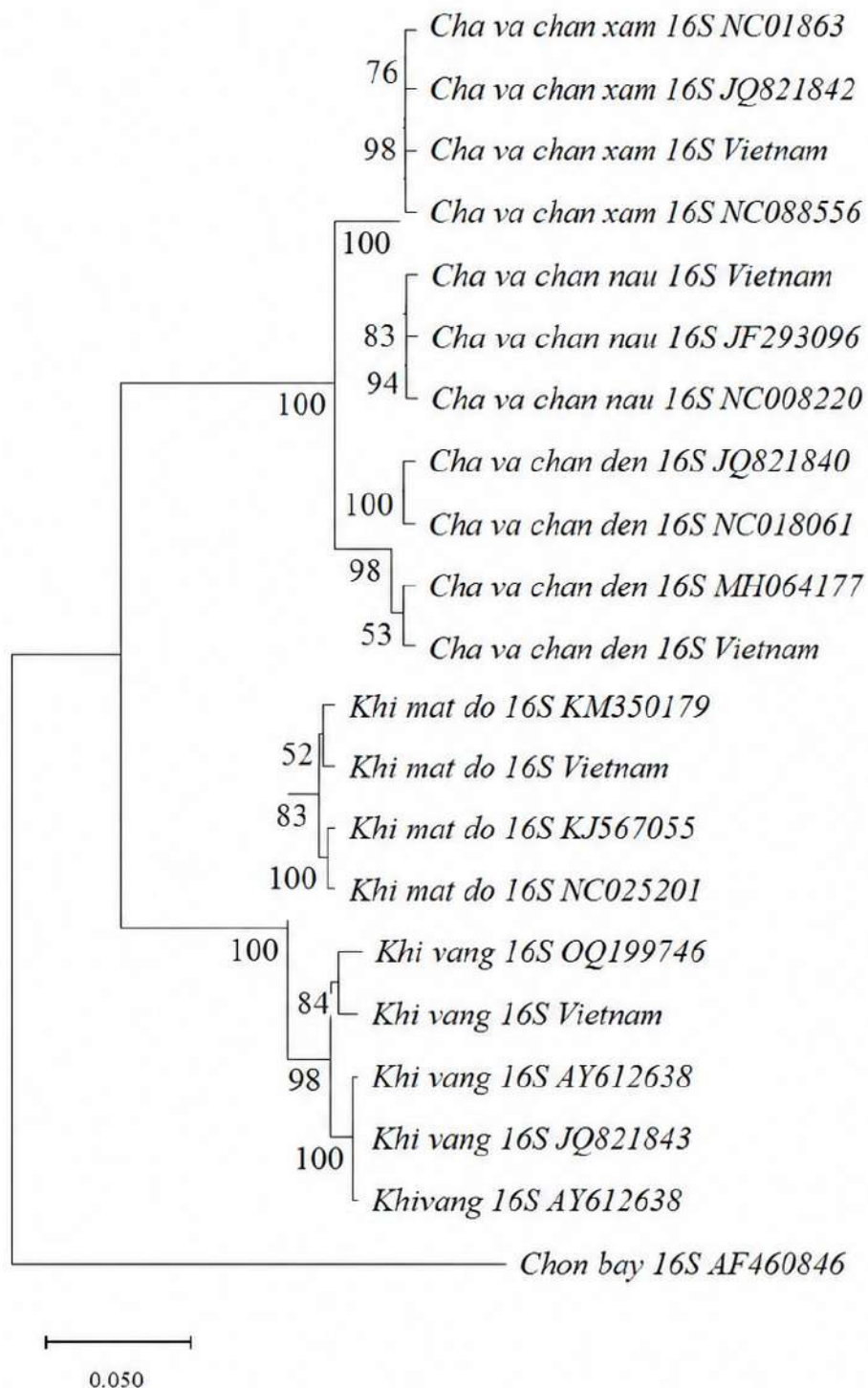
Bảng 3. 27. Các vị trí khác biệt trên trình tự gene *I6S* của cá thể *Khỉ vàng* Tây Nguyên Việt Nam và cá thể *Khỉ vàng* khác

															1	1	1	1	1	1	1	1	1			
			1	1	2	2	3	3	4	4	4	4	5	5	6	6	8	0	0	0	0	1	2	2	5	
	2	4	4	3	6	1	6	3	7	0	8	8	9	0	7	1	2	1	2	3	3	8	1	2	3	1
	7	4	9	4	8	7	8	1	5	7	5	8	3	6	6	0	3	0	9	4	5	9	7	1	6	5
<i>Khỉ vàng</i> Tây Nguyên Việt Nam	T	C	T	A	T	G	G	T	A	C	C	C	C	C	A	T	T	T	G	A	A	C	C	C	T	A
<i>Khỉ vàng</i> NC005943	C	T	C	G	C	A	A	C	G	T	T	T	T	T	G	C	C	C	A	G	T	T	T	T	C	G
<i>Khỉ vàng</i> JQ_821843	C	T	C	G	C	A	A	C	G	T	T	T	T	T	G	C	C	C	A	G	T	T	T	T	C	G
<i>Khỉ vàng</i> AY612638	C	T	C	G	C	A	A	C	G	T	T	T	T	T	G	C	C	C	A	G	T	T	T	T	C	G

Cá thể *Khỉ vàng* Tây Nguyên được so sánh với ba trình tự tham chiếu khác (NC005943, JQ_821843, AY612638) cho thấy 26 vị trí nucleotide khác biệt trên trình tự gene *I6S rRNA* (Bảng 3. 27). Trong tất cả các vị trí kể trên, cá thể *Khỉ vàng* Tây Nguyên đều có nucleotide khác biệt hoàn toàn so với ba cá thể đối chứng còn lại (đã số thuộc khu vực Đông Á, Ấn Độ). ADN ty thể của *Khỉ vàng* Tây Nguyên có đặc điểm riêng biệt như: vị trí 1124 là T thay vì C (ở 3 mẫu còn lại), vị trí 1244: T so với C, vị trí 1361: G so với A, vị trí 1508–1513: một loạt các vị trí đồng nhất với C (Tây Nguyên) so với T (các mẫu khác), vị trí 1607: A so với G, vị trí 1721, 1723: A – A so với T – T.

Trình tự gene *I6S rRNA* là một trong những vùng gene phổ biến nhất được sử dụng trong nghiên cứu phát sinh loài, đặc biệt ở động vật có xương sống và linh trưởng. Do có tính bảo tồn cao nhưng vẫn chứa các vùng biến đổi vừa phải, gene này cung cấp một công cụ hiệu quả để phân tích mối quan hệ tiến hóa giữa các loài và cá thể khác nhau. Trong nghiên cứu này, cây phát sinh loài được xây dựng từ trình tự *I6S rRNA* của các loài linh trưởng tại Tây Nguyên đã cho thấy nhiều đặc điểm đáng chú ý về sự phân hóa di truyền, lịch sử tiến hóa và cấu trúc cá thể. Do tốc độ tiến hóa

tương đối chậm của gene này, nó đặc biệt hữu ích trong việc xây dựng cây phát sinh loài giữa các loài hoặc nhóm loài có thời gian tách biệt tiến hóa từ vài triệu năm trước.



Hình 3. 27. Cây phát sinh loài linh trưởng Tây Nguyên từ trình tự *16S rRNA*.

Cây phát sinh loài dựa trên trình tự gen *16S rRNA* cho thấy các mẫu linh trưởng có nguồn gốc từ Tây Nguyên Việt Nam được phân nhóm phù hợp với đặc

điểm phân loại học. Nhìn chung, cây phân tách rõ hai nhóm chính gồm nhóm *Chà vá* thuộc chi *Pygathrix* và nhóm *khỉ* thuộc chi *Macaca*. Loài *Chồn bay* được sử dụng làm nhóm ngoài và nằm tách biệt ở gốc cây, cho thấy vai trò định hướng quan hệ phát sinh giữa các nhóm linh trưởng trong cây.

Đối với nhóm *Chà vá*, mẫu *Chà vá chân xám 16S* Tây Nguyên Việt Nam nằm trong cùng cụm với các trình tự tham chiếu của loài *Pygathrix cinerea*, bao gồm NC018063, JQ821842 và NC088556. Cụm này được hỗ trợ bởi giá trị bootstrap cao, cho thấy mẫu *Chà vá chân xám 16S* Tây Nguyên Việt Nam có quan hệ di truyền gần với các trình tự *Chà vá chân xám* đã công bố. Kết quả này phù hợp với định danh loài dựa trên hình thái và củng cố độ tin cậy của trình tự thu được.

Mẫu *Chà vá chân nâu 16S* Tây Nguyên Việt Nam cũng được xếp trong cụm của loài *Pygathrix nemaeus*, cùng với các trình tự tham chiếu JF293096 và NC008220. Các giá trị bootstrap trong nhóm này đạt mức trung bình đến cao, phản ánh sự phân nhóm tương đối ổn định. Việc mẫu *Chà vá chân nâu 16S* Tây Nguyên Việt Nam không tách riêng khỏi các trình tự tham chiếu cho thấy vùng gen *16S* rRNA có mức độ bảo tồn cao và phù hợp trong việc xác nhận quan hệ ở mức loài.

Đối với mẫu *Chà vá chân đen 16S* Tây Nguyên Việt Nam, trình tự này nằm trong cụm *Pygathrix nigripes*, cùng với các trình tự tham chiếu JQ821840, NC018061 và MH064177. Toàn bộ nhóm *Chà vá chân đen* được hỗ trợ bởi giá trị bootstrap cao, tuy nhiên một số nút bên trong nhóm có giá trị bootstrap thấp hơn, chẳng hạn bootstrap 53. Điều này cho thấy mẫu *Chà vá chân đen 16S* Tây Nguyên Việt Nam chắc chắn thuộc nhóm *Chà vá chân đen*, nhưng quan hệ gần nhất giữa các cá thể trong loài chưa được giải quyết rõ khi chỉ sử dụng riêng vùng gen *16S*.

Ở nhóm *Macaca*, mẫu *Khỉ mặt đỏ 16S* Tây Nguyên Việt Nam nằm trong cụm *Macaca arctoides*, cùng với các trình tự KM350179, KJ567055 và NC025201. Cụm này tách biệt với nhóm *Khỉ vàng*, phù hợp với phân loại học. Tuy nhiên, một số nút trong cụm *Khỉ mặt đỏ* có bootstrap trung bình hoặc thấp, cho thấy vùng gen *16S* chưa đủ độ phân giải để đánh giá chi tiết quan hệ nội loài.

Mẫu *Khỉ vàng 16S* Tây Nguyên Việt Nam được xếp trong cụm *Macaca mulatta*, gần với trình tự OQ199746 và cùng nhóm với các trình tự AY612638, JQ821843. Nhóm *Khỉ vàng* được hỗ trợ bởi các giá trị bootstrap khá cao đến rất cao, cho thấy sự phân nhóm đáng tin cậy. Kết quả này cũng khẳng định mẫu *Khỉ vàng 16S*

Tây Nguyên Việt Nam tách biệt rõ với *Khi mặt đỏ*, phù hợp với ranh giới loài trong chi *Macaca*.

Tổng thể, cây phát sinh loài dựa trên gen *16S* rRNA cho thấy các mẫu linh trưởng Tây Nguyên Việt Nam gồm *Chà vá chân xám*, *Chà vá chân nâu*, *Chà vá chân đen*, *Khi mặt đỏ* và *Khi vàng* đều được phân nhóm đúng với định danh loài. Các mẫu này không tạo thành một nhóm riêng theo nguồn gốc địa lý mà nằm trong các cụm tương ứng với từng loài. Điều này cũng được ghi nhận trong các nghiên cứu tương tự tại Đông Dương và Nam Trung Hoa (132). Điều này phù hợp với đặc điểm của gen *16S* rRNA là vùng gen tương đối bảo tồn, có giá trị cao trong xác nhận định danh loài và quan hệ phát sinh ở mức nhóm lớn, nhưng hạn chế hơn trong phân tích biến dị nội loài hoặc cấu trúc quần thể. Do đó, để đánh giá sâu hơn sự khác biệt di truyền của các mẫu linh trưởng Tây Nguyên Việt Nam, cần kết hợp thêm các vùng gen có tốc độ tiến hóa nhanh hơn như *D-loop*, *cytb* hoặc toàn bộ hệ gen ty thể.

3.3.2. Phân tích sai khác trình tự gene *cytb* và mối quan hệ phát sinh loài của các cá thể linh trưởng khu vực Tây Nguyên Việt Nam

Bảng 3. 28. Các vị trí khác biệt trên trình tự gene *cytb* của cá thể *Chà vá chân đen* Tây Nguyên Việt Nam và cá thể *Chà vá chân đen* khác

		1	2	2	3	3	3	3	4	4	5	5	5	5	5	5	6	7	7	7	8	8	0	0			
		2	4	7	7	2	6	0	0	0	3	3	9	0	1	2	2	8	8	5	3	7	8	1	9	3	6
		1	6	2	4	2	4	3	4	9	0	5	8	1	3	5	6	2	5	4	5	1	9	6	1	1	6
<i>Chà vá chân đen</i> Tây Nguyên Việt Nam		C	C	G	C	T	C	A	C	C	T	A	G	A	C	T	A	T	A	T	T	A	C	A	T	G	T
<i>Chà vá chân đen</i> NC018061		T	C	A	T	C	T	G	T	T	C	G	A	G	T	C	G	C	T	C	C	T	T	G	C	A	C
<i>Chà vá chân đen</i> MH_064177		C	T	G	C	T	C	A	C	C	T	A	G	A	C	T	A	T	A	T	T	A	C	A	T	G	C
<i>Chà vá chân đen</i> JQ821840		T	C	A	T	C	T	G	T	T	C	G	A	G	T	C	G	C	T	C	C	T	T	G	C	A	C

26 vị trí nucleotide khác biệt được tìm thấy trong vùng gene *cytb* giữa cá thể *Chà vá chân đen* Tây Nguyên Việt Nam và các mẫu tham chiếu (NC018061, MH_064177, JQ821840) (Bảng 3. 28). Các biến dị bao gồm: Các vị trí đáng chú ý như: 1247 (G vs. A), 1303 (A vs. G), 1363 (C vs. T), 1458 (T vs. C), 1522 (A vs. G), 1602 (T vs. C), 1785 (T vs. C). Biến dị thường thấy là các đột biến chuyển (transition) như A↔G và T↔C, phổ biến trong tiến hóa ty thể. *Chà vá chân đen* Tây Nguyên có một chuỗi liên tục A–T–T–A–C–A tại các vị trí cuối, trong khi các mẫu khác thường mang G–C–C–T–T–G. Các khác biệt

<i>Chà và chân nâu</i>	
JF_293096	T T A A C A A A C A T C C T C T
<i>Chà và chân nâu</i>	
DQ355302	T T A A C A A A C A T C C T C T

Có khoảng 60 nucleotide khác biệt trong vùng gene *cytb* giữa cá thể *Chà và chân nâu* Tây Nguyên Việt Nam và ba mẫu tham chiếu từ GenBank (NC008220, JF_293096, DQ355302) (Bảng 3. 29) Dạng biến đổi phổ biến: A↔G, T↔C, G↔C → đa phần là đột biến chuyển (transition), nhưng có một số đột biến đảo (transversion). Đặc biệt, cá thể *Chà và chân nâu* Tây Nguyên chia sẻ rất ít hoặc không chia sẻ alen với cả ba mẫu tham chiếu.

Đối chiếu với gene *16S* (Bảng 3. 24) mặc dù số lượng biến dị ít hơn (chỉ 10 vị trí) so với *cytb*, nhưng các vị trí thay thế có tính ổn định. Các biến dị T↔C xảy ra liên tục tại các vị trí 4450–4484. Kết hợp dữ liệu từ cả hai bảng chỉ ra rằng biến dị tồn tại đồng thời ở cả vùng bảo tồn (*16S*) lẫn vùng mã hóa protein (*cytb*).

Bảng 3. 30. Các vị trí khác biệt trên trình tự gene *cytb* của cá thể *Chà và chân xám* Tây Nguyên Việt Nam và cá thể *Chà và chân xám* khác

					1
	4	4	6	7	0
	3	4	8	1	6
	5	5	4	3	7
<i>Chà và chân xám</i> Tây Nguyên Việt Nam	A	T	T	C	T
<i>Chà và chân xám</i> NC 088556	A	T	T	C	T
<i>Chà và chân xám</i> NC018063	G	C	C	T	C
<i>Chà và chân xám cytb</i> JQ 821842	G	C	C	T	C

Bảng 3. 30 ghi nhận 5 vị trí nucleotide khác biệt trong vùng gene *cytb* giữa cá thể *Chà và chân xám* Tây Nguyên Việt Nam và các mẫu *Chà và chân xám* khác (NC088556, NC018063, JQ_821842). Các vị trí biến dị bao gồm: 1446, 1447, 1454, 1458, 1463. Cá thể linh trưởng ở Tây Nguyên mang cặp base A–T tại hai vị trí đầu (1446–1447), trong khi các mẫu đối chiếu có G–C. Vị trí 1454: *Chà và chân xám* Tây Nguyên có T, trong khi các mẫu khác có C →T. Hai vị trí còn lại (1458, 1463) có sự thay đổi đồng nhất giữa cá thể *Chà và chân xám* Tây Nguyên và các mẫu từ các khu vực khác.

Bảng 3. 31. Các vị trí khác biệt trên trình tự gene *cytb* của cá thể *Khỉ mặt đỏ* Tây Nguyên Việt Nam và cá thể *Khỉ mặt đỏ* khác

																									1	1
	1	1	1	2	3	4	4	4	5	5	5	5	5	6	7	7	8	9	9	9	9	9	9	9	0	1
	4	2	2	5	6	3	3	7	8	0	1	1	3	5	5	4	8	5	6	6	9	9	3	0		

	5	1	7	1	7	3	2	5	6	7	5	9	1	2	4	1	9	0	0	9	6	7	8	4
<i>Khi mặt đỏ</i> Tây Nguyên Việt Nam	T	C	T	T	A	A	A	G	G	T	G	C	A	C	C	C	C	G	C	T	G	C	T	G
<i>Khi mặt đỏ</i> NC025201	C	C	C	T	G	G	G	A	G	C	G	T	G	T	C	T	T	A	G	C	A	T	C	A
<i>Khi mặt đỏ</i> KM_360179	T	T	C	C	A	G	G	A	A	C	A	C	A	C	T	T	T	A	C	T	A	T	C	G
<i>Khi mặt đỏ</i> KJ567055	C	C	C	T	G	G	G	A	G	C	G	T	G	T	C	T	T	A	G	C	A	T	C	A

Khi so sánh với cá thể *Khi mặt đỏ* Tây Nguyên với các cá thể *Khi mặt đỏ* tham chiếu (NC025201, KM_360179, KJ567055) đã cho thấy 25 vị trí nucleotide khác biệt trong vùng gene *cytb* (Bảng 3. 31). Các biến dị chủ yếu là dạng T↔C, A↔G, phân bố rải rác trên toàn trình tự. Một số vị trí tiêu biểu như: tại vị trí 1245, 1256, 1285: ADN ty thể của cá thể *Khi mặt đỏ* Tây Nguyên mang T–C–T, trong khi các mẫu khác có C–T–C; vị trí 1456: có C thay vì A (hoặc G); vị trí 1496–1499: chuỗi C–T–G–C ở mẫu *Khi mặt đỏ* Tây Nguyên khác biệt hoàn toàn so với các mẫu còn lại.

Sự hiện diện của các biến đổi nucleotide trên cả gene *cytb* và 16S rRNA cho thấy mẫu *Chà vá chân xám* Tây Nguyên có một số khác biệt di truyền so với các trình tự tham chiếu.

Bảng 3. 32. Các vị trí khác biệt trên trình tự gene *cytb* của cá thể *Khi vàng* Tây Nguyên Việt Nam và cá thể *Khi vàng* khác

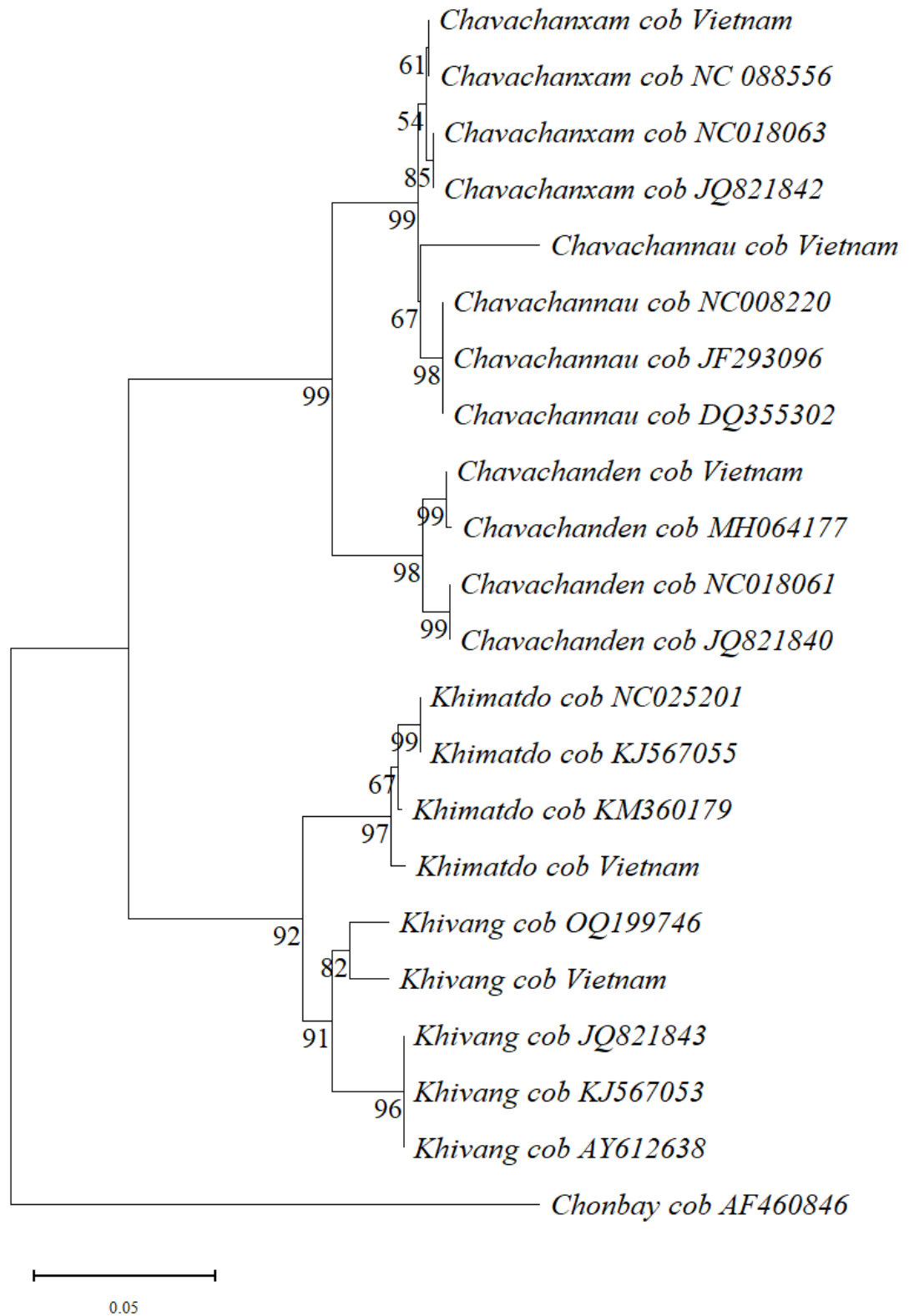
								1	1	1	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	4	4
	3	4	5	6	8	9	2	3	9	2	7	7	0	0	2	4	6	7	8	9	0	1	2	3	4	
	5	1	5	7	7	7	0	4	6	8	8	3	6	0	6	1	8	9	8	4	0	5	4	6	8	7
<i>Khi vàng</i> Tây Nguyên Việt Nam	T	A	C	T	A	G	A	G	G	T	C	T	C	A	C	T	C	C	A	T	C	G	G	G	T	A
<i>Khi vàng</i> OQ199746	T	A	T	T	A	G	A	A	A	C	T	T	C	A	T	T	C	C	A	C	T	A	G	G	C	A
<i>Khi vàng</i> KJ567053	C	C	T	C	G	A	G	A	A	T	C	C	T	G	T	C	T	T	G	C	T	A	A	A	C	G
<i>Khi vàng</i> JQ_821843	C	C	T	C	G	A	G	A	A	T	C	C	T	G	T	C	T	T	G	C	T	A	A	A	C	G
<i>Khi vàng</i> AY612638	C	C	T	C	G	A	G	A	A	T	C	C	T	G	T	C	T	T	G	C	T	A	A	A	C	G
	4	4	4	4	4	4	5	5	5	5	5	5	5	5	6	6	6	6	6	6	6	7	7	7	7	7
	5	5	6	6	8	9	1	1	5	6	8	8	8	9	0	2	4	5	7	9	1	1	4	7	7	8
	0	9	5	8	0	2	2	9	2	4	0	2	5	1	0	4	5	6	7	0	1	3	5	1	4	4
<i>Khi vàng</i> Tây Nguyên Việt Nam	A	C	T	T	A	T	A	C	T	T	G	T	A	A	A	C	G	T	T	A	T	T	T	C	A	C
<i>Khi vàng</i> OQ199746	G	T	C	T	A	C	G	C	C	T	A	T	A	G	A	T	G	C	T	A	T	C	C	C	G	C

<i>Khỉ vàng</i> KJ567053	A C T C C C A T C C A C G A G T A C C G C T C T A T
<i>Khỉ vàng</i> JQ_821843	A C T C C C A T C C A C G A G T A C C G C T C T A T
<i>Khỉ vàng</i> AY612638	A C T C C C A T C C A C G A G T A C C G C T C T A T
	1 1 1 1 1 1
	7 7 8 8 8 8 8 8 8 8 8 9 9 9 9 9 9 9 9 9 0 0 0 0 0 1
	8 9 0 0 1 1 4 5 8 8 9 9 0 1 2 6 7 8 9 9 9 1 2 3 3 3 3
	9 2 1 7 3 6 0 0 5 6 1 5 0 5 1 9 2 7 1 7 9 2 0 0 1 2 4
<i>Khỉ vàng</i> Tây Nguyễn Việt Nam	T C T G G G T G C C G T C C C C A A G T A G T A C T A
<i>Khỉ vàng</i> OQ199746	C T C G A A C A C T A C C C C C G A A C A A C A C T A
<i>Khỉ vàng</i> KJ567053	C T T A G A C A T C G C T T T T A C A T G A C G T C G
<i>Khỉ vàng</i> JQ_821843	C T T A G A C A T C G C T T T T A C A T G A C G T C G
<i>Khỉ vàng</i> AY612638	C T T A G A C A T C G C T T T T A C A T G A C G T C G

Sự hiện diện của các biến đổi nucleotide trên cả gene *cytb* và 16S rRNA cho thấy mẫu *Chà vá chân xám* Tây Nguyên có một số khác biệt di truyền so với các trình tự tham chiếu.

Bảng 3. 32 ghi nhận hơn 30 vị trí nucleotide khác biệt trong vùng gene *cytb* giữa cá thể *Khỉ vàng* Tây Nguyên Việt Nam và các mẫu tham chiếu từ GenBank (OQ199746, KJ567053, JQ_821843, AY612638). Các vị trí biến dị phân bố từ đầu đến cuối gene, nổi bật là các chuỗi liên tục từ vị trí 1267–1270, 1360–1363, 1497–1500. Cá thể *Khỉ vàng* Tây Nguyên mang nhiều dạng alen không phổ biến, như vị trí 1285: *Khỉ vàng* Tây Nguyên có G, trong khi các mẫu khác có A hoặc T; vị trí 1499–1500: C–A ở *Khỉ vàng* Tây Nguyên so với G–C hoặc T–C ở mẫu khác.

Tổng thể, *Khỉ vàng* Tây Nguyên thể hiện một mẫu hình biến dị phân tán và độc lập. Tuy nhiên, dữ liệu hiện tại chưa đủ cơ sở để kết luận về mẫu hình biến dị độc lập hoặc quá trình tiến hóa biệt lập lâu dài. Cần có thêm dữ liệu từ nhiều cá thể, nhiều khu vực phân bố và các chỉ thị di truyền bổ sung để đánh giá rõ hơn mức độ phân hóa di truyền của nhóm này.



Hình 3. 28. Cây phát sinh loài linh trưởng Tây Nguyên từ trình tự gene *cytb*

Gene *cytb* là một gene mã hóa protein nằm trong hệ thống chuỗi chuyền điện tử ty thể, *cytb* có tốc độ tiến hóa trung bình và cung cấp lượng thông tin di truyền lớn, rất phù hợp cho việc phân tích ở cấp độ loài và phân loài. Trong nghiên cứu này, cây phát sinh loài được xây dựng từ trình tự gene *cytb* của các loài linh trưởng ở Tây Nguyên đã mang lại nhiều kết quả quan trọng giúp hiểu rõ mối quan hệ tiến hóa và sự phân hóa di truyền giữa các cá thể trong khu vực. *Cytb* là một trong 13 gene mã hóa protein nằm trong hệ gene ty thể và đã được chuẩn hóa để sử dụng trong các nghiên cứu phân loại học, tiến hóa học và xác định loài nhờ vào khả năng phản ánh tốt sự biến đổi di truyền ở cấp độ giữa các loài.

Với đặc tính trung gian về tốc độ tiến hóa, *cytb* có thể phát hiện được sự phân hóa gần và sâu, phù hợp cho các nghiên cứu về các nhóm linh trưởng có lịch sử tiến hóa phức tạp như ở Đông Dương.

Trình tự *cytb* của cá thể *Chà vá chân nâu* của Việt thể hiện sự khác biệt di truyền đáng kể so với 2 loài đến từ Trung Quốc và Myanmar. Bên cạnh đó *Khỉ mặt đỏ* ở Tây Nguyên cũng thể hiện sự khác biệt di truyền trên vùng trình tự *cytb* với các cá thể *Khỉ mặt đỏ* khác trong khu vực. Cụ thể, trong khi các loài từ các khu vực khác thường tập trung trong các nhánh riêng biệt, các mẫu từ Việt Nam có xu hướng phân bố đa dạng hơn, cho thấy khả năng tồn tại các phân loài có lịch sử tiến hóa riêng biệt. Điều này gợi ý rằng Việt Nam có thể là một khu vực quan trọng trong sự phát triển và đa dạng hóa của các loài linh trưởng thuộc nhóm này.

3.3.3. Phân tích sai khác trình tự gene *D-loop* và mối quan hệ phát sinh loài của các cá thể linh trưởng khu vực Tây Nguyên Việt Nam

Bảng 3. 33. Các vị trí khác biệt trên trình tự gene *D-loop* của cá thể *Chà vá chân xám* Tây Nguyên Việt Nam và cá thể *Chà vá chân xám* khác

	2	2	2	2	3	4	7
	2	3	3	4	9	7	4
	7	1	3	1	3	8	8
<i>Chà vá chân xám</i> Tây Nguyên Việt Nam	C	T	C	G	G	C	T
<i>Chà vá chân xám</i> NC088556	C	T	C	G	G	C	T
<i>Chà vá chân xám</i> NC018063	T	C	T	A	A	T	C
<i>Chà vá chân xám</i> JQ_821842	T	C	T	A	A	T	C

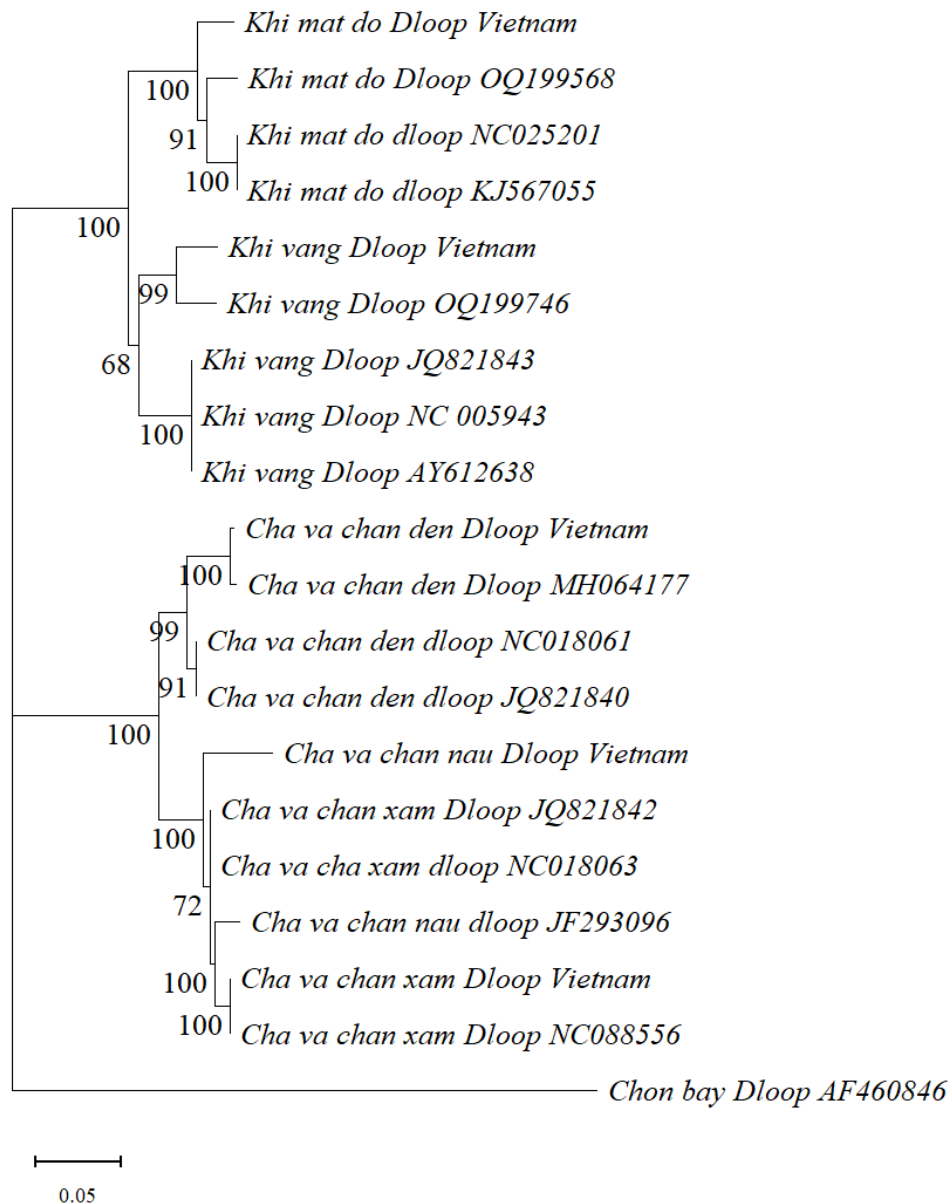
Vùng *D-loop* là vùng không mã hóa của hệ gene ty thể, có tốc độ tiến hóa nhanh và thường được sử dụng trong nghiên cứu đa dạng di truyền nội loài, cấu trúc quần thể và quan hệ phát sinh loài gần. Do giàu các vị trí biến đổi nucleotide, vùng này có khả năng phản ánh sự khác biệt di truyền giữa các cá thể hoặc quần thể trong cùng loài. Trong nghiên cứu này, kết quả so sánh trình tự cho thấy mức độ biến đổi ở vùng *D-loop* khác nhau giữa các loài linh trưởng. Đáng chú ý, trong khi một số cá thể như *Khỉ vàng* và *Khỉ mặt đỏ* có trên 100 vị trí nucleotide biến đổi so với các trình tự tham chiếu, cá thể *Chà vá chân xám* Tây Nguyên Việt Nam chỉ ghi nhận 7 vị trí biến đổi nucleotide. Kết quả này cho thấy mức độ sai khác di truyền của cá thể *Chà vá chân xám* Tây Nguyên Việt Nam so với trình tự tham chiếu là tương đối thấp trong vùng *D-loop*.

Cây phát sinh loài xây dựng từ vùng *D-loop* cho thấy các mẫu linh trưởng nghiên cứu nhìn chung được phân nhóm phù hợp với đặc điểm phân loại. Cá thể *Khỉ mặt đỏ* Tây Nguyên Việt Nam tập hợp với các trình tự *Khỉ mặt đỏ* tham chiếu với giá trị bootstrap cao, trong đó có quan hệ gần nhất với mẫu OQ199568. Tương tự, cá thể *Khỉ vàng* Tây Nguyên Việt Nam nằm trong cụm *Khỉ vàng* và có quan hệ gần với mẫu OQ199746. Tuy nhiên, một số nút bên trong nhóm *Khỉ vàng* chỉ đạt giá trị bootstrap trung bình, cho thấy quan hệ nội bộ trong nhóm này chưa được phân giải hoàn toàn rõ ràng, có thể liên quan đến mức độ biến dị cao của vùng *D-loop*.

Đối với nhóm *Chà vá*, cá thể *Chà vá chân đen* Tây Nguyên Việt Nam tạo thành một cụm riêng biệt với các trình tự tham chiếu cùng loài, với giá trị bootstrap cao. Điều này cho thấy quan hệ di truyền trong nhóm *Chà vá chân đen* được hỗ trợ khá ổn định bởi dữ liệu *D-loop*. Ngược lại, quan hệ giữa *Chà vá chân nâu* (*Pygathrix nemaeus*) và *Chà vá chân xám* (*Pygathrix cinerea*) thể hiện sự phân nhánh phức tạp hơn. Cá thể *Chà vá chân nâu* Tây Nguyên Việt Nam nằm trên một nhánh riêng trong cụm *Chà vá chân nâu* – *Chà vá chân xám*, nhưng chưa tách thành một cụm hoàn toàn độc lập với các trình tự liên quan. Trong khi đó, cá thể *Chà vá chân xám* Tây Nguyên Việt Nam bắt cặp gần với trình tự tham chiếu NC088556, với giá trị bootstrap cao, cho thấy mức độ tương đồng di truyền lớn giữa hai trình tự này.

Kết quả trên cho thấy vùng *D-loop* có khả năng phản ánh tốt sự khác biệt giữa các nhóm lớn như *Macaca* và *Pygathrix*, cũng như giữa một số loài trong cùng chi. Tuy nhiên, đối với các loài có quan hệ gần như *Chà vá chân nâu* và *Chà vá chân xám*, tín hiệu phát sinh loài từ vùng *D-loop* chưa đủ mạnh để phân giải hoàn toàn ranh giới giữa các nhóm. Do đó, mặc dù cá thể *Chà vá chân nâu* Tây Nguyên Việt Nam thể hiện vị trí phân nhánh riêng và khác biệt nhất định so với một số trình tự tham chiếu,

kết quả này mới nên được xem là dữ liệu ban đầu về biến dị di truyền của loài trong khu vực Tây Nguyên. Việc diễn giải theo hướng tồn tại dòng tiến hóa riêng biệt hoặc ảnh hưởng của điều kiện sinh thái địa phương cần được thận trọng, đặc biệt khi số lượng mẫu còn hạn chế và dữ liệu chủ yếu dựa trên hệ gene ty thể. Để có kết luận chắc chắn hơn về quan hệ tiến hóa giữa *Chà vá chân nâu* và *Chà vá chân xám*, cần kết hợp thêm dữ liệu từ các gene mã hóa protein, toàn bộ hệ gene ty thể, marker nhân, cỡ mẫu lớn hơn và thông tin sinh thái – địa lý đi kèm.



Hình 3. 29. Cây phát sinh loài linh trưởng Tây Nguyên từ trình tự gene *D-loop*.

3.3.4. Mối quan hệ phát sinh loài của một số cá thể linh trưởng khu vực Tây Nguyên Việt Nam

Cây phát sinh loài được xây dựng dựa trên trình tự toàn bộ hệ gene ty thể cho thấy mối quan hệ di truyền rõ ràng giữa các loài linh trưởng phân bố tại khu vực Tây Nguyên Việt Nam, đồng thời phản ánh sự phân hóa phù hợp với hệ thống phân loại hình thái – phân loại học đã được công nhận. Đặc biệt, mẫu *Chà và chân xám Tây Nguyên Việt Nam* và *Chà và chân nâu Tây Nguyên Việt Nam* đã tách thành hai nhánh riêng, không còn bị nhập chung như cây trước.

Mẫu *Chà và chân xám Tây Nguyên Việt Nam* nằm trong cụm *Chà và chân xám* cùng các trình tự tham chiếu NC088556, NC018063 và JQ821842. Cụm này có giá trị bootstrap 100, cho thấy độ tin cậy rất cao. Trong đó, mẫu Tây Nguyên Việt Nam gần nhất với trình tự NC088556, chứng tỏ trình tự thu được phù hợp rõ ràng với định danh loài *Chà và chân xám*.

Mẫu *Chà và chân nâu Tây Nguyên Việt Nam* tạo thành một cụm riêng với các trình tự tham chiếu NC008220, JF293096 và DQ355302. Giá trị bootstrap của cụm *Chà và chân nâu* là 90, thể hiện mức hỗ trợ cao. Điều này chứng minh mẫu *Chà và chân nâu Tây Nguyên Việt Nam* không nhập vào nhóm *Chà và chân xám*, mà thuộc một nhánh độc lập tương ứng với loài *Chà và chân nâu*.

Mẫu *Chà và chân đen Tây Nguyên Việt Nam* cũng phân nhóm rõ ràng với các trình tự tham chiếu NC018061, MH064177 và JQ821840. Cụm này có bootstrap 100, cho thấy độ tin cậy rất mạnh. Mẫu Tây Nguyên Việt Nam gần với MH064177, góp phần xác nhận vị trí phân loại của cá thể này trong nhóm *Chà và chân đen*.

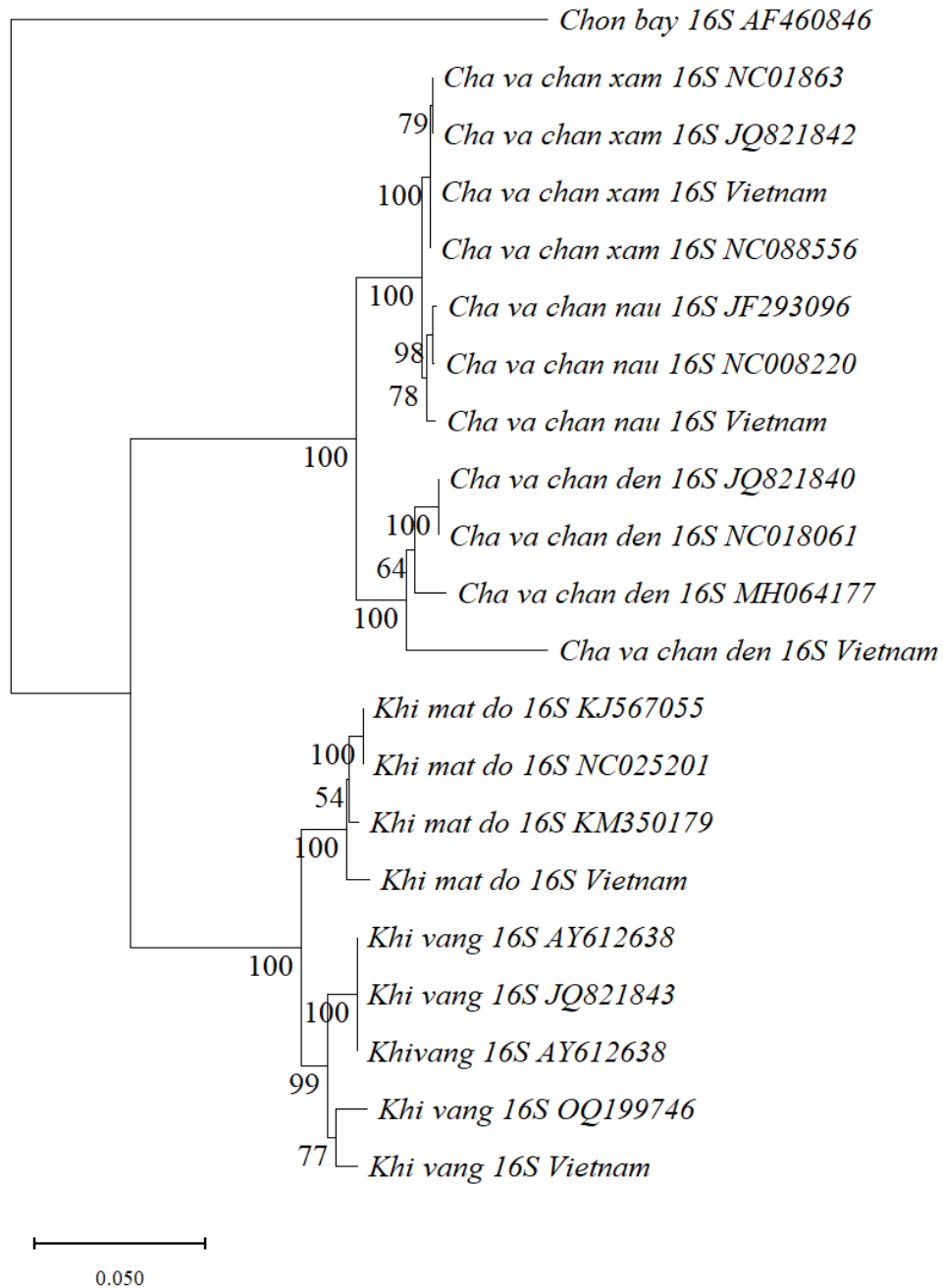
Đối với nhóm khi, mẫu *Khi mặt đỏ Tây Nguyên Việt Nam* nằm trong cụm các trình tự *Khi mặt đỏ* với bootstrap 100. Mẫu này không lẫn với nhóm *Khi vàng*, chứng tỏ cây đã phân tách tốt hai loài thuộc chi khi.

Mẫu *Khi vàng Tây Nguyên Việt Nam* nằm trong cụm *Khi vàng* với bootstrap 100. Trong nội bộ nhóm này, mẫu Tây Nguyên Việt Nam gần nhất với trình tự OQ199746, với bootstrap 93. Điều này cho thấy mẫu *Khi vàng Tây Nguyên Việt Nam* có quan hệ di truyền gần với một số trình tự tham chiếu của *Khi vàng*, nhưng vẫn có sự phân hóa nhất định trong nội bộ loài.

Nhìn chung, cây phát sinh loài cho thấy ba loài *Chà và* ở Tây Nguyên Việt Nam gồm *Chà và chân xám*, *Chà và chân nâu* và *Chà và chân đen* đều được tách

thành các cụm riêng biệt với bootstrap cao. Trong đó, *Chà và chân xám* và *Chà và chân nâu* có quan hệ gần nhau hơn so với *Chà và chân đen*, nhưng vẫn hình thành hai nhánh độc lập, phù hợp với vị trí phân loại là hai loài khác nhau.

Kết quả này củng cố rằng các mẫu linh trưởng Tây Nguyên Việt Nam trong nghiên cứu được định danh đúng về mặt di truyền ty thể. Tuy nhiên, do mỗi loài ở Tây Nguyên Việt Nam mới đại diện bởi một cá thể, không nên diễn giải quá mức về cấu trúc quần thể, dòng tiến hóa riêng biệt hay mức độ biệt lập địa lý.



Hình 3. 30. Cây phát sinh loài linh trưởng Tây Nguyên từ trình tự của toàn hệ gene ty thể.

3.3.5. Thảo luận

Luận án đã tiến hành thu thập và phân tích tổng cộng 144 mẫu sinh học của các loài linh trưởng tại khu vực Tây Nguyên, Việt Nam. Tuy nhiên, do đặc điểm thực tế của mẫu nghiên cứu trên động vật hoang dã, chỉ có 5 mẫu đạt đủ chất lượng ADN và độ phủ trình tự để giải mã, lắp ráp và chú giải thành công hệ gen ty thể hoàn chỉnh. Kết quả này phản ánh những khó khăn thường gặp trong nghiên cứu di truyền bảo tồn, khi mẫu thu được có thể bị phân hủy, phân mảnh, lẫn tạp chất hoặc không bảo đảm chất lượng sau quá trình bảo quản. Việc lựa chọn 5 mẫu đạt tiêu chuẩn để công bố cho thấy luận án đã áp dụng tiêu chí sàng lọc nghiêm ngặt nhằm bảo đảm độ tin cậy của dữ liệu trình tự.

Trên cơ sở đó, luận án đã công bố lần đầu tiên hệ gen ty thể hoàn chỉnh của 5 loài linh trưởng gồm *Chà vá chân xám*, *Chà vá chân nâu*, *Chà vá chân đen*, *Khỉ mặt đỏ* và *Khỉ vàng* từ các cá thể có nguồn gốc địa lý xác định tại khu vực Tây Nguyên, Việt Nam. Các kết quả thu được góp phần quan trọng trong việc củng cố cơ sở dữ liệu di truyền cho các loài này, vốn còn rất hạn chế trong các ngân hàng gen quốc tế. Đây là nguồn dữ liệu tham chiếu có giá trị cho định danh loài, so sánh đặc điểm hệ gen ty thể, phân tích quan hệ phát sinh chủng loại và phục vụ các nghiên cứu bảo tồn linh trưởng ở Việt Nam. Tuy nhiên, do số lượng mẫu giải trình tự hoàn chỉnh còn hạn chế, các kết luận về đa dạng di truyền và cấu trúc quần thể cần được diễn giải thận trọng, đồng thời cần tiếp tục mở rộng nghiên cứu với số lượng mẫu lớn hơn và kết hợp thêm các chỉ thị di truyền khác trong tương lai.

Về cấu trúc và tổ chức gen: Các hệ gen ty thể của cả 5 loài đều thể hiện cấu trúc điển hình của động vật có xương sống, với 37 gen được sắp xếp theo trật tự bảo tồn cao. Các chỉ số thành phần nucleotide như hàm lượng A+T và AT/GC-skew cho thấy sự khác biệt rõ rệt giữa hai phân họ Colobinae (giàu AT) và Cercopithecinae (giàu GC hơn). Sự khác biệt có hệ thống này nhất quán với các nghiên cứu trước đây và được giải thích là do lịch sử tiến hóa và cơ chế sao chép ADN ty thể khác biệt giữa hai nhóm. Các đặc điểm cấu trúc khác như sự xuất hiện của mismatch trong tRNA hay các vùng chồng chéo gen ngắn cũng là những đặc điểm chung, phản ánh tính bảo tồn chức năng của bộ máy dịch mã ty thể.

Kết quả cho thấy, mặc dù trên các cây phát sinh loài xây dựng từ từng vùng gene riêng lẻ và từ toàn bộ hệ gen ty thể, các loài *Chà vá* (*Chà vá chân nâu*, *Chà vá chân xám*, *Chà vá chân đen*) vẫn duy trì cấu trúc phân nhánh ổn định và không xuất hiện sự phân hóa sâu ở cấp độ loài, phân tích chi tiết sai khác nucleotide lại ghi nhận

số lượng lớn các biến dị tại nhiều vị trí trên trình tự. Hiện tượng này phản ánh hai cấp độ tiến hóa khác nhau: ở cấp độ phát sinh loài, cấu trúc di truyền tổng thể và mối quan hệ họ hàng chung vẫn được bảo tồn; trong khi đó, ở cấp độ vi mô, các đột biến trung tính vẫn liên tục tích lũy theo thời gian, đặc biệt tại các vùng gene có tốc độ tiến hóa cao hơn như *cytb* và *D-loop*.

Gene *16S rRNA* – với đặc tính bảo tồn cao – cho thấy số lượng vị trí biến dị tương đối hạn chế ở hầu hết các loài, song các biến dị này thường có tính ổn định và xuất hiện đồng thời tại nhiều vị trí liên tiếp. Ngược lại, gene *cytb* và vùng *D-loop* thể hiện mức độ biến dị cao hơn rõ rệt, phù hợp với vai trò của các vùng này trong việc phản ánh sự phân hóa gần, sự khác biệt giữa các cá thể và các dòng di truyền địa phương. Việc các biến dị xuất hiện đồng thời trên cả vùng bảo tồn (*16S rRNA*) và vùng mã hóa protein (*cytb*) ở nhiều loài cho thấy đây không phải là các sai khác ngẫu nhiên mà là dấu hiệu của sự phân hóa di truyền có hệ thống.

Đối với các loài *chà vá*, cá thể linh trưởng ở Tây Nguyên Việt Nam có thể mang kiểu nucleotide riêng biệt. Tuy nhiên, mức độ sai khác này chưa đủ lớn để làm thay đổi vị trí phân nhánh trên cây phát sinh loài, cho thấy các loài này vẫn duy trì tính thống nhất về mặt phát sinh loài, đồng thời tồn tại sự đa dạng di truyền nội loài đáng kể.

Đối với các loài thuộc chi *Macaca*, đặc biệt là *Khỉ mặt đỏ* và *Khỉ vàng*, kết quả phân tích cũng cho thấy xu hướng tương tự: các cá thể linh trưởng ở Tây Nguyên xuất hiện ở nhánh riêng biệt trên cây phát sinh loài, phản ánh sự khác biệt di truyền đáng kể so với các cá thể ở khu vực khác, trong khi vẫn duy trì mối quan hệ họ hàng gần gũi trong nội bộ chi.

Xét tổng thể, sự nhất quán giữa các cây phát sinh loài xây dựng từ từng vùng gene riêng lẻ và từ toàn bộ hệ gene ty thể khẳng định độ tin cậy của dữ liệu ty thể trong nghiên cứu phát sinh loài linh trưởng. Những kết quả này phù hợp với các nghiên cứu gần đây về tiến hóa và đa dạng di truyền linh trưởng ở khu vực Đông Dương và Đông Nam Á, nơi các cao nguyên và dãy núi đóng vai trò thúc đẩy quá trình phân hóa di truyền nội loài (10,69,79)

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã giải trình tự và phân tích hệ gene ty thể hoàn chỉnh của năm loài linh trưởng đại diện phân bố tại khu vực Tây Nguyên Việt Nam. Cách tiếp cận sử dụng một cá thể đại diện cho mỗi loài được thực hiện nhằm mô tả đặc điểm ADN ty thể và phân tích mối quan hệ phát sinh loài trong bối cảnh so sánh liên loài, phù hợp với mục tiêu nghiên cứu của luận án.

Kết quả cho thấy hệ gene ty thể của các loài nghiên cứu có cấu trúc điển hình của linh trưởng, với sự bảo tồn cao về thành phần gene, vị trí các gene và đặc điểm chức năng. Tuy nhiên, vẫn tồn tại những sai khác trình tự đặc trưng giữa các loài và giữa các cá thể đại diện so với các trình tự đã công bố, phản ánh tín hiệu phân hóa di truyền ở mức liên loài và liên chi, phục vụ phân tích phát sinh loài.

Phân tích phát sinh loài dựa trên từng vùng gene riêng lẻ và toàn bộ hệ gene ty thể cho thấy các cây phát sinh thu được có tính nhất quán cao, củng cố vị trí phân loại của các loài linh trưởng Tây Nguyên Việt Nam trong mối quan hệ với các loài họ hàng gần. Các kết quả này khẳng định giá trị của dữ liệu ty thể trong việc làm rõ quan hệ tiến hóa giữa các loài linh trưởng, đặc biệt trong bối cảnh khu vực Đông Nam Á có mức độ đa dạng và đặc hữu cao.

Mặc dù số lượng mẫu còn hạn chế và chưa cho phép đánh giá đa dạng di truyền ở mức quần thể, nghiên cứu này đã cung cấp bộ dữ liệu di truyền nền có giá trị, góp phần bổ sung cơ sở dữ liệu ADN ty thể cho các loài linh trưởng Việt Nam. Những kết quả thu được là cơ sở khoa học quan trọng cho các nghiên cứu tiếp theo với cỡ mẫu lớn hơn, phục vụ phân tích di truyền quần thể và hỗ trợ công tác bảo tồn các loài linh trưởng nguy cấp tại Việt Nam.

KIẾN NGHỊ

1. Tăng cường nghiên cứu di truyền học phân tử trong bảo tồn linh trưởng; các kết quả từ luận án cho thấy việc ứng dụng các trình tự gene ty thể như *cytb*, *16S rRNA* và *D-loop* mang lại dữ liệu chính xác về quan hệ phát sinh loài và mức độ khác biệt di truyền của linh trưởng tại Tây Nguyên. Tuy nhiên các nghiên cứu chỉ dừng lại ở một cá thể riêng lẻ. Do đó, cần mở rộng nghiên cứu trên đơn vị quần thể và mở rộng phạm vi nghiên cứu sang các vùng khác như Đông Bắc, Bắc Trung Bộ và Tây Nam Bộ để có cái nhìn toàn diện hơn về quần thể linh trưởng Việt Nam.

2. Bổ sung dữ liệu di truyền vào hệ thống quản lý bảo tồn quốc gia:

Kiến nghị xây dựng một ngân hàng dữ liệu gene linh trưởng Việt Nam tích hợp dữ liệu hình thái, sinh thái và di truyền – nhằm phục vụ việc nhận diện nhanh các loài, cá thể trong cứu hộ, tái thả và giám sát quần thể trong tự nhiên.

3. **Đẩy mạnh hợp tác quốc tế và đào tạo nguồn nhân lực:**

Kiến nghị mở rộng hợp tác với các tổ chức quốc tế như IUCN Primate Specialist Group, Viện Max Planck (Đức), Đại học Kyoto (Nhật Bản) để cập nhật phương pháp, thiết bị, và đào tạo chuyên gia trẻ trong lĩnh vực di truyền học bảo tồn.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

* Danh mục tạp chí SCI-E

1. Mai Thi Phuong Nguyen[†]& **Tram Thi Thuy Nguyen[†]**, Tung Thanh Ha, Chi Nguyen Quynh Ho, Cuong Phan Minh Le, Huy Nghia Quang Hoang, Quynh Thi Nhu Nguyen, Tao Thien Nguyen, Dung Tri Luu, Khoa Dang Dang, Quan Ke Thai and Long Thanh Le*. (2024). Characterization of the Complete Mitochondrial Genome of the Central Highland Grey-Shanked Douc Langur (*Pygathrix cinerea*), a Critically Endangered Species Endemic to Vietnam (Mammalia: Primates). *Curr Issues Mol Biol* 46(9): 9928-9947. <https://doi.org/10.3390/cimb46090592>

2. **Tram Thi Thuy Nguyen**, Chi Nguyen Quynh Ho, Cuong Phan Minh Le, Nhan Lu Chinh Phan, Loan Tung Dang, Quan Ke Thai, Mai Thi Phuong Nguyen, Phuc Bui Tran, Long Thanh Le, Vu Quang Manh. (2025). The complete mitochondrial genome of the Vietnamese *macaca mulatta*. *Natural history* 126(3): 2-20. <https://doi.org/10.59879/11a6i>

* Danh mục tạp chí Quốc gia

3. **Nguyen Thi Thuy Tram**, Le Thanh Long, Ho Nguyen Quynh Chi, Phan Lu Chinh Nhan, Ha Thanh Tung, Dang Thi Tung Loan, Nguyen Thi Phuong Mai (2025) Analysis of the complete mitochondrial genome of Vietnamese *Pygathrix nigripes*. *Vietnam Journal of Biotechnology* 23(1): 25-39. [DOI: 10.15625/vjbt-21785](https://doi.org/10.15625/vjbt-21785)

DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Kuderna L.F.K., Gao H., Janiak M.C., Kuhlwilm M., Orkin J.D., Bataillon T., et al., 2023, A global catalog of whole-genome diversity from 233 primate species, *Science*, 380(6648), pp. 906-913.
- [2] Nguyen H., n.d., Vietnamese Journal of Primatology, *Vietnamese Journal of Primatology*, Available from: <https://www.academia.edu/download/52785622/VietnameseJournalofPrimatology1.pdf>.
- [3] Mittermeier R.A., Rylands A.B., Schwitzer C., 2022, *IUCN SSC Primate Specialist Group: Report 2018-2021*, International Primatological Society, Quito, Ecuador, Available from: <https://internationalprimatologicalsociety.org/wp-content/uploads/2022/03/PSG-report-2018-2021-IPS-FINAL.pdf>.
- [4] Roos C., Boonratana R., Supriatna J., Fellowes J.R., Groves C.P., Nash S.D., et al., 2014, An updated taxonomy and conservation status review of Asian primates, *Asian Primates Journal*, Available from: <https://hub.hku.hk/handle/10722/198275>.
- [5] Estrada A., Garber P.A., Rylands A.B., Roos C., Fernandez-Duque E., Di Fiore A., et al., 2017, Impending extinction crisis of the world's primates: Why primates matter, *Science Advances*, 3(1), pp. e1600946.
- [6] Federman S., Dornburg A., Daly D.C., Downie A., Perry G.H., Yoder A.D., et al., 2016, Implications of lemuriform extinctions for the Malagasy flora, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(18), pp. 5041-5046.
- [7] Cambridge Core, n.d., Insights into human evolution from 60 years of research on chimpanzees at Gombe, *Evolutionary Human Sciences*, Available from: <https://www.cambridge.org/core/journals/evolutionary-human-sciences/article/insights-into-human-evolution-from-60-years-of-research-on-chimpanzees-at-gombe/CBC4C65C1F6678E1C5D98422C1DF9110>.
- [8] Wolfe N.D., Escalante A.A., Karesh W.B., Kilbourn A., Spielman A., Lal A.A., 1998, Wild primate populations in emerging infectious disease research: the missing link?, *Emerging Infectious Diseases*, 4(2), pp. 149.
- [9] Phillips K.A., Bales K.L., Capitanio J.P., Conley A., Czoty P.W., 'T Hart B.A., et al., 2014, Why primate models matter, *American Journal of Primatology*, 76(9), pp. 801-827.
- [10] Fan P.F., Fei H.L., Luo A.D., 2014, Ecological extinction of the critically endangered northern white-cheeked gibbon *Nomascus leucogenys* in China, *Oryx*, 48(1), pp. 52-55.
- [11] Blair M.E., Sterling E.J., Hurley M.M., 2011, Taxonomy and conservation of Vietnam's primates: a review, *American Journal of Primatology*, 73(11), pp. 1093-1106.

- [12] Covert H.H., Duc H.M., Quyet L.K., Ang A., Harrison-Levine A., Van Bang T., 2017, Primates of Vietnam: Conservation in a Rapidly Developing Country, *Anthropology Now*, 9(2), pp. 27-44.
- [13] Nicholls D.G., 1979, Brown adipose tissue mitochondria, *Biochimica et Biophysica Acta - Reviews on Bioenergetics*, 549(1), pp. 1-29.
- [14] Taanman J.W., 1999, The mitochondrial genome: structure, transcription, translation and replication, *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*, 1410(2), pp. 103-123.
- [15] Lin Q., Cui P., Ding F., Hu S., Yu J., 2012, Replication-Associated Mutational Pressure (RMP) Governs Strand-Biased Compositional Asymmetry (SCA) and Gene Organization in Animal Mitochondrial Genomes, *Current Genomics*, 13(1), pp. 28-36.
- [16] La D., Dinh T., Duong N.T., 2025, Genetic variation of the D-loop region of the Kinh ethnic group from the northern, central, and southern Vietnam, *Academia Journal of Biology*, 47(1), pp. 85-95.
- [17] Cann R.L., Stoneking M., Wilson A.C., 1987, Mitochondrial DNA and human evolution, *Nature*, 325(6099), pp. 31-36.
- [18] Galtier N., Nabholz B., Glémin S., Hurst G.D.D., 2009, Mitochondrial DNA as a marker of molecular diversity: a reappraisal, *Molecular Ecology*, 18(22), pp. 4541-4550.
- [19] Gagneux P., Wills C., Gerloff U., Tautz D., Morin P.A., Boesch C., et al., 1999, Mitochondrial sequences show diverse evolutionary histories of African hominoids, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(9), pp. 5077-5082.
- [20] Muir C.C., Galdikas B.M.F., Beckenbach A.T., 2000, mtDNA Sequence Diversity of Orangutans from the Islands of Borneo and Sumatra, *Journal of Molecular Evolution*, 51(5), pp. 471-480.
- [21] Warren B.H., Bermingham E., Bowie R.C., Prys-Jones R.P., Thébaud C., 2003, Molecular phylogeography reveals island colonization history and diversification of western Indian Ocean sunbirds (Nectarinia: Nectariniidae), *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 29(1), pp. 67-85.
- [22] Van Tien D., 1960, Recherches zoologiques dans la region de Vinh-Linh, *Zoologischer Anzeiger*, 164, pp. 221-239.
- [23] Van Tien D., 1961, Recherches zoologiques dans la région de Thai-Nguyen (Nord Vietnam), *Zoologischer Anzeiger*, 166, pp. 298-308.
- [24] Van Tien D., 1970, Sur les Formes de L'écureuil de MacClelland, *Callosciurus* (Tamiops) *MacClellandi* Horsfield (Sciuridae, Rodentia) au Vietnam, *Mitteilungen aus dem Museum für Naturkunde in Berlin. Zoologisches Museum und Institut für Spezielle Zoologie*, 46(1), pp. 53-60.
- [25] Eames J.C., Lambert F.R., Cu N., 1994, A survey of the Annamese Lowlands, Vietnam, and its implications for the conservation of Vietnamese and Imperial Pheasants *Lophura hatinhensis* and *L. imperialis*, *Bird Conservation International*, 4(4), pp. 343-382.

- [26] Nadler T., 2010, Status of Vietnamese primates-complements and revisions, *Conservation of Primates in Indochina*, 3-16.
- [27] Long H.T., 2020, Feeding behaviour and diet of grey-shanked douc langurs (*Pygathrix cinerea*) in Kon ka Kinh National Park, Vietnam, *Vietnamese Journal of Primatology*, 3(2), pp. 59-83.
- [28] Vu T.T., Tran D.V., Tran H.T.P., Nguyen M.D., Do T.A., Ta N.T., et al., 2020, An assessment of the impact of climate change on the distribution of the grey-shanked douc *Pygathrix cinerea* using an ecological niche model, *Primates*, 61(2), pp. 267-275.
- [29] Lippold L.K., Vu N.T., Tran D.N., Nguyen A.D., 2022, Feeding ecology of red-shanked douc langurs at Son Tra nature reserve, Da Nang, Vietnam, *Primate Conservation*, 36, pp. 141-154.
- [30] Pozzi L., Hodgson J.A., Burrell A.S., Sterner K.N., Raaum R.L., Disotell T.R., 2014, Primate phylogenetic relationships and divergence dates inferred from complete mitochondrial genomes, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 75, pp. 165-183.
- [31] Giang C.T.H., Van Thanh N., Ha N.M., Van N.T.H., Hai N.D., Huong D.T., 2016, Assessing mammal diversity in Xuan Lien Nature Reserve using molecular approaches, *Academia Journal of Biology*, 38(2), pp. 171-178.
- [32] Donnelly D., 2024, *Endangered Species Conservation in Vietnam*, Available from:
https://www.academia.edu/download/114497316/Vietnam_SAR_ddonnelly_202405.pdf.
- [33] Sở Y tế, n.d., *Báo cáo, Sở Y tế, Việt Nam*, Available from: https://srisai.vn/wp-content/uploads/2024/08/kinh_nghiem_quoc_te_ve_QLMT-1-1-kinh-nghiem-quoc-te-QL-moi-truong-Full-2020.pdf.
- [34] Cổng Thông tin điện tử Chính phủ, 2021, Nghị định số 84/2021/NĐ-CP của Chính phủ: Sửa đổi, bổ sung một số điều của Nghị định số 06/2019/NĐ-CP ngày 22 tháng 01 năm 2019 của Chính phủ về quản lý thực vật rừng, động vật rừng nguy cấp, quý, hiếm và thực thi Công ước về buôn bán quốc tế các loài động vật, thực vật hoang dã nguy cấp, *Cổng Thông tin điện tử Chính phủ*, Available from: <http://vanban.chinhphu.vn/default.aspx?pageid=27160&docid=204157>.
- [35] Roos C., Helgen K.M., Miguez R.P., Thant N.M.L., Lwin N., Lin A.K., et al., 2020, Mitogenomic phylogeny of the Asian colobine genus *Trachypithecus* with special focus on *Trachypithecus phayrei* (Blyth, 1847) and description of a new species, *Zoological Research*, 41(6), pp. 656.
- [36] Maheshwari A., Snowden E., Van Hoang L., 2023, Vietnam's vital role in primate conservation, *Science*, 382(6672), pp. 777-777.
- [37] Avise J.C., 2000, *Phylogeography: the history and formation of species*, Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- [38] Guillén A.K.Z., Barrett G.M., Takenaka O., 2005, Genetic diversity among African great apes based on mitochondrial DNA sequences, *Biodiversity and Conservation*, 14(9), pp. 2221-2233.

- [39] Noda R., Kim C.G., Takenaka O., Ferrell R.E., Tanoue T., Hayasaka I., et al., 2001, Mitochondrial 16S rRNA sequence diversity of hominoids, *Journal of Heredity*, 92(6), pp. 490-496.
- [40] Finstermeier K., Zinner D., Brameier M., Meyer M., Kreuz E., Hofreiter M., et al., 2013, A mitogenomic phylogeny of living primates, *PLOS ONE*, 8(7), pp. e69504.
- [41] Johns G.C., Avise J.C., 1998, A comparative summary of genetic distances in the vertebrates from the mitochondrial cytochrome b gene, *Molecular Biology and Evolution*, 15(11), pp. 1481-1490.
- [42] Bataille M., Crainic K., Leterreux M., Durigon M., de Mazancourt P., 1999, Multiplex amplification of mitochondrial DNA for human and species identification in forensic evaluation, *Forensic Science International*, 99(3), pp. 165-170.
- [43] Zamyatnin A.A., Belozerskaya T.A., Zamyatnin A.A., 2021, Taxonomy of Mitochondrial Cytochrome B Proteins of the Same Amino Acid Sequence Length, *The Scientific World Journal*, 2021, pp. 1-9.
- [44] Degli Esposti M., De Vries S., Crimi M., Ghelli A., Patarnello T., Meyer A., 1993, Mitochondrial cytochrome b: evolution and structure of the protein, *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*, 1143(3), pp. 243-271.
- [45] Yoder A.D., Cartmill M., Ruvolo M., Smith K., Vilgalys R., 1996, Ancient single origin for Malagasy primates, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(10), pp. 5122-5126.
- [46] Zhang Y.P., Ryder O.A., 1998, Mitochondrial cytochrome b gene sequences of old world monkeys: With special reference on evolution of Asian colobines, *Primates*, 39(1), pp. 39-49.
- [47] Nater A., Mattle-Greminger M.P., Nurcahyo A., Nowak M.G., De Manuel M., Desai T., et al., 2017, Morphometric, behavioral, and genomic evidence for a new orangutan species, *Current Biology*, 27(22), pp. 3487-3498.
- [48] Reis M.D., Gunnell G.F., Barba-Montoya J., Wilkins A., Yang Z., Yoder A.D., 2018, Using phylogenomic data to explore the effects of relaxed clocks and calibration strategies on divergence time estimation: primates as a test case, *Systematic Biology*, 67(4), pp. 594-615.
- [49] Ruiz-Garcia M., Cerón Á, Sánchez-Castillo S., Rueda-Zozaya P., Pinedo-Castro M., Gutierrez-Espeleta G., et al., 2017, Phylogeography of the mantled howler monkey (*Alouatta palliata*; Atelidae, Primates) across its geographical range by means of mitochondrial genetic analyses and new insights about the phylogeny of *Alouatta*, *Folia Primatologica*, 88(5), pp. 421-454.
- [50] Clayton D.A., 1982, Replication of animal mitochondrial DNA, *Cell*, 28(4), pp. 693-705.
- [51] Sbisà E., Tanzariello F., Reyes A., Pesole G., Saccone C., 1997, Mammalian mitochondrial D-loop region structural analysis: identification of new conserved sequences and their functional and evolutionary implications, *Gene*, 205(1-2), pp. 125-140.
- [52] Shadel G.S., Clayton D.A., 1997, MITOCHONDRIAL DNA MAINTENANCE IN VERTEBRATES, *Annual Review of Biochemistry*, 66(1), pp. 409-435.

- [53] Saccone C., De Giorgi C., Gissi C., Pesole G., Reyes A., 1999, Evolutionary genomics in Metazoa: the mitochondrial DNA as a model system, *Gene*, 238(1), pp. 195-209.
- [54] Vilà C., Maldonado J.E., Wayne R.K., 1999, Phylogenetic relationships, evolution, and genetic diversity of the domestic dog, *Journal of Heredity*, 90(1), pp. 71-77.
- [55] Moritz C., 1994, Defining 'evolutionarily significant units' for conservation, *Trends in Ecology & Evolution*, 9(10), pp. 373-375.
- [56] Wan Q., Wu H., Fujihara T., Fang S., 2004, Which genetic marker for which conservation genetics issue?, *Electrophoresis*, 25(14), pp. 2165-2176.
- [57] Masila E.M., Ogada S.O., Ogali I.N., Kennedy G.M., Too E.K., Ommeh C.S., 2024, Mitochondrial DNA D-Loop Polymorphisms among the Galla Goats Reveals Multiple Maternal Origins with Implication on the Functional Diversity of the HSP70 Gene, *Genetic Research*, 2024, pp. 1-15.
- [58] Demir E., Moravčíková N., Argun Karsli B., Kasarda R., Aytekin I., Bilginer U., et al., 2023, Mitochondrial DNA diversity of D-loop region in three native Turkish cattle breeds, *Archives Animal Breeding*, 66(1), pp. 31-40.
- [59] Wang X., Pei J., Xiong L., Bao P., Chu M., Ma X., et al., 2024, Genetic diversity, phylogeography, and maternal origin of yak (*Bos grunniens*), *BMC Genomics*, 25(1).
- [60] Srikulnath K., Ariyaphong N., Singchat W., Panthum T., Lisachov A., Ahmad S.F., et al., 2022, Asian elephant evolutionary relationships: New perspectives from mitochondrial D-loop haplotype diversity, *Sustainability*, 15(1), pp. 720.
- [61] Vinh N.T., DaNg P.K., PhuonG T.B., Giang N.T.P., Do L., Bo H.X., 2024, Genetic diversity of Vietnamese native ducks based on sequences of the mitochondrial DNA d-loop region, *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 13(1), pp. 73-80.
- [62] Clarridge J.E., 2004, Impact of 16S rRNA Gene Sequence Analysis for Identification of Bacteria on Clinical Microbiology and Infectious Diseases, *Clinical Microbiology Reviews*, 17(4), pp. 840-862.
- [63] Callahan B.J., McMurdie P.J., Rosen M.J., Han A.W., Johnson A.J.A., Holmes S.P., 2016, DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data, *Nature Methods*, 13(7), pp. 581-583.
- [64] Quast C., Pruesse E., Yilmaz P., Gerken J., Schweer T., Yarza P., et al., 2012, The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools, *Nucleic Acids Research*, 41(D1), pp. D590-D596.
- [65] Macholdt E., Arias L., Duong N.T., Ton N.D., Van Phong N., Schröder R., et al., 2020, The paternal and maternal genetic history of Vietnamese populations, *European Journal of Human Genetics*, 28(5), pp. 636-645.
- [66] Roos C., Thanh V.N., Walter L., Nadler T., 2007, Molecular systematics of Indochinese primates, *Vietnamese Journal of Primatology*, 1(1), pp. 41-53.
- [67] Nadler T., Thanh V.N., Streicher U., 2007, Conservation status of Vietnamese primates, *Vietnamese Journal of Primatology*, 1(1), pp. 7-26.

- [68] Think V.N., Rawson B., Hallam C., Kenyon M., Nadler T., Walter L., et al., 2010, Phylogeny and distribution of crested gibbons (genus *Nomascus*) based on mitochondrial cytochrome b gene sequence data, *American Journal of Primatology*, 72(12), pp. 1047-1054.
- [69] Roos C., Miguez R.P., Zinner D., Nadler T., Think V.N., 2022, Importance of genetic data from type specimens: The questionable type locality of southern white-cheeked gibbon, *Nomascus siki* (Delacour, 1951), *Zoological Research*, 43(4), pp. 666.
- [70] Nguyen M.T.P., Nguyen T.T.T., Ha T.T., Ho C.N.Q., Le C.P.M., Hoang H.N.Q., et al., 2024, Characterization of the Complete Mitochondrial Genome of the Central Highland Grey-Shanked Douc Langur (*Pygathrix cinerea*), a Critically Endangered Species Endemic to Vietnam (Mammalia: Primates), *Current Issues in Molecular Biology*, 46(9), pp. 9928-9947.
- [71] Illumina I., 2011, *Quality scores for next-generation sequencing*, Technical Note: Informatics, 31.
- [72] Chen S., Zhou Y., Chen Y., Gu J., 2018, fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor, *Bioinformatics*, 34(17), pp. i884-i890.
- [73] Gurevich A., Saveliev V., Vyahhi N., Tesler G., 2013, QUAST: quality assessment tool for genome assemblies, *Bioinformatics*, 29(8), pp. 1072-1075.
- [74] Jin J.J., Yu W.B., Yang J.B., Song Y., dePamphilis C.W., Yi T.S., et al., 2020, GetOrganelle: a fast and versatile toolkit for accurate de novo assembly of organelle genomes, *Genome Biology*, 21(1), pp. 241.
- [75] Bernt M., Donath A., Jühling F., Externbrink F., Florentz C., Fritzsche G., et al., 2013, MITOS: Improved de novo metazoan mitochondrial genome annotation, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 69(2), pp. 313-319.
- [76] Iwasaki W., Fukunaga T., Isagozawa R., Yamada K., Maeda Y., Satoh T.P., et al., 2013, MitoFish and MitoAnnotator: A Mitochondrial Genome Database of Fish with an Accurate and Automatic Annotation Pipeline, *Molecular Biology and Evolution*, 30(11), pp. 2531-2540.
- [77] Lowe T.M., Eddy S.R., 1997, tRNAscan-SE: A Program for Improved Detection of Transfer RNA Genes in Genomic Sequence, *Nucleic Acids Research*, 25(5), pp. 955-964.
- [78] Anderson S., Bankier A.T., Barrell B.G., de Bruijn M.H., Coulson A.R., Drouin J., et al., 1981, Sequence and organization of the human mitochondrial genome, *Nature*, 290(5806), pp. 457-465.
- [79] Liedigk R., Roos C., Brameier M., Zinner D., 2014, Mitogenomics of the Old World monkey tribe Papionini, *BMC Evolutionary Biology*, 14(1), pp. 176.
- [80] Tran D.V., Vu T.T., Tran B.Q., Nguyen M.D., Vu P.T., Tran T.H., et al., 2020, Modelling the change in the distribution of the black-shanked douc, *Pygathrix nigripes* (Milne-Edwards) in the context of climate change: Implications for conservation, *Raffles Bulletin of Zoology*, 68, Available from: <https://lkenhm.nus.edu.sg/wp-content/uploads/sites/10/app/uploads/2020/10/RBZ-2020-0088.pdf>.
- [81] Minh B.Q., Schmidt H.A., Chernomor O., Schrempf D., Woodhams M.D., Von Haeseler A., et al., 2020, IQ-TREE 2: New Models and Efficient Methods for

- Phylogenetic Inference in the Genomic Era, *Molecular Biology and Evolution*, 37(5), pp. 1530-1534.
- [82] Kalyaanamoorthy S., Minh B.Q., Wong T.K.F., Von Haeseler A., Jermini L.S., 2017, ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates, *Nature Methods*, 14(6), pp. 587-589.
- [83] Hoang D.T., Chernomor O., Von Haeseler A., Minh B.Q., Vinh L.S., 2018, UFBoot2: Improving the Ultrafast Bootstrap Approximation, *Molecular Biology and Evolution*, 35(2), pp. 518-522.
- [84] Liedigk R., Yang M., Jablonski N.G., Momberg F., Geissmann T., Lwin N., et al., 2012, Evolutionary History of the Odd-Nosed Monkeys and the Phylogenetic Position of the Newly Described Myanmar Snub-Nosed Monkey *Rhinopithecus strykeri*, *PLOS ONE*, 7(5), pp. e37418.
- [85] Wang Z.L., Li C., Fang W.Y., Yu X.P., 2016, The Complete Mitochondrial Genome of two Tetragnatha Spiders (Araneae: Tetragnathidae): Severe Truncation of tRNAs and Novel Gene Rearrangements in Araneae, *International Journal of Biological Sciences*, 12(1), pp. 109-119.
- [86] Tamura K., Stecher G., Kumar S., 2021, MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11, *Molecular Biology and Evolution*, 38(7), pp. 3022-3027.
- [87] Tamura K., Nei M., 1993, Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees, *Molecular Biology and Evolution*.
- [88] Mason V.C., Li G., Minx P., Schmitz J., Churakov G., Doronina L., et al., 2016, Genomic analysis reveals hidden biodiversity within colugos, the sister group to primates, *Science Advances*, 2(8), pp. e1600633.
- [89] Brown W.M., Prager E.M., Wang A., Wilson A.C., 1982, Mitochondrial DNA sequences of primates: Tempo and mode of evolution, *Journal of Molecular Evolution*, 18(4), pp. 225-239.
- [90] Melnick D.J., Hoelzer G.A., 1993, What is mtDNA good for in the study of primate evolution?, *Evolutionary Anthropology: Issues, News, and Reviews*, 2(1), pp. 2-10.
- [91] Vilstrup J.T., Ho S.Y., Foote A.D., Morin P.A., Krebs D., Krützen M., et al., 2011, Mitogenomic phylogenetic analyses of the Delphinidae with an emphasis on the Globicephalinae, *BMC Evolutionary Biology*, 11(1), pp. 65.
- [92] Avise J.C., 1994, *Molecular Markers, Natural History and Evolution*, Springer US, Boston, MA.
- [93] Sigurðardóttir S., Helgason A., Gulcher J.R., Stefansson K., Donnelly P., 2000, The Mutation Rate in the Human mtDNA Control Region, *American Journal of Human Genetics*, 66(5), pp. 1599-1609.
- [94] Prado-Martinez J., Sudmant P.H., Kidd J.M., Li H., Kelley J.L., Lorente-Galdos B., et al., 2013, Great ape genetic diversity and population history, *Nature*, 499(7459), pp. 471-475.
- [95] Cuppari A., Fernández-Millán P., Battistini F., Tarrés-Solé A., Lyonnais S., Iruela G., et al., 2019, DNA specificities modulate the binding of human

- transcription factor A to mitochondrial DNA control region, *Nucleic Acids Research*, 47(12), pp. 6519-6537.
- [96] Brar G.A., Weissman J.S., 2015, Ribosome profiling reveals the what, when, where and how of protein synthesis, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 16(11), pp. 651-664.
- [97] Yang B., Wang Y., Qian P.Y., 2016, Sensitivity and correlation of hypervariable regions in 16S rRNA genes in phylogenetic analysis, *BMC Bioinformatics*, 17(1), pp. 135.
- [98] Kim M., Morrison M., Yu Z., 2011, Evaluation of different partial 16S rRNA gene sequence regions for phylogenetic analysis of microbiomes, *Journal of Microbiological Methods*, 84(1), pp. 81-87.
- [99] Sloan K.E., Warda A.S., Sharma S., Entian K.D., Lafontaine D.L.J., Bohnsack M.T., 2017, Tuning the ribosome: The influence of rRNA modification on eukaryotic ribosome biogenesis and function, *RNA Biology*, 14(9), pp. 1138-1152.
- [100] Seligmann H., Krishnan N.M., Rao B.J., 2006, Possible multiple origins of replication in primate mitochondria: Alternative role of tRNA sequences, *Journal of Theoretical Biology*, 241(2), pp. 321-332.
- [101] Sabath N., Graur D., 2010, Detection of Functional Overlapping Genes: Simulation and Case Studies, *Journal of Molecular Evolution*, 71(4), pp. 308-316.
- [102] Yadav M.L., Mohapatra B., 2018, Intergenic, In: Vonk J., Shackelford T., editors, *Encyclopedia of Animal Cognition and Behavior*, Springer International Publishing, Cham, pp. 1-5.
- [103] Sardana R., O'Dell M., Flavell R., 1993, Correlation between the size of the intergenic regulatory region, the status of cytosine methylation of rRNA genes and nucleolar expression in wheat, *Molecular and General Genetics*, 236-236(2-3), pp. 155-162.
- [104] Wang W., Liu J.Y., Wang H.F., Yang M.Y., Liu Q.Y., Ding M.X., 2016, The complete mitochondrial genome of white-tufted-ear marmoset, *Callithrix jacchus* (Primates: Callitrichinae), *Mitochondrial DNA Part A*, 27(3), pp. 1920-1921.
- [105] Xia W., Jiang H., Fan W., Li X., Liu Y., Xu L., et al., 2023, Complete mitochondrial genome of *Mastigias papua* (Scyphozoa: Rhizostomeae: Mastigiidae) based on next-generation sequencing and phylogenetic analysis, *Mitochondrial DNA Part B*, 8(11), pp. 1294-1297.
- [106] Bergey C.M., Trujillo A.E., Disotell T.R., Tosi A.J., Burrell A.S., 2020, Genomics of adaptation, convergence, and evolutionary conservation in haplorrhine primates, *American Journal of Biological Anthropology*, 171, Available from: <https://par.nsf.gov/servlets/purl/10389709>.
- [107] Faith J.J., Pollock D.D., 2003, Likelihood Analysis of Asymmetrical Mutation Bias Gradients in Vertebrate Mitochondrial Genomes, *Genetics*, 165(2), pp. 735-745.
- [108] Min X.J., Hickey D.A., 2007, DNA Barcodes Provide a Quick Preview of Mitochondrial Genome Composition, *PLOS ONE*, 2(3), pp. e325.

- [109] Tanaka M., Ozawa T., 1994, Strand Asymmetry in Human Mitochondrial DNA Mutations, *Genomics*, 22(2), pp. 327-335.
- [110] Lavrov D.V., Brown W.M., Boore J.L., 2000, A novel type of RNA editing occurs in the mitochondrial tRNAs of the centipede *Lithobius forficatus*, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(25), pp. 13738-13742.
- [111] Boore J.L., 1999, Animal mitochondrial genomes, *Nucleic Acids Research*, 27(8), pp. 1767-1780.
- [112] Su Q., Chen C., Wei D., Li D., Xu H., Wu J., et al., 2018, Complete mitochondrial genome of black-shanked douc langurs (*Pygathrix nigripes*) and its phylogenetic analysis, *Mitochondrial DNA Part B*, 3(2), pp. 1085-1086.
- [113] Ha N.H., Dam V.M., Van Dung T., 2023, The population status of the black-shanked douc langurs (*Pygathrix nigripes*) in Chua Chan Mountain, Dong Nai Province, Vietnam, *Vietnamese Journal of Primatology*, 3(4), pp. 69-78.
- [114] Tran D.V., Vu T.T., Tran B.Q., Nguyen M.D., Vu P.T., Tran T.H., et al., 2020, Modelling the change in the distribution of the black-shanked douc, *Pygathrix nigripes* (Milne-Edwards) in the context of climate change: Implications for conservation, *Raffles Bulletin of Zoology*, 68, Available from: <https://lkcnhm.nus.edu.sg/wp-content/uploads/sites/10/app/uploads/2020/10/RBZ-2020-0088.pdf>.
- [115] Freund D., Signs M., Yoganand K., 2021, *Primates of the Greater Mekong: Status, Threats and Conservation Efforts*, WWF-Greater Mekong, Available from: https://www.researchgate.net/profile/Yoganand-K/publication/358573561_Primates_of_the_Greater_Mekong_Status_Threats_and_Conservation_Efforts/links/62090c8e7b05f82592e7dac4/Primates-of-the-Greater-Mekong-Status-Threats-and-Conservation-Efforts.pdf.
- [116] Perna N.T., Kocher T.D., 1995, Patterns of nucleotide composition at fourfold degenerate sites of animal mitochondrial genomes, *Journal of Molecular Evolution*, 41(3).
- [117] Medina N.S., Moreno-Carmona M., Canal N.A., Prada-Quiroga C.F., Medina N.S., Moreno-Carmona M., et al., 2025, Mitochondrial Genome Variations and Possible Adaptive Implications in Some Tephritid Flies (Diptera, Tephritidae), *International Journal of Molecular Sciences*, 26(12).
- [118] Nabholz B., Ellegren H., Wolf J.B., 2012, High levels of gene expression explain the strong evolutionary constraint of mitochondrial protein-coding genes, *Molecular Biology and Evolution*, 30(2), pp. 272-284.
- [119] Pataradool T., Siritayathien P., Sukhumavasi W., Tiwananthagorn S., Suankratay C., Preativatanyou K., 2025, First complete mitochondrial genome of *Armillifer moniliformis* (Pentastomida: Porocephalida) isolated from a human case in Northern Thailand: comparative and phylogenetic analyses, *Parasitology Research*, 124(6), pp. 69.
- [120] Li Y., Thomas G.W.C., Richards S., Waterhouse R.M., Zhou X., Pfrender M.E., 2024, Rapid evolution of mitochondrion-related genes in haplodiploid arthropods, *BMC Biology*, 22(1), pp. 229.

- [121] Zhang R.Q., Bai Y.W., Hu J.T., Wang P.Y., Qi Y., Zhang T.X., et al., 2024, Complete mitochondrial genomes and phylogenetic analysis of native and non-native fishes in a national key wetland of China, *Frontiers in Environmental Science*, 12.
- [122] Zardoya R., 2020, Recent advances in understanding mitochondrial genome diversity, *F1000Research*, 9, Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7194472/>.
- [123] Sahyoun A.H., Bernt M., Stadler P.F., Tout K., 2014, GC skew and mitochondrial origins of replication, *Mitochondrion*, 17, pp. 56-66.
- [124] Roller M., Lucić V., Nagy I., Perica T., Vlahoviček K., 2013, Environmental shaping of codon usage and functional adaptation across microbial communities, *Nucleic Acids Research*, 41(19), pp. 8842-8852.
- [125] Parvathy S.T., Udayasuriyan V., Bhadana V., 2022, Codon usage bias, *Molecular Biology Reports*, 49(1), pp. 539-565.
- [126] Da Silva M.J.F., Minhos T., Sá R.M., Bruford M., 2012, Using genetics as a tool in primate conservation, *Nature Education Knowledge*, 3(10), pp. 89.
- [127] Wang W., Zheng Y., Zhao J., Yao M., 2019, Low genetic diversity in a critically endangered primate: shallow evolutionary history or recent population bottleneck?, *BMC Evolutionary Biology*, 19(1), pp. 134.
- [128] Smith D.G., McDonough J., 2005, Mitochondrial DNA variation in Chinese and Indian rhesus macaques (*Macaca mulatta*), *American Journal of Primatology*, 65(1), pp. 1-25.
- [129] Spuhler J.N., 1988, Evolution of mitochondrial DNA in monkeys, apes, and humans, *American Journal of Physical Anthropology*, 31(S9), pp. 15-48.
- [130] Zhang Q.L., Zhang L., Zhao T.X., Wang J., Zhu Q.H., Chen J.Y., et al., 2017, Gene sequence variations and expression patterns of mitochondrial genes are associated with the adaptive evolution of two *Gynaephora* species (Lepidoptera: Lymantriinae) living in different high-elevation environments, *Gene*, 610, pp. 148-155.
- [131] Bett N.N., Blair M.E., Sterling E.J., 2012, Ecological Niche Conservatism in Doucs (Genus *Pygathrix*), *International Journal of Primatology*, 33(4), pp. 972-988.
- [132] Sterling E.J., Hurley M.M., 2008, *Vietnam: a natural history*, Yale University Press, New Haven.

PHỤ LỤC

Bảng S1. Trình tự nucleotide trên ADN ty thể *Chà và chân xám Tây Nguyên Việt Nam*

TATCTTTAGGGTGCATAACTCAACTGTCGTTTTCTCAACTAATAAAAAATTTATTCACACACCACCTTGACACCTCCACCCACCTTCTTTCCATAATCCCCAA
AGATGGTATCATAATACCCATTATTCAGTTTATGTAGCTTAACACCTCCAAGCAAGACACTGAAAATGCCTAGACGGGCTCACAGACCCATAAACAAACAGGTTT
GGTCCCAGGCTTTCTATTAGCTTTTTAGCAAAATACACATGCAAGCATCCCCGCTCCAGTGAAGATACCCCTATAAATCACGACGATTAAGAGGAGTAAGTATCAAG
CACGCTTAATGCAGCTCAAGACACTTTGCTTAGCCACACCCACCGAAACAGCAGTACTAATATTTAGCAATAAACGAAAGTTAACTAAGCTATGCTACTAAG
GGTTGGTCAATTTCTGTGCCAGCCACCGCGGCCATACGATTGACCCATAGTAAATAGACCTCGGCTAAAGGGTGTTTAGATAAAATTAATAAAGGCTAACTC
TTTCAAACCTGTAATACTAGCTAATGTAATAATAGACTACGAAAAGTGGCTTTAAAGCTTCTGAATACACAACAGTAAAGCTCAAACCTCAAACCTCAATACCCCA
ATGCTTAGCCCTAACTTAATAAGTTAAAAATAACAAACTATCGCCAGAACAACCTCAAGCAAGCTTAAATAAAGGAGCTGGCGGCTGCATATCCCTC
AGGGAGCTTTCTATAATCGATAAACCCGATTACCTCACCCCTCTTGAAGCTATATACCCGCTATACCCGCACTCTCAGCAAGACTCAACAGAGATAAAGTAAGC
ACAAACGCCCACGCAAAACGTTAGGTCAAGGTGTAGCTTATGAGCTGGAAGAAATGGGCTACATTTTCTACCTAGAAAACCCACGATAGCTCTTATGAACTTA
AGAGTCCAAGGAGGATTTAGTAGTAAACTAAGAATAGAGTGTCTAGTTGAACATAGGCCATGAAAGCAGCACACCCCGGCTGCCTCTCAAATAATAATTAGAA
CTAACTTAAGCTAAATTTCTGCATTCATACAGAGGAGATAAGCTGTAACATGTTAAGTGTACTGGAAAAGTGCACTTGGATAAAATCAAGGCAATAGCTCAACACAA
GCATCCAGCTTACACCCGGAAGATATCGCTACCTGATTGCCTTGAGCCAACTAGCTCAACAAACCTACCAATACTACTATAAATTAATATTTAAACCACTT
ACAAGTATAAAAGTATAGGAGATAGAAAATTTACTCTGACCTATAGATCGAGTACCCGCAAGGAAAGATGAAAAAGCAACCAAGCATAAAACAGCAAGGACTCA
CCCCATACCTTTTGCATAAATAACTAGCTAGAGACCACTCGCAAAAGAACTAAAGCAAAAGTACCCCGAAACCGAGCAGCTACCCAAAACAGTATAAAGCC
ACACCCGTCTATGTAGCAAAATAGTGGGAAGATTTCTGGGTAGGGTGTACCGCTACCCGAGCTGGAGATAGCTGTATCCAAGATTAAGTAAAGTTTGAACCT
AAGTTTACTACAGAACTACCAATCTCTCTGTAACCTTAACCTGTTAGTCTAAAGAGGGACAGCTCTTAGACATCAGGAAAAACCTTATGTAGAGAGTAAAAAT
TCCAACCTCATAGTTGGCCTAAAAGCAGCCATCAATTAAGAAAGGCTTTAAGCTCAACGCAATGTCTAAAAAAATATCAACACCTTACTGAACTCCCTCATATCACA
TTGGATTAATCTTATTTTATAGAAATAAATGCTAGCATTAGTAACCTGGAATAAAATTTCCAGTGCAATAAGCCCTAAACCTCGGATCGAAACCTTACCCGATTTTGA
CAGTCAATGTTATAACCAAAACAGCCAAATATTATATATACCTGTTAAACCAACACAGGCAATGCCCTAAAAGGAAAGGTTAAAAAAAGTAAAAGGAACTCGGCAAA
CTCAACCCCGCCTGTTTACCAAAAACATCACCTTAGCATTACGATTAGAGGCACTGCTGCCAGCGGATAGTGTAAACCGCGGCTACCTGACCGGTGACCGTGA
AAGGTAGCATAAATCTTTTAAATAGGGACTGTATGAATGGCAACAGGAACTTAACTGCTCTTACTTCAACAGTAAAATGACCTGTCCCTGTAAGAG
GGCAGATAAAAATAAAGCAGAAAGCCCTGTGGAGCTTCAATTTCTAGTAAACCTTAATTAATAAATAACTTAAAATAAATAACTTAAGCACTACATCAACCTG
GAAATTTTGGTTGGGGTGCACCTCGGAGCATAATTAACCTCGCAACGAACACTACGCAAGGCCATACAAGTCAAGCAGCTAATATCTAAATTTGATCAATAACTTG
ACCAAGCAAAAGTACCCAGGTAACAGCCCACTCTTATCCAGAGTCCATATGCACAAATAGGGTTTACGACCTCGATGTGGATCAGGACCTCAATAGGGT
CAGCAGCTTCAAGGGTTCGTTTGTCAACGATTAAGCTTACAGTGTACTGAGTTCAGCCGAGCAATCCAGGTCGGTTTCTATCTTATCTTATCTTCCCTGTA
CGAAAGGCAAGAGAAATAGGGCTACTTACATAAAGCCCTCTCCCAATAAATGACCTAGTCTCAATTTAGCAAGAAATTACACACACCAACCCAAAGCAAGG
GATTTTAAAGTGGCAGCCCGTAATTCATAAAAATTAAGACTTTATAATCAGAGGTTCAACTCCTCTTCTTAGCATAATGTTCAATAAATCTTACTTACTT
ATCCTACCCACTATAGCTGCATAGCATTCTTACACTTACTGAACGAAACTAATAGGCTATATAACAACACTCGCAAAAGCCCAACATCGTGGGCTTATGGACT
ACTCAACCTTTGGCAGTGAATAAACTTCCACAAAGAACCTTAAACCTCAACTCCACTACCCCTATATATTTGACCCCTATATATTTGACCCCTAGCTTCTTCT
TGCCCTCTCTGTGAGTACTTCTCCCATACCCAACTCCCTAATAATCTTAATCTAGGACTCTTATTTCTAGCTACTGATCTAGTCTAGCTGTTTACTCCATTTTAT
GATCAGGATGAGCATCCAACTCAAACCTACGCAATTAATCGGAGCGCTACGAGCAGCTCGCCCAACAAATTTATACAGGATTAACCTCGCCATCTTACTACTG
CTACTAATAAGTGGCTACTTCAACCTCCAGCCTACTTACAACAAGAACCTCTGACTTCTCCTACCATATGACCTTAAACCAATAATGATTTACTCCCTACA
ATCGCAGAAACCAATCGAGCCCTTTCGACCTCACAGAAGGAGATAAGCAGAATAGTACAGGCTCAAAATCGAGTACCGCCGAGCTTCCATCGCTTTTCTTCT
AGCGAATAATAAATAATTAATAAATAAGCCCTAACAGCCCAAAATTTTCTAGGACACTATAACCTCCACTACCCAGCAACTTACCCAGCATGTTTCTTTTAC
AAAACTCTCTCTCAACCTCCTTATTTCTATGGAATCGAGCAACCTACCCCGGATTCGGTATGATCAACCTACATCACTACTAATAAATAAATTTCTCTCTCA
TAGACCTCTCATATGATATATCTCAACTTATTATAAACCCTGGCATCCCTCAAAGCTAGAATAATGCTGACAAAAGAAATACTTTGATAGAGTAATAAT
AGAGGTATTCAACCTCTTATTTCTAGAATATAGGTATTGAACTACTCTGAGAATCCAAATCTCTCCGTGCTACCTATTACACCTCATCTAAGTAAGGTACGCT
AAATAAGCTATCGGGCCATACCCCGAAATGTTGGTTATACCTTCCGCTACTAATTAATGCTCACTAGCCCACTTGTATCTACTCTACCAATAATAGGCAACCT
TATTACATCACTAAGTTCCCACTGATTTTCTAGCCTGAACCGGCTAGAGATAAATAATACTAGCTTTTACCTCAACTTAATTTTACCTCAATTAACCTACAG
AGTGTCTACCAAGTATTTCTTACAAGCCACCCGATCTAATTTCTATAATAGCAATCATGTATAACAACCTCACTCAGGCAAAATGAACCCCTGATAAACAATC
CAAATCAACTACTCTTAACTAACAACATAGCACTCGCTATAAAATAGGAATAACCCCTCCACTTTTGGAGTTCAGAAAGTCAACCAAGGAAACCTAATAAT
CCGGCCTGCTTCTCTCAGTACAAAACCTAGCCCTATCTCAATTAATATCAAAATTTCCATCAATTAACAAGATTTCTTAAACCTTCAACCCATCACTATCC
CATAGCAGGCAAGTGGGGGCTCAATCAACACAACACTCGAAAATTTAGCATACTCTCAACTACACACATAGGCTGAATAATAAACAATACGTAATAAC
CAAATTTAACAATCTTCTATCTGCTCATGTACATCATTATAACAAGACTGCATCTTACGCTGAACTCAAATCAAATCAAACCCCTAATACTATCACGACC
TGAACAAACCTAACTGACTAATACCAATTAATACTACTTACCTCCTATCCATAGGAGGCTACTCCCTACTGACCCGCTTACTCAAAATGGATAACAAATTAAGAA
TTTACAACAAAATAGCAACTTTTACATACCTCTATAAATCACCATAAATTTACTCAATCTATATTTCTATTTACGTTTAACTATTTCTTCCATAAACAATCTC
CTAGCTTAATAACCAAAAATAAATAGCAGTTCGAAAATAACAAAGCCCTACACCCCTTTTCCCCCACTAATTTATTTACACCCCTTCTTACCAATATCGCCAA
CAGTTTAAACCTTACTGAAATTTAGGTTAAACCGACCAAAAGCTCTCAAGCTTCAAGTAAAGTAAACATGCTTAATTTCTGAAACACATAAAGACTGACGAT
TATACCTGCATCAACTGAACGCAAAATCAATCACTTAAATTAAGCTAAGCCCTACTAGATCAATGGGATTAACCCCAAAAACCTAGTAAACAGCTAATACCC
TAATCAACTGGCTTAACTACTTCTCCCGCCGAGGGAAAAAAGGCGGGAAGCCCGGCAAGAAATAAACTGCTCCCTGAAATTTGCAATTTCAACTGATAAT
CACCTCGGGCTCGTAAAAAGAGGGTTCAACCTGTACTTAGGTTACAGCCCAATGCTTACAGCCATTTTACCTATGCTCATCAACCGGTTTATTCTTCTACA
AATCACAAAGGACATGGAACTTTGATTTATTATTTTGGTGCATGAGCTGGAACCAACAGGATATGCTATAAGTCTCCTTATCGAGCTGAACATAGCCCGGAA
CCTACTAGGCAACGACAAATTTATAATGTTATTGTTACAGCCCATGCAATTTGTTATAATTTTCTCATGGTTATACCAATTAATGCTGGGGGCTCGGAAAGTACT
TGTCCCTAATAATTTGGGCTCTGACATAGCATTCCCGCGCTAAATAATAATAGCTCTGACTTCTCCGCACTTCTTCTCTCGCATCTTCTCGCATCAGCAATAGT
AGGCTGGCGCAGAAACAGGCTGAAACAGTCTACTCTCTCTAGCAGGAAATTTTCCACCCAGGAGCTTCTGTAGACTTAACTAATTTCTACTCCACTACCCAGG
TTTCCCTACTTATGAGGCTTAAATTTTACTACTTAAATTAACATAAAACCCCTGCCATGTCTCAGTATCAGACACCCCTATTTGTTGATCCGCTCAATAGAC
GAGTCTTACTGCTTCTTACTCTTACTGTTAGCTGCGGGCATTAACAATGCTAATAACAGACGGTAACTTCAACACTACTCTTTGACCCCGGAGGAGGAGGAC
CCAATCTTATCAACACTTATTTGATTTTTCCGTCACCCGAGGTTTATATTTCTATCTTACCTGGGTTTGGAAATGATCTCCCACTTTAAACATATTTCCGGAA
AAAAGGAACCTTCGGATATATAGGCATAGTCTGAGCTATAGTACAATTTGGGTTTTTGGGCTTTATCGTATGAGCTACCAATATAATTTACTGTTGGCATGAGC
ACACAGGACCTATTTCCACCTCCGCCACCAATAATTTGCAATCCCACTGGGCTTAAAGCTTTTACTGCTAGCTAGCTACACTACATGAGGAAATAACAAATGATCC
CTTGCAACTCTGAGCCCTAGGCTTATTTTCTCTTACCCTGAGGAGCTTAACTGTTATTTACTAGCAAACTCACTAGATATCGTACTACATGATACATGATACAT
TATGTTGATGCCCACTTCCACTAGCTTTTGTCAATAGGAGCCGCTTGTCTATCAATGAGGGGTTTTATCCACTGATTTCCACTTCTCAGGATACGCTTACTTAA
ATTTGTCGCAAGCCACTTATTATTATATTGTTAGGGTAAATTTAATTTCTTCCGCAAGCTTTCTGGTTTGTCCGGAATACCTCGAGCTTATCCGATTATCC
TGTAGCTTACACACATGAAATGTTGATCATCTATAGGCTCTTCACTTCCCTAGTACTGATTAATCAATAAATCAATAAATCTAGAGAGCTTTCCGCTCAAAAGCT
AAAGTCTTATTTGAACCAACCTACCTACAACCTAGAAATGATTGCAGGCTTACGACCCATATACATACATTCGACGAAACCAACTTATTAAGGTTAAATAAAA
AAGGAAGGAATCGAACCTCTGAGATGGTTTCAAGCCAACTCTATAAACCCTATAAACCCTTTTCAATAAAGATATTAGAAAATTTATTTACTGTTTTCGAAAGCTA
AATTAAGGATACACCTATATATCTTATAGCTCACCAGTCTCAACTAGGCTCAACAAGTACCCATCCCTATCATAGAAAATTAATTTGCTTCCAGGACCTTAA
CCTTTAATAATTTAGTCTATGATCAGCTTTTATGCTTATACGCTTATCTGACTACCAACAAAATTAACCAACCAATTAACAGATTAACAGATTAAGAAATA
CTATTTGGACCTTCTTACGCAATTAICTAATTTGCTTGCCTACCTACGTTATTTCTACTTAAACCGGATGGGTTAAATAAATCTTCTATTAATTAATTA
AATCGACATCAGTACTGAACTTATGAGTATACAGATTATGGGGGCTAATCTTAAATCTATATACTCCCTCCACTATTTTAAACCCAGGGGACCTTCGACT
TCTGGAAGTGAATAICTGAGTGTACTCCCAATGGAAGCTCTGTTTCGATAATAATTAACATCTCAAGACGCTTACACTCTGCAACTTCTTACGCTAGGATTA
AACAGATGCCAATTCGGGAGCCTTAAATCAACCCACATTCAGTCCACACGACAGGCTGTCTACTACGGACAGTGTCTCAGAAAATTTCCGGGCTAAATCACAGTTT
TACCAATTTGTGCAAGCAATTTCCACTAAAAATTTTGAATAAGGGCTGTATTCACCCCTGTAGATATACTAAAGCGTTTAAATTAAGTATTTCTTAAAGTACTAA
CTACTGATAAGCTCAGCAGCATAAACCCTTTAAGTTAAAGACTGAGAAAATTTCTCTCTCGAGTGAATGCTCACTAAATAACTTACATCTACATGCTAATCTAT
TATAACCAACTACCCGACTATATCTTATATAACAATAAATAATTAAGTCTACTATTTCCCGCTGACAAAAGCTCTGATAGCCAAATTAATTAACA
CCCCGACTCAAAATGAACAAAACCTTAACTTCACTTACACAACTCAAGCACTGAGGCTACCAGCCGTAGTACTTATTTCTTACTTCCACTACTACTCT
CAACCTCAAAATCTTATAAATAATCGACTAATTAATACTAATTAACAATAAATCTAATTCAGTAACTCGTAAACAAATAAATAAATTAATAATTAAGGACAAACC
TGGTCTCAATACTAATAATCCCTAATCAATTTTATTTGCAACAATAACTTCCGACTTCTACCCCACTATTTACACTACCGCCCAACTCAATAAATAATCTGGCTA
TAGCAATCCCTCTATAGAGCAGGTACGTAATCACAGGCTTCGCTTCAAACCTAAAAGCTCTTAGCCGACTTTTTACCAACAGGTACACCCCACTACTTATCCCA
TATTAGAGTATTAGAGCACTCAGTTTATTTATTAACACAGTAGCCCTGCTGTAGCCCTAACCCGCAATATACAGCAGGACCTACTACTTAAAGCTTAACTCA
ACTCAAAATTTATAGGCATTTATTTCAACCTACTACAAATATCAGAGTACTAGAAACCCCTTACCATCTGTAGGATTAAGTAAAGAAATAAATAAAGCTTCA
CTGACTAGTACTACTACCACTACAGCCCTCTATAAACCCTCACTAACTTAGTCTTCTAGTATTTAAACAATTTCTAGAAAATAGCAGTACGCTTAACTGAC
CCGCTTTCATGGACTTCAAGTATTCATTGATTCATGATTTCTACTACTGCTTATTTCTGCTAGCTATTTCTAGCTTAAACCTAGGTTACTAACAATAAATA
CCGTTGACGCTTCTCTAATAACTCTGGCCATAATATGATTTCCACTTTTATCTCAACCCCTAATTAACCTAGGTTACTAACAATAAATAATTTTGGCTAATCA
ATGCGGTGATATCCGAGAAAGCACCTATCAAGGTACCCATAACAACAGGTTCAAAAAGGCTCCGCTACGGAATAGTATTATTTATCTCAGAGGTTTCT
TCTTGTGCTGCTTCTTCTGAGCTTTTTACTCACTCAAGCCTGGCCCGACTCCACACTTAGGAGGACACTGACCACCTACAGGATTTATTTCCCTTAAACCCCTAGA
TACCCTTCAAATCCGCTACTTGCATCAAGGGGTACAACACTTAGTACTGACTCAACAGCTTAAATAGAAAATAACCGCAAAACAAATAATTAAGCTTAACTCA
ACTCAAAATTTATAGGCATTTATTTCAACCTACTACAAATATCAGAGTACTAGAAACCCCTTACCATCTGTAGGATTAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGT
CCGCTTTCATGGACTTCAAGTATTCATTGATTCATCTTACTACTGCTTATTTCTGCTAGCTATCGTACCAATTTTAACTCAAGTCAAGTAAAGTAAAGTAAAGT
GCCGCTGATATCCGATTTCTGATAGTGTGCTGACTTCTCTATATCTCCATTTCTAGTAGGTTCTTACTCTTTTATTAAGTACTAGTACAGCCACTTCAAT
CAGTATGTTTGCATAATCGAAAAGGATAAATAACTTAATACTACTACTAATTAATACTCTTAAACCTAGGTTACTAACAATAAATAATTTTGGCTAACCCTA
ACTCAACTCTTATGTAAGAAAAGCCAAACCCCTACGAAATGGGGTTTGAACCTAACTGCTGCTGCAATCCCTTTTCCATAAAAATTTCTTACTGCTGCTTACCTT
CTGCTTGTGATTTAGAAATCGCCTTGCTATTTGCCCTTGCCATGAGCCCTCCAACCAAGCAAAACCTCCCGTAATGATCAAGTCACTCAATTAATTAATTTAA
CCCTGACGCTGGCCCTGAATGAATGAACTCAAAAAGGTTTGAATGAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGT
ACTAACAATAATGTCATTTATTAATAAACAATTAATAGGACTACTACTCCCTCGGCGATTAATCTATCGCTCAGCTTCAATGATGATGATGATGATGATGATG
AAGGAAATAAATCTTCACTGTTTACTGCTTAACTGCTTAACTGCTTAACTGCTTAACTGCTTAACTGCTTAACTGCTTAACTGCTTAACTGCTTAACTGCTTAA
GGCAGCAGTGGGCTTCCCTTAAATTTCAATCTCAAAACACATACGGCTTAGACCATATCCGAACTAAACCTACTTCAATGTTAAAAATAATTTTCCCTACAATG
ATACTATTACCAACAACATGATTTTCCAAAACAACCTAGTCTGAATTAACCTAACTACACATAGCTTAAATAACGACCTAATCCCTTATTTCTTCAATCAAACT

AATAAATACCTTTAGCCACTCGACTATTTATCTTCAGATCCATTAACAACACCTCTTTCTAATACTGACAGCCTGACTCTGCCCTCATAAATATAGCAAGCCAA
TATCACCTACACAATGAAAGTCCCTGCGAAAAAATCTTACCTCTCCATAAATCTTCTACAAAATCTCCCTAATCATAACATTTATAGCCACAGAGTCTTCTA
TTCTACCTCTAATTTGAAACACCCCTTATCCACCCTAAATTTATTCACCCGATGAGGTAAACCAAGCAGACGCCTCAACGCAAGCACATAATTTCTATTTACATA
TAGCTGGCTCCCTACTCGTAAATTTATTAATTTATACACATAAACAATAGGCTTAACAAATATTTCACTAACACTAACCTGCAACCAAAAACCACTCT
TGATCCCAATAATTTAGCTTGACTAGCATGCAATAGGCTTTTATAGTAAAAATACCCTTATATGGCTACACCTATGACTCCCTAAAGCCCATGTTGAGGCTCCCAT
GGGGGTCATAGTCTTGGCCCGTGTCTTAAATATAGGGCGGTATGGCATAAATGACGCTTACACCAATTTCTCAACCCTAACGACAGACATAATAGCCCTACCTTT
CTTACTACTAGTTTATAGCTCAACTGTCTCCGACAAACAGATTTAAAATCGCTCATTTGCATACCTCTTGTAAAGCCACATAAGCCCTTGTA
ATCATAGCTCCCTCATTAACCCCTGGAAGCTTTACTGGCGTATCATCTTTATAATTTGCCACGGACTTACCTCATCTATATTTCTGCTTAGCAAACTCAAAT
ACGACGAAACCCACAGCCGATTAATTTACTTTCTCGAGGACTTCAAAGTCTACTTCCACTAATAGCCCTTCTGATGATTTGTAGCAAACTCAACAACTAGCTCTAC
CTCCCTCCAACTTAACTTACGGGGAGTTATAGTAGTGACATCTCTTTTCTGGTACATATACCATTATCTTACAGGACTAAACATAATTAATCTAGCTCTATA
TTCCCTACACATTTCAATCAACACAGGGAACACTACCTCCATATTTAAATCAAAAACCTCTTTTACACGAGAAAAACTGTAATTTATTTACATATACT
TCCTATTTCTTCAACCTTAATCTAGCATTTATAGGCTTCCACCCTGTAAATATAGTTAATAAAAAATTAGATTGTGAATCTAAATATAGAAACCTACCA
CTTCTTATTTACGAGAAAGATTGCAAGGACTGTAACTTCCAGCCGATTTAATAAAGCCGCTATCTCAACTTTAAAGGATAACAGCTGTCCATTGGTCTTAGG
AACCAAAAATATTTGGTCAACTCCAAATAAAGTAATAAATAGCACACCTCCATTTTATACCTAGCCCTAACCCCTTAACTCTTTCCGATTAATTTACCTTTATA
GCCCAATAAAAAAATAATATACCCCAACTATGTAAAAAAACAATAGTATTTACTTTACTATTAGTCTCATCCCAACAATATATACTTTCTAGGTCAGGATA
CAATCATATAACCTGACATTGAATAACTATTCAATCACTAGAAAATAGACTAACTTAAATTTGACTATTACTCCGTAATTTACCCCAATTTGCACTATTTATAC
TTGGTGATTAATAGAATTTCTCATGTATACATAGACTAGACCCAAACATAACCAATTTCTCAAAATCTTCTCATCTTCTTATACCATGTAAATTTAGGTTACC
GTAACAACCTTTCFAGCTTCTTTATGGGTGAGAAAGGTGTAAGAAATATATCTTTACTAATCGGCTGATGATACGCTGAAACAGACTAACACAGCAGGACT
TCAAGCAATCTGTATAACCGCATTTGGTGATATTGGTTTCTATTAGCCATAAATAGGTTTCTCTCCATTATAACTCATGAGACTTACAACAATATTTATCTAGAT
CCCACCCCGATCTACTTCAATTTAGGGTCTACTATTAGCAGCAACAGAAAATGACCCCACTCGCCCTCCATCCCTGATTTACCTCGGCTATAGAAAGGCCAAC
TCCAGTATACCCCTCACTTCCAGTACTATAGTAGTACTGGGTTTCTTACTTTCGTTCCACCCCAATAAGAAAATAACAACTTCAAAGCTTTACT
ACTAGTCTAGGAGCTATTACTACCATATTCATAGCAATCTGGCCCTAACACAAAATGACATTTAAAAAATTTAGGCTTCTCTCACTCAAGTCAACTGGGACTTAT
AATAGTACTATTGGTATTAATCAACCGCAGCTAGCAATTTCTACATATCTGTACTGCTTTTCAAGGCTATCTATTTACTGCTGGGCTCAATTTCAATAAC
CTAAATAATGAAACAGACTCCGAAAAATAGGAGGACTATTTAAAAACATGCCCTCACCTCACTCCCTGATAATCGGTAGCTAGCAGCTACAGGACTACCTTT
TCTTACAGTTTACTTCAAGACCTCATCATGAAAACCGCAACACTACCAACCAAGCCCTGGGCCCTGGTATATCTTTACTTACTTCACTTCAACAACGCGC
CTACAGCACCCGAACTATTTCTCACTAACAGGATCACTCGTTTTCAACTTCCGTATATTTAATGAGAACAACCCAACTACTAAACCCAAATAAAACGCT
AGCAGGAGGTAGTCTCTCGAGGATTTTCTGTCGAACAACATCTCCGACTCAGTTCTCAATTAACAATACTTACCTGAAACCTCTAGCTTACCTTATGGCT
AACCACCTAGGCTTCTTAAACGCCCTAGATCTGACTTTAATACTAACAGTCTCAAAAATAAATACCCATCGCACATAATTTCAAAATCTCCAAATACCTAGGATA
TCCCATTACAATCCCGAACAGTTCCTTACCACAAACCTAACCAATAAGCCAAAACCTAGCTTCTTACTAGACTTACTGACTAGAGAAAATCAATCAACTAAA
CAATTTTACACACCCATAATTTACAGCCATCACTCAACCCAAAGGCAATAATCAAGCTATATTTCTCTCTTTTCAAGGCTTCACTTATTTACTGCTGGGCTCAATTTCAATAAC
AATTAATAATCTATTACCCGAGTAAATTTCAATAACAATAAACAACCAAAATAATGTTTCAACCAACAACTACGACCAACCCGCTCAATCACTCACTCA
CCCGCAATAAGATCCCAAGATCAACCCGACCCCTCCCTCAACTCAACCACTCCCTATATTTCAAAATTTACTACTCACTCACTAATAAAGCT
ATAACCCAAAACTAATAATACCTCCATTGCCAATCCAACAAAAAATCCCAAAACCTCAAACTCTGAAACCCATGCTTCCAGGATAATTTCTCAATAGCCATCGC
AGTAGTATAACCAAGACAACCAATTTATACCCCCAGATAAATCAAAAACCTATTAAACCTATAAAGTACCCCAATAAATTTAAATATAGCACAACCAATACACA
CCACTAACCAACCAATGCTAAACCCCATAAATAGGAGAAGGCTTAGAAGAAAAGCCCAACAAACCCATAAATAACATACGTTAATAATACGATAATACGAC
ATGTTTTCACATGGACTTCAACATGATTAATGATATGAAAACCCCTGCTGTATTTCACAACTATAAAACCACTAATGATCCCGCTACGCAAACTTAACTCAATTA
AAATTAATTAACCTCCCTTGAATCTCAACCCCATCAACACTGAGTCAAGTAACTTTGGTTCCTTTTAGCACTTAACTTTTCAAACTTACAAATCATACA
GGTCTATTCTAGCAATACATTTACTCAGTACCTCCTCAGCTTCTCTCAATCGCCATACTCACTGAGAGCTAACTACGGCTGAATTTACGCTACCTTCAAT
GCCAATGGTGCCTCAATTTCTTCTGCTTCTTCTACAGTGGTGGAGGTTATATTAGGCTCATTCTTCTTGAACCTTGAACACTTGGCAATTTGCACTAT
TACTTATAGTATAGCAACGGCTTTATAGGCTATGTACTCCATGAGGACAAAATATATTTTGGAGTGCTACAGTAATTTACAAATTTATATCCGATAATCCCATA
TCCGAAACCAATCTCGTTCAATGATGATGAGGTGGATTTCTATCGATAATCAACCCCTACCCGATTCTTCACTCTCCATTTACCTGCTTTTACTTACAGCTT
TACAGTTCTACATCTTTTCTTCTACACGAAACAGGATCTAATAATCATGCGAAATTTCTTCAAACTCCGACAAAATCCCTTCCACCCCTACTACAAATCAAA
TATGCTAGGCTAGTCCCTTATTCTTCCCTAATAAATCTAGTATTTTTCACCTGACTTTTAGGTGACCCAGACAACTATACACCCAGCTAATACCCAGCTAAAC
CAACACACATCAACAGAAATGGTACTTCTTATTCGATATGCAATCTCAAGTCTCAAGTAACTTGGGAGGCGTACTAGCACTTCTTATACCATTTCTTATC
CTAATAATTTACCCCACTTCAAAATCAACAAACAAGCATAAATTTCCGCCATTCAGCCAAATTTACACTATGATTTAATACAGATTTTAACTCAACCTAAC
TGAATTTGGAAGCAACCACTTAAATTTATTAATTTGACAGGTAGCATCTATAATATTTTCACTACAATTTGATTTAATACCACTAGCTCTATAATC
GAAAACAATCTCTCAAAATGAACCTGCTTGTAGTATAGACTAATACACCGGTTCTGTAACCCGAGACGGATACCTTTCCCGAGGGCAACTCAGAAAAGAAAGCA
TTAACTCTCCCAACCAATCCCAAACTGGCATTTCTAATTTAACTCTTCTGCTTCTAAGGAGGATAAACCCTTTAGAGAAATAATTTAGTACAATCTAATTTATATG
TCTTATGTAATCTGGTCACTTCTGCTAGTACCATGGATATATATAGTACTATAAATGTTTAACTTTCACCTAGGATAAATAATTTACTTACTGCAATTTACT
TAGGACATGCTTATAGCAAGTACTCTAATAGAAATCTGACTATAACACTACCATTTCAATTTCAAAATCCCGTGGTCAACCCATTTGGAATACCAACCAATAGC
GATTAATCCATATCTGATACATAGTACATAAATTTCTTACCCGACATAGCACATCTCGAGCTGAGACTTCCCTAACAACCAATTTGCTGCAACAGGATATCCGCTCAGT
AGGTGCTCTGATACCATCTCGTGAATAAATAATCCGCAACAAGAGTGTACTCTCGCCCGGGCCATAAACCCTGTTGGGGTAGTACACAGCAGCTCAA
TGGACATCTGTTCTTACTCAGGGGCCATACCCGCAAGTCCGCCACAGTTCCTTAAATAGACATCTCGATGGATCAGGGTCTATCCACCTATACCCAGTCA
CGGAGCTCTCCATGCTATTTGGTATCTTTATCTGCTGCTGACCGGACCCATTTGAGTATGCTGGTCTCGCCACAACTCAGTCCCGAGCCGCTGCTTTGATTTCT
AGCATAACCATTTAATACCGCACTACGTTCCATATTTAATCCCGCATGAAACCTTACATGGTGTATTTAATCCATGCTGTAAGACATACATAAATTAACCT
ATACCCGATCGACCTTTGATCCCAATTTAACAATCTCTCAAAACCCGACCCCTCCCTATTTAGCAGCCGACCCCTAATAATCCGCTTTCGCAAAACCCCAAAA
AAAACTTGCAATCTGTCGAAATTTACATTTTTTTTT

Bảng S2. Trình tự nucleotide trên ADN ty thể *Chà và chân đen* Tây Nguyên Việt Nam

AAGACTACCCAAAACCTCAAACCTGAGACTCATGCCTCAGGGTATTCTTCAATAGCTATCGCAGTAGTATAACCAAAAGCAACCCCTTATACCTCCCGAGATAATCA
AAAATATGATTAACCCATAAAGTACCCCAATAATTTAAAATAATAGCACAACTAACTTCCACTAACCAACCAAGTAAAGCTAATAATGAGGAAAGGCTTA
GAAGAAAACCCCAAAAACCCATAACTAATAACACTTAAATAAATAAATATATGACATTTGTTCCACATGGACTTAAACATGATTAATGATGAAAAACC
ATCGTGTATTTCAACTATAAAACACTAATGACCTCCCTACGTAATCCAACTCAATATAAAAATTAATTAATCACTCTTACTCGATCTACCCACCCGTCGCAACA
TTTTCCCGGTGATAAACTTTGGTTCTTTTATAGCAACTGCTAAATTTTACAAATTTACCCGGTCTATTTCTAGCAATAACACTCAACCCCAACCCCTCGACT
CTCCTCAATCGCTCATATTACCCGAGATGTAATATGGTGAATTTACCGGCTTCTTCAAGTAACTGTAATTTTCAAGTAACTTCTGATGATTTGCTTATTTGCTT
CGAGGACTATACTAGCTTATTTCTTCTTGAACCTGAAACATTTGCAATTTGCAATTTACTACTATGATTAAGCAAACTCAAGTAACTTACTGATGATTAAGCA
GGACAAATCATTTTGGGGCGCTACAGTAATCAAAATTTACTTCCGCAATCCATATCTCGGAACGAATCTTTGCAATGGGTATGAGGGGATTTACTTACGCA
TAATCAACCTTACCCGATTTTCAACCTCACTTACCTTCACTTATTAAGTAACTTAACTTAACTTAACTTAACTTAACTTAACTTAACTTAACTTAACTTAACT
CCCTGTGGAATCCCTCAACTCTGACAAAATTTCCCTTCCACCCTACTACACAGTCAAAGATATACTAGGCTAGTCTCTCTTATTTTCCCTAATAATTTCTAGTAT
TATTTTCACTGACTTTTAGGTTGACCCAGACAACATAACAGTAACTCACTAACACCCCAACACATCAAAACAGAGTGATTTCTTATTCGATATGCAAT
TCTTACAGTCCGTACCTAACAAATTTAGGGGGCGTGTAGCATCTTATATCTTATCTTCACTCACTCAATAAATTTACCCATACTTCAAAAATCAAGCAAAAAGTATA
TATTCGCCCACTTAGCCAAATCACACTATGACTACTAACACAGTCTTCACTAACCCCTAACCTGAAATGGGAAGCCAAACAGTTAGCCAGCCCTTTATTAATAATGGAC
AGATGGCATCTATAATTACTTCAATTTCAATTTAATCTTAATACCTGACTTCTATAATCGAAAACAATCTCTCAAAATCCCTGCTTGTAAATATAGACTAAT
ATACCGCTTGTAAACCGGAGACGGTAACTTCCCAAGGCAACTCAGAAAGATGATTTAACTTACCACCAATCCCAAACTGGCATTTTAACTTAACTTACC
TCTGCTTACCTAGTAAATAGACTACGAAAGTGGCTTAAAGCTTCTGTAATACACACAGCTAAGACTCAAACCTGGGATAGACACCCACTTACTGCTAGCTT
AAACCTTAATAGTTAAAAATAACAAACTATTCGCCGAACTACAAAGCAAGCTAAGCAACAGCTTAAAAATTTAAAGGACTTGGCCGTGCTCCATATCCCCCTAGAGGAGCTGT
TCTATAATCGATAAACCCCGATCCACTCACCACCTCTCGCTCAGCTATATACCCGCTTTCAGCAAACTCAACAAGAGATAAAGAAAGCAAAAACCCGCCC
GCAAAAACCTTAGGTCAGGTTGAGCTATGAGCTTAACTATGAGCTGGGAGAAATGGGCTACATTTTCTATAGAAAACCCCAAGTAACTTATGAAAGTCAAGGCTCAAGG
AGGATTTAGTAACTAAAGATAGAGTGGCTTATGTAACAGGCACTGAAAGCAGCAGCAACCCGCGCTCTCAAAATGATTAAGAACTTAACTTAACTTAACT
AAATTTTGTGATTTATACAGAGGAGATAAGTCTGTAACATGGTAAAGTACTGGAAGTACTGGAATAAATCAAGGCTTGGATAAATCAAGGCTTAACTTAACTTAACT
ACCCGGGAAGATTCGCCACCCGATTTGGCTTGGCAATACTAGCTCAAACCCCAACACTACTATTAACCTGATAAATATTAACCTTCAACAATAA
AGTATAGGAGATAGAAATTTACTCCGGCTATAGATACAGTACCGCAAGGAAAGATGAAAAAAGCAATTAAGCAAAAACAGCAAGGACTACCCCTATACC
TTTTGCAATAATGAGTAACTAGAGCACTTACGAAAGAGACTAAGGCAAGTACCCGCAACAGGACTACCCAAAACAGCTGCAAGGAGGCGCACCCTACT
ATGTAAGCAAAATAGTGGGAAGATTTCTGGGTAGAGGTTAGTACGCTTACCCGCTGGAGTACTGCTGTTATCCAAGATAGAAATTTAGTCAACCTTAAGCTTCACT
ACAGAACTATAAATCTCCGTGAGCTTAACTGTTAGTCAAAAGAGGCAAGCTCTTATAGATACAGGAAAAACCTTATGATAGAGATAAAAAACCTCAACCTACT

ATTCAACCTCCACGCTATTACAACACAAGAACACCTGCTGACTTCTCCTACCATGACCTTTAACCCATAATGATTCACCTCCACACTAGCAGAAACCAATCG
AGCCCTTCGACCTCAGAGGAGGAGAACTCAGAATAGTATCAGGCTTCAATTCGAGTACGCCCGCAGGTCACCTTCCTTTCTTCATAGCCGAAATATAAATA
TTATTATAAATAAGTCCCAAGCCACAATTTTTCTAGGACACTATACCAATCCACTACCAGAACTATTCAACAACAGCTTTTCTTCAAAAACAACTCTTCTCTAA
CCCTCTATTCTGATTTGGTTCAGCAACCTACCCCGATTCCGTTATGATCACTACTACACTACTGAAAAAATTTCTTCTTACATAGGACTCTCTCAATG
ATATATCTCAACTTATTATAACCTCTGGCATCCCCCTCAAAGCTAGAATATGTCTGACAAAAGAAATTAACCTTTGATAGAGTAACAATAGAGGTATTCAACCTC
TATTTCTAGAAATTAGGTTATCGAACCTACTCTGAGAATCCAAATCTCCCGTACTCTATTACACCTTCTTAAGTAAAGGCAGCTTAAATAGGATCTCGGGC
CAACCCCGAAAATTTGGTTATACCCCTCCCGTACTAAATTAACCTAGCCCACTGTTATTTACTCTACCATAAATCAGGACCCCTTTATCACTCAATAGGATTC
CCACTGATTTCTCGCTGAAACCCGCTAGAGATAAATACTAGCTTTTACTCTAATCTAATTAATAAAAGAAACATTTCGCTCTACAGAAGCTGTACCAAGTATT
CCTTACACAAGCACCCTCATATAATTTCTATAATAGCAATCATGTATAACAACACTATTCTCAGGACAATGAACCCCTGATAAACAATCCCAATCAACTCTACTCT
AATCAATAACAATAGCACCCTGCTATAAATTAGGAATAACCCCTTCCACTTTTGAAGTTCAGAAAGTACCCAGGAAACCCCTTAATATCCGGCTGTCTCTCCAC
ATGACAAAACCTAGCCCTACTCAATTTATATCAAAATTTATCCATCAATTAACAAGTATTTTATAACCTATCAGCCCTATCAATATAGCAGGCAAGTGGAG
GGGTCTCAATCAACACAACCTACGAAAATTTAGCATACTCTCAATCACAACATAGGCTGAATAATAAACAATAACGTATAACCCAAATATTACAATTTTCT
ATCTGCTATGTACATTAATAACAAGCACTGCATTTCTAGCCCTGAACTCAAACTCAAATACCACCCCTAACTACTATCAGCAGCTGAAACAAAACAACTGCA
CTAATACCAATAAATACTACTTACCCTCTATCCATAGGAGGTCTACCTCCACTGACCGGGTTTCTACCTAAATGGATAACAATTCAGAAGCTTACAAAAATAGCAAC
TTTATCATACCCCTATCATATAATACCATAAATTTACTCAACCTATATTTCTATTAGCTTTAACTTATATTCTCCATAACACTCTCCCTACGTCTAATAACACAAA
AATAAATAAGCTTGCAAAATAACAAGCCTACACCCCTTTCCCCCACTAATTTATTTTACAACCCCTTCTTCAACAATCGCCAAACAGTTCTATTCTG
AAATTTAGGTTTAAACAGCCAAAGCTTCAAAGCTTTTCAGTAAGTTAAAGCTTAAATTTCTGAAAACATAAAGGACTCAGACTATACCTCGCTCACTCACTGAA
CGAAATCAACTCTTAAATTAAGCTAAGCCCTTACTAGATCAATGGGATTTCAAACCAAAAAAATTTAGTTAAAGCTAATCCCTAATCAACTAGGCTTTAATCT
ACTTCTCCCGCCGAGGAAAAAAGGGGGGAGAAGCCCGGAGAAATAAACTGCTCCCTGGAATTTGCAATTCACATGATAATCACTCGGGGTGGTAAAA
AGAGGGTTCAACCTCTGACTTAGGTTTACAGCCCAATGCTACTCAGCCATTTTACTATGCTCATCAACCCGCTGATTTCTCTCAAAATCAAGGACCTTTGAAA
CTTTGATTTAATTTGGTGCATGAGCTGGAAACCCAGGTATAGTATAAGTCTTATCGATGAGCTACCATAATTTACTGTGGAGCTAGCCAGCTTACAGCAACGACATA
TTTAAATGTTATTGTTACAGCCATGCAATTTGTTATAATTTCTTACGTTTAACTTATAATTTGGGGGCTTGGAAAAGTACTAGTTCCCTTAAATATTGGCCG
TCCTGACATAGCATTTCCCGCCTAAATAATAAAGCTTTGACTTCCACCCTTCTCCACTTCTCTCGCATCAGCAATAGTAGAGGCTGGCGAGGAAACAGG
CTGAAAGCTCTACTCTCTAGCAGGAAATTTTCCACCAGGAGCTTCTGACTTAACTATTTTCTCAGGATACACCCTAGACAAATTTGTCGCAACCCCACT
ATTAATTTTACTACTTAAATAACAATAAACCCCTGCCATGCTAGTACAGACACCCCTATTGTTGATCCGCTAATTTCCGATTTACTGATCAGCCTTACTGCT
CCTTACCTGTATTAGCTGGGGCATTACAATGCTATTAACAGACCGTAATCTCAACACTACCTTCTTGAACCCCGGAGGAGGAGACCCAACTTTATATCAACACT
TATTCTGATTTTCCGGTCAACCTGAGGTTTATTTCTTATTTACTGGGTTTGAATGATCTCCACATTTGTAACATATTTCGGGAAAAAGGAAACCTTCGGGATA
TATAGGCAATAGCTGAGCTATAAGTATCAATTTGGGTTTATAGCTTATCGATGAGCTACCATAATTTACTGTGGCCTAGACAGCAGGCTTACTTTCAC
CTCCGCCACCAATAATTTAGCAATCCCAACTGGCGTTTAAAGTCTTTAGCTGACTAGCTACTACATGGAAGAAATCAAAATGATCCCTCAGCAATCTAGCCGCT
AGGCTTTTATTTCCCTTACCGTGAAGGCTTAACTGTTATTTGACTGACAACTCATCAGTATAGTATCTGCTACTCTCGCATCAGCAATAGTAGAGGCTGGCG
CTGAAAGCTCTACTCTCTAGCAGGAAATTTTCCACCAGGAGCTTCTGACTTAACTATTTTCTCAGGATACACCCTAGACAAATTTGTCGCAACCCCACT
ATTAATTTTACTACTTAAATAACAATAAACCCCTGCCATGCTAGTACAGACACCCCTATTGTTGGTGGCGAATACTCGACGTTATTCGGATTTACTGATCAGCCT
ATGTTGATCATCTATAGGCTCTTCACTCTCCCTAGTAGCTATAATTAATAATCTATATAATCTGAGAAGCTTTCCGCTCAAAAACGTAAGTCTTATTTGAA
ACCTACTTCAACCTGAAATGATTCGACGGCTCCACCACCATATCACTGCTGACAGCAACCAATTCATTAAGGTTAAATAAAAAGGAAAGGAAATCGAAACCTCC
TGACTGGTTTCAAGCAACTCTATAACCTCTATAACCTTTTCAATAGATAATTAGAAAAAATTTTTCATGGTTTTGTCAAAGCTAAATTTAGGATACCCCTAT
ATATCTTATAGCTCCAGCTCAACTAGGCTTACAGATGCCACACTCCCTATACAGAAAGAAATTAATGCTTCCAGACCACTGCTTAAATTTGATAGTATG
ATCAGCTTTTATGCTTATACGTTTATCTTACAGTACTCAACAATAAATCAACCAATTAACAGATGCTCAAGCAATAGAAACTTTTGGACCTTACTTACCA
GCAATTTATCTTAACTTAAATGCTTGCATCCCTAGTATTTCTACTTAAACGATAGGTTAATAATCTTCTATTACTATTAACCTCAATCGGACATCAATGATACT
GAACCTTAGATACAGATTAAGGCTTAACTTTTCTTCCACAACATTTTGGTTTTGCGGAAATACTCGACGTTATTCGGATTTCTGATGCTAACCCACTGAA
ATGTTGATCATCTATAGGCTCTTCACTCTCCCTAGTAGCTATAATTAATAATCTATATAATCTGAGAAGCTTTCCGCTCAAAAACGTAAGTCTTATTTGAA
ACCTACTTCAACCTGAAATGATTCGACGGCTCCACCACCATATCACTGCTGACAGCAACCAATTCATTAAGGTTAAATAAAAAGGAAAGGAAATCGAAACCTCC
TGACTGGTTTTCAAGCAACTCTATAACCTCTATAACCTTTTCAATAGATAATTAGAAAAAATTTTTCATGGTTTTGTCAAAGCTAAATTTAGGATACCCCTAT
ATATCTTATAGCTCCAGCTCAACTAGGCTTACAGATGCCACACTCCCTATACAGAAAGAAATTAATGCTTCCAGACCACTGCTTAAATTTGATAGTATG
ATCAGCTTTTATGCTTATACGTTTATCTTACAGTACTCAACAATAAATCAACCAATTAACAGATGCTCAAGCAATAGAAACTTTTGGACCTTACTTACCA
GCAATTTATCTTAACTTAAATGCTTGCATCCCTAGTATTTCTACTTAAACGATAGGTTAATAATCTTCTATTACTATTAACCTCAATCGGACATCAATGATACT
GAACCTTAGATACAGATTAAGGCTTAACTTTTCTTCCACAACATTTTGGTTTTGCGGAAATACTCGACGTTATTCGGATTTCTGATGCTAACCCACTGAA
TGGTACTCCCAATTTGAAGCTCCTGTTCCGATAAATAATACATCTCAAGACGCTTACACTCTGAACTTTCTCAGCTAGGATTAATAACAGCAATTCACCCGGAC
GCTTAAATCAAACTACTTACTGCCACACGACCGAGTGTACTACGGCAGTGTCCAGAAATTTGGCGGCTAACTACAGTTTATACCAATTTAGTCAGAACTA
TTCCACTAAAAATTTGAAATAGGGCCTGTATTCACCTGTAGATATACTAAGGGCTTTAATTAAGATTTTCTTAAAGTATTTCTTAAAGTACTGCATGATGCTCCAC
CACTAACCTTTTAAAGTTAAAGCTGAGAAATATCTTCTGCAAGTAAATGCTCAACTAAATACATACATAGGTAATTAATGCTTCCAGACCACTGCTTAACT
TATACCTTTTATACAACTAAAACTATAAATATAGTCTACTATTTCCCGCTCAACAAGGCTCTTAGTACGCAAAATTAACCAACCTGACAACTTAAATGAA
CGAAAATTTATTTACTCATTTACACACCAACACTCTTAGGGCTACAGCGGTAGTACCTAATTTCTATTCTTCACTTACTTCAACCTCAAACTCAAACTTAT
AATAATCGACTAATTTACTTCAACAAAATTAATCTCAGTAACTCGTAAAAAATAATAATCCCAATAATTAAGGAAACAACTGGTCTTCAATACTAATATC
CTAATCACTTTTATTTGCCAACAATAACCTTCTCGGACTCTTCCCACTTACTACCTACCCGCAACTATCAATAAATCTGGCTATAGAAATCCCTCTATGAGCA
GGTACAGTAATACAGCCCTTCCGCTTCAAAAACCTAAAGGCTCTTAGGCGCACTTTTACCACAAGGTACACCCCACTACTTATCCCATATTAGTAGTTTGA
ATCAGTTTATTTTAAACCAAGTAGCCCTTGCCTGACGCCTAACCCGCAATTTACACAGGACATCTACTATGCAACCTAAATGGAAAGCTAGCTAGTACTA
ACCATAACCTTCTATAGCCTCACTAACTTTAGTGTCTTATGATTAATAAATAATTTAGAAATTTAGAAATTTAGAAATTTAGAAATTTAGAAATTTAGAA
CTGATGTTGCTGACTCTTTCTATATCTTCCATTTACTGATGAGGTTCTACTTCTTATGATAAATAGTAACTAGTACAGCCCACTTCAACTAGTACAGCCCACT
AAAAAGGATAATTAATCTAATACTAATCTAATAAATTAATACCTCTTAAACCACTTGTCTAATAAATTAATTTTGGCTACCCCACTCACTCTTATGTAGAAAA
AGCCAACCTTACGAAATGCGGGTTGACCCATAAACTGTGCTGATTTCCCTTCCATAAAATTTCTCTAGTCGCTATTAACCTCTGCTGTGCTGATTTGAAATC
GCCTGTCTATTTGCCCTTGCATAGCCCTCCAAAACAACAAACCTTCCCGTAAATGATCAAGTCAATCAATCACATTAATAATTTTAAACCTCAGCTCCGCTATGAA
TGAACCTAAAAAGGTTTATGATGAACTGAAATTTGTAAGTAAATTTAAAGTAAAAAATAATTTGACTTAAATTTATGTTAATCACTAACAACCAATGCTCAAT
TTATATAACCAATTAATAGGATCACTACTCCTCGGGCATATAATCTATGCTGATCAATGCTACCTCAATGCTACCCCTAATGCTACCCCAATTAATACTCACT
TTATCATAAAGTACTCTTACTGCATTAACACTCACTTCCCTGCCAATATAGTACCTATTTGCTTACTAGTATTTGGCTTGGAGGCTGGCAGGCTGGGCTGGCC
TATTAATTTCACTCAACACATAGCGGCTAGCCATACCGAACAATACTCAACTTCAAGTAAATAAATTTCCCTACATAGTACTATCAACAACACTG
ATTTCCAAAACCACTAGTCTGAATTAACCTAACAACACTGCTAATAATGACTGACACTGCTTCCCTTATATTTCTCAATCAAACTAATAAACCTTATTAGCCA
CTCGCACTATTTACTTCCAGTCCATTAACAACACTCTTCTAATACTGACAGCCTGACTGCTCCCTCATAATTAGCAGCCAAATCACTACACAATGAAAG
TCCCTGGCAAAAACCTTTACTCTCCATAAATAATCTTCTCAAAATTTCCATAACTTATAGCCACAGAGTAACTTATCTTACTACTCTTATTTGAAACA
ACCTTATCCCACTCAATTTATATACCCGATGAGGTAACCAAGCAAGCCCTCAACGCAAGCATAATTTCTTATTTAATACATTTAGCTGGTTCCTCACTCT
CTAATTTAATTTATATACACATAACAATAAGGCTTAAATTTCACTAATCACTAATCACTCACTCACTCACTCACTCACTCACTCACTCACTCACTCACT
CTAGACTGCAATAATGGCTTTATAGTAAAAATACCCCTATATGGTCTCACTCACTCACTCACTCACTCACTCACTCACTCACTCACTCACTCACTCACT
CGCGTGTCTTAAATTTAGGCGGCTATGGCATAATAGCAGTACACCAATTTCAACCCCTAACAGAACATATAGCTCACTCTTTTCTTACTACTACTTGGGG
ATAATTAACCTAGCTCAACTGTCTCCGACAACAGATTTAAAATCGCTATTGCATCTCTCTGTAAGCCACATAGCCCTTGTAAATCATAGCTCCCTATTCAA
ACCCCTGAAAGCTTTACGGGCTATCATCTTATAATTTGCCACGGACTACTCTATATTTCTGCTTAGCAAACTCAATTCAGCAAGCAACCCAGCCGCT
ATTAATTTACTTTCTGAGGCTTCAAAGTCTACTTCCATAATAGCCTTCTGATGTTAGCAAACTCAACCAATTTAGCTTACCTCTACCTCCCTAATTTG
GGGAGTTATTAGTAGTACATCTCTTCTTGGTCCATATTAACATAAAAACCTTTTACAGGAAACATGCTAATAATTTATACATATTTCTTATGAAACG
AACCAACGAGGAAACACTCCCTCCATATTTAACAATAAAAACCTTTTACAGGAAACATGCTAATAATTTATACATATTTATCTTCTTCTTCAACCT
TAATCTAGCATTATTAGGCTTACCCCTTGAATAATAGTTAAATAAAAACTTAGATTTGTAATTAAGAAATAGAAATAGAAATAGAAATAGAAATAGAA
ATTGCAAGGACTTAACTGCTGACCACTGCCCCGCTTTTAAAAAACCGGCTACTCACTTCAACTTTAAAGGATAACAGCTGTCCATTTGGCTTACCAACTTGGTGA
ACTCAAAATAAAGTAATAATAGCACACTCCATTTTATATTAGCCTAACCCCTTAACTTTCCGATTTATTTACCCTTATTAGCCCAATAAAAAATAATA
TACCACCAACTATGTAACCAACTATGATATTTACTTACTATTTAGTCTATCCCAACCAACTATTTACTTTCTAGGTCAAGATACAACTATCAACCTGACAT
GAATAACCAATCAACTAGAAATTAACATAAGTTTAAATGGACTTACTCCGTAATTTACCCCAATTTGCACTATTTATGTTGGTGTATTAGAAATTTCT
ACTATGATACATAGACTAGACCCAAACTAACAATTTCTTCAATATCTTCTACTCTTACTTACCATGCTAATTTTAGTACCCTGTAACCACTTCCAGCT
TTTATGGGTGAGAAGGTGAGGAATTTATATCTTTCTACTAATCGGCTGATGATAGCTGCAACAGAGTGTCAACAGCAGGCTTCAAGCAATTTGATATAACCG
CATTTGGTATATTGGTTTACTGACCAATAATGGTTTCTCCCTCAATTAACCTAGACTTCAACAATAATTTATGCTTCAAGCTCCCAACCCCTACTTCT
TTAGTGGGTACTTATTTAGCAGCAACGAAATACGCCCACTCGCCCTTCACTGTTTACCCTGGCTATAGAACGGCCCACTCAGTATAGCCCTACTTCA
CTCCAGTACTATAGTAGTGGGATTTTCTTACTTATTCGCTTCCACCACCAATAGAAAAATAACAACAATTTCAAAGTCTTACTACTATGCTAGGAGCTATTAC
TACCATTTCAATAGAACTTCCGCTTAAACAATAAGCTATTTAAATAAATTTAGCTTCTACTGACTAGAGAAATCAATACCTAAAAAATTTACACACCCATATTT
TCAACCCGACTAGCTTTTCTACATATCTGACTATGCCTTTTCAAAGGCTACTATTTACTCTGCTTGGGTTCTAATAACCAAAATGAAACAGACATC
CGAAAATAGGAGGACTTTTAAACAATAACCCCTCACTCACTTCCCTGATAATCGGTAGCCTAGCACTCAGGCAACCTTCTTCAAGGTTATTACTCCAAA
GACCTCATCTGAAACCCGCAACACATCATACACCAACCGCTGGCCGCTATGATATCACTTTATCGCTACCTTAAACAAGCCCTCAGCAGCCCAACTTAT
CCTCACATAACAGGATCACTCGTTTCTTCACTCCGATATATTAATGAGAACAACCCCACTTAAACCCCAATAAAGCCCTAGCAGGAGGATGTACTCG
CAGGATTTTCTGCTCAACAACACTTCTCCGACTCAGTTCTCAATTAACAACACTTACTGAACTGAACTCCGCTTATTTGGTACCCCTAGCTTACTGCTTAAAC
AGCCCTAGTCTGACCTCATAACTAACAGTCTCAAAATAAATACCCCACTCGCACAATTTCAAATTTCTCAATATACTAGGATATTTTCAATTAACAATTCACCGAAC
AGTTCCCTACCAAACTAACCATAAGCCAAAACCTAGCCCTCTTATTACTAGACTTACTGACTAGAGAAATCAATACCTAAAAAATTTACACACCCATATTT
TACAGCCACTCACTCAACCCAAAAGGCTAACTCAAGTTATATTTCTCTTTTCTTTTCCCTCACACTAATCCCACTTTTAAATTAATACTAATTAACCCG
AGAAATTTCAATAACAATAAACAACCAAAATAATGTTTCAACCAACAACTAGCACAACCAACGCCCAATAATCAAAAGCAGCCCAACTAGAAATGAACTCTCA
CGAATCAACCCCGCCCTCCCTCAAAAATCACCACTCCCTGCGGCTGATGATCACTTTTCAATTAATACTACTCACTCACTCACTCACTCACTCACTCACT
ACCTCATTTGCCAATCAACCAAAAACTCCCAAACTCAAACTGAAACCTGCTGAGGATTTCTTCAATAGGCTTCCGATGATTAATCAAAAGCAAC
CCTTCAAACTAGTAATACTCAAAAATTTAAACCTATAAAGTACCCCACTTAAATTAATAGCAACCACTAACAACCACTAACAACCACTAACAACCACTAACAAC
CCCTAATAATAGGAGAAGGCTTAGAAGAAAAAGCCCAAAAACCCATAACTAATAATACGCTTAAATAAAAAATAAATAATAGCAATTTTCCACATGGACTTAAAC
CATGATTAATGATAGAAAACCACTCGTTGATTTCAACTATAAAAACCACTAATGATCCCGGACGCAAACTCAATCCAAATTAAGAAATTAATAACTCACTCCCTCAT
TGATTCACCAACCCATCAACACTCAGCATGATGAACTTTGGTCCCTTTTGAACCCCTGTTAATTTTCAAACTCAGCAAGGCTTACTTAGCAATACTA

GACTTATGCTTACTCATTACACCAACTACCCAACTTCCATAAACTAGCTATAGCAATCCCTCTATGATCGGCCACAGTAATAGTGGGGCTCCGCTTTAAAAACA
AAAACTCCCTAGCCCACTCTACCAAGGCACACCCACACCTCTCATTTCCATGTTAGTAGCAATCGAAACTATCAGCTACTTTATCAACCAAGTACTGCTAGCCG
TACGATTAACCCGCAAACTACAGCCGCGGCTCTGCTAATACACCTAATCGGAAACCGTGTACTAGCACTATCAACCAACCACTTCCCAAACTCTGTAACCTCC
ACACTTCTAGTATTACTAACCACTAGAAATTCGAGTAGCCCTAATCAAGCTATGCTTCCGCACTTAAATAGCTTTATCTCAATAAACCAACCACTAATGACCC
ACCAGACCCAGCTTACCACATAGTTAAACCCAGTCCCTGACCGCTGACAGGAGCTATGTCAGCCTTTAAACAACATCCGGCTTAGTCATGTTACTTCTACT
CTACACCCCTGCTAACTAGGCTACTAACCAATACACTAACCTTATCAATGATGACGTGACATTTGTCGAGAAAGTACATACCAAGGCCACCAACAAACCC
GTCCAAAAAGCCCTCGATACGGAAATAACACTATTGCATCATCTCAGAAGTATTTCTTCTCATCGGCTTTTACCCTCAAGCCCTGCCCCAACACCC
TGCTTAGGAGGCCATTGACCACCAACAGGCATACCCCTCAAAACCCATGAAAGTACCCTCCTAAACACTTCTGTATTGCTTGCATCCGGAGTTACAAATCACCTG
AGCTCATCAGAGCTCATAAACCAACGACCGAAAAACAACAATCCAAGCCCTACTCATCAACCTACTCGGCACCTATTTACCCTACTACAAATCTCAGAATACT
TCGAAGACCCCTTACCATCTCCGATGGCATCTACGGTTAAACATTCTTCTAACACAGGCTTCCATGGACTCCATGTTATTATCGGATCTACATCTCTTTATCTG
CTTACATCCGCCAACTACACCACTTGCATCAAAACCATCACTTCCGCTTGAAGAGCCGCTTGATATTGACACTTCGTAGATGTTGCTGACTCTCTTACATT
TCTGTATTGATGAGGATCTACTCTTTAGTATAACAAGTACAATTGACTTCCAATCAATCAGTTTGGACAACATCAAAAAAGGTAATTAATCTAGTGTAGCC
TTAAACAATCAACACCTTAACTCCGCTATTGATAGTTATCATATTGACTACCCAGCTCAACCCCTATATAGAAAAAACCCAGCTTACGAGTGGGGATTGAC
CCCTTAAACCCCGCTCGCATCCCAATTCATAAAAAATTTCCCTAGTTGCCATTTACTTCCCTACTATTTGACCTAGAAATCGCCCTACTACTACTTCCCTAGCCCA
TTCAAAACAACAAATCTCCCAATAAATAATCAAAATCGACCATCGCTTTATTATTATCTCAATTTCTCAGTCAACCTATGAATGAACCCAAAAAGGGCTAGACTGAGCC
GAATTGGTAAGTAGTTTAAACAATAAATGATTTGACTCATTAGATTATGATAACCACTAACCAATGACTTACCTACATAAATATTATAGCATTCACT
ATCTCTCTTAGGCATACCTAACCTACCGCTCACACCTAGTAGGCTCTCTCTTCTGCTTGAAGGAAATGATATACCTCTTCATATAGCCGCTTATTTGCTTCA
ACATACACTCCCTTAACTAACCAATTAACCCATCATCTTGTAGTATTCCGCGCTTGAAGAACAGCAGTAGGCTTCTGCTTACTAATTCATAATCAACATACG
GACTAGATTACGTTCAACCTAACCTGCTTCAATGCTAAAAATAATTATCCCAACACCACTACTACTGCCATAACATGACTCTTAAAAATAACAAATTTGAAT
CAACTTAACTATACATAGTTAACTATCAGCTTACTTCCCTACTATTCTCAACCAACCAACCAACCTTCACTCACTCACTCACTTCCCTGACCCCTACCTG
ACAACACCCCTCTTAACTAACCAATCTGACTTACTCCCTCATGTTATAGCCCTATGTTATAGGAGCCAGTATCACCTATGCAATGAACCCCTTCCACAAAAAGAACTCTCTCTC
ATAACAATTTCTCATAAACTCACCTAATCTTAAACATTTCATGGCCACAGAAATTAATTTTACATTTATTTGAAACCCCTCACTTCCACCCCTAATTAATTA
CAAATGGGGCAACCAAGCAAAACGCTTCAACGCAAGTACTTACTTCTTACTACACACTAAGCGCTCTACTCCCTCCACATATTCACCAACACACAGGAGGACACAC
AACAGAGCTTATAAATATTACTAATAACTCACAGACCAAAAACTAAGCAACCTGATCTCACAACCTTACTCTGACTAGCATGATAAAGCTTATTTGCTTAAAC
AAAACTCCCTATATAGCCCTACACTGACTTCTTAAAGCCATGTCGAAGCCCACTTGGGGGATCAATAGTTCTTCCGAGGATCACTTAAATCTTCAAACTAGTGGCT
ATGGCATAATACGACTTACTCCATCTTAAACCCCTAACAGAATACATAGCTTACCATTCTCATATTAATCTTGTGGGGCATAATCATAAACAGCTAACATGCC
TCCGACAAACAGATCTAAAATCACTTATCGCATACTTCTGTAAGCCACATAGCCCTTGTAAATGTAGCTCCCTCATCCAAACCCCTGAAGCTTCTCCGGCGCAA
CCATCTCTATAATTTGCTCAGGACTCACCTCTTCCATATATTTCTGTCTAGCCAAATTCAAACTATGAACGCCTCACACACCGTACTACTAGCCGAGGACTTC
AAATCTACTTCACTAATAGCTTCTGATGATTAAACAGCAAGCTCACTAACCTTGGCCCTACCCCTCACTTCAACCTACTAGGCGAACTTTTGAATCGGGACCT
CATTTCTCTGGTCCCATATCACCATTATATTAACAGGACTTAAACATACTAATTAAGCCCTTACTCCCTCCACATATTCACCAACACACAGGAGGACACAC
ATCATAATCAACCAATTTCAAATACCTTCAACAGGAAACCTTAAATATTACTACAGCTCCCAATTAATCTCTCTTCAACCCCAACATCACTCTGGGT
TTACTTCTGTAGATATAGTTAACTAAACATTAGACTGTTGATTTAACTATAGAGCTTCCACCCCTTATTTACCGGAGAACTCGGAGACTGCTAAATCACTG
TATCCGTACCTAAAATACGGTTTCTCAACTTTTAAAGGATAACAGTATCCATTGACCTTAGGAGTCAAAAAATTTGGTGAACCTCAAAATAAAAGTAATAATCAT
GCACCCCTTATCATAATAACACCCCTTATCTCCCTGACTCTCCCGATTTTGGCCACCTCATCAACCTTACAAAAACGTTCCATACCCAGATTACGTAACAAACA
CGTAATAATAGTTTACTATCAGCTCCCTCAACACTTTTACTACTTCTCAAAACCAAGCAACCACTTGGAGCTGACATTTGAATAAATAGCCAAACACTAGA
CCTAACACTAAGCTTCAAATAGATTACTTCTCCATAATTTCACTTCAATCGCACTTATCATCACTGGTCCATCATAAGAAATTCCTACTATGATACATAAATCAGAT
CCAAATATCAACCAATTTCAAATACCTTATTTTCTCCTCAGTCCCACTAATTTCTAGTCTGCAACCAACCTTCTTCACTTCTTCAATTTATTCGGCTGAGAGGGGTAG
GAATCATATCTTTCTCCTAATTAGCTGATGATACGGCTCGAACAGCCCAATACAGGAGCTTCCAGGCAATCTTATATAATCGCATCGGGACATTTGGTCTTATCC
TAGCTATAGCATGATTTCTCCTGATTGAACTCATGAGACTTCAACCACTAAGCTTAACTGACTTCAACTTCAACCTCAACCTCCCACTTAACTAGGCTCTCTAGCAG
CAGCAGGAAAACTCAGCTAATTCGGCTTCCACCCCTGACTACCTTCCGATAGAAAGCCCACTTCCAGTCTCAGCCCTACTTCACTCCAGTACCATTAGTTGTCGG
GAGTGTCTTACTACTCCGCTTCCACCCCTTAAATAGAAACCAACCAATGATTCAAATCTTACATTAAGCTTGGGGGCTATTACTACCTTATTTACCGCATCTCGG
CCCTCACACCAACGACATAAAAAAATTTAGCTTCTCCCACTTCAAGCCCACTAATAATAATCAACCTTGGTATGATCAACCAACCTACTAGCTTCCAT
CACATCTGCACCCATGCTTTCTTAAAGCCATACTTTTATATGCTCCGGATCCATTTATCCATAACCTAAACCAACGAAACGACATTCGAAAAATAGGAGGCTTATC
AAAACATACCTCTCACCTCAACTTCCATAACTTGGCAACCTAGCACTACAGGAAATACCTTCTCACAGGCTTCTTCAACCAACCTTATCATCTGAAGCCACA
AACAGCTGACACCAACGCTGAGCCCTATTCACTACTCTCATCACTACCTTCTTCAACAGGCGCTTACAGCACTCGAATCTTCTCACCCTAACAGGAAACCC
CGTTTCCAGCTTAAACAACCTAACGAAAAACAACCCCGCTACTAAACCCAAATTAACGCTTCAACATAGGCAATGATAACAGGATTTCTTATCACCACAA
CATCCCCCACTTCACTCCCCAACCGCAATACCCCTTACTTAAAGCTTCTCAGCCCTTATGGCCAACTGGCCAACTGGCCCTAGGCTTCTAGCAGCCCTACCCCTTAT
AACAAACAACTGAAAAATAAAAAACCCATGACAAATATTCAAATTTCTCCAAATATACTAGGATATTTCCACCACAATTCACCGCAACTCCCTATCAAAACCTAC
TCATAAGCCAAAAATTTAGCCCTTCTCCTATTAGACTCGACATGACTAGAAAAATCTACTAAATAAATCTCAAGACACACTCACTTCCATAGCTGTAAACC
ACCCAAAAAGGCATAATCAAACCTATTCCCTTCTTCTCCTATCCCTTACCCTTGGCCCTAATTTCAATAATAAACCTTATCCCGGAAACATCTCAATCACAC
ATACACAGCAACAAACCACTTCAACACGCAACTACCCTAATCAAGCCCAATAATCATATAAGGCAACCCGCAACCAATAAGAACTCACTGAAATCACTCACTG
CCCCCTCAAAATTACCAGTACCCGGTATCACTAAAACCTAACCCCACTACTACCCTCATTTAAACTTAAACCCATAAAACCAATATCACTTCCATCATCAAC
CCCCTAAAAGACCCCTAAAACCTCAACCCAGAACCCCATGCTCAGGATACTTCAATAGCCATCGCAGTAGTATAACAAAAACAACCATCATACCTCCAG
ATAAACTAAAACATCAITAAACCTATATAAGCTCCCCACAACITAAAACAACCCACAAACCAACCAACCACTAAACATTAACGCCAGACCCCAATAAATAGGA
GAGGGCTTAGAAGAAAAACCCCAAAACCCCAATAACTAATAAAACACTCAATGCAAAACAAACATACGTCATCGCTTTCACATGGACTCCAACCAATAACTAATGGTA
CGAAAAACCATCGTTGACTTCAACTATAAAAGCACCATGATTCCAATACGCAAAATCCAACCCCAATCATAAAAAATAAATTAACCGCTCTTCAATTTGATTTACCCACC
CCACCCAACTTCCATGTGATGAACTTTGGCTCACTTCTTGCAGCTGCTAGTTTTACAATCGTACAGGCTACTCTAGCAATACACTACTCACCAGACACC
TCTCCGCTTCTCCTCAAATGACATATACCCGAGATGAAAGTAGGGCTGAATCACTCGCTACTCCAGCCCAATGGTCCCTCTACTTTTATCTGCTTTTCC
TACACATCGGTGAGGCTTACTACGGCTCATATCTCTCTAGAAACCTGAAACATTTGGCATTATACTCTTCTTATAACCAATAACACAGCTTTATGGGCTATG
TTCTCCATGGGGCCAAATGTCATTTGGGGGGCAACAGTAATTAACAACTACTACTCAGCAATCCCGTATATTGGAACCAATCTAGTCAATGAATTTGAGGAGGA
TACCCATCGACAGCCCACTCTCACACGATTTTCACTTCACTTATTTCCCTTATTTACTCGCCCTCACAGCTGTACACTACTTCTTCTACAGCAAAACAG
GATCAAAACACCCCTGGGAATCTCCTCGACTCGGCAAAAATCGTCTTCCACCCCTACTACAAATCAAAGACATCTAGGCTAGTCTCTCTCTTATCTCTAG
CAACATAACACTACTCTACCCCAACTTCTAAACGACCCAGACAATACTTCCAGCCCATGAATATCAACTGAACCAATTCATGCTAGTCTGCTTACATTAAGTCTGTTCA
TTTGATACACAATTTACGATCCGTCCCCAACAACTGGGAGGCTATGACTCTTCTATCGATCTTCACTTAGCAGCCATCCCACTTCCACAAATCCAA
CAACAAAGCATAAATTTCCGCCACTCAGCCAACTTCTTCTGACTTAAATAACAGCTTAAACCTTACCTGAGTTGGAAGTGAACCACTCAACCCCTT
ACCATATCGGCCAAGTAGCATCAATAACTTCTATCAATACTTAACTCAATACCACTGGCCCTCCATCGAAAACAACCTTCAATGAACCTTGGCCCTG
AGTATAAACTAATCACTGGTCTTGTAAACAGAAATGAACACTTCTTCCAGGGCAATCAGAAAGAAAGTACTAATCTGCCACCAACCCCAAGCTGGCATTCT
AACTTAACTTTTCTGCAATTTATGTTGATAAACTTCAAAAAATAACCCATAACCAACCTACCATAAATTTACTATGTAATTCGTGCAATTACTGCTAGCCAA
ATGTAATAATATAGTACTATATGCTTAACTGTACATAACACATATCATTACATATCAACTTAACTCCTAGACAACATGCTTACAAGCAAGTATCTAATAACAAG
TCTCAACAGCAATACATATAGGCTTTCAAACCTTAACTTGTCCCCCTCATGAATATCAACTGAACCAATTCATGCTAGTCTGCTTACATTAAGTCTGTTCA
TCGGACATAGTACATTTCAATAAATCTCTTCCACAGGATGCCCCCTCACTTAGAAATCCCTTGTTCACCTCCGTTAAATCAATCTCCGCAAGCA
GTGCTACTCTCTGCTCGGGCCATAACTCGTGGGGTAGTATACTGACTTAACTGACTTAACTGGCCTTCTTACTCAGGCGCAATAACATCAAGTACCCCA
CGTTCCCTTAAATAAGACATCTCGATGATCAGGGTCTATCACCCTAATACAGTACCGGAGATTCCATGCAATTTGGTATCTTTATCTGCTGCTGACGCA
ACCCATTTGGAATGCTGACTCCACCATCTCGTCTGTATGGCCCTGTTGATTCCTAGTACATGCAAGTGTGTTGATCGCACTACGTTCAATTTCTAGCTCC
ACGCAAACTTAGAAGGTGTTAATTAATCATGCTTGTAGGACATAATAAACCCTTCAACCAATATCACCAACCACTAACCCACACCAACCTG

Số: 228 /QĐ-HVKHCN

Hà Nội, ngày 30 tháng 03 năm 2026

QUYẾT ĐỊNH
Về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện

GIÁM ĐỐC
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

Căn cứ Quyết định số 364/QĐ-VHL ngày 01/03/2025 của Chủ tịch Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam về việc ban hành Quy chế Tổ chức và hoạt động của Học viện Khoa học và Công nghệ;

Căn cứ Thông tư số 18/2021/TT-BGDĐT ngày 28/06/2021 của Bộ Giáo dục và Đào tạo ban hành Quy chế tuyển sinh và đào tạo trình độ tiến sĩ;

Căn cứ Quyết định số 1968/QĐ-HVKHCN ngày 28/12/2021 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc ban hành Quy định đào tạo trình độ tiến sĩ tại Học viện Khoa học và Công nghệ;

Căn cứ Quyết định số 2029/QĐ-HVKHCN ngày 30/11/2022 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc công nhận nghiên cứu sinh đợt 2 năm 2022;

Căn cứ Quyết định số 948/QĐ-HVKHCN ngày 02/10/2025 của Giám đốc Học viện về việc gia hạn thời gian học tập lần 1: 06 tháng từ 30/11/2025-30/05/2026 cho NCS Nguyễn Thị Thủy Trâm;

Xét đề nghị của Trưởng phòng Đào tạo.

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Thành lập Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện cho nghiên cứu sinh Nguyễn Thị Thủy Trâm với đề tài:

Nghiên cứu đặc điểm bộ gene ty thể của một số loài Linh trưởng ở Tây Nguyên
Ngành: Công nghệ sinh học Mã số: 9 42 02 01

Danh sách thành viên Hội đồng đánh giá luận án kèm theo Quyết định này.

Điều 2. Hội đồng có trách nhiệm đánh giá luận án tiến sĩ theo đúng quy chế hiện hành của Bộ Giáo dục và Đào tạo, Học viện Khoa học và Công nghệ.

Quyết định có hiệu lực kể từ ngày ký đến trước ngày 17/06/2026. Hội đồng tự giải thể sau khi hoàn thành nhiệm vụ.

Điều 3. Trưởng phòng Tổ chức - Hành chính, Trưởng phòng Đào tạo, Trưởng phòng Kế toán, các thành viên có tên trong danh sách Hội đồng và nghiên cứu sinh có tên tại Điều 1 chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này. /s/

Nơi nhận:

- Như Điều 3;
- Lưu hồ sơ NCS;
- Lưu: VT, ĐT, MT10.

GIÁM ĐỐC

GS.TS. Vũ Đình Lãm

DANH SÁCH HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

(Kèm theo Quyết định số 228 /QĐ-HVKHCN ngày 30 / 03 / 2026

của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ)



Cho luận án của nghiên cứu sinh: Nguyễn Thị Thủy Trâm

Về đề tài: Nghiên cứu đặc điểm bộ gene ty thể của một số loài Linh trưởng ở Tây

Nguyên

Ngành: Công nghệ sinh học

Mã số: 9 42 02 01

Thầy hướng dẫn chính: PGS. TS. Lê Thành Long

- Viện Khoa học sự sống, Viện Hàn lâm KHCNVN

Thầy hướng dẫn phụ: PGS. TS. Thái Kế Quân

- Trường Đại học Sài Gòn, Ủy ban Nhân dân TP. HCM

TT	Họ và tên, học hàm, học vị	Chuyên ngành	Cơ quan công tác	Chức trách trong Hội đồng
1	GS.TS. Hoàng Nghĩa Sơn	Sinh học	Viện Khoa học sự sống, Viện Hàn lâm KHCNVN	Chủ tịch
2	GS.TS. Đặng Thị Phương Thảo	Sinh học phân tử	Trường Đại học Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh	Phản biện 1
3	TS. Đoàn Chính Chung	Sinh lý học người và động vật	Viện Khoa học sự sống, Viện Hàn lâm KHCNVN	Phản biện 2
4	TS. Nguyễn Hoàng Dũng	Công nghệ sinh học	Viện Khoa học sự sống, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên - Thư ký
5	PGS.TS. Nguyễn Thanh Bình	Y sinh	Trường Đại Y khoa Phạm Ngọc Thạch, Ủy ban Nhân dân Thành phố Hồ Chí Minh	Ủy viên
6	PGS.TS. Trần Hoàng Dũng	Công nghệ sinh học	Trường Đại học Công thương TP.HCM, Bộ Công thương	Ủy viên
7	PGS.TS. Lao Đức Thuận	Công nghệ sinh học	Trường Đại học Mở TP.HCM, Bộ Giáo dục và Đào tạo	Ủy viên

(Hội đồng gồm 07 thành viên)./.

VIỆN HÀN LÂM
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VN
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

ĐẢNG CỘNG SẢN VIỆT NAM

TPHCM, ngày 27 tháng 5 năm 2026

DANH SÁCH HỘI ĐỒNG THAM DỰ BUỔI BẢO VỆ

Nghiên cứu sinh: Nguyễn Thị Thủy Trâm

Tên đề tài: Nghiên cứu đặc điểm bộ gene ty thể của một số loài Linh trưởng ở

Tây Nguyên


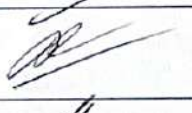

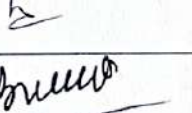
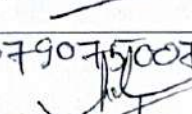
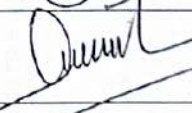

Ngành: Công nghệ sinh học

Mã số: 9 42 02 01

Ngày bảo vệ: 09h00, Thứ Tư ngày 27 tháng 05 năm 2026

Quyết định thành lập Hội đồng số: 228/QĐ-HVKHCN ngày 30/03/2026 của

Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ

TT	Họ và tên	Chức danh trong Hội đồng	Chữ ký
1	GS.TS. Hoàng Nghĩa Sơn	Chủ tịch	
2	GS.TS. Đặng Thị Phương Thảo	Phản biện 1	
3	TS. Đoàn Chính Chung	Phản biện 2	
4	TS. Nguyễn Hoàng Dũng	Thư ký	
5	PGS.TS. Nguyễn Thanh Bình	Ủy viên	
6	PGS.TS. Trần Hoàng Dũng	Ủy viên	
7	PGS.TS. Lao Đức Thuận	Ủy viên	

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

BẢN NHẬN XÉT ĐÁNH GIÁ LUẬN ÁN TIẾN SĨ

Của Nghiên cứu sinh: **NGUYỄN THỊ THỦY TRÂM**

Với đề tài: **“NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM BỘ GENE TY THỂ CỦA MỘT SỐ LOÀI LINH TRƯỞNG Ở TÂY NGUYÊN”**

Ngành: Sinh học ứng dụng, chuyên ngành: Công nghệ sinh học

Họ tên người nhận xét: GS.TS. Hoàng Nghĩa Sơn

Cơ quan công tác: Viện Khoa học sự sống, VAST

Ý KIẾN NHẬN XÉT

Đánh giá chung:

- Đề tài có giá trị khoa học và ý nghĩa thực tiễn.
- Tên đề tài phù hợp với nội dung nghiên cứu cũng như chuyên ngành đào tạo của luận án.
- Các kết quả nghiên cứu của đề tài không trùng lặp với những công trình hay luận án đã được công bố trong và ngoài nước. Nội dung tổng quan, phương pháp nghiên cứu và kết quả nghiên cứu được trình bày rõ ràng, trung thực; các tài liệu trích dẫn đầy đủ, phù hợp và có tính cập nhật.

1. Tính cấp thiết

Phần tính cấp thiết, mục tiêu và câu hỏi nghiên cứu của luận án được xây dựng tương đối đầy đủ, có tính logic và phù hợp với hướng nghiên cứu về hệ gene ty thể và phát sinh loài linh trưởng. NCS đã chỉ ra được bối cảnh suy giảm đa dạng sinh học và sự thiếu hụt dữ liệu hệ gene ty thể của các loài linh trưởng tại Việt Nam, đặc biệt ở khu vực Tây Nguyên và chỉ ra được khoảng trống nghiên cứu và ý nghĩa khoa học – thực tiễn của việc giải trình tự hệ gene ty thể hoàn chỉnh phục vụ nghiên cứu phát sinh loài và bảo tồn. Các mục tiêu nghiên cứu rõ ràng, khả thi và phù hợp với phương pháp nghiên cứu đã lựa chọn.

2. Tổng quan

Phần tổng quan của luận án được xây dựng tương đối đầy đủ, có tính hệ thống và thể hiện sự đầu tư nghiêm túc trong việc thu thập, tổng hợp tài liệu liên quan đến lĩnh vực nghiên cứu. Nội dung tổng quan bao quát được cả bối cảnh bảo tồn linh trưởng, vai trò của ADN ty thể và các nghiên cứu phát sinh loài trong nước cũng như quốc tế.

NCS đã trình bày logic theo trình tự từ bối cảnh chung đến vấn đề nghiên cứu cụ thể, giúp người đọc dễ dàng theo dõi và hiểu được cơ sở khoa học của đề tài. Các nội dung về đặc điểm hệ gene ty thể, vai trò của các marker di truyền như *cytochrome b*, *16S rRNA* và *D-loop* được trình bày khá rõ ràng, phù hợp với định hướng nghiên cứu phát sinh loài linh trưởng.

Phần tổng quan cũng cho thấy NCS đã tham khảo nhiều công trình nghiên cứu trong và ngoài nước, cập nhật được các hướng nghiên cứu hiện đại về mitogenome và phylogenetics. Đặc biệt, việc lồng ghép các nghiên cứu liên quan đến linh trưởng Việt Nam và khu vực Tây Nguyên đã góp phần làm nổi bật ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài.

Ngoài ra, NCS đã bước đầu chỉ ra được khoảng trống dữ liệu về hệ gene ty thể của linh trưởng Việt Nam, từ đó tạo được sự liên kết chặt chẽ giữa phần tổng quan với mục tiêu và nội dung nghiên cứu của luận án. Điều này cho thấy đề tài có cơ sở lý luận phù hợp và định hướng nghiên cứu rõ ràng.



3. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Phần vật liệu và phương pháp nghiên cứu của luận án được trình bày tương đối rõ ràng, có tính hệ thống và phù hợp với mục tiêu nghiên cứu đã đặt ra. NCS đã lựa chọn hướng tiếp cận hiện đại trong nghiên cứu di truyền phân tử và phát sinh loài linh trưởng thông qua giải trình tự và phân tích hệ gene ty thể hoàn chỉnh.

Đối tượng nghiên cứu được xác định cụ thể, tập trung vào các loài linh trưởng có giá trị bảo tồn cao tại khu vực Tây Nguyên Việt Nam như Chà vá chân xám, Chà vá chân nâu, Chà vá chân đen, Khi mặt đỏ và Khi vàng. Việc lựa chọn các loài này có ý nghĩa khoa học và thực tiễn rõ rệt trong bối cảnh thiếu hụt dữ liệu di truyền của linh trưởng Việt Nam.

Các phương pháp nghiên cứu được triển khai tương đối đầy đủ và phù hợp với xu hướng nghiên cứu hiện nay, bao gồm:

- tách chiết ADN,
- xây dựng thư viện giải trình tự,
- giải trình tự thế hệ mới,
- lắp ráp và chú giải hệ gene ty thể,
- phân tích tin sinh học,
- xây dựng cây phát sinh loài dựa trên nhiều marker ty thể và toàn bộ mitogenome.

Điểm tích cực là NCS đã kết hợp cả các marker ty thể riêng lẻ (*16S rRNA*, *cytb*, *D-loop*) và dữ liệu toàn bộ hệ gene ty thể trong phân tích phát sinh loài. Cách tiếp cận này giúp nâng cao độ tin cậy và khả năng so sánh kết quả giữa các mức độ phân tích khác nhau.

Ngoài ra, việc sử dụng các công cụ tin sinh học và phương pháp phân tích phát sinh loài hiện đại cho thấy nghiên cứu có tính cập nhật và phù hợp với lĩnh vực genomics hiện nay. Quy trình nghiên cứu được xây dựng tương đối logic, có sự liên kết giữa thu nhận dữ liệu, xử lý dữ liệu và phân tích kết quả. Điều này góp phần đảm bảo độ tin cậy khoa học của luận án.

4. Kết quả

Phần kết quả nghiên cứu của luận án được trình bày tương đối đầy đủ, có hệ thống và bám sát các mục tiêu nghiên cứu đã đề ra. Các kết quả thu được thể hiện khối lượng công việc nghiên cứu lớn và cho thấy tác giả đã thực hiện được đầy đủ các bước từ giải trình tự, lắp ráp hệ gene ty thể đến phân tích phát sinh loài của các loài linh trưởng nghiên cứu.

Một điểm nổi bật là luận án đã xây dựng và phân tích được hệ gene ty thể hoàn chỉnh của nhiều loài linh trưởng phân bố tại Tây Nguyên Việt Nam như Chà vá chân xám, Chà vá chân nâu, Chà vá chân đen, Khi mặt đỏ và Khi vàng. Đây là nguồn dữ liệu có giá trị khoa học, góp phần bổ sung cơ sở dữ liệu di truyền còn hạn chế của linh trưởng Việt Nam.

Các kết quả về:

- cấu trúc hệ gene ty thể,
- thành phần nucleotide,
- gene mã hóa protein,
- tRNA, rRNA,
- vùng giàu A+T,
- vùng liên gene và vùng lặp, được trình bày khá chi tiết, kèm theo nhiều bảng biểu và hình ảnh minh họa rõ ràng. Điều này giúp tăng tính trực quan và khả năng theo dõi kết quả nghiên cứu.

Luận án cũng đã thực hiện phân tích so sánh sai khác trình tự giữa các cá thể linh trưởng Tây Nguyên với các trình tự đã công bố trên cơ sở dữ liệu quốc tế. Các kết quả này góp phần làm rõ mức độ tương đồng và khác biệt di truyền giữa các quần thể nghiên cứu.

Đặc biệt, việc kết hợp phân tích phát sinh loài dựa trên nhiều marker ty thể (*16S rRNA*, *cytochrome b*, *D-loop*) cùng với dữ liệu toàn bộ hệ gene ty thể là điểm mạnh của nghiên cứu. Cách tiếp cận này giúp tăng độ tin cậy trong việc xác định mối quan hệ tiến hóa và vị trí phân loại của các loài linh trưởng nghiên cứu.

Ngoài ra, phần kết quả được trình bày theo từng loài và từng nhóm nội dung phân tích, tạo được tính logic và thuận lợi cho việc theo dõi, so sánh giữa các đối tượng nghiên cứu. Điều này cho thấy tác giả có sự đầu tư trong tổ chức và xử lý dữ liệu nghiên cứu.

5. Các nhận xét khác (nếu có)

6. Công trình bố:

Mai Thi Phuong Nguyen† & Tram Thi Thuy Nguyen†, Tung Thanh Ha, Chi Nguyen Quynh Ho, Cuong Phan Minh Le, Huy Nghia Quang Hoang, Quynh Thi Nhu Nguyen, Tao Thien Nguyen, Dung Tri Luu, Khoa Dang Dang, Quan Ke Thai and Long Thanh Le*. (2024). Characterization of the Complete Mitochondrial Genome of the Central Highland Grey-Shanked Douc Langur (*Pygathrix cinerea*), a Critically Endangered Species Endemic to Vietnam (Mammalia: Primates). *Curr Issues Mol Biol* 46(9): 9928-9947. <https://doi.org/10.3390/cimb46090592>

Tram Thi Thuy Nguyen, Chi Nguyen Quynh Ho, Cuong Phan Minh Le, Nhan Lu Chinh Phan, Loan Tung Dang, Quan Ke Thai, Mai Thi Phuong Nguyen, Phuc Bui Tran, Long Thanh Le, Vu Quang Manh. (2025). The complete mitochondrial genome of the Vietnamese *macaca mulatta*. *Natural history* 126(3): 2-20. <https://doi.org/10.59879/11a6i>

Nguyen Thi Thuy Tram, Le Thanh Long, Ho Nguyen Quynh Chi, Phan Lu Chinh Nhan, Ha Thanh Tung, Dang Thi Tung Loan, Nguyen Thi Phuong Mai (2025) Analysis of the complete mitochondrial genome of Vietnamese *Pygathrix nigripes*. *Vietnam Journal of Biotechnology* 23(1): 25-39. DOI: 10.15625/vjbt-21785

7. Kết luận chung:

Đây là nghiên cứu có giá trị cả về mặt học thuật và thực tiễn ứng dụng. Các kết quả nghiên cứu được trình bày trung thực, dữ liệu được xử lý và phân tích tương đối đầy đủ, logic; đồng thời kết quả của luận án đã được công bố thông qua 03 công trình khoa học.

- Luận án đáp ứng yêu cầu của một luận án tiến sĩ chuyên ngành.
- Bản tóm tắt luận án phản ánh được những nội dung cơ bản và kết quả chính của luận án.
- Kính đề nghị Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ xem xét thông qua luận án, công nhận học vị và cấp bằng tiến sĩ cho nghiên cứu sinh.

Người nhận xét


Hoàng Nghĩa Sơn

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập-Tự do-Hạnh phúc

--o0o--

BẢN NHẬN XÉT ĐÁNH GIÁ LUẬN ÁN TIẾN SĨ

Của Nghiên cứu sinh: **NGUYỄN THỊ THUỶ TRÂM**

Với đề tài: **Nghiên cứu đặc điểm bộ gene ty thể của một số loài linh trưởng ở Tây Nguyên**

Ngành: Công nghệ sinh học Mã số: 9420201

Họ tên người nhận xét: Đặng Thị Phương Thảo

Học vị: Tiến sĩ Học hàm: Giáo Sư

Trách nhiệm trong Hội đồng: Ủy viên phản biện

Ý KIẾN NHẬN XÉT

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài:

Đề tài luận án có tính cần thiết và thời sự cao, phù hợp với xu thế nghiên cứu hiện đại trong lĩnh vực di truyền học phân tử, genomics và bảo tồn đa dạng sinh học, đặc biệt trong bối cảnh khủng hoảng suy giảm quần thể linh trưởng đang diễn ra trên phạm vi toàn cầu khi phần lớn các loài đang đứng trước nguy cơ tuyệt chủng.

Tại Việt Nam – một trong những trung tâm đa dạng linh trưởng quan trọng của khu vực Đông Nam Á với nhiều loài đặc hữu và nguy cấp – việc thiếu hụt dữ liệu di truyền, nhất là dữ liệu hệ gene ty thể hoàn chỉnh, đang là hạn chế lớn đối với các nghiên cứu phát sinh loài và xây dựng chiến lược bảo tồn hiệu quả.

Trên thế giới, xu hướng chuyển từ phân tích các marker đơn lẻ sang khai thác toàn bộ hệ gene ty thể bằng công nghệ giải trình tự thế hệ mới đã chứng minh ưu thế rõ rệt trong việc nâng cao độ phân giải và độ tin cậy của các nghiên cứu tiến hóa. Trong bối cảnh đó, luận án không chỉ có ý nghĩa khoa học khi bổ sung dữ liệu hệ gene ty thể, làm sáng tỏ đặc điểm cấu trúc, tổ chức và sai khác di truyền, góp phần hoàn thiện cơ sở dữ liệu

liệu phục vụ nghiên cứu phát sinh loài linh trưởng, mà còn có ý nghĩa thực tiễn sâu sắc khi cung cấp luận cứ khoa học cho việc xác định đơn vị bảo tồn, hỗ trợ quản lý quần thể, kiểm soát buôn bán động vật hoang dã và xây dựng các chiến lược bảo tồn phù hợp, hướng tới mục tiêu phát triển bền vững và bảo vệ đa dạng sinh học.

2. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với chuyên ngành đào tạo

Tên đề tài và nội dung phù hợp với chuyên ngành đào tạo; ngành Công nghệ sinh học

3. Sự không trùng lặp của đề tài luận án so với các công trình, luận án đã công bố trong và ngoài nước. Tính trung thực rõ ràng, đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo

Luận án không trùng lặp với các nghiên cứu trước do sử dụng bộ dữ liệu mẫu mới từ các quần thể linh trưởng khu vực Tây Nguyên Việt Nam và bổ sung dữ liệu hệ gene ty thể còn thiếu cho linh trưởng Việt Nam. Xét về phương pháp và kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu: hệ chỉ thị phân tử sử dụng, quy trình phân tích và nguyên lý cơ sở khoa học, luận án có mức độ kế thừa cao từ các nghiên cứu trước đây trong lĩnh vực di truyền phát sinh loài linh trưởng, đặc biệt là các nghiên cứu sử dụng marker ty thể và dữ liệu mitogenome. Tính kế thừa về phương pháp nghiên cứu này cho thấy độ tin cậy của dữ liệu và kết quả luận án.

Luận án có tính mới về bộ dữ liệu gene ty thể cho các mẫu linh trưởng Tây Nguyên, Việt Nam.

Nhìn chung luận án đã sử dụng nhiều nguồn tài liệu trong và ngoài nước, bao quát cả các nghiên cứu nền tảng và cập nhật trong lĩnh vực di truyền học phân tử và bảo tồn linh trưởng, cho thấy tác giả có sự tìm hiểu tương đối công phu. Các thông tin, số liệu quan trọng (như tình trạng khủng hoảng bảo tồn linh trưởng, vai trò sinh thái và vị thế của Việt Nam trong khủng hoảng linh trưởng, ứng dụng của ADN ty thể trong nghiên cứu phát sinh loài...) phần lớn đều có dẫn nguồn, góp phần đảm bảo tính khoa học và độ tin cậy của nội dung. Tuy nhiên, việc trích dẫn trong một số trường hợp còn mang

tính tổng hợp, chưa chỉ rõ nguồn gốc trực tiếp của từng số liệu hoặc luận điểm cụ thể; một số nhận định mang tính khái quát cao nhưng chưa kèm theo dẫn chứng chi tiết hoặc chưa cập nhật tài liệu mới nhất. Ngoài ra, cần kiểm tra kỹ sự thống nhất giữa trích dẫn trong nội dung và danh mục tài liệu tham khảo, cũng như chuẩn hóa cách trình bày tài liệu theo một quy chuẩn thống nhất. Do đó, có thể nhận định rằng luận án cơ bản đảm bảo tính trung thực trong trích dẫn, nhưng vẫn cần được rà soát và hoàn thiện thêm để nâng cao tính rõ ràng, chính xác và đầy đủ theo yêu cầu của một công trình khoa học.

4. Các đóng góp mới cho lĩnh vực khoa học chuyên ngành và độ tin cậy của các kết quả

Luận án có một số đóng góp mới cho lĩnh vực di truyền học phân tử và nghiên cứu linh trưởng, trong đó đáng chú ý là việc giải trình tự và cung cấp dữ liệu hệ gene ty thể hoàn chỉnh cho một số loài linh trưởng phân bố tại Việt Nam, đặc biệt là các loài thuộc chi *Pygathrix* và *Macaca*. Đây là nguồn dữ liệu còn hạn chế trong các nghiên cứu trước, nhất là đối với các quần thể tại khu vực Tây Nguyên, do đó có ý nghĩa bổ sung quan trọng cho cơ sở dữ liệu di truyền khu vực. Trên cơ sở dữ liệu thu được, luận án đã tiến hành phân tích đặc điểm cấu trúc, tổ chức hệ gene, thành phần nucleotide và so sánh sai khác trình tự giữa các loài, đồng thời thực hiện so sánh trực tiếp giữa các loài trong cùng chi *Pygathrix* bằng toàn bộ hệ gene ty thể – cách tiếp cận có độ phân giải cao hơn so với các nghiên cứu trước đây chủ yếu sử dụng các marker đơn lẻ. Bên cạnh đó, việc xây dựng cây phát sinh loài dựa trên dữ liệu mitogenome đầy đủ cũng góp phần làm rõ hơn mối quan hệ tiến hóa giữa các loài linh trưởng nghiên cứu. Ngoài ý nghĩa khoa học, bộ dữ liệu này còn có giá trị thực tiễn trong nhận dạng loài, truy xuất nguồn gốc và hỗ trợ công tác bảo tồn các loài linh trưởng nguy cấp tại Việt Nam.

5. Kết quả nghiên cứu mới của luận án:

- 1) Giải trình tự và xây dựng hệ gene ty thể hoàn chỉnh (mitogenome) cho các loài linh trưởng nghiên cứu (*Pygathrix cinerea*, *P. nemaeus*, *P. nigripes*, *Macaca arctoides*, *M. mulatta*) từ mẫu thu tại Tân Nguyên, Việt Nam. Cung cấp dữ liệu di

truyền mới theo khu vực Tây Nguyên, góp phần bổ sung vào cơ sở dữ liệu còn thiếu về linh trưởng Việt Nam trên các ngân hàng gene quốc tế.

- 2) Phân tích chi tiết cấu trúc và tổ chức hệ gene ty thể, bao gồm: 13 gene mã hóa protein (PCGs); 22 tRNA, 2 rRNA; vùng điều khiển (D-loop). Xác định và so sánh thành phần nucleotide, thiên lệch AT/GC, đặc điểm mã kết thúc/mã khởi đầu của các gene giữa các loài. Phân tích mức độ sai khác trình tự và biến dị di truyền giữa các loài, đặc biệt trong cùng chi *Pygathrix*. So sánh toàn bộ hệ gene ty thể giữa các loài trong chi *Pygathrix*.
- 3) Xây dựng cây phát sinh loài dựa trên dữ liệu mitogenome hoàn chỉnh, góp phần làm rõ quan hệ tiến hóa giữa các loài linh trưởng nghiên cứu.

6. Các công trình khoa học đã công bố của NCS

Kết quả của luận án đã được công bố trong 03 bài báo thuộc tạp chí khoa học, trong đó có 02 bài NCS là tác giả chính. Các tạp chí đều nằm trong danh mục tạp chí được hội đồng chức danh GS- PGS công nhận.

7. Ưu, nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án, tóm tắt luận án.

Luận án có những ưu điểm nhất định về nội dung, kết cấu và hình thức trình bày:

Về nội dung, đề tài có ý nghĩa khoa học và thực tiễn, phù hợp với xu hướng nghiên cứu hiện nay trong lĩnh vực di truyền học phân tử và bảo tồn đa dạng sinh học; đặc biệt, luận án đã cung cấp được dữ liệu hệ gene ty thể hoàn chỉnh cho một số loài linh trưởng tại Việt Nam, góp phần bổ sung nguồn dữ liệu còn hạn chế của khu vực. Các nội dung nghiên cứu được triển khai tương đối đầy đủ, bao gồm phân tích cấu trúc hệ gene, so sánh trình tự và xây dựng cây phát sinh loài, qua đó đảm bảo tính hệ thống. Về kết cấu, luận án được trình bày theo bố cục hợp lý, các chương mục sắp xếp logic, phù hợp với tiến trình nghiên cứu. Về hình thức, luận án được trình bày tương đối rõ ràng, có sử dụng bảng biểu và hình ảnh minh họa hỗ trợ cho việc trình bày kết quả.

Tuy nhiên, luận án vẫn còn một số hạn chế cần được xem xét:

Về nội dung, tính mới chưa thật sự nổi bật ở bình diện quốc tế, chủ yếu dừng ở việc bổ sung dữ liệu, chưa có nhiều đóng góp về phương pháp hoặc cách tiếp cận mới; phần

tổng quan và thảo luận còn mang tính mô tả, chưa phân tích sâu và chưa cập nhật đầy đủ các nghiên cứu gần đây. Về kết cấu, cách trình bày kết quả theo từng loài còn lặp lại về cấu trúc, thiếu phần tổng hợp chung để làm nổi bật các nhận xét mang tính khái quát.

Về hình thức, việc trích dẫn tài liệu chưa hoàn toàn thống nhất, một số tài liệu chưa được cập nhật hoặc trình bày đầy đủ theo quy chuẩn; bên cạnh đó vẫn còn một số lỗi diễn đạt và trình bày cần được chỉnh sửa.

Một hạn chế khách quan khác của luận án là số mẫu linh trưởng được phân tích... do vậy luận án cần có những bản luận làm rõ hơn về hạn chế này để có những đề xuất hợp lý

Nhìn chung, luận án có chất lượng khá cao, song cần được hoàn thiện thêm để nâng cao tính chặt chẽ và giá trị khoa học.

Một số nhận xét cụ thể:

1. Luận án đã xây dựng được hệ gene ty thể hoàn chỉnh cho các loài nghiên cứu với độ dài, thành phần và tổ chức gene tương đối phù hợp với đặc điểm chung của động vật có xương sống. Tuy nhiên: Luận án chưa làm rõ: **có phát hiện đặc điểm khác biệt nào so với dữ liệu đã công bố hay không ?** hay chỉ lặp lại cấu trúc chuẩn của mtDNA?

Cần lưu ý cách dùng từ: "gene điển hình" có trong ty thể. **Tác giả có so sánh và tìm thấy các gene này ở DNA nhân hay ko?** Kết quả nào cho thấy các gene này chỉ có trong ti thể? (vd: p35 khi bàn về đặc điểm gene ty thể của cá thể chà vá chân xám) có 37 gene điển hình ... nhìn chung các gene này là ribosomal RNA và tRNA cho các a.a thông dụng.. điều này đặt ra câu hỏi về sự tồn tại của các gene này trong DNA nhân?)

→ **xét về kỹ thuật và phương pháp nghiên cứu: làm thế nào tác giả phân biệt được gene ty thể và gene trong nhân?**

→ chức năng của các protein được mã hoá bởi 13 /37 gene này (2 gene ribosomal RNA; 22 tRNA; 13 gene mã hoá protein) → **chức năng protein này có liên quan hay gợi ý gì về tình trạng kiểu hình hay sự tiến hoá? Đa dạng?**

→ **cấu trúc thứ cấp của rRNA liên quan như thế nào với tiến hoá và đa dạng? ý nghĩa của hình vẽ tRNA như hình 3.10 trang 45?==> cần thêm các phân tích**

sâu hơn về hoá thạch phân tử này (về cấu trúc ba thùy, kích thước và mã di truyền sử dụng UGA – tryp; ser;

2. Kết quả cho thấy hệ gene ty thể có xu hướng giàu A+T – đặc điểm phổ biến ở mtDNA. Đây là kết quả phù hợp quy luật chung. Tuy nhiên phần phân tích còn dừng ở mô tả số liệu, chưa khai thác sâu về **ý nghĩa tiến hóa của thiên lệch này cũng như chưa so sánh với các nhóm linh trưởng khác** (ngoài khu vực nghiên cứu)

3. Luận án đã xác định codon khởi đầu/kết thúc, phân tích độ dài gene, so sánh sai khác trình tự. Tuy nhiên, các phân tích còn mang tính liệt kê, chưa làm rõ: **gene nào tiến hóa nhanh/chậm? có dấu hiệu chọn lọc (selection) hay không?**

4. Luận án đã phân tích vùng biến đổi D-Loop. Đây là vùng có giá trị cao về tiến hóa và quần thể học, nhưng phân tích trong luận án còn khá đơn giản, chưa khai thác: **motif lặp; vùng siêu biến và ý nghĩa trong phân hóa quần thể**

5. Luận án có thực hiện so sánh toàn bộ hệ gene giữa các loài. Đây là điểm mạnh nhất của chương kết quả. Tuy nhiên: kết quả chưa được tổng hợp thành: **quy luật tiến hóa chung; mức độ phân hóa rõ ràng giữa các loài và thiếu phân tích định lượng (distance matrix rõ ràng) cũng như diễn giải sâu về ý nghĩa phân loại**

6. Luận án xây dựng cây phát sinh loài dựa trên mitogenome. Tuy nhiên chưa làm rõ: mức độ hỗ trợ bootstrap; **sự khác biệt so với các nghiên cứu trước cũng như chưa khai thác sâu ý nghĩa quan hệ giữa các loài Pygathrix có gì mới? có thay đổi gì trong phân loại không?**

8. Kết luận chung

- Luận án Đạt yêu cầu, tuy nhiên cần chỉnh sửa theo góp ý chi tiết
- Bản tóm tắt luận án phản ánh nội dung cơ bản của luận án
- Đề nghị cho phép NCS bảo vệ tại hội đồng

Ngày 28 tháng 04 năm 2026


Đặng Thị Phương Thảo

BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIẾN SĨ

Họ và tên người viết nhận xét luận án: ĐOÀN CHÍNH CHUNG

Học hàm, học vị: Tiến sĩ

Cơ quan công tác: Viện Khoa học sự sống, VAST

Họ và tên nghiên cứu sinh: NGUYỄN THỊ THỦY TRÂM

Tên đề tài luận án: NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM BỘ GENE TY THỂ CỦA MỘT SỐ LOÀI LINH TRƯỞNG Ở TÂY NGUYÊN

Ý KIẾN NHẬN XÉT

Đánh giá chung

Luận án là một công trình nghiên cứu được thực hiện nghiêm túc, có ý nghĩa khoa học và giá trị thực tiễn trong lĩnh vực di truyền học và bảo tồn linh trưởng tại Việt Nam. Đề tài có tính thời sự, phù hợp với xu hướng nghiên cứu hiện nay về hệ gene ty thể và phát sinh loài. Nội dung nghiên cứu phù hợp với tên đề tài và chuyên ngành đào tạo, được triển khai tương đối logic từ tổng quan, phương pháp nghiên cứu đến kết quả và thảo luận.

Luận án đã sử dụng các phương pháp nghiên cứu hiện đại trong sinh học phân tử và tin sinh học để phân tích hệ gene ty thể hoàn chỉnh của một số loài linh trưởng phân bố tại Tây Nguyên Việt Nam. Các kết quả nghiên cứu có giá trị khoa học, góp phần bổ sung dữ liệu di truyền còn hạn chế của linh trưởng Việt Nam, đồng thời cung cấp thêm cơ sở cho các nghiên cứu về phát sinh loài và bảo tồn đa dạng sinh học.

Các kết quả nghiên cứu được trình bày tương đối rõ ràng, có hệ thống, số liệu trung thực, các tài liệu tham khảo được trích dẫn đầy đủ và phù hợp. Luận án đáp ứng yêu cầu của một luận án tiến sĩ chuyên ngành Công nghệ sinh học.

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài.

Phần tính cần thiết của luận án được xây dựng tương đối tốt, có tính thuyết phục và phù hợp với định hướng nghiên cứu hiện nay trong lĩnh vực di truyền học phân tử và bảo tồn đa dạng sinh học. NCS đã làm rõ được bối cảnh suy giảm quần thể linh trưởng, nguy cơ mất đa dạng di truyền tại Việt Nam, đặc biệt ở khu vực Tây Nguyên – nơi phân bố của nhiều loài linh trưởng quý hiếm và nguy cấp. Đồng thời, luận án cũng chỉ ra được khoảng trống dữ liệu về hệ gene ty thể hoàn chỉnh của linh trưởng Việt Nam, qua đó khẳng định tính cần thiết và ý nghĩa khoa học của nghiên cứu. Việc lựa chọn hướng tiếp

cận dựa trên phân tích hệ gene ty thể hoàn chỉnh là phù hợp, có giá trị cả về mặt học thuật lẫn tiềm năng ứng dụng trong nghiên cứu phát sinh loài và hỗ trợ công tác bảo tồn linh trưởng tại Việt Nam.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận văn, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo.

Đề tài không trùng lặp của đề tài nghiên cứu trước đó so với các công trình, luận văn, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước.

Đề tài đảm bảo tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với ngành và mã số ngành.

Tên đề tài phù hợp với các nội dung thực hiện, các nội dung nghiên cứu phù hợp với chuyên ngành đào tạo.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu của luận án được xây dựng tương đối đầy đủ, phù hợp với mục tiêu và nội dung nghiên cứu đã đề ra. NCS đã lựa chọn đối tượng nghiên cứu có ý nghĩa khoa học và giá trị bảo tồn cao, tập trung vào các loài linh trưởng phân bố tại khu vực Tây Nguyên Việt Nam – nhóm đối tượng hiện còn thiếu dữ liệu di truyền trên các cơ sở dữ liệu quốc tế. Điều này cho thấy hướng tiếp cận nghiên cứu có tính thực tiễn và phù hợp với xu hướng nghiên cứu về di truyền học bảo tồn hiện nay.

Các phương pháp nghiên cứu được lựa chọn tương đối hiện đại và phù hợp với chuyên ngành, bao gồm các kỹ thuật sinh học phân tử, giải trình tự thế hệ mới và phân tích tin sinh học. Quy trình nghiên cứu được trình bày theo trình tự logic từ tách chiết ADN, xây dựng thư viện giải trình tự, lắp ráp hệ gene ty thể, chú giải gene đến phân tích đặc điểm hệ gene và xây dựng cây phát sinh loài. Việc kết hợp phân tích các marker ty thể như 16S rRNA, cytochrome b, D-loop cùng với dữ liệu toàn bộ hệ gene ty thể là điểm tích cực, giúp đảm bảo độ tin cậy của kết quả nghiên cứu. Ngoài ra, NCS đã sử dụng tương đối phù hợp các phần mềm và công cụ phân tích trong lĩnh vực sinh học phân tử và phát sinh loài. Phần phương pháp nghiên cứu được mô tả khá rõ ràng, góp phần bảo đảm tính khoa học và độ tin cậy của kết quả nghiên cứu.

Tuy nhiên, các phương pháp cần trình bày đi theo từng nội dung, và nên thể trình bày cô đọng hơn và bổ sung rõ hơn các thông tin liên quan đến số lượng mẫu, tiêu chí

lựa chọn mẫu và các thông số phân tích nhằm tăng tính chặt chẽ và khả năng tái lập của nghiên cứu.

5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả; những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; đóng góp mới phục vụ cho sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống. ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của những kết quả đó.

Kết quả nghiên cứu của luận án được trình bày tương đối đầy đủ, có hệ thống và bám sát các mục tiêu nghiên cứu đã đề ra. NCS đã thực hiện được khối lượng công việc tương đối lớn, bao gồm giải trình tự, lắp ráp và phân tích hệ gene ty thể hoàn chỉnh của một số loài linh trưởng phân bố tại khu vực Tây Nguyên Việt Nam. Các kết quả nghiên cứu góp phần bổ sung nguồn dữ liệu di truyền còn hạn chế của linh trưởng Việt Nam, đồng thời có giá trị tham khảo trong nghiên cứu phát sinh loài và bảo tồn đa dạng sinh học.

Các kết quả về cấu trúc hệ gene ty thể, thành phần nucleotide, các gene mã hóa protein, *tRNA*, *rRNA*, vùng giàu A+T và các vùng liên gene được trình bày khá chi tiết, kèm theo hệ thống bảng biểu và hình minh họa tương đối phong phú. Việc phân tích và so sánh sai khác trình tự giữa các cá thể nghiên cứu với các trình tự đã công bố trên cơ sở dữ liệu quốc tế giúp làm rõ hơn đặc điểm di truyền và mối quan hệ tiến hóa của các loài linh trưởng nghiên cứu.

Một điểm tích cực của luận án là NCS đã kết hợp phân tích phát sinh loài dựa trên nhiều marker ty thể như *16S rRNA*, *cytochrome b*, *D-loop* cùng với dữ liệu toàn bộ hệ gene ty thể. Cách tiếp cận này giúp nâng cao độ tin cậy của kết quả và góp phần củng cố các phân tích về mối quan hệ phát sinh loài giữa các loài linh trưởng nghiên cứu. Phần kết quả được trình bày theo từng nhóm đối tượng và nội dung phân tích, tạo được tính logic và thuận lợi cho việc theo dõi, so sánh giữa các loài.

Tuy nhiên, ở một số nội dung, phần thảo luận và phân tích so sánh với các nghiên cứu quốc tế gần đây còn chưa thực sự sát với các kết quả luận án đạt được. Ngoài ra, một số nhận định liên quan đến đặc điểm di truyền riêng biệt của các cá thể nghiên cứu cần được diễn giải thận trọng hơn, đặc biệt với số lượng mẫu sử dụng trong nghiên cứu còn hạn chế.

6. Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án

Tổng quan nghiên cứu

Phần tổng quan của luận án được xây dựng khá công phu, có bố cục tương đối logic và thể hiện sự đầu tư nghiêm túc của NCS trong việc thu thập, tổng hợp tài liệu liên quan đến lĩnh vực nghiên cứu. NCS đã tổng hợp được nhiều công trình nghiên cứu

trong và ngoài nước liên quan đến linh trưởng, ADN ty thể, di truyền học phân tử và nghiên cứu phát sinh loài, qua đó làm rõ được nền tảng lý thuyết và cơ sở khoa học của đề tài. Nội dung tổng quan được trình bày theo trình tự hợp lý từ bối cảnh bảo tồn linh trưởng, vai trò của ADN ty thể đến các nghiên cứu trong nước và quốc tế, giúp người đọc dễ theo dõi và thấy được sự liên kết với mục tiêu nghiên cứu của luận án.

Bên cạnh đó, phần tổng quan đã làm nổi bật được ý nghĩa khoa học và thực tiễn của việc nghiên cứu hệ gene ty thể hoàn chỉnh ở các loài linh trưởng phân bố tại Tây Nguyên Việt Nam – nhóm đối tượng có giá trị bảo tồn cao nhưng còn thiếu dữ liệu di truyền trên cơ sở dữ liệu quốc tế. NCS cũng đã trình bày tương đối rõ vai trò của các marker ty thể như *16S rRNA*, *cytochrome b* và *D-loop* trong nghiên cứu phát sinh loài, đồng thời bước đầu cho thấy sự cần thiết của việc sử dụng complete mitogenome nhằm nâng cao độ phân giải trong phân tích tiến hóa và phân loại học. Các tài liệu tham khảo được sử dụng tương đối phong phú, phù hợp với hướng nghiên cứu và có cập nhật các nghiên cứu liên quan trong lĩnh vực.

Tuy nhiên, một số nội dung trong phần tổng quan vẫn còn thiên về mô tả và liệt kê tài liệu; phần phân tích, đánh giá và so sánh các nghiên cứu trước đây chưa thực sự sâu. Ngoài ra, phần khoảng trống nghiên cứu có thể nhấn mạnh rõ hơn để làm nổi bật hơn tính mới của luận án.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu (tham khảo ở mục 4)

Kết quả và bàn luận nghiên cứu (tham khảo ở mục 5)

7. Nội dung của luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu Hội nghị Khoa học nào và giá trị của các công trình đã công bố (cấp công bố WoS (SSCI, SCI/E, ESCI ...), Scopus, quốc tế có phản biện, tạp chí trong nước được tính điểm theo Hội đồng Giáo sư nhà nước ... và xếp hạng SCIMAGO).

NCS và nhóm nghiên cứu đã có 02 công bố quốc tế và 01 công bố trong nước. Nhìn chung, các kết quả đạt được của luận án được công bố trên 3 tạp chí nêu trên. Cụ thể như sau:

1. Mai Thi Phuong Nguyen† & **Tram Thi Thuy Nguyen†**, Tung Thanh Ha, Chi Nguyen Quynh Ho, Cuong Phan Minh Le, Huy Nghia Quang Hoang, Quynh Thi Nhu Nguyen, Tao Thien Nguyen, Dung Tri Luu, Khoa Dang Dang, Quan Ke Thai and Long Thanh Le*. (2024). Characterization of the Complete Mitochondrial Genome of the Central Highland Grey-Shanked Douc Langur (*Pygathrix cinerea*), a Critically Endangered Species Endemic to Vietnam (Mammalia: Primates). *Curr Issues Mol Biol* 46(9): 9928-9947. <https://doi.org/10.3390/cimb46090592>

(Tạp chí SCIE, nhóm Q2, IF: 3.0, đồng tác giả chính)

2. **Tram Thi Thuy Nguyen**, Chi Nguyen Quynh Ho, Cuong Phan Minh Le, Nhan Lu Chinh Phan, Loan Tung Dang, Quan Ke Thai, Mai Thi Phuong Nguyen, Phuc Bui Tran, Long Thanh Le, Vu Quang Manh. (2025). The complete mitochondrial genome of the Vietnamese *macaca mulatta*. *Natural history* 126(3): 2-20. <https://doi.org/10.59879/11a6i>

(Tạp chí SCIE, nhóm Q4, IF: 0,04, tác giả chính)

3. **Nguyen Thi Thuy Tram**, Le Thanh Long, Ho Nguyen Quynh Chi, Phan Lu Chinh Nhan, Ha Thanh Tung, Dang Thi Tung Loan, Nguyen Thi Phuong Mai (2025) Analysis of the complete mitochondrial genome of Vietnamese *Pygathrix nigripes*. *Vietnam Journal of Biotechnology* 23(1): 25-39. DOI: 10.15625/vjbt-21785

(Tạp chí quốc gia, thuộc danh mục HDGSNN, tác giả chính)

8. Kết luận chung

Luận án là công trình nghiên cứu được thực hiện nghiêm túc, có ý nghĩa khoa học và giá trị thực tiễn trong lĩnh vực di truyền học phân tử và bảo tồn linh trưởng. NCS đã sử dụng các phương pháp nghiên cứu hiện đại để phân tích hệ gene ty thể hoàn chỉnh của một số loài linh trưởng phân bố tại khu vực Tây Nguyên Việt Nam, qua đó bổ sung thêm nguồn dữ liệu di truyền còn hạn chế của linh trưởng Việt Nam trên các cơ sở dữ liệu quốc tế.

Các nội dung nghiên cứu được triển khai tương đối logic, từ tổng quan tài liệu, vật liệu và phương pháp nghiên cứu đến kết quả và thảo luận. Kết quả nghiên cứu có độ tin cậy, được trình bày rõ ràng và có giá trị tham khảo trong nghiên cứu phát sinh loài cũng như bảo tồn đa dạng sinh học. Bên cạnh những kết quả đạt được, luận án vẫn còn một số hạn chế nhỏ về chiều sâu phân tích và số lượng mẫu nghiên cứu, tuy nhiên các hạn chế này không làm ảnh hưởng lớn đến giá trị khoa học tổng thể của luận án.

Nhìn chung, luận án đáp ứng yêu cầu của một luận án tiến sĩ chuyên ngành Công nghệ sinh học. Bản tóm tắt luận án phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án.

Đề nghị hội đồng xem xét thông qua luận án và công nhận học vị tiến sĩ cho nghiên cứu sinh.

Câu hỏi

1. Luận án sử dụng số lượng mẫu còn tương đối hạn chế và chủ yếu đại diện cho từng loài. Vậy NCS đánh giá như thế nào về mức độ đại diện của các mẫu nghiên cứu đối với quần thể linh trưởng tại khu vực Tây Nguyên, và hạn chế này có thể ảnh hưởng như thế nào đến các kết luận về đặc điểm di truyền và phát sinh loài?

2. Kết quả nghiên cứu đã bổ sung dữ liệu hệ gene ty thể của một số loài linh trưởng Việt Nam. Theo NCS, các kết quả này có thể được ứng dụng cụ thể như thế nào trong công tác bảo tồn, quản lý quần thể hoặc nghiên cứu di truyền linh trưởng tại Việt Nam trong thời gian tới?

Hà Nội, ngày 10 tháng 05 năm 2026

Người viết nhận xét



Đoàn Chính Chung

BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIẾN SĨ

Họ và tên người viết nhận xét luận án: Nguyễn Hoàng Dũng

Học hàm, học vị: Tiến sĩ

Cơ quan công tác: Viện Khoa học sự sống

Họ và tên nghiên cứu sinh: Nguyễn Thị Thủy Trâm;

Tên đề tài luận án: Nghiên cứu đặc điểm bộ gene ty thể của một số loài linh trưởng ở Tây Nguyên;

Ngành: Công nghệ sinh học

Mã số: 9 42 02 01;

NHẬN XÉT LUẬN ÁN

1. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận án. Cách đặt vấn đề và giải quyết vấn đề của luận án.

Ý nghĩa khoa học: linh trưởng là nhóm động vật gần gũi với con người, đóng vai trò quan trọng trong nghiên cứu y học, sinh thái và tiến hóa. Tuy nhiên, các nghiên cứu về hệ gen, hệ gen ty thể của các loài linh trưởng ở Việt Nam chưa nhiều. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm giải trình tự hệ gen ty thể ở một số cá thể linh trưởng tại khu vực Tây Nguyên. Kết quả nghiên cứu cung cấp thông tin về dữ liệu hệ gene ty thể, các gene 16S rDNA, cytochrome b và D-loop qua đó góp phần cung cấp thêm thông tin thêm thông tin dữ liệu về di truyền, quan hệ phát sinh loài linh trưởng ở Tây Nguyên nói riêng và Việt Nam nói chung. Nghiên cứu có ý nghĩa khoa học và tính mới cao.

Ý nghĩa thực tiễn: Linh trưởng tại Việt Nam, đặc biệt là khu vực Tây Nguyên, nơi có nhiều loài linh trưởng quý hiếm và đặc hữu, các quần thể đang bị đe dọa nghiêm trọng do mất sinh cảnh, săn bắt trái phép, biến đổi khí hậu. Nghiên cứu góp phần cung cấp cơ sở xác định đơn vị bảo tồn, giám sát quần thể hướng tới việc có chiến lược bảo tồn phù hợp. Nghiên cứu có ý nghĩa thực tiễn.

Cách đặt vấn đề của luận án rõ ràng, hợp lý giúp luận án đạt được các kết quả tốt có ý nghĩa khoa học và thực tiễn.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu; tính trung thực, rõ ràng và



đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo

Luận án không có sự trùng lặp các cá luận án so với các đồ án, luận văn, luận án hay công trình khoa học đã công bố trong và ngoài nước.

Tài liệu tham khảo trích dẫn rõ ràng, phù hợp.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với ngành và mã số ngành

Tên luận án phù hợp với nội dung và chuyên ngành đào tạo (Công nghệ sinh học).

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu

Các phương pháp được sử dụng trong nghiên cứu là các phương pháp thường quy trong sinh học phân tử liên quan đến thu nhận DNA, giải trình tự hệ gen thể hệ mới kết hợp với các phương pháp phân tích phát sinh loài. Các phương pháp sử dụng trong nghiên cứu phù hợp với mục tiêu và nội dung nghiên cứu, có độ tin cậy cao.

5. Đánh giá các kết quả đạt được, nêu những đóng góp mới và giá trị của các đóng góp đó.

Luận án cung cấp dữ liệu hệ gene ty thể hoàn chỉnh của 5 cá thể đại diện cho 5 loài linh trưởng Tây Nguyên: Chà vá chân xám (*Pygathrix cinerea*), Chà vá chân nâu (*Pygathrix nemaeus*), Chà vá chân đen (*Pygathrix nigripes*), Khỉ mặt đỏ (*Macaca arctoides*) và Khỉ vàng (*Macaca mulatta*), góp phần bổ sung nguồn dữ liệu còn hạn chế của của loài này ở Việt Nam. Các nội dung nghiên cứu được triển khai đầy đủ, bao gồm phân tích cấu trúc hệ gene, so sánh trình tự và xây dựng cây phát sinh loài, qua đó đảm bảo tính hệ thống. Các kết quả đạt được đáp ứng yêu cầu của luận án nghiên cứu sinh.

Những đóng góp mới của luận án:

Xây dựng và phân tích toàn bộ hệ gen ty thể hoàn chỉnh ở 5 loài linh trưởng phân bố ở Tây Nguyên Việt Nam, góp phần cung cấp thông tin, bổ sung dữ liệu di truyền quốc gia và khu vực về động vật linh trưởng.

Xây dựng cây phát sinh loài với các marker (16s rRNA, D-loop, *cyt b*) và toàn bộ hệ gene ty thể ở 5 loài linh trưởng phân bố ở Tây Nguyên.

6. Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án

• Ưu điểm:

Luận án có tính mới, đáp ứng yêu cầu của luận án tiến sĩ. Nội dung luận án có tính chuyên sâu, phù hợp với xu hướng nghiên cứu hiện nay trong lĩnh vực di truyền học phân tử và bảo tồn đa dạng sinh học. Kết cấu luận án trình bày tương đối logic,

hình ảnh, bảng biểu minh họa đẹp.

- **Nhược điểm:**

Về hình thức: Luận án còn mắc một số lỗi chính tả, viết tên loài, acid amin, enzyme, viết đơn vị, lỗi format và định dạng.

Về nội dung:

Rà soát danh mục từ viết tắt.

Phần tổng quan: mục 1.4 nên lược bỏ do trùng với phần mở đầu.

Phần vật liệu – phương pháp: bổ sung thông tin trang thiết bị, làm rõ việc giải trình tự hệ gen là tự thực hiện hay gửi phân tích. Mục 2.2.4 nên bổ sung giá trị bootstrap trong nghiên cứu. Rà soát một số thông tin như nitơ lỏng -80°C.

Phần kết quả - thảo luận: nên có thêm phân tích, biện luận theo hướng chuyên sâu, tránh một số nhận định chủ quan.

7. Nội dung của luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu hội nghị khoa học nào và giá trị của các công trình đã công bố.

Kết quả của luận án đã được công bố 3 công trình khoa học (2 quốc tế SCIE, 1 bài báo trong nước – Tạp chí Công nghệ sinh học), đáp ứng yêu cầu về công bố của nghiên cứu sinh

Các bài báo NCS công bố có giá trị khoa học cao, nội dung các bài báo phù hợp với nội dung của luận án.

8. Kết luận:

Luận án đáp ứng đầy đủ yêu cầu về nội dung và hình thức đối với một luận án Tiến sĩ. Luận án cần chỉnh sửa theo các góp của các thành viên hội đồng.

Bản tóm tắt luận án phản ánh nội dung cơ bản của luận án.

Đồng ý cho NCS trình luận án ra bảo vệ cấp Học viện để nhận bằng tiến sĩ.

Tp. HCM, ngày 11 tháng 04 năm 2026

Người nhận xét



Nguyễn Hoàng Dũng

BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIẾN SĨ

Họ và tên người viết nhận xét luận án: NGUYỄN THANH BÌNH

Học hàm, học vị: Phó giáo sư, tiến sĩ

Cơ quan công tác: Trung tâm Xét nghiệm và Nghiên cứu Y sinh – Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch

Họ và tên nghiên cứu sinh: Nguyễn Thị Thuỷ Trâm

Tên đề tài luận án: Nghiên cứu đặc điểm bộ Gene ty thể của một số loài linh trưởng ở Tây Nguyên


Ý KIẾN NHẬN XÉT

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài:

Đề tài có tính cần thiết và ý nghĩa khoa học cao trong bối cảnh nghiên cứu đa dạng di truyền, tiến hóa và bảo tồn các loài linh trưởng tại Việt Nam ngày càng được quan tâm. Tây Nguyên là khu vực có tính đa dạng sinh học cao, tuy nhiên dữ liệu di truyền phân tử, đặc biệt là bộ gene ty thể của các loài linh trưởng còn hạn chế. Việc nghiên cứu đặc điểm bộ gene ty thể góp phần cung cấp cơ sở dữ liệu quan trọng cho phân loại học, đánh giá quan hệ tiến hóa và công tác bảo tồn nguồn gen động vật hoang dã quý hiếm.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận văn, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo.

Luận án có tính mới nhất định, tập trung vào các loài linh trưởng phân bố tại khu vực Tây Nguyên với hướng tiếp cận di truyền phân tử hiện đại. Qua đối chiếu với các tài liệu tham khảo được trích dẫn, chưa thấy có sự trùng lặp đáng kể với các công trình đã công bố trong và ngoài nước. Tài liệu tham khảo được trình bày tương đối đầy đủ, phù hợp với nội dung nghiên cứu; việc trích dẫn cơ bản đảm bảo tính rõ ràng và trung thực khoa học.



3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với ngành và mã số ngành.

Tên đề tài phù hợp với nội dung nghiên cứu của luận án. Nội dung nghiên cứu tập trung vào phân tích bộ gene ty thể, đánh giá đặc điểm di truyền và quan hệ phát sinh loài của một số loài linh trưởng, phù hợp với chuyên ngành đào tạo và mã số ngành đăng ký.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu.

Nghiên cứu sử dụng các phương pháp sinh học phân tử và phân tích tin sinh học tương đối hiện đại như: fastp v0.23, Quast v5.2.0 và các cơ sở dữ liệu ty thể chuyên dụng Mito Webserver và MitoFish phù hợp với mục tiêu của đề tài. Quy trình thu nhận, giải trình tự và phân tích dữ liệu bộ gene ty thể được trình bày tương đối rõ ràng. Các phương pháp phân tích phát sinh chủng loài và so sánh di truyền có độ tin cậy khoa học, góp phần nâng cao giá trị của kết quả nghiên cứu.

5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả; những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; đóng góp mới phục vụ cho sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống. ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của những kết quả đó.

Luận án đã cung cấp thêm dữ liệu về bộ gene ty thể của một số loài linh trưởng tại Tây Nguyên, bổ sung nguồn dữ liệu di truyền còn hạn chế ở Việt Nam. Các kết quả nghiên cứu góp phần làm sáng tỏ đặc điểm di truyền và mối quan hệ tiến hóa giữa các loài linh trưởng nghiên cứu. Đây là nguồn tư liệu có giá trị cho lĩnh vực di truyền học bảo tồn, sinh học tiến hóa và quản lý đa dạng sinh học.

6. Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án.

Nội dung của luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu Hội nghị Khoa học nào và giá trị của các công trình đã công bố (*cấp công bố WoS (SSCI, SCI/E, ESCI ...), Scopus, quốc tế có phản biện, tạp chí trong nước được tính điểm theo Hội đồng Giáo sư nhà nước ... và xếp hạng SCIMAGO*).

Ưu điểm:

- Nội dung nghiên cứu có tính chuyên sâu, phù hợp định hướng nghiên cứu hiện đại.



- Luận án được trình bày tương đối logic, số liệu phong phú, có hệ thống bảng biểu và hình ảnh minh họa phù hợp.
- Kết quả nghiên cứu có ý nghĩa khoa học và thực tiễn đối với công tác bảo tồn động vật hoang dã.

Nhược điểm:

- Một số phần thảo luận cần làm rõ hơn sự khác biệt giữa kết quả nghiên cứu với các công bố quốc tế liên quan.
- Cần bổ sung hoặc chuẩn hóa cách trình bày một số tài liệu tham khảo và thuật ngữ chuyên ngành để tăng tính thống nhất của luận án.

7. Nội dung của luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu Hội nghị Khoa học nào và giá trị của các công trình đã công bố (cấp công bố WoS (SSCI, SCIE, ESCI ...), Scopus, quốc tế có phản biện, tạp chí trong nước được tính điểm theo Hội đồng Giáo sư nhà nước ... và xếp hạng SCIMAGO).

Nghiên cứu sinh đã công bố một số kết quả nghiên cứu liên quan đến luận án trên các tạp chí và hội nghị khoa học chuyên ngành. Các công bố có nội dung phù hợp với hướng nghiên cứu của luận án, góp phần khẳng định giá trị khoa học và tính cập nhật của đề tài.

8. Kết luận chung cần khẳng định:

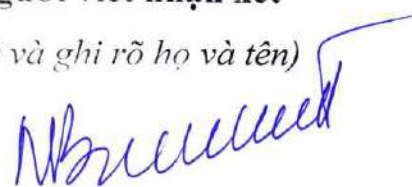
Luận án đáp ứng cơ bản yêu cầu của một luận án tiến sĩ về nội dung khoa học, phương pháp nghiên cứu và giá trị thực tiễn. Bản tóm tắt luận án phản ánh trung thực các nội dung chính của luận án.

Tôi thống nhất đề nghị cho nghiên cứu sinh được bảo vệ luận án cấp Học viện để xét cấp bằng Tiến sĩ.

Hà Nội, ngày 27 tháng 04 năm 2026

Người viết nhận xét

(Ký và ghi rõ họ và tên)



PGS-TS. Nguyễn Thanh Bình

BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIẾN SĨ

Họ và tên người viết nhận xét luận án: Trần Hoàng Dũng;
Học hàm, học vị: Phó Giáo sư, Tiến sĩ;
Cơ quan công tác: Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh;
Họ và tên nghiên cứu sinh: Nguyễn Thị Thủy Trâm;
Tên đề tài luận án: Nghiên cứu đặc điểm bộ gene ty thể của một số loài linh trưởng ở Tây Nguyên;
Luận án tiến sĩ sinh học ứng dụng;
Ngành: Công nghệ sinh học;
Mã số: 9 42 02 01;

Ý KIẾN NHẬN XÉT

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài

Đề tài có tính cần thiết và có ý nghĩa khoa học. Linh trưởng là nhóm động vật có giá trị lớn trong nghiên cứu tiến hóa, sinh thái học, y sinh học và bảo tồn đa dạng sinh học. Đối với Việt Nam, đặc biệt là khu vực Tây Nguyên, dữ liệu hệ gene ty thể hoàn chỉnh của các loài linh trưởng có nguồn gốc địa lý rõ ràng còn hạn chế. Vì vậy, việc giải trình tự và mô tả hệ gene ty thể của Chà vá chân xám, Chà vá chân nâu, Chà vá chân đen, Khi mặt đỏ và Khi vàng có giá trị bổ sung dữ liệu nền cho sinh học phân tử, phân loại học và phát sinh loài.

Về ý nghĩa thực tiễn, dữ liệu di truyền ty thể có thể hỗ trợ nhận diện mẫu, đối chiếu phân loại, phục vụ cứu hộ, tái thả, giám sát và nghiên cứu bảo tồn sau này. Tuy nhiên, vì thiết kế hiện tại chỉ gồm một cá thể đại diện cho mỗi loài, ý nghĩa thực tiễn của luận án cần được hiểu ở mức cung cấp dữ liệu nền và gợi ý hướng nghiên cứu tiếp theo, chưa phải cơ sở trực tiếp để kết luận về đa dạng di truyền quần thể hay đơn vị bảo tồn ưu tiên.

So với Lần 1, luận án cấp Học viện (gọi tắt Lần 2) đã cải thiện rõ nhất ở cách đặt vấn đề. Tên đề tài đã chuyển từ trọng tâm "*mối quan hệ phát sinh loài*" sang "*đặc điểm bộ gene ty thể*", phù hợp hơn với dữ liệu một cá thể/loài. Phần mở đầu cũng đã bổ sung câu giới hạn rằng nghiên cứu không nhằm đánh giá đa dạng di truyền ở mức quần thể mà tập trung vào cá thể đại diện. Đây là sửa chữa quan trọng. Tuy vậy, trong một số đoạn tổng quan, kết quả và thảo luận vẫn còn các phát biểu về quần thể, dòng tiến hóa riêng biệt, thích ứng và chiến lược quản lý cụ thể; các phát biểu này cần tiếp tục hạ mức để không vượt quá dữ liệu.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo

Trên cơ sở bản luận án và danh mục công trình đã công bố do nghiên cứu sinh cung cấp, chưa thấy dấu hiệu trùng lặp trái phép với luận văn, luận án hoặc công trình của người khác. Các kết quả chính của luận án có liên quan trực tiếp đến các bài báo đã công bố của nghiên cứu sinh và nhóm tác giả về *Pygathrix cinerea*, *Macaca mulatta* và *Pygathrix nigripes*. Việc sử dụng các kết quả đã công bố của chính nghiên cứu sinh để tích hợp vào luận án là phù hợp, với điều kiện phải trích dẫn rõ từng bài, nêu vai trò tác giả và xác định phần dữ liệu nào của luận án tương ứng với công trình nào.

Tuy nhiên, hồ sơ cần có báo cáo kiểm tra trùng lặp bằng phần mềm chuyên dụng nếu Hội đồng yêu cầu. Nhận xét này chỉ đánh giá trên cơ sở đọc và đối chiếu nội dung, chưa thay thế kết luận về tỷ lệ trùng lặp văn bản. Ngoài ra, các bài báo đã công bố cần được dẫn trong danh mục tài liệu tham khảo như tài liệu khoa học bình thường, không chỉ xuất hiện trong danh mục công trình công bố.

So với Lần 1, Lần 2 đã có tiến bộ vì danh mục công trình công bố được đặt rõ ở cuối luận án và phần tài liệu tham khảo được tổ chức tốt hơn. Tuy vậy, vẫn còn các lỗi cần sửa: tên bài có chỗ viết sai “geneome”; mã GenBank/SRA, accession của trình tự tự tạo và trình tự tham chiếu chưa được trình bày đầy đủ trong bảng hoặc phụ lục để kiểm tra; nguồn của một số hình/bảng còn chưa đủ rõ để bảo đảm khả năng truy xuất.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với ngành và mã số ngành

Tên đề tài Lần 2 phù hợp hơn so với Lần 1. Nội dung hiện nay tập trung vào giải trình tự, lắp ráp, chú giải, mô tả cấu trúc hệ gene ty thể, so sánh sai khác trình tự và dựng cây phát sinh loài từ dữ liệu ty thể. Vì vậy, tên đề tài “*Nghiên cứu đặc điểm bộ gene ty thể của một số loài linh trưởng ở Tây Nguyên*” phản ánh đúng hơn bản chất dữ liệu và đóng góp thực tế của luận án.

Nội dung luận án phù hợp với ngành Công nghệ sinh học, mã số 9 42 02 01, do sử dụng các kỹ thuật tách chiết DNA, giải trình tự thế hệ mới, lắp ráp hệ gene ty thể, chú giải gene và phân tích tin sinh học. Các nội dung về thành phần nucleotide, gene mã hóa protein, tRNA/rRNA, vùng D-loop, RSCU và cây phát sinh loài thuộc phạm vi sinh học phân tử, di truyền học bảo tồn và công nghệ sinh học ứng dụng.

So với Lần 1, điểm lệch lớn giữa tên đề tài, mục tiêu và dữ liệu đã được sửa đáng kể. Bản trước đặt vấn đề đa dạng di truyền/quần thể/ESU trong khi chỉ có một mẫu cho mỗi loài. Lần 2 đã đổi định hướng sang đặc điểm hệ gene ty thể. Dù vậy, một số đoạn trong toàn văn vẫn còn dùng ngôn ngữ của nghiên cứu quần thể như “*quần thể cùng loài*”, “*biệt lập*”, “*dòng tiến hóa*”, “*đơn vị bảo tồn*” hoặc “*thích ứng địa phương*”. Các đoạn này cần sửa để toàn bộ luận án thống nhất với tên đề tài mới.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu

Luận án sử dụng các phương pháp cơ bản phù hợp với nghiên cứu hệ gene ty thể, gồm tách chiết DNA, làm giàu DNA ty thể, xây dựng thư viện, giải trình tự thế hệ mới, làm sạch dữ liệu, lắp ráp de novo, chú giải hệ gene và dựng cây phát sinh loài. Về nguyên tắc, đây là chuỗi phương pháp hiện đại và phù hợp với mục tiêu mô tả, so sánh hệ gene ty thể của các cá thể đại diện.

So với Lần 1, Lần 2 đã cải thiện phần phương pháp bằng cách bổ sung thông tin về DNA tổng số, làm giàu DNA ty thể bằng REPLI-g, bộ kit thư viện, NovaSeq, fastp, GetOrganelle, QUASt, MITOS và IQ-TREE/ModelFinder. Bảng đối tượng cũng đã sửa đúng danh pháp 5 loài và khẳng định mỗi loài có một mẫu. Đây là những cải thiện cần ghi nhận.

Tuy nhiên, độ tin cậy của phương pháp nhiều chỗ còn mơ hồ: mô tả bảo quản mẫu chưa thống nhất; quy trình dựng cây phát sinh loài chưa thống nhất giữa IQ-TREE/ModelFinder/UFBoot và MEGA11/Tamura-Nei/Neighbor-Join/BioNJ; chưa báo cáo read depth, coverage từng mẫu, tỷ lệ reads ty thể, tiêu chí xác nhận tính tuần hoàn (circularity),

kiểm tra NUMTs, heteroplasmy và codon stop bất thường; việc dùng MitoFish/MitoAnnotator cần giải thích thận trọng và kiểm tra lại bằng công cụ phù hợp cho động vật có vú/linh trưởng.

Các lỗi này cần sửa trước khi nộp bản chính thức, vì luận án tiến sĩ phải bảo đảm tái lập được về nguyên tắc và tránh biến nhiễu kỹ thuật thành phát biểu sinh học.

5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả; những đóng góp mới và giá trị của những kết quả đó

Luận án cung cấp dữ liệu hệ gene ty thể hoàn chỉnh của 5 cá thể đại diện cho 5 loài linh trưởng Tây Nguyên: Chà vá chân xám (*Pygathrix cinerea*), Chà vá chân nâu (*Pygathrix nemaeus*), Chà vá chân đen (*Pygathrix nigripes*), Khi mặt đỏ (*Macaca arctoides*) và Khi vàng (*Macaca mulatta*). Đây là đóng góp có giá trị vì bổ sung dữ liệu ty thể cho các loài linh trưởng Việt Nam, nhất là trong bối cảnh dữ liệu mitogenome có nguồn gốc địa lý rõ từ Việt Nam còn ít.

Các kết quả mô tả cấu trúc 37 gene, thành phần nucleotide, các gene mã hóa protein, tRNA/rRNA, vùng D-loop, vùng lặp và vùng liên gene có thể dùng như dữ liệu tham chiếu. Các cây phát sinh loài dựa trên 16S rRNA, cyt b, D-loop và toàn hệ gene ty thể đặt các mẫu nghiên cứu vào đúng nhóm *Pygathrix* và *Macaca*, phù hợp với phân loại hiện hành. Đây là kết quả có ý nghĩa trong xác nhận định danh phân tử và cung cấp nền cho nghiên cứu phát sinh loài tiếp theo.

So với Lần 1, Lần 2 đã sửa được mâu thuẫn lớn về số lượng dữ liệu: phần kết quả hiện ghi giải mã 5 trình tự toàn bộ hệ ty thể của 5 cá thể, thay cho cách viết cũ gây nhầm 5 hay 6 loài. Đây là cải tiến rõ. Tuy nhiên, giá trị đóng góp cần được diễn đạt thận trọng: với thiết kế một cá thể/loài, các sai khác nucleotide so với trình tự tham chiếu chỉ là tín hiệu ở mức cá thể hoặc dữ liệu nền, chưa đủ để khẳng định đa dạng nội loài, cấu trúc quần thể, dòng tiến hóa độc lập, phân loài ẩn hoặc ESU (Evolutionarily Significant Unit - Đơn vị có ý nghĩa tiến hóa).

Do đó, đóng góp mới nên được xác định là: bổ sung dữ liệu hệ gene ty thể hoàn chỉnh, mô tả đặc điểm hệ gene ty thể, so sánh trình tự với dữ liệu đã công bố và cùng cố vị trí phát sinh loài của các mẫu đại diện. Không nên trình bày như một nghiên cứu kết luận về quần thể hoặc bảo tồn ở cấp đơn vị quản lý.

Luận án nêu rằng đã giải mã được 5 hệ gene ty thể hoàn chỉnh của 5 cá thể linh trưởng Tây Nguyên, nhưng chưa trình bày rõ mã truy cập GenBank cho từng trình tự mới. Việc đưa trình tự nucleotide vào phụ lục không thay thế cho accession công khai. Tác giả cần bổ sung bảng record riêng gồm: tên Việt, tên khoa học, mã mẫu, chiều dài mitogenome, theo mẫu accession GenBank của trình tự lắp ráp hoàn chỉnh, accession SRA/FASTQ nếu có, và danh sách accession của toàn bộ trình tự tham chiếu dùng để dựng cây phát sinh loài. Nếu các trình tự chưa được nộp hoặc chưa được cấp accession, cần ghi rõ tình trạng nộp dữ liệu và không nên xem đây là dữ liệu đã công khai/tái lập hoàn toàn. Hiện chỉ thấy mã của Chà vá chân xám xuất hiện rải rác và còn không thống nhất giữa PP623106 và PP633106. Cần bổ sung một bảng riêng gồm tên Việt, tên khoa học, mã mẫu, chiều dài mitogenome, mã GenBank của trình tự hoàn chỉnh, mã SRA/FASTQ nếu có, và danh sách accession của toàn bộ trình tự tham chiếu dùng để dựng cây phát sinh loài.

6. Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án

Ưu điểm của Lần 2 là đã có cấu trúc rõ hơn Lần 1, tên đề tài phù hợp hơn, bảng đối tượng đã sửa đúng danh pháp, phần mở đầu đã hạ phạm vi nghiên cứu xuống mức cá thể đại diện, và kết luận đã thừa nhận cần mở rộng cỡ mẫu cũng như kết hợp marker nhân trong nghiên cứu tiếp theo. Đây là những sửa chữa quan trọng.

Tuy Lần 2 đã giảm lỗi nền so với Lần 1, nhưng vẫn cần một lượt sửa cuối theo các nhóm lỗi nêu trên. Các lỗi nhóm 1 và nhóm 2 là quan trọng nhất vì ảnh hưởng trực tiếp đến độ tin cậy của phát biểu khoa học; các nhóm lỗi còn lại làm giảm độ chuyên nghiệp và khả năng tái lập của luận án.

Danh sách các lỗi cụ thể theo nhóm

Ghi chú: Các lỗi dưới đây được chia theo nhóm vấn đề để dễ bắt lỗi khi trao đổi, không đọc tuần tự từ đầu đến cuối. Một số lỗi có thể liên quan đến nhiều nhóm, nhưng được đặt vào nhóm chính phù hợp nhất. Các thuật ngữ cũ đã được thống nhất theo cách gọi “phát biểu”.

Nhóm	Tên nhóm lỗi	Số mục
Nhóm 1	Phạm vi phát biểu và suy luận quá mức	24
Nhóm 2	Phương pháp và tái lập	32
Nhóm 3	Danh pháp, định danh và thuật ngữ taxon	14
Nhóm 4	Bảng, hình và đánh số	17
Nhóm 5	Nhãn hình và chất lượng biểu đồ	17
Nhóm 6	Trích dẫn, công bố và dữ liệu mở	12
Nhóm 7	Văn phong và tổng quan	4

Nhóm 1. Phát biểu và suy luận quá mức

Nhóm này là lỗi nặng nhất, bao gồm các phát biểu về biệt lập, dòng tiến hóa riêng biệt, thích ứng địa phương, quần thể khác biệt và chiến lược bảo tồn riêng. Với $n = 1/\text{loài}$, chỉ nên viết là dữ liệu nền hoặc gợi ý cần kiểm chứng bằng nghiên cứu quần thể.

STT	Trang	Chỗ bôi vàng / nội dung cần rà	Lý do sai / hướng xử lý ngắn
1	3	Các cá thể linh trưởng Tây Nguyên có biểu hiện các đặc điểm di truyền riêng biệt so với các quần thể cùng loài ở các khu vực khác hay không?	phát biểu liên quan quần thể; với $n=1$ mỗi loài cần tránh suy luận quần thể.
3	4	Làm rõ đặc điểm cấu trúc và tổ chức hệ gene ty thể của các loài linh trưởng nghiên cứu, đồng thời chỉ ra các sai khác trình tự di truyền có ý nghĩa trong so sánh phát sinh loài.	phát biểu “có ý nghĩa” cần cơ sở thống kê/tiêu chí rõ; hiện chưa có kiểm định ý nghĩa.

STT	Trang	Chỗ bôi vàng / nội dung cần rà	Lý do sai / hướng xử lý ngắn
4	10	Những đột biến xảy ra trên ADN ty thể không làm ảnh hưởng đến khả năng tồn tại của sinh vật, do đó, đột biến xảy ra trên ty thể không làm mất đi những kiểu gene của sinh vật đã được chọn lọc trong quá trình tiến hóa	khẳng định quá rộng và sai; nhiều biến thể mtDNA có thể ảnh hưởng chức năng.
6	48	Sự phân kỳ giữa các gene ty thể cho thấy chuỗi đã công bố trước đó (JQ_821842) có thể đến từ một quần thể địa lý hoặc phân loài khác của Chà vá chân xám, điều này có thể giải thích cho những khác biệt gene quan sát được, hoặc khả năng tồn tại các phân loài bí mật hoặc các đơn vị tiến hóa quan trọng trong quần thể Chà vá chân xám	n=1 và mtDNA đơn lẻ không đủ để suy ra phân loại phụ ẩn (thay cho bí mật) cryptic subspecies/ESU;
7	49	Các đặc điểm gene độc đáo được xác định trong Chà vá chân xám Tây Nguyên Việt Nam, đặc biệt là trong vùng điều khiển và các gene tRNA, nhấn mạnh tầm quan trọng của việc bảo tồn sự đa dạng gene của nó	nói quá mức, diễn đạt mạnh; cần chuyển thành "sai khác trình tự được ghi nhận" nếu không có kiểm định chức năng.
8	49	Hiểu biết về sự khác biệt gene giữa Chà vá chân xám Tây Nguyên và các mẫu Chà vá chân xám khác có thể thông báo cho các nỗ lực bảo tồn bằng cách xác định các quần thể khác biệt có thể cần các chiến lược quản lý cụ thể	không thể xác định quần thể khác biệt từ một cá thể/loài.
9	62	Hệ gene ty thể của Khi mật đỏ Tây Nguyên Việt Nam thể hiện mức độ tương đồng cao với cá thể Khi mật đỏ Trung Quốc, phản ánh tính ổn định di truyền của loài này trong phạm vi phân bố rộng ở khu vực châu Á	nói quá từ một mẫu Việt Nam và một mẫu Trung Quốc; không đủ để kết luận ổn định trong toàn phạm vi phân bố.
10	77	Thành phần nucleotide tổng thể cho thấy sự phong phú cao hơn của adenine (A) và thymine (T) so với guanine (G) và cytosine (C). Sự giàu có A-T này là đặc trưng của nhiều hệ gene ty thể của linh trưởng và gợi ý về các chiến lược tiến hóa thích nghi.	nói quá thích nghi từ thành phần nucleotide; cần kiểm định chọn lọc/chức năng trước khi kết luận.
11	77	Tỷ lệ T cao như vậy có thể gợi ý một vai trò trong các chức năng điều hòa hoặc một sự thích ứng cụ thể làm tăng hiệu quả phiên mã của nó.	nói quá chức năng; không có dữ liệu phiên mã/chức năng trong luận án.

STT	Trang	Chỗ bôi vàng / nội dung cần rà	Lý do sai / hướng xử lý ngắn
12	98	Các nghiên cứu trước đây đã chỉ ra sự phân kỳ gene di truyền đáng kể giữa các cá thể khi của chi macaca , cho thấy các động lực tiến hóa phức tạp được hình thành bởi các áp lực môi trường và thích ứng với môi trường sống. Mỗi quan hệ di truyền gần gũi giữa cá thể Việt Nam và Myanmar, với chỉ 704 khác biệt nucleotide, gợi ý về tổ tiên chung gần đây và các áp lực tiến hóa tương tự.	Diễn giải cần thận trọng; 704 khác biệt mtDNA không tự động chứng minh tổ tiên chung gần đây nếu thiếu phân tích khoảng cách/niên đại.
14	99	Phân tích Sử Dụng Codon Tương Đương Tương Đối (RSCU) cho thấy sự ưa thích đối với một số codon, đặc biệt là đối với leucine và serine, có thể tăng cường hiệu suất dịch mã. Sự ưa thích này rất quan trọng để tối ưu hóa quá trình tổng hợp protein nhằm đáp ứng các nhu cầu chuyển hóa đa dạng, đặc biệt trong các môi trường đô thị có biến động	Lệch dữ liệu nghiên cứu; không có bằng chứng về môi trường đô thị trong mẫu bảo tàng Tây Nguyên.
15	103	Điều này chỉ ra rằng Chà vá chân xám Tây Nguyên đã biệt lập so với các dòng ở khu vực khác	không thể kết luận biệt lập địa lý/di truyền từ một cá thể.
16	109	Kết hợp dữ liệu từ cả hai bảng chỉ ra rằng biến dị tồn tại đồng thời ở cả vùng bảo tồn (16S) lẫn vùng mã hóa protein (cytb), từ đó có gợi ý sự tồn tại của một dòng di truyền riêng biệt tại khu vực Tây Nguyên	n=1 không đủ xác lập dòng di truyền riêng biệt/quần thể biệt lập.
17	110	Sự hiện diện của nhiều đột biến trên cả gene cytb và 16S rRNA củng cố khả năng hình thành một dòng di truyền biệt lập tại Tây Nguyên.	cần nhiều cá thể, nhiều locus và kiểm định quần thể.
19	111	Tổng thể, Khi vàng Tây Nguyên thể hiện một mẫu hình biến dị phân tán và độc lập, phản ánh khả năng tiến hóa biệt lập tương đối lâu dài.	tuyên bố rất mạnh từ dữ liệu mtDNA của một cá thể; cần chỉnh lại.
20	114	Sự khác biệt hoàn toàn giữa nhóm Tây Nguyên – NC088556 và nhóm NC018063 – JQ_821842 gợi ý rằng có thể tồn tại 2 dòng tiến hóa chính trong loài Chà vá chân	Phát biểu không đúng khi \mẫu quần thể quá ít và dùng marker độc lập để nói về dòng tiến hóa.
21	114	Sự khác biệt này có thể cho thấy có thể Việt Nam là nơi tồn tại các điều kiện sinh thái độc đáo, tạo nên các dòng di truyền đặc trưng cho cá thể Chà vá chân nâu, khác biệt so với các loài ở khu vực lân cận.	nói quá về bối cảnh quá rộng so với dữ liệu một số mẫu bảo tàng.

STT	Trang	Chỗ bôi vàng / nội dung cần rà	Lý do sai / hướng xử lý ngắn
22	118	Đối với các loài chà vá, cá thể linh trưởng ở Tây Nguyên thường mang kiểu nucleotide riêng biệt và chia sẻ rất ít alen với các mẫu tham chiếu từ các khu vực khác.	Dùng “alen” không phù hợp với so sánh trình tự mtDNA đơn lẻ; cần nói “vị trí nucleotide/haplotype” nếu có cơ sở.
23	119	Những kết quả này phù hợp với các nghiên cứu gần đây về tiến hóa và đa dạng di truyền linh trưởng ở khu vực Đông Dương và Đông Nam Á, nơi các cao nguyên và dãy núi đóng vai trò như các “đảo sinh học” thúc đẩy quá trình phân hóa di truyền nội loài (8,64,74)	ân dụ địa sinh học không chuẩn xác; cần dẫn chứng và không nên suy ra từ n=1 mỗi loài.
24	121	Kiến nghị xây dựng một ngân hàng dữ liệu gene linh trưởng Việt Nam tích hợp dữ liệu hình thái, sinh thái và di truyền – nhằm phục vụ việc nhận diện nhanh các loài, cá thể trong cứu hộ, tái thả và giám sát quần thể trong tự nhiên.	Ứng dụng thực tiễn quá mạnh so với n=1 mỗi loài; nên viết là dữ liệu tham khảo ban đầu.

Nhóm 2. Phương pháp và tái lập

Đây là nhóm lỗi liên quan khả năng tái lập; nếu không cụ thể chính xác sẽ không xác định độ tin cậy của kết quả. Bảo quản mẫu -80°C nhưng cũng ghi -8°C; pipeline IQ-TREE và MEGA chưa thống nhất; thiếu read depth, coverage, tỷ lệ reads ty thể, kiểm NUMTs, heteroplasmy và circularity.

STT	Trang	Chỗ bôi vàng / nội dung cần rà	Lý do sai / hướng xử lý ngắn
1	25	nito lỏng -80	nitơ lỏng là -196°C và -80°C là hai điều kiện khác nhau; cần viết lại chính xác.
2	25	trữ ở -8; bằng cách nào???: cần kiểm tra lại.	
3	26	Nước không có RNAase	không chuẩn trong ngữ cảnh DNA; cần kiểm tra có phải nước không DNase/nuclease-free không, vì đang tách DNA.; tại sao Nước viết hoa?
5	27	khuếch đại nó lên tới 40 triệu lần	mô tả mang tính quảng cáo/không cần thiết; nếu giữ phải có cơ sở kỹ thuật rõ.
6	27	Sau đó, thư viện giải trình tự toàn hệ gene	chưa rõ thư viện NGS tạo từ DNA tổng số hay DNA ty thể đã làm giàu; cần mô tả pipeline nhất quán.

STT	Trang	Chỗ bôi vàng / nội dung cần rà	Lý do sai / hướng xử lý ngắn
7	27	Các mẫu có kích thước DNA <1000 bp bị loại bỏ	chưa rõ mẫu nào bị loại/không bị loại; nếu đã loại thì vì sao vẫn có đủ 5 mẫu phân tích.
8	28	các gene mã hóa protein	câu sai logic kỹ thuật; cần viết lại: xác định PCGs, rRNAs và vùng giàu A+T bằng so sánh/chú giải.
9	28	(PCGs) giàu A + T và r-RNA	câu sai logic kỹ thuật; cần viết lại: xác định PCGs, rRNAs và vùng giàu A+T bằng so sánh/chú giải.
10	28	NADH dehydrogenase; sai chính tả NADH dehydrogenase.	
11	36	Độ che phủ	tên cột: các giá trị âm/dương trong bảng là overlap/intergenic nucleotide, không phải độ che phủ sequencing.
12	40	adenine cao hơn thymine	Sai diễn giải AT-skew nếu giá trị âm; giá trị âm nghĩa là T cao hơn A.
13	42	Tổng GC-skew trong vùng điều khiển là -0.349, AT-skew là 58%, và hàm lượng A + T là -0.013	Sai logic chỉ số: AT-skew không phải %, A+T content không thể âm; có vẻ đảo lộn chỉ số.
14	46	Mô hình Tamura-Nei và phương pháp Maximum Likelihood	không nhất quán với phương pháp IQ-TREE/ModelFinder/UFBoot; cần thống nhất pipeline phân tích phát sinh loài vì không nhất quán với mục 2.2.4 dùng IQ-TREE; cần nêu rõ cây nào dùng MEGA, cây nào dùng IQ-TREE.
15	46	Các vị trí codon được đưa vào gồm có 1st, 2nd, 3rd và +Noncoding	diễn đạt lại Anh-Việt và chưa rõ alignment/partition; cần viết lại rõ.
17	46	Các họ hàng gần nhất còn sống của linh trưởng là Hominidae	sai/không chính xác về phát sinh loài; Hominidae là một họ trong Primates, không phải họ hàng gần nhất ngoài linh trưởng.
18	46	Toàn bộ cây linh trưởng có nguồn gốc từ loài Dermoptera tức Bộ Cánh Da, họ chồn bay	Dermoptera/colugo là outgroup hoặc sister group, không phải nguồn gốc của cây linh trưởng.

STT	Trang	Chỗ bôi vàng / nội dung cần rà	Lý do sai / hướng xử lý ngắn
20	50	Độ che phủ; sai vì với các giá trị âm/dương trong bảng thì đo là là overlap/intergenic nucleotide, không phải độ che phủ sequencing.	
21	57	Phải dựng biểu đồ cột vì các gene trong Hình 3.14 không có quan hệ tuyến tính	
22	63	Độ che phủ	tên cột sai: các giá trị âm/dương trong bảng là overlap/intergenic nucleotide, không phải độ che phủ sequencing.
23	75	Nghiên cứu này cho kết quả hệ gene ty thể hoàn chỉnh đầu tiên của Chà và chân đen Tây Nguyên Việt Nam, gồm 16,535 bp (Hình 3. 3) với cấu trúc đặc trưng, có kích thước lớn hơn hệ gene ty thể của hai mẫu Chà và chân đen khác được thu thập ở Nanning, Trung Quốc (16,536 bp)	Mâu thuẫn số liệu: 16,535 bp không lớn hơn 16,536 bp.
24	79	Nội dung GC trung bình dường như cao hơn ở các cá thể khỉ của chi macaca, được phản ánh qua GC-skew dương của chúng, chỉ ra một thành phần nucleotide cân bằng hơn so với các cá thể chà và	Sai diễn giải: các bảng đang cho GC-skew âm ở nhóm Macaca; cần sửa.
25	89	Giá trị TA Skew và GC Skew Khi vàng Tây nguyên Việt Nam -0.00605 và -0.35278	Dòng số liệu Khi vàng có vẻ bị lấy nhầm từ chà và chân đen <i>Pygathrix cinerea</i> ; mâu thuẫn với <i>Macaca mulatta</i> tham chiếu, cần kiểm tra lại toàn bộ Bảng 3.21.
27	90	Đối với Khi vàng, GC-skew có giá trị là -0.35278, cho thấy sự chiếm ưu thế của A và T so với G và C trong hệ gene ty thể.	Sai định nghĩa GC-skew: GC-skew phản ánh G so với C, không phải A/T so với G/C.
28	106	Cây phát sinh loài Linh trưởng Tây Nguyên từ trình tự 16S rRNA	cây không thể hiện bootstrap/support; cần bổ sung giá trị hỗ trợ nút hoặc giải thích, bổ sung mã số truy cập các OTU còn thiếu
29	112	Cây phát sinh loài Linh trưởng Tây Nguyên từ trình tự gene cytb	cây không thể hiện bootstrap/support; cần bổ sung giá trị hỗ trợ nút hoặc giải thích.

STT	Trang	Chỗ bôi vàng / nội dung cần rà	Lý do sai / hướng xử lý ngắn
30	115	Cây phát sinh loài Linh trường Tây Nguyên từ trình tự gene D-loop	cây không thể hiện bootstrap/support; cần bổ sung giá trị hỗ trợ nút hoặc giải thích.
32	117	Cây phát sinh loài Linh trường Tây Nguyên từ trình tự của toàn hệ	cây không thể hiện bootstrap/support; cần bổ sung giá trị hỗ trợ.



Nhóm 3. Danh pháp, định danh và thuật ngữ taxon

Đây là nhóm lỗi liên quan kiến thức nền tảng của NCS. Danh pháp chính ở Lần 1 đã sửa tốt hơn Lần 1, nhưng cần rà toàn văn, tóm tắt, hình và bảng để bảo đảm tên khoa học đúng và in nghiêng nhất quán.

STT	Trang	Chỗ bôi vàng / nội dung cần rà	Lý do sai / hướng xử lý ngắn
1	vi	Chà vá chân đỏ Trung Quốc	tên Việt của <i>Pygathrix nemaeus</i> không nhất quán; luận án đang dùng Chà vá chân nâu.; dính và sai chữ của Khi
2	ix	Chà vá chân đỏ Trung Quốc	tên Việt của <i>Pygathrix nemaeus</i> không nhất quán; luận án đang dùng Chà vá chân nâu.
3	49	<i>Macaca leonina</i>	tên loài sai chính tả; dư 1 chữ n, cần kiểm tra lại <i>Macaca leonina</i> .
4	54	Khi mặt đỏ	Sai chính tả/thiếu dấu: Khi mặt đỏ.
5	54	phân loài khi đuôi lợn	Sai/không chuẩn: <i>Macaca leonina</i> là loài, không phải phân loài của Khi mặt đỏ.
6	63	ADN ty thể của Khi mặt đỏ Tây Nguyên Việt Nam (16,539 bp)	Sai taxon trong mục Chà vá chân nâu: phải là ADN ty thể của Chà vá chân nâu, không phải Khi mặt đỏ.
7	82	Chà vá chân đỏ Trung Quốc	tên Việt của <i>Pygathrix nemaeus</i> không nhất quán; luận án đang dùng Chà vá chân nâu.
8	83	Chà vá chân đỏ Trung Quốc	tên Việt của <i>Pygathrix nemaeus</i> không nhất quán; luận án đang dùng Chà vá chân nâu.
9	84	<i>Pygathrix nigripes</i> là đặc hữu của Việt Nam	<i>Pygathrix nigripes</i> của Việt Nam và Campuchia.
10	86	RNA chuyển vị	tRNA là RNA vận chuyển, không phải RNA chuyển vị.
11	92	Viết: Hình 3. 23. Tỷ lệ phần trăm tần suất thành phần axit amin trong toàn bộ hệ gene ty thể của các cá thể khi của chi macaca : Khi vàng Việt Nam; Khi vàng Myanmar; Khi vàng Trung Quốc. Nhưng trên hình là Chinese <i>Macaca leonina</i>	Sai đối tượng trong hình/caption: <i>Macaca leonina</i> là khi đuôi lợn phương Bắc không phải Khi vàng Trung Quốc.
13	98	Phân tích Sử Dụng Codon Tương Đương Tương Đối (RSCU) cho thấy sự ưa thích đối với một số codon	dịch sai RSCU Relative Synonymous Codon Usage nên là “mức sử dụng codon đồng nghĩa tương đối”.

STT	Trang	Chỗ bôi vàng / nội dung cần rà	Lý do sai / hướng xử lý ngắn
14	114	D-loop đóng vai trò như một chỉ dấu mạnh mẽ để đánh giá sự khác biệt di truyền nội bộ loài và sự phân hóa giữa các quần thể cận lâm sàng	Thuật ngữ sai ngữ cảnh; nên là quần thể gần/quan hệ gần nếu cần.

Nhóm 4. Bảng, hình và đánh số

Nhóm lỗi này thuộc bề kiến thức nền tảng và khả năng tổ chức của NCS. Ví dụ Danh mục từ viết tắt còn GT-skew thay vì GC-skew; danh mục bảng có “Whole genome sequencing”, “cùakKhi vàng”; danh mục hình lặp Hình 3.16; có mục bị nhảy số như 3.2.3.2 nhưng thiếu 3.2.3.1.

STT	Trang	Chỗ bôi vàng / nội dung cần rà	Lý do sai / hướng xử lý ngắn
1	v	GT-skew	phải là GC-skew = $(G-C)/(G+C)$, không phải GT-skew.
2	vi	geneome	genome/mitochondrial genome, không phải geneome.
3	vi	cùakKhi	thiếu khoảng trắng / dính chữ.
4	viii	Hình 2. Loài thú linh trưởng được lưu trữ trong bảo tàng	quy ước đánh số hình sai; cần thống nhất Hình 2.1 hoặc theo chuẩn luận án.
5	viii	Hình 3. 16.	đánh số hình bị trùng/sai; cần rà lại Hình 3.15-3.16.
6	24	minh chứng quan trọng trong	Câu bị bỏ dờ/không hoàn chỉnh.
7	25	Hình 2. Loài thú linh trưởng được lưu trữ trong bảo tàng	quy ước đánh số hình sai; cần thống nhất Hình 2.1 hoặc theo chuẩn luận án.
8	32	geneome; sai chính tả genome/mitochondrial genome, không phải geneome.	
9	52	Hình 3. 2	Sai tham chiếu hình trong mục Khi mặt đỏ; đoạn đang nói Hình 3.13, không phải Hình 3.2.
10	53	sự đặc điểm	Lỗi diễn đạt tiếng Việt.
11	58	giữa khởi đầu sao chép	Câu gãy/ngữ pháp sai; cần viết lại.
12	90	KKhi	thừa chữ K.

STT	Trang	Chỗ bôi vàng / nội dung cần rà	Lý do sai / hướng xử lý ngắn
13	91	3.2.15.2	đánh số mục sai; phải thuộc mục 3.2.5.x.
14	94	của kHi	thiếu khoảng trắng / dính chữ.
15	98	dụng nucleotide	thiếu khoảng trắng giữa “dụng” và “nucleotide”.
16	120	ADN ty thể; sai chính tả ADN ty thể.	
17	122	geneome	genome/mitochondrial genome, không phải geneome.

Nhóm 5. Nhân hình và chất lượng biểu đồ

Lỗi thuộc về khả năng tổ chức của NCS. Một số hình tRNA/biểu đồ amino acid còn chữ nhỏ, nhãn sai như Liss, Methyonine, Arganine, Leusine; biểu đồ dạng Excel thô và chưa thống nhất tiếng Việt - tiếng Anh.

STT	Trang	Chỗ bôi vàng / nội dung cần rà	Lý do sai / hướng xử lý ngắn
1	34	Hình 3. 4. Cấu trúc gene ty thể hoàn chỉnh của Khi vàng Tây Nguyên Việt Nam; sai vì còn chữ vietnamese trong hình; tương tự trang 35 Hình 3.6 còn chữ Fish trên hình;	
2	38	Liss	nhãn amino acid sai; cần dùng Lys/Lysine nếu là lysine.
3	45	Methyonine; sai chính tả, đúng là Methionine.	
4	45	Arganine; sai chính tả, đúng là Arginine.	
5	45	Leusine; sai chính tả, đúng là Leucine.	
6	54	Liss	nhãn amino acid sai; dùng Lys/Lysine
7	60	Methyonine	Methionine.
8	66	Liss	nhãn amino acid sai; dùng Lys/Lysine.
9	71	Methylonine	Methionine.

STT	Trang	Chỗ bôi vàng / nội dung cần rà	Lý do sai / hướng xử lý ngắn
10	72	Ph và Leu	Nhãn hình bị lỗi/thiếu ký tự; cần xuất lại hình tRNA.
11	82	Liss	nhãn amino acid sai; cần sửa Lys/Lysine.
12	83	Liss	nhãn amino acid sai; cần sửa Lys/Lysine.
13	91	Series 1	Biểu đồ còn nhãn Excel mặc định; cần sửa legend theo mẫu/loài thực tế.
14	92	Liss	nhãn amino acid sai; cần sửa Lys/Lysine.
15	95	Methyonine	Methionine.
16	95	Arganine	Arginine.
17	95	Leusine	Leucine.

Nhóm 6. Trích dẫn, công bố và dữ liệu mở

Lỗi thuộc về khả năng tổ chức của NCS. Cần bổ sung accession GenBank/SRA, bảng danh sách trình tự tham chiếu cho từng cây, nguồn hình/bảng và phần nào của luận án lấy từ bài báo nào.

STT	Trang	Chỗ bôi vàng / nội dung cần rà	Lý do sai / hướng xử lý ngắn
1	viii	PP633106	mã accession sai; cần kiểm tra, có vẻ phải là PP623106.
2	30	GeneBank; sai chính tả đúng là GenBank.	
3	32	Bảng. S1, S2, S3, S4, S5	cần kiểm tra phụ lục/supplement có đủ và truy xuất được; format "Bảng." cũng chưa chuẩn.
4	47	PP633106	mã accession sai; cần kiểm tra, có vẻ phải là PP623106.
5	48	GeneBank, viết đúng là GenBank.	
6	53	trường ().	Lỗi trích dẫn: ngoặc rỗng, thiếu tài liệu tham khảo.
7	74	((48,102)	Lỗi format trích dẫn: dư dấu ngoặc.
8	74	((100,103)	Lỗi format trích dẫn: dư dấu ngoặc.

STT	Trang	Chỗ bôi vàng / nội dung cần rà	Lý do sai / hướng xử lý ngắn
9	75	Cann et al., 1987; Su et al., 2018	Không thống nhất kiểu trích dẫn với danh mục đánh số; cần chuyển về số tham khảo thống nhất toàn luận án.
10	109	GeneBank	tên cơ sở dữ liệu sai; chuẩn là GenBank.
11	111	GeneBank	tên cơ sở dữ liệu sai; chuẩn là GenBank.
12	132	terling EJ	tên tác giả ở tài liệu tham khảo sai; thiếu chữ S: Sterling.

Nhóm 7. Văn phong và tổng quan

Lỗi thuộc nhóm nhận định chủ quan của NCS: Một số phần tổng quan còn dài, thiên về liệt kê, có đoạn lệch trọng tâm; cần rút về logic: linh trưởng Tây Nguyên, khoảng trống dữ liệu ty thể, giới hạn mtDNA và lý do chọn mitogenome.

STT	Trang	Chỗ bôi vàng / nội dung cần rà	Lý do sai / hướng xử lý ngắn
1	5	Tầm quan của Linh trưởng	nên là “Tầm quan trọng của Linh trưởng”.
2	21	Gần đây công nghệ NGS phân cụm theo đơn vị phân loại vận hành (OTU)	lệch trọng tâm: OTU/ASV thuộc phân tích microbiome 16S, không phù hợp với mtDNA 16S của linh trưởng nếu không giải thích.
3	22	ASV	lệch trọng tâm: ASV là khái niệm trong amplicon/microbiome, cần bỏ hoặc giải thích vì sao liên quan.
4		Nhiều nơi khác	

7. Nội dung của luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu hội nghị khoa học nào và giá trị của các công trình đã công bố

Theo danh mục công trình công bố liên quan đến luận án, nghiên cứu sinh có 3 công trình liên quan trực tiếp đến nội dung luận án: công trình về hệ gene ty thể của *Pygathrix cinerea*, công trình về *Macaca mulatta* Việt Nam và công trình về *Pygathrix nigripes* Việt Nam. Các công trình này phù hợp với nội dung luận án vì phản ánh các phần dữ liệu then chốt về giải trình tự, mô tả, so sánh và phân tích phát sinh loài bằng hệ gene ty thể.

So với Lần 1, Lần 2 đã kê khai công trình rõ hơn, nhưng vẫn cần sửa lỗi chính tả trong tên bài, bổ sung đủ DOI, tên tạp chí, tập, số, trang và làm rõ vai trò của nghiên cứu sinh trong từng công trình. Cần ghi rõ nghiên cứu sinh là tác giả thứ mấy, đóng góp chính là gì, và dữ liệu nào trong luận án tương ứng với từng bài báo.

Về giá trị công bố, các công trình đã công bố chứng minh nghiên cứu sinh có tham gia tạo ra dữ liệu khoa học liên quan đến luận án. Trong bản nhận xét này, tôi khẳng định sự phù hợp về nội dung giữa các công trình đã công bố và luận án.

8. Kết luận chung cần khẳng định

Về mức độ đáp ứng yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ ngành Công nghệ sinh học, Lần 2 đã có tiến bộ rõ so với Lần 1. Luận án có ý nghĩa khoa học và thực tiễn, sử dụng phương pháp hiện đại, có dữ liệu hệ gene ty thể mới và có công trình công bố liên quan. Hướng nghiên cứu phù hợp với ngành và mã số ngành.

Bản tóm tắt luận án về cơ bản phản ánh hướng nội dung chính của Lần 2. Tuy nhiên, cần rà lại tóm tắt tiếng Việt và tiếng Anh để không còn sai tên loài, không còn phát biểu vượt quá cỡ mẫu, và không dùng ngôn ngữ của nghiên cứu quần thể/ESU khi dữ liệu chỉ có một cá thể đại diện cho mỗi loài.

Luận án có thể được xem xét đưa ra bảo vệ cấp Học viện sau khi nghiên cứu sinh sửa các nhóm lỗi bắt buộc đã nêu, đặc biệt là nhóm lỗi về phạm vi phát biểu, phương pháp - tái lập, dữ liệu accession và hình thức bảng/hình. Không nên trình Luận án ở phiên bản hiện tại như bản cuối nếu chưa có một lượt rà soát và chỉnh sửa kỹ theo các nhóm lỗi trên.

Tp Hồ Chí Minh, ngày 29 tháng 08 năm 2026

Người viết nhận xét

(Ký và ghi rõ họ tên)



PGS.TS. Trần Hoàng Dũng

BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIẾN SĨ

Họ và tên người viết nhận xét luận án: Lao Đức Thuận

Học hàm, học vị: PGS. TS.

Cơ quan công tác: Trường Đại Học Mở Tp. HCM

Họ và tên nghiên cứu sinh: Nguyễn Thị Thùy Trâm

Tên đề tài luận án: Nghiên cứu đặc điểm bộ gene ty thể của một số loài linh trưởng ở Tây Nguyên

Ý KIẾN NHẬN XÉT

1. Tính cấp thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài:

Việt Nam được ghi nhận là một trong những quốc gia khu vực Đông Nam Á có mức độ đa dạng loài linh trưởng cao, với 24-27 loài thuộc ba họ chính, trong đó có nhiều loài đặc hữu và đang ở tình trạng nguy cấp. Trong bối cảnh các loài bị đe dọa do mất sinh cảnh, phân mảnh môi trường sống, săn bắt và buôn bán trái phép động vật hoang dã, việc nghiên cứu đặc điểm di truyền, cụ thể đặc điểm bộ gene ty thể, và quan hệ phát sinh loài của các loài linh trưởng không chỉ có ý nghĩa trong việc làm sáng tỏ lịch sử tiến hóa và phân loại học mà còn cung cấp cơ sở khoa học quan trọng cho công tác bảo tồn và quản lý nguồn gene động vật hoang dã quý hiếm.

Về mặt khoa học, dữ liệu phân tử hệ gene ty thể của loài linh trưởng tại Việt Nam vẫn là một khoảng trống, do đó luận án này cung cấp dữ liệu hệ gene ty thể hoàn chỉnh của các cá thể linh trưởng phân bố tại Tây Nguyên, cụ thể chà vá chân xám (*Pygathrix cinerea*), Chà vá chân nâu (*Pygathrix nemaeus*), Chà vá chân đen (*Pygathrix nigripes*), Khi mặt đỏ (*Macaca arctoides*) và Khi vàng (*Macaca mulatta*), góp phần bổ sung nguồn dữ liệu di truyền còn rất hạn chế của linh trưởng Việt Nam, phục vụ nghiên cứu tiến hóa, phân loại và phát sinh loài.

Về mặt thực tiễn, kết quả nghiên cứu tạo cơ sở khoa học cho công tác bảo tồn, quản lý nguồn gene, nhận diện đơn vị bảo tồn và xây dựng các chiến lược bảo tồn linh trưởng nguy cấp tại Việt Nam.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận văn, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo.

Luận án chi ra khoảng trống nghiên cứu rõ ràng khi phần lớn các nghiên cứu trước đây (trong và ngoài nước) tập trung trên các marker riêng lẻ như cytochrome b, 16S rRNA hoặc D-loop, trong khi dữ liệu hệ gene ty thể hoàn chỉnh còn rất hạn chế. Đặc biệt, đối tượng nghiên cứu là các loài thuộc khu vực Tây Nguyên, Việt Nam. Do đó, đây là hướng tiếp cận mới tại Việt Nam, và không có sự trùng lặp với các nghiên cứu công trình luận văn, luận án.

Nghiên cứu sinh có cam đoan rõ ràng về nguồn gốc dữ liệu, tính trung thực của kết quả và việc sử dụng tài liệu tham khảo.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài và nội dung, giữa nội dung với ngành và mã số ngành.

Tên đề tài phản ánh đúng mục tiêu, đối tượng và nội dung nghiên cứu tập trung vào nghiên cứu đặc điểm bộ gene ty thể của các loài linh trưởng ở khu vực Tây Nguyên. Nội dung nghiên cứu phù hợp với ngành Công nghệ sinh học (Mã số 9.42.02.01).

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu.

Các phương pháp được sử dụng có độ tin cậy và tính hiện đại cao, các phương pháp phù hợp với mục tiêu và nội dung nghiên cứu.

5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả; những đóng góp mới cho sự phát triển chuyên ngành; đóng góp mới phục vụ cho sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống. Ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của những kết quả đó.

Các đóng góp mới của luận án:

- Cung cấp dữ liệu hệ gene ty thể hoàn chỉnh của một số loài linh trưởng phân bố tại Tây Nguyên Việt Nam.
- Mô tả chi tiết cấu trúc, thành phần nucleotide, tổ chức gene và đặc điểm tiến hóa của các hệ gene ty thể nghiên cứu.
- Xác định các sai khác trình tự di truyền giữa các cá thể Tây Nguyên và các trình tự đã công bố trên thế giới.
- Xây dựng và củng cố quan hệ phát sinh loài của các loài linh trưởng nghiên cứu dựa trên nhiều marker riêng lẻ và toàn bộ hệ gene ty thể.

Luận án là công trình nghiên cứu có giá trị khoa học và thực tiễn, được thực hiện bằng các phương pháp hiện đại, phù hợp với chuyên ngành đào tạo. Các kết quả đạt được có tính mới, góp phần bổ sung dữ liệu di truyền còn thiếu cho linh trưởng Việt Nam và có ý nghĩa trong nghiên cứu tiến hóa cũng như bảo tồn đa dạng sinh học.

6. Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án.

Ưu điểm:

- Kết luận luận án rõ ràng, được sắp xếp logic, có sự liên kết giữa mục tiêu nghiên cứu, phương pháp thực hiện và kết quả đạt được.
- Hệ thống bảng biểu, hình ảnh và cây phát sinh loài khá phong phú, hỗ trợ tốt cho việc trình bày kết quả nghiên cứu.
- Mục tiêu, câu hỏi nghiên cứu và nội dung nghiên cứu được xây dựng tương đối rõ ràng, bám sát tên đề tài và định hướng nghiên cứu.
- Luận án sử dụng các phương pháp nghiên cứu hiện đại như giải trình tự thế hệ mới (NGS), lắp ráp hệ gene, phân tích tin sinh học và xây dựng cây phát sinh loài, phù hợp với xu hướng nghiên cứu hiện nay trong lĩnh vực di truyền học phân tử và sinh học bảo tồn.
- Kết quả nghiên cứu trình bày rõ ràng, cung cấp dữ liệu hệ gene ty thể hoàn chỉnh của nhiều loài linh trưởng ở Tây Nguyên, đồng thời làm rõ một số đặc điểm cấu trúc, thành phần nucleotide và quan hệ phát sinh loài của các loài nghiên cứu.

Nhược điểm:

- Hình ảnh điện di DNA có độ phân giải thấp, băng DNA không rõ nét, độ tương phản kém, gây khó khăn cho việc đánh giá chất lượng mẫu và độ tin cậy của kết quả.
- Số lượng mẫu nghiên cứu còn hạn chế, chủ yếu đại diện bởi một số cá thể của mỗi loài, do đó chưa phản ánh đầy đủ mức độ đa dạng di truyền trong quần thể tự nhiên và chưa đủ cơ sở để đưa ra các kết luận ở quy mô quần thể.
- Một mục tiêu quan trọng của luận án là đánh giá sai khác trình tự di truyền giữa các cá thể nghiên cứu và dữ liệu quốc tế, do sự hạn chế số lượng mẫu dẫn đến các chỉ số thường dùng trong phân tích di truyền quần thể chưa được khai thác, chẳng hạn như: Haplotype diversity, Nucleotide diversity, ... Vì vậy, khả năng đánh giá mức độ biến dị di truyền, lịch sử tiến hóa cũng như tình trạng đa dạng di truyền của các quần thể linh trưởng tại Việt Nam còn hạn chế, làm giảm giá trị suy luận và ý nghĩa ứng dụng của kết quả đối với công tác bảo tồn nguồn gene trong tự nhiên.
- Phần kết quả và thảo luận tập trung chủ yếu vào việc mô tả cấu trúc, tổ chức và thành phần của hệ gene ty thể ở các loài linh trưởng nghiên cứu. Tuy nhiên, phần này vẫn còn nhiều hạn chế về chiều sâu phân tích khoa học. Các kết quả chủ yếu dừng lại ở mức mô tả đặc điểm hệ gene, thành phần nucleotide, codon, tRNA, rRNA và vị trí các

du

gene mà chưa làm nổi bật được các phát hiện mới mang tính học thuật hoặc ý nghĩa sinh học của những sai khác được phát hiện.

- Việc so sánh giữa các loài nghiên cứu và với các dữ liệu đã công bố trên thế giới còn chưa đầy đủ và thiếu các phân tích chuyên sâu nhằm làm rõ giá trị tiến hóa, phân loại học và bảo tồn của bộ dữ liệu thu được.
- Kết quả giải trình tự toàn bộ hệ gene ty thể là nguồn dữ liệu có giá trị, tuy nhiên phần thảo luận còn sơ lược, chưa khai thác sâu ý nghĩa tiến hóa, phân loại học và bảo tồn.
- Một số cây phát sinh loài trong luận án chưa trình bày đầy đủ giá trị hỗ trợ thống kê (bootstrap support values) tại các nút phân nhánh hoặc chỉ thể hiện một phần các giá trị bootstrap. Điều này gây khó khăn trong việc đánh giá mức độ tin cậy của các mối quan hệ phát sinh loài được đề xuất.

7. Nội dung của luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu Hội nghị Khoa học nào và giá trị của các công trình đã công bố (cấp công bố WoS (SSCI, SCI/E, ESCI...)Scopus, quốc tế có phản biện, tạp chí trong nước được tính điểm theo Hội đồng Giáo sư nhà nước...và xếp hạng SCIMAGO).

Các công trình đã công bố phản ánh đúng nội dung và kết quả chính của luận án, được đăng tải trên tạp chí quốc tế có uy tín, có phản biện khoa học và được lập chỉ mục trong các cơ sở dữ liệu quốc tế lớn (WoS, Scopus). Cụ thể: 1 bài SCIE, Q2, 1 bài SCIE Q4 và 1 bài trên tạp chí trong nước (thuộc danh mục HĐGSNN 1 điểm). Đây là minh chứng cho tính mới, độ tin cậy và khả năng hội nhập quốc tế của kết quả nghiên cứu.

8. Kết luận chung cần khẳng định:

- Luận án đáp ứng các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ ngành.
- Bản tóm tắt luận án có phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án.
- Luận án có thể đưa ra bảo vệ cấp Học viện để nhận bằng Tiến sĩ.

TpHCM, ngày 10 tháng 5 năm 2026

Người viết nhận xét

(Ký và ghi rõ họ và tên)

PGS. TS. Lao Đức Thuận

Tp.HCM, ngày 27 tháng 05 năm 2026

BIÊN BẢN
HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Căn cứ quyết định số 228/QĐ-HVKHCN ngày 30/03/2026 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện

Thời gian họp: 09h00, Thứ Tư ngày 27 tháng 05 năm 2026

Địa điểm: Phòng Họp Viện Khoa học sự sống, 9/621 Đường Võ Nguyên Giáp, Linh Xuân, Tp. Hồ Chí Minh để đánh giá luận án tiến sĩ.

Nghiên cứu sinh: **Nguyễn Thị Thủy Trâm**

Tên đề tài luận án: **NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM BỘ GENE TY THỂ CỦA MỘT SỐ LOÀI LINH TRƯỞNG Ở TÂY NGUYÊN**

Ngành: Công nghệ sinh học

Mã số: 9 42 02 01

Người hướng dẫn chính: PGS.TS Lê Thành Long, Viện Khoa học sự sống, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Người hướng dẫn phụ: PGS.TS Thái Kế Quân - Trường Đại học Sài Gòn, Ủy ban Nhân dân Thành phố Hồ Chí Minh

THAM DỰ BUỔI BẢO VỆ GỒM CÓ

- Đại diện cơ sở đào tạo:
- Đại diện Viện: GS. TS. Hoàng Nghĩa Sơn
- Đại diện Cơ quan chủ quản của NCS:

NỘI DUNG

1. Từ 09 giờ 00 phút đến 12 giờ 00 phút:

- Đại diện cơ sở đào tạo tuyên bố lý do, đọc Quyết định thành lập Hội đồng đánh giá luận án cấp Học viện. Đề nghị Chủ tịch Hội đồng điều khiển buổi họp.
- Chủ tịch Hội đồng điều khiển buổi họp:
 - + Tuyên bố số thành viên Hội đồng có mặt: 7/7 (có danh sách kèm theo).
 - + Số khách mời tham dự buổi bảo vệ: 2 người.
 - + Thư ký hội đồng đọc lý lịch khoa học và kết quả học tập của nghiên cứu sinh.

2. Từ 9 giờ 15 phút đến 9 giờ 45 phút:



- Nghiên cứu sinh **Nguyễn Thị Thủy Trâm** trình bày nội dung luận án (tối đa 30 phút).

3. Từ 9 giờ 47 phút đến 10 giờ 00 phút:

- Phản biện 1: Đọc nhận xét luận án (kèm theo toàn văn nhận xét).
- Phản biện 2: Đọc nhận xét luận án (kèm theo toàn văn nhận xét).
- Thư ký đọc bản tổng hợp nhận xét phản biện độc lập và các yêu cầu của phản biện độc lập

Các câu hỏi của thành viên Hội đồng và câu trả lời của nghiên cứu sinh: (ghi rõ họ tên, học vị, chức danh khoa học của người hỏi)

Phản biện 1: GS.TS. Đặng Thi Phương Thảo

1. Mỗi mẫu được giải trình tự mấy lần và lấy mẫu như thế nào?

NCS trả lời:

Mỗi mẫu được giải trình tự 01 lần. Mẫu được lấy từ mô các cá thể Linh trưởng khu vực Tây Nguyên Việt Nam lưu trữ trong bảo tàng lưu trữ mẫu tươi tại Bảo tàng Sinh học – Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên; ADN tổng số được tách chiết bằng QIAamp DNA Mini Kit. Sau đó, ADN ty thể được làm giàu từ ADN tổng số bằng REPLI-g Mitochondrial DNA Kit dựa trên nguyên lý khuếch đại đẳng nhiệt Multiple Displacement Amplification, nhằm khuếch đại chọn lọc toàn bộ hệ gene ty thể phục vụ giải trình tự.

2. Luận án có điểm gì khác biệt so với các nghiên cứu trước?

NCS trả lời:

Điểm khác biệt chính là luận án bổ sung dữ liệu hệ gene ty thể hoàn chỉnh cho các cá thể linh trưởng có nguồn gốc Tây Nguyên Việt Nam. Luận án không chỉ mô tả cấu trúc chuẩn ADN ty thể mà còn so sánh với dữ liệu đã công bố về chiều dài hệ gene, thành phần nucleotide, vùng D-loop, số vị trí sai khác và quan hệ phát sinh loài.

3. Các gene được phát hiện có phải chỉ thuộc ty thể không? Có so sánh với gene trong nhân không?

NCS Trả lời:

Luận án tập trung phân tích hệ gene ty thể, không nhằm khảo sát toàn bộ hệ gene nhân. ADN tổng số được tách chiết bằng QIAamp DNA Mini Kit. Sau đó, ADN ty thể được làm giàu từ ADN tổng số bằng REPLI-g Mitochondrial DNA Kit dựa trên nguyên lý khuếch đại đẳng nhiệt Multiple Displacement Amplification, nhằm khuếch đại chọn lọc toàn bộ hệ gene ty thể phục vụ giải trình tự. Tuy nhiên, để tránh nhầm lẫn với các đoạn có nguồn gốc ty thể trong DNA nhân, kết quả được xác định dựa trên đặc điểm của hệ gene như: genome dạng vòng, vị trí 37 gene đặc trưng, mã di truyền ty thể, độ bao phủ trình tự và mức độ tương đồng cao với các hệ gene ty thể tham chiếu.

4. Làm sao đảm bảo các gene này là gene ty thể, không phải gene trong nhân?

Trả lời:

Các gene được xác định là gene ty thể vì chúng nằm trên trình tự hệ gene dạng vòng hoàn chỉnh, có tổ chức gene phù hợp với mtDNA của động vật có xương sống, gồm 13 gene mã hóa protein, 22 tRNA và 2 rRNA. Ngoài ra, trình tự được chú giải bằng công cụ chuyên biệt cho mtDNA và được so sánh với các mitogenome linh trưởng đã công bố trên GenBank.

Tác giả không khẳng định tuyệt đối rằng không có trình tự tương đồng trong DNA nhân, vì trong genome nhân có thể tồn tại các đoạn NUMTs. Tuy nhiên, các gene được báo cáo trong luận án là các gene thuộc hệ gene ty thể đã được lắp ráp và chú giải hoàn chỉnh.

5. Luận án có làm rõ ý nghĩa chức năng và tiến hóa của các gene ty thể chưa?

Trả lời:

Luận án đã xác định đầy đủ 37 gene của hệ gene ty thể. Trong đó, 13 gene mã hóa protein liên quan đến chuỗi truyền electron và quá trình tạo ATP; 2 rRNA và 22 tRNA tham gia dịch mã trong ty thể. Tuy nhiên trong mức độ của đề tài nên không bổ sung diễn giải sâu hơn về gene nào bảo tồn, gene nào biến đổi nhanh và ý nghĩa của sự khác biệt này trong tiến hóa phân tử.

6. Cây phát sinh loài có được hỗ trợ tốt không và quan hệ giữa các loài có ý nghĩa gì?

Trả lời:

Sẽ bổ sung thêm bootstrap giúp đánh giá độ tin cậy của các nhánh.

Phản biện 2: TS. Đoàn Chính Chung

1. Luận án sử dụng số lượng mẫu còn tương đối hạn chế và chủ yếu đại diện cho từng loài. Vậy NCS đánh giá như thế nào về mức độ đại diện của các mẫu nghiên cứu đối với quần thể linh trưởng tại khu vực Tây Nguyên, và hạn chế này có thể ảnh hưởng như thế nào đến các kết luận về đặc điểm di truyền và phát sinh loài?

Số lượng mẫu trong luận án còn hạn chế, chủ yếu mỗi loài đại diện bởi một cá thể, nên chưa thể phản ánh đầy đủ đa dạng di truyền của toàn bộ quần thể linh trưởng Tây Nguyên. Hạn chế này có thể ảnh hưởng đến các kết luận liên quan đến đa dạng di truyền nội loài, cấu trúc quần thể và sự khác biệt giữa các quần thể địa lý.

Tuy nhiên, mục tiêu chính của luận án là bổ sung dữ liệu hệ gene ty thể hoàn chỉnh cho các loài linh trưởng có nguồn gốc Tây Nguyên, nên kết quả có giá trị như dữ liệu tham chiếu ban đầu. Các kết luận được diễn giải thận trọng và cần được kiểm chứng thêm bằng nghiên cứu với số mẫu lớn hơn.

2. Kết quả nghiên cứu đã bổ sung dữ liệu hệ gene ty thể của một số loài linh trưởng Việt Nam. Theo NCS, các kết quả này có thể được ứng dụng cụ thể như thế nào trong công tác bảo tồn, quản lý quần thể hoặc nghiên cứu di truyền linh trưởng tại Việt Nam trong thời gian tới?

Kết quả nghiên cứu có thể được ứng dụng để bổ sung cơ sở dữ liệu di truyền cho linh trưởng Việt Nam, hỗ trợ định danh loài bằng DNA, kiểm tra nguồn gốc mẫu sinh học hoặc tang vật trong buôn bán động vật hoang dã.

Ngoài ra, dữ liệu hệ gene ty thể và cây phát sinh loài là cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo về phân loại, quan hệ tiến hóa, đa dạng di truyền và quản lý bảo tồn quần thể. Tuy nhiên, để ứng dụng sâu ở mức quần thể, cần mở rộng số mẫu, phạm vi địa lý và kết hợp thêm DNA nhân.

PGS.TS. Nguyễn Thanh Bình

Có một số góp ý theo bảng nhận xét và không có câu hỏi.

PGS.TS. Trần Hoàng Dũng

1. Đã submit accession number chưa?

Đã submit một số trình tự lên ngân hàng gene và đã được cấp accession number. Các mã accession được trình bày trong luận án/phụ lục để bảo đảm dữ liệu có thể truy xuất và kiểm chứng.

2. Về tái lập: khác biệt nucleotide có thật sự là khác biệt không?

Các khác biệt nucleotide chỉ được xem là đáng tin cậy khi được kiểm tra qua chất lượng trình tự, độ phủ đọc, kết quả lắp ráp và so sánh với dữ liệu tham chiếu. Tuy nhiên, do mỗi loài chỉ có ít mẫu, các sai khác này nên được hiểu là sai khác của cá thể nghiên cứu, chưa thể khẳng định là đặc trưng của toàn bộ quần thể.

3. Với thiết kế chỉ 1 cá thể thì làm sao kết luận?

Với thiết kế chủ yếu 1 cá thể/loài, luận án không kết luận ở mức quần thể mà chỉ kết luận ở mức cá thể đại diện có nguồn gốc xác định tại Tây Nguyên Việt Nam. Kết quả có giá trị như dữ liệu tham chiếu ban đầu cho hệ gene ty thể của các loài nghiên cứu.

4. Trong 5 cá thể, làm thế nào để tái lập?

Do số lượng cá thể hạn chế, tái lập sinh học chưa thể thực hiện đầy đủ. Việc đảm bảo độ tin cậy chủ yếu dựa vào tái lập kỹ thuật, gồm kiểm tra chất lượng DNA, chất lượng dữ liệu giải trình tự, độ phủ, lắp ráp hệ gene, chú giải gene và so sánh với trình tự tham chiếu đã công bố.

5. Trong phương pháp dựng cây phát sinh loài, tại sao không có giá trị bootstrap?

Giá trị bootstrap đã được tính trong quá trình dựng cây, nhưng một số hình có thể chưa hiển thị đầy đủ do cách xuất hình hoặc giới hạn trình bày. NCS sẽ bổ sung hình cây phát sinh loài có đầy đủ bootstrap tại các nút chính, vì bootstrap thể hiện mức độ tin cậy của các nhánh phân loại.

6. Dùng mã codon nào? Có mấy mã codon?

Luận án sử dụng mã di truyền ty thể của động vật có xương sống (vertebrate mitochondrial genetic code), vì đối tượng nghiên cứu là hệ gene ty thể của linh trưởng. Có nhiều bảng mã di truyền khác nhau, gồm mã di truyền chuẩn và các mã ty thể đặc thù ở từng nhóm sinh vật.

7. Chuyện gì xảy ra nếu dịch mã sai?

Nếu dùng sai mã codon, có thể xác định sai codon mở đầu, codon kết thúc, chiều dài protein và trình tự amino acid. Điều này dẫn đến sai lệch trong chú giải gene, so sánh trình tự, phân tích tiến hóa và nhận định về chức năng gene.

8. Quy trình nhận trình tự được thực hiện như thế nào?

Quy trình gồm: thu mẫu, tách DNA tổng số, kiểm tra chất lượng DNA, giải trình tự thế hệ mới, lọc dữ liệu thô, lắp ráp hệ gene ty thể, chú giải gene, kiểm tra cấu trúc gene, so sánh với dữ liệu tham chiếu và nộp trình tự lên ngân hàng gene để nhận accession number.

9. Hạn chế của di truyền dòng mẹ là gì?

Hệ gene ty thể chỉ di truyền theo dòng mẹ nên chỉ phản ánh lịch sử tiến hóa của dòng mẹ, không đại diện đầy đủ cho toàn bộ gene hay lịch sử lai, dòng gene và cấu trúc quần thể. Vì vậy, để đánh giá toàn diện hơn cần kết hợp thêm marker DNA nhân hoặc dữ liệu SNP trong các nghiên cứu tiếp theo.

PGS.TS. Lao Đức Thuận

1. Do số lượng mẫu nghiên cứu còn hạn chế, vì sao luận án chưa phân tích được các chỉ số di truyền quần thể như haplotype diversity, nucleotide diversity? Hạn chế này ảnh hưởng như thế nào đến việc đánh giá đa dạng di truyền và ý nghĩa bảo tồn của các loài linh trưởng Việt Nam?

Do số lượng mẫu còn hạn chế, chủ yếu mỗi loài chỉ có một hoặc rất ít cá thể đại diện, nên luận án chưa đủ cơ sở để phân tích các chỉ số di truyền quần thể như *haplotype diversity* hay *nucleotide diversity*. Các chỉ số này cần số lượng mẫu đủ lớn trong cùng một loài và từ nhiều quần thể khác nhau.

Hạn chế này làm cho việc đánh giá đa dạng di truyền nội loài, cấu trúc quần thể và lịch sử tiến hóa của linh trưởng Việt Nam chưa thể thực hiện sâu. Vì vậy, kết quả của luận án được xem là dữ liệu nền ban đầu, có giá trị tham chiếu cho các nghiên cứu tiếp theo, nhưng chưa thể kết luận toàn diện về đa dạng di truyền quần thể hay tình trạng bảo tồn nguồn gene trong tự nhiên.

2. Các kết quả mô tả hệ gene ty thể và cây phát sinh loài đã làm rõ được ý nghĩa tiến hóa, phân loại học và bảo tồn hay chưa? Vì sao cần bổ sung so sánh chuyên sâu và trình bày đầy đủ giá trị bootstrap trên cây phát sinh loài?

Các kết quả mô tả hệ gene ty thể và cây phát sinh loài đã cung cấp thông tin cơ bản về cấu trúc hệ gene, thành phần nucleotide, vị trí gene và quan hệ phát sinh của các loài nghiên cứu. Tuy nhiên, do phạm vi mẫu còn hạn chế nên ý nghĩa tiến hóa, phân loại học và bảo tồn mới được đánh giá ở mức bước đầu.

Việc bổ sung so sánh chuyên sâu với dữ liệu đã công bố là cần thiết để làm rõ các sai khác di truyền, vị trí phân loại và mức độ gần gũi giữa các loài. Ngoài ra, cần trình bày đầy đủ giá trị bootstrap trên cây phát sinh loài vì bootstrap thể hiện mức độ tin cậy của các nhánh phân loại; nếu thiếu giá trị này sẽ khó đánh giá độ chắc chắn của các mối quan hệ tiến hóa được đề xuất.

TS. Nguyễn Hoàng Dũng

Có một số góp ý theo bảng nhận xét và không có câu hỏi.

GS.TS. Hoàng Nghĩa Sơn

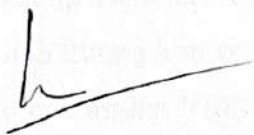
Có một số góp ý theo bảng nhận xét và không có câu hỏi.

4. Từ 11 giờ 20 phút đến 11h giờ 30 phút : Nghỉ giải Isao
5. Từ 11 giờ 35 phút đến 11 giờ 50 phút : Họp hội đồng riêng
 - Thông qua kết luận của Hội đồng (có văn bản kèm theo).
 - Ghi phiếu nhận xét luận án.

Kết quả kiểm phiếu 07 /07 thành viên tán thành và đề nghị Học viện ra quyết định công nhận học vị Tiến sĩ Sinh học cho nghiên cứu sinh **Nguyễn Thị Thủy Trâm**

6. Từ 11 giờ 50 phút đến 11 giờ 55 phút
 - Chủ tịch Hội đồng đọc kết luận của hội đồng đánh giá luận án.
 - Hội đồng kết thúc lúc 12 giờ 00 phút, ngày 27 tháng 05 năm 2026.

Thư ký Hội đồng



TS. Nguyễn Hoàng Dũng

Chủ tịch Hội đồng



GS.TS. Hoàng Nghĩa Sơn

XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO



Nguyễn Thị Trung

GÓP Ý CỦA CÁC THÀNH VIÊN HỘI ĐỒNG

GS.TS Đặng Thị Phương Thảo

Đề tài luận án có tính cần thiết và thời sự cao, phù hợp với xu thế nghiên cứu hiện đại trong lĩnh vực di truyền học phân tử, genomics và bảo tồn đa dạng sinh học, đặc biệt trong bối cảnh khủng hoảng suy giảm quần thể linh trưởng đang diễn ra trên phạm vi toàn cầu khi phần lớn các loài đang đứng trước nguy cơ tuyệt chủng. Tại Việt Nam – một trong những trung tâm đa dạng linh trưởng quan trọng của khu vực Đông Nam Á với nhiều loài đặc hữu và nguy cấp – việc thiếu hụt dữ liệu di truyền, nhất là dữ liệu hệ gene ty thể hoàn chỉnh, đang là hạn chế lớn đối với các nghiên cứu phát sinh loài và xây dựng chiến lược bảo tồn hiệu quả. Trên thế giới, xu hướng chuyển từ phân tích các marker đơn lẻ sang khai thác toàn bộ hệ gene ty thể bằng công nghệ giải trình tự thế hệ mới đã chứng minh ưu thế rõ rệt trong việc nâng cao độ phân giải và độ tin cậy của các nghiên cứu tiến hóa. Trong bối cảnh đó, luận án không chỉ có ý nghĩa khoa học khi bổ sung dữ liệu hệ gene ty thể, làm sáng tỏ đặc điểm cấu trúc, tổ chức và sai khác di truyền, góp phần hoàn thiện cơ sở dữ liệu phục vụ nghiên cứu phát sinh loài linh trưởng, mà còn có ý nghĩa thực tiễn sâu sắc khi cung cấp luận cứ khoa học cho việc xác định đơn vị bảo tồn, hỗ trợ quản lý quần thể, kiểm soát buôn bán động vật hoang dã và xây dựng các chiến lược bảo tồn phù hợp, hướng tới mục tiêu phát triển bền vững và bảo vệ đa dạng sinh học.

Tên đề tài và nội dung phù hợp với chuyên ngành đào tạo; ngành Công nghệ sinh học

Luận án không trùng lặp với các nghiên cứu trước do sử dụng bộ dữ liệu mẫu mới từ các quần thể linh trưởng khu vực Tây Nguyên Việt Nam và bổ sung dữ liệu hệ gene ty thể còn thiếu cho linh trưởng Việt Nam.

Luận án có tính mới về bộ dữ liệu cho các mẫu linh trưởng Tây Nguyên.

Nhìn chung luận án đã sử dụng nhiều nguồn tài liệu trong và ngoài nước, bao quát cả các nghiên cứu nền tảng và cập nhật trong lĩnh vực di truyền học phân tử và bảo tồn linh trưởng, cho thấy tác giả có sự tìm hiểu tương đối công phu. Các thông tin, số liệu quan trọng (như tình trạng đe dọa linh trưởng, vai trò sinh thái, ứng dụng của ADN ty thể...) phần lớn đều có dẫn nguồn, góp phần đảm bảo tính khoa học và độ tin cậy của nội dung.

Tuy nhiên, việc trích dẫn trong một số trường hợp còn mang tính tổng hợp, chưa chỉ rõ nguồn gốc trực tiếp của từng số liệu hoặc luận điểm cụ thể; một số nhận định mang tính khái quát cao nhưng chưa kèm theo dẫn chứng chi tiết hoặc chưa cập nhật tài liệu mới nhất.

Ngoài ra, cần kiểm tra kỹ sự thống nhất giữa trích dẫn trong nội dung và danh mục tài liệu tham khảo, cũng như chuẩn hóa cách trình bày tài liệu theo một quy chuẩn thống nhất.

Do đó, có thể nhận định rằng luận án cơ bản đảm bảo tính trung thực trong trích dẫn, nhưng vẫn cần được rà soát và hoàn thiện thêm để nâng cao tính rõ ràng, chính xác và đầy đủ theo yêu cầu của một công trình khoa học.

Các đóng góp mới cho lĩnh vực khoa học chuyên ngành và độ tin cậy của các kết quả:

Luận án có một số đóng góp mới cho lĩnh vực di truyền học phân tử và nghiên cứu linh trưởng, trong đó đáng chú ý là việc giải trình tự và cung cấp dữ liệu hệ gene ty thể hoàn chỉnh cho một số loài linh trưởng phân bố tại Việt Nam, đặc biệt là các loài thuộc chi *Pygathrix* và *Macaca*. Đây là nguồn dữ liệu còn hạn chế trong các nghiên cứu trước, nhất là đối với các quần thể tại khu vực Tây Nguyên, do đó có ý nghĩa bổ sung quan trọng cho cơ sở dữ liệu di truyền khu vực. Trên cơ sở dữ liệu thu được, luận án đã tiến hành phân tích đặc điểm cấu trúc, tổ chức hệ gene, thành phần nucleotide và so sánh sai khác trình tự giữa các loài, đồng thời thực hiện so sánh trực tiếp giữa các loài trong cùng chi *Pygathrix* bằng toàn bộ hệ gene ty thể – cách tiếp cận có độ phân giải cao hơn so với các nghiên cứu trước đây chủ yếu sử dụng các marker đơn lẻ. Bên cạnh đó, việc xây dựng cây phát sinh loài dựa trên dữ liệu mitogenome đầy đủ cũng góp phần làm rõ hơn mối quan hệ tiến hóa giữa các loài linh trưởng nghiên cứu. Ngoài ý nghĩa khoa học, bộ dữ liệu này còn có giá trị thực tiễn trong nhận dạng loài, truy xuất nguồn gốc và hỗ trợ công tác bảo tồn các loài linh trưởng nguy cấp tại Việt Nam.

Kết quả nghiên cứu mới của luận án:

Giải trình tự và xây dựng hệ gene ty thể hoàn chỉnh (mitogenome) cho các loài linh trưởng nghiên cứu (*Pygathrix cinerea*, *P. nemeus*, *P. nigripes*, *Macaca arctoides*, *M. mulatta*) từ mẫu thu tại Việt Nam.

Cung cấp dữ liệu di truyền mới theo khu vực Tây Nguyên, góp phần bổ sung vào cơ sở dữ liệu còn thiếu về linh trưởng Việt Nam trên các ngân hàng gene quốc tế.

Phân tích chi tiết cấu trúc và tổ chức hệ gene ty thể, bao gồm:

- 13 gene mã hóa protein (PCGs)
- 22 tRNA, 2 rRNA
- vùng điều khiển (D-loop)

Xác định và so sánh thành phần nucleotide, thiên lệch AT/GC, đặc điểm mã kết thúc/mã khởi đầu của các gene giữa các loài.

Phân tích mức độ sai khác trình tự và biến dị di truyền giữa các loài, đặc biệt trong cùng chi *Pygathrix*.

Thực hiện so sánh toàn bộ hệ gene ty thể giữa các loài trong chi *Pygathrix*, thay vì chỉ sử dụng marker đơn lẻ như các nghiên cứu trước.

Xây dựng cây phát sinh loài dựa trên dữ liệu mitogenome hoàn chỉnh, góp phần làm rõ quan hệ tiến hóa giữa các loài linh trưởng nghiên cứu.

Đề xuất dẫn liệu di truyền phục vụ nhận dạng loài và truy xuất nguồn gốc, có ý nghĩa trong kiểm soát buôn bán động vật hoang dã.

Cung cấp cơ sở khoa học cho công tác bảo tồn linh trưởng nguy cấp tại Việt Nam, đặc biệt trong việc xác định mối quan hệ di truyền và ưu tiên bảo tồn.

Kết quả của luận án đã được công bố trong 03 bài báo thuộc tạp chí khoa học, trong đó có 02 bài NCS là tác giả chính. Các tạp chí đều nằm trong danh mục tạp chí được hội đồng chức danh GS- PGS công nhận.

Góp ý hoàn thiện:

Về nội dung, tính mới chưa thật sự nổi bật ở bình diện quốc tế, chủ yếu dừng ở việc bổ sung dữ liệu, chưa có nhiều đóng góp về phương pháp hoặc cách tiếp cận mới; phần tổng quan và thảo luận còn mang tính mô tả, chưa phân tích sâu và chưa cập nhật đầy đủ các nghiên cứu gần đây. Về kết cấu, cách trình bày kết quả theo từng loài còn lặp lại về cấu trúc, thiếu phần tổng hợp chung để làm nổi bật các nhận xét mang tính khái quát. Về hình thức, việc trích dẫn tài liệu chưa hoàn toàn thống nhất, một số tài liệu chưa được cập nhật hoặc trình bày đầy đủ theo quy chuẩn; bên cạnh đó vẫn còn một số lỗi diễn đạt và trình bày cần được chỉnh sửa. Nhìn chung, luận án có chất lượng khá, song cần được hoàn thiện thêm để nâng cao tính chặt chẽ và giá trị khoa học.

Một số nhận xét cụ thể:

1. Luận án đã xây dựng được hệ gene ty thể hoàn chỉnh cho các loài nghiên cứu với độ dài, thành phần và tổ chức gene tương đối phù hợp với đặc điểm chung của động vật có xương sống. Tuy nhiên: Luận án chưa làm rõ: có phát hiện đặc điểm khác biệt nào so với dữ liệu đã công bố hay không? hay chỉ lặp lại cấu trúc chuẩn của mtDNA
2. Kết quả cho thấy hệ gene ty thể có xu hướng giàu A+T – đặc điểm phổ biến ở mtDNA. Đây là kết quả phù hợp quy luật chung. Tuy nhiên phần phân tích còn dừng ở mô tả số liệu, chưa khai thác sâu về ý nghĩa tiến hóa của thiên lệch này cũng như chưa so sánh với các nhóm linh trưởng khác (ngoài khu vực nghiên cứu)

3. Luận án đã xác định codon khởi đầu/kết thúc, phân tích độ dài gene, so sánh sai khác trình tự. Tuy nhiên, các phân tích còn mang tính liệt kê, chưa làm rõ: gene nào tiến hóa nhanh/chậm? có dấu hiệu chọn lọc (selection) hay không?
4. Luận án đã phân tích vùng biến đổi D-Loop. Đây là vùng có giá trị cao về tiến hóa và quần thể học, nhưng phân tích trong luận án còn khá đơn giản, chưa khai thác: motif lặp; vùng siêu biến và ý nghĩa trong phân hóa quần thể
5. Luận án có thực hiện so sánh toàn bộ hệ gene giữa các loài. Đây là điểm mạnh nhất của chương kết quả. Tuy nhiên: kết quả chưa được tổng hợp thành: quy luật tiến hóa chung; mức độ phân hóa rõ ràng giữa các loài và thiếu phân tích định lượng (distance matrix rõ ràng) cũng như diễn giải sâu về ý nghĩa phân loại
6. Luận án xây dựng cây phát sinh loài dựa trên mitogenome. Tuy nhiên chưa làm rõ: mức độ hỗ trợ bootstrap; sự khác biệt so với các nghiên cứu trước cũng như chưa khai thác sâu ý nghĩa quan hệ giữa các loài *Pygathrix* có gì mới? có thay đổi gì trong phân loại không?

TS. Đoàn Chính Chung

Đồng ý với ý kiến của phản biện 1

Một số góp ý:

Về hình thức

Xem lại cách viết tên gen

Trình bày lại đề mục để dễ theo dõi hơn

Viết theo quy định dấu thập phân

Phân kết quả- vật liệu

Trình bày thống nhất cách trích dẫn và ghi nhận tài liệu tham khảo

Về nội dung

Một số nội dung trong phần tổng quan vẫn còn thiên về mô tả và liệt kê tài liệu; phân phân tích, đánh giá và so sánh các nghiên cứu trước đây chưa thực sự sâu. Ngoài ra, phần khoảng trống nghiên cứu có thể nhấn mạnh rõ hơn để làm nổi bật hơn tính mới của luận án.

Tuy nhiên, các phương pháp cần trình bày đi theo từng nội dung, và nên thể trình bày cô đọng hơn và bổ sung rõ hơn các thông tin liên quan đến số lượng mẫu, tiêu chí lựa chọn mẫu và các thông số phân tích nhằm tăng tính chặt chẽ và khả năng tái lập của nghiên cứu.

Kết quả- biện luận: bổ sung biện luận và tránh nhận định mang tính khách quan

PGS.TS. Nguyễn Thanh Bình

Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài:

Đề tài có tính cần thiết và ý nghĩa khoa học cao trong bối cảnh nghiên cứu đa dạng di truyền, tiến hóa và bảo tồn các loài linh trưởng tại Việt Nam ngày càng được quan tâm. Tây Nguyên là khu vực có tính đa dạng sinh học cao, tuy nhiên dữ liệu di truyền phân tử, đặc biệt là bộ gene ty thể của các loài linh trưởng còn hạn chế. Việc nghiên cứu đặc điểm bộ gene ty thể góp phần cung cấp cơ sở dữ liệu quan trọng cho phân loại học, đánh giá quan hệ tiến hóa và công tác bảo tồn nguồn gen động vật hoang dã quý hiếm.

Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận văn, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo.

Luận án có tính mới nhất định, tập trung vào các loài linh trưởng phân bố tại khu vực Tây Nguyên với hướng tiếp cận di truyền phân tử hiện đại. Qua đối chiếu với các tài liệu tham khảo được trích dẫn, chưa thấy có sự trùng lặp đáng kể với các công trình đã công bố trong và ngoài nước. Tài liệu tham khảo được trình bày tương đối đầy đủ, phù hợp với nội dung nghiên cứu; việc trích dẫn cơ bản đảm bảo tính rõ ràng và trung thực khoa học.

Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với ngành và mã số ngành.

Tên đề tài phù hợp với nội dung nghiên cứu của luận án. Nội dung nghiên cứu tập trung vào phân tích bộ gene ty thể, đánh giá đặc điểm di truyền và quan hệ phát sinh loài của một số loài linh trưởng, phù hợp với chuyên ngành đào tạo và mã số ngành đăng ký.

Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu.

Nghiên cứu sử dụng các phương pháp sinh học phân tử và phân tích tin sinh học tương đối hiện đại như: fastp v0.23, Quast v5.2.0 và các cơ sở dữ liệu ty thể chuyên dụng Mitos Webserver và MitoFish phù hợp với mục tiêu của đề tài. Quy trình thu nhận, giải trình tự và phân tích dữ liệu bộ gene ty thể được trình bày tương đối rõ ràng. Các phương pháp phân tích phát sinh chủng loài và so sánh di truyền có độ tin cậy khoa học, góp phần nâng cao giá trị của kết quả nghiên cứu.

Kết quả nghiên cứu mới của tác giả; những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; đóng góp mới phục vụ cho sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống. ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của những kết quả đó.

Luận án đã cung cấp thêm dữ liệu về bộ gene ty thể của một số loài linh trưởng tại Tây Nguyên, bổ sung nguồn dữ liệu di truyền còn hạn chế ở Việt Nam. Các kết quả nghiên cứu góp phần làm sáng tỏ đặc điểm di truyền và mối quan hệ tiến hóa giữa các loài linh trưởng nghiên cứu. Đây là nguồn tư liệu có giá trị cho lĩnh vực di truyền học bảo tồn, sinh học tiến hóa và quản lý đa dạng sinh học.

Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án.

Nội dung của luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu Hội nghị Khoa học nào và giá trị của các công trình đã công bố (cấp công bố WoS (SSCI, SCI/E, ESCI ...), Scopus,

quốc tế có phản biện, tạp chí trong nước được tính điểm theo Hội đồng Giáo sư nhà nước ... và xếp hạng SCIMAGO).

Ưu điểm:

- Nội dung nghiên cứu có tính chuyên sâu, phù hợp định hướng nghiên cứu hiện đại.
- Luận án được trình bày tương đối logic, số liệu phong phú, có hệ thống bảng biểu và hình ảnh minh họa phù hợp.
- Kết quả nghiên cứu có ý nghĩa khoa học và thực tiễn đối với công tác bảo tồn động vật hoang dã.

Nhược điểm:

- Một số phần thảo luận cần làm rõ hơn sự khác biệt giữa kết quả nghiên cứu với các công bố quốc tế liên quan.
- Cần bổ sung hoặc chuẩn hóa cách trình bày một số tài liệu tham khảo và thuật ngữ chuyên ngành để tăng tính thống nhất của luận án.

Nội dung của luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu Hội nghị Khoa học nào và giá trị của các công trình đã công bố (cấp công bố WoS (SSCI, SCI/E, ESCI ...), Scopus, quốc tế có phản biện, tạp chí trong nước được tính điểm theo Hội đồng Giáo sư nhà nước ... và xếp hạng SCIMAGO).

Nghiên cứu sinh đã công bố một số kết quả nghiên cứu liên quan đến luận án trên các tạp chí và hội nghị khoa học chuyên ngành. Các công bố có nội dung phù hợp với hướng nghiên cứu của luận án, góp phần khẳng định giá trị khoa học và tính cập nhật của đề tài.

Kết luận chung cần khẳng định:

Luận án đáp ứng cơ bản yêu cầu của một luận án tiến sĩ về nội dung khoa học, phương pháp nghiên cứu và giá trị thực tiễn. Bản tóm tắt luận án phản ánh trung thực các nội dung chính của luận án.

Tôi thống nhất đề nghị cho nghiên cứu sinh được bảo vệ luận án cấp Học viện để xét cấp bằng Tiến sĩ.

PGS.TS. Trần Hoàng Dũng

Đồng ý với ý kiến của các thầy cô.

So với luận án trước đã chỉnh sửa kỹ. Tuy nhiên, còn một số lỗi đã được ghi chi tiết trong bản nhận xét

Tập trung vào các vấn đề sau cần sửa đổi

Suy luận quá mức (1 con suy ra quần thể) cần chỉnh lại và biện luận phù hợp hơn

Phương pháp và tái lập: 32 lỗi, đã submit accession number chưa

Rà soát lại lỗi danh pháp.

Rà soát hình thức theo góp ý

PGS.TS Lao Đức Thuận

Đồng ý với ý kiến của các thành viên hội đồng

Một số góp ý

Hình ảnh điện di DNA có độ phân giải thấp, băng DNA không rõ nét, độ tương phản kém, gây khó khăn cho việc đánh giá chất lượng mẫu và độ tin cậy của kết quả.

- Số lượng mẫu nghiên cứu còn hạn chế, chủ yếu đại diện bởi một số cá thể của mỗi loài, do đó chưa phản ánh đầy đủ mức độ đa dạng di truyền trong quần thể tự nhiên và chưa đủ cơ sở để đưa ra các kết luận ở quy mô quần thể.

- Một mục tiêu quan trọng của luận án là đánh giá sai khác trình tự di truyền giữa các cá thể nghiên cứu và dữ liệu quốc tế, do sự hạn chế số lượng mẫu dẫn đến các chỉ số thường dùng trong phân tích di truyền quần thể chưa được khai thác, chẳng hạn như Haplotype diversity, Nucleotide diversity, ... Vì vậy, khả năng đánh giá mức độ biến dị di truyền, lịch sử tiến hóa cũng như tình trạng đa dạng di truyền của các quần thể linh trưởng tại Việt Nam còn hạn chế, làm giảm giá trị suy luận và ý nghĩa ứng dụng của kết quả đối với công tác bảo tồn nguồn gene trong tự nhiên.

- Phần kết quả và thảo luận tập trung chủ yếu vào việc mô tả cấu trúc, tổ chức và thành phần của hệ gene ty thể ở các loài linh trưởng nghiên cứu. Tuy nhiên, phần này vẫn còn nhiều hạn chế về chiều sâu phân tích khoa học. Các kết quả chủ yếu dừng lại ở mức mô tả đặc điểm hệ gene, thành phần nucleotide, codon, tRNA, rRNA và vị trí các gene mà chưa làm nổi bật được các phát hiện mới mang tính học thuật hoặc ý nghĩa sinh học của những sai khác được phát hiện.

- Việc so sánh giữa các loài nghiên cứu và với các dữ liệu đã công bố trên thế giới còn chưa đầy đủ và thiếu các phân tích chuyên sâu nhằm làm rõ giá trị tiến hóa, phân loại học và bảo tồn của bộ dữ liệu thu được.

- Kết quả giải trình tự toàn bộ hệ gene ty thể là nguồn dữ liệu có giá trị, tuy nhiên phần thảo luận còn sơ lược, chưa khai thác sâu ý nghĩa tiến hóa, phân loại học và bảo tồn.

- Một số cây phát sinh loài trong luận án chưa trình bày đầy đủ giá trị hỗ trợ thống kê (bootstrap support values) tại các nút phân nhánh hoặc chỉ thể hiện một phần các giá trị bootstrap. Điều này gây khó khăn trong việc đánh giá mức độ tin cậy của các mối quan hệ phát sinh loài được đề xuất.

TS. Nguyễn Hoàng Dũng

Đồng ý với ý kiến của các thành viên hội đồng

Một số góp ý

Về hình thức: Luận án còn mắc một số lỗi chính tả, viết tên loài, acid amin, enzyme, viết đơn vị, lỗi format và định dạng.

Về nội dung:

Rà soát danh mục từ viết tắt.

Phần tổng quan: mục 1.4 nên lược bỏ do trùng với phần mở đầu.

Phần vật liệu – phương pháp: bổ sung thông tin trang thiết bị, làm rõ việc giải trình tự hệ gen là tự thực hiện hay gửi phân tích. Mục 2.2.4 nên bổ sung giá trị bootstrap trong nghiên cứu. Rà soát một số thông tin như nitơ lỏng -80°C.

Phần kết quả - thảo luận: nên có thêm phân tích, biện luận theo hướng chuyên sâu, tránh một số nhận định chủ quan.

GS. TS. Hoàng Nghĩa Sơn

Đồng ý với ý kiến của các thành viên hội đồng

- Luận án là một công trình nghiên cứu được thực hiện nghiêm túc, có ý nghĩa khoa học và giá trị thực tiễn trong lĩnh vực di truyền học và bảo tồn linh trưởng tại Việt Nam. Đề tài có tính thời sự, phù hợp với xu hướng nghiên cứu hiện nay về hệ gene ty thể và phát sinh loài. Nội dung nghiên cứu phù hợp với tên đề tài và chuyên ngành đào tạo, được triển khai tương đối logic từ tổng quan, phương pháp nghiên cứu đến kết quả và thảo luận.

- Luận án đã sử dụng các phương pháp nghiên cứu hiện đại trong sinh học phân tử và tin sinh học để phân tích hệ gene ty thể hoàn chỉnh của một số loài linh trưởng phân bố tại Tây Nguyên Việt Nam. Các kết quả nghiên cứu có giá trị khoa học, góp phần bổ sung dữ liệu di truyền còn hạn chế của linh trưởng Việt Nam, đồng thời cung cấp thêm cơ sở cho các nghiên cứu về phát sinh loài và bảo tồn đa dạng sinh học.

- Các kết quả nghiên cứu được trình bày tương đối rõ ràng, có hệ thống, số liệu trung thực, các tài liệu tham khảo được trích dẫn đầy đủ và phù hợp. Luận án đáp ứng yêu cầu của một luận án tiến sĩ chuyên ngành Công nghệ sinh học.

Biên tập lại khoa học rõ hơn, làm rõ tính mới của thiết bị

*

TP.HCM, ngày 27 tháng 5 năm 2026

**QUYẾT NGHỊ CỦA
HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN**

Căn cứ quyết định số 228/QĐ-HVKHCN ngày 30/03/2026 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện

Thời gian họp: 09h00, Thứ Tư ngày 27 tháng 05 năm 2026

Địa điểm: Phòng họp 2 Viện Khoa học sự sống, 9/621 Võ Nguyên Giáp, Phường Linh Xuân, TP Hồ Chí Minh để đánh giá luận án tiến sĩ.

Nghiên cứu sinh: Nguyễn Thị Thủy Trâm

Tên đề tài luận án: Nghiên cứu đặc điểm bộ gene ty thể của một số loài Linh trưởng ở Tây Nguyên

Ngành: Công nghệ sinh học

Mã số: 9 42 02 01

Người hướng dẫn chính: PGS.TS Lê Thành Long, Viện Khoa học sự sống, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Người hướng dẫn phụ: PGS.TS Thái Kế Quân - Trường Đại học Sài Gòn, Ủy ban nhân dân Thành phố Hồ Chí Minh

Số thành viên Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện: 7/7

Sau khi nghe nghiên cứu sinh Nguyễn Thị Thủy Trâm trình bày nội dung luận án trong thời gian 30 phút, Hội đồng đã nghe các phản biện phát biểu nhận xét luận án; nghe Thư ký hội đồng đọc bản nhận xét của 2 phản biện độc lập; nghe các ý kiến nhận xét luận án của các thành viên khác trong Hội đồng. Hội đồng đã tiến hành thảo luận chung tại Hội trường, sau đó Hội đồng đã họp riêng và nhất trí quyết nghị như sau:

1. Kết quả bỏ phiếu đánh giá luận án của Hội đồng:

Hội đồng đã bầu Ban kiểm phiếu bao gồm:

1. Trưởng ban: TS. Đoàn Chính Chung
2. Ủy viên: TS. Lao Đức Thuận
3. Ủy viên: TS. Nguyễn Hoàng Dũng



Số phiếu đã phát cho các thành viên: 07

Số phiếu còn lại không dùng: 0

Kết quả bỏ phiếu đánh giá luận án như sau:

Số phiếu hợp lệ: 07

Số phiếu không hợp lệ: 07

Số phiếu tán thành: 07

Số phiếu không tán thành: 0

2. Tính phù hợp của tên đề tài và sự không trùng lặp về nội dung luận án

- Tên đề tài, nội dung và kết quả nghiên cứu của luận án phù hợp với ngành đào tạo.

- Nội dung của luận án không trùng lặp với các luận án đã bảo vệ và các kết quả nghiên cứu đã công bố trong và ngoài nước.

- Các tài liệu tham khảo của luận án có nội dung phù hợp và đã được trích dẫn trong luận án.

3. Những kết luận khoa học cơ bản, những điểm mới, đóng góp mới của luận án

Những kết luận cơ bản của luận án:

NCS đã giải trình tự, lắp ráp và phân tích hệ gene ty thể hoàn chỉnh của một số loài linh trưởng phân bố tại khu vực Tây Nguyên Việt Nam. Các kết quả nghiên cứu góp phần bổ sung nguồn dữ liệu di truyền còn hạn chế của linh trưởng Việt Nam, đồng thời có giá trị tham khảo trong nghiên cứu phát sinh loài và bảo tồn đa dạng sinh học.

Các kết quả về cấu trúc hệ gene ty thể, thành phần nucleotide, các gene mã hóa protein, *tRNA*, *rRNA*, vùng giàu A+T và các vùng liên gene được trình bày khá chi tiết, kèm theo hệ thống bảng biểu và hình minh họa tương đối phong phú. Việc phân tích và so sánh sai khác trình tự giữa các cá thể nghiên cứu với các trình tự đã công bố trên cơ sở dữ liệu quốc tế giúp làm rõ hơn đặc điểm di truyền và mối quan hệ tiến hóa của các loài linh trưởng nghiên cứu.

Đã kết hợp phân tích phát sinh loài dựa trên nhiều marker ty thể như *16S rRNA*, *cytochrome b*, *D-loop* cùng với dữ liệu toàn bộ hệ gene ty thể. Cách tiếp cận này giúp nâng cao độ tin cậy của kết quả và góp phần củng cố các phân tích về mối quan hệ phát sinh loài giữa các loài linh trưởng nghiên cứu. Phần kết quả được trình bày theo từng nhóm đối tượng và nội dung phân tích, tạo được tính logic và thuận lợi cho việc theo dõi, so sánh giữa các loài.

Các đóng góp mới của luận án:

VIỆT
LIÊN
HỌC
: NG
và c

Giải trình tự và xây dựng hệ gene ty thể hoàn chỉnh (mitogenome) cho 05 loài linh trưởng nghiên cứu *Pygathrix cinerea*, *P. nemaeus*, *P. nigripes*, *Macaca arctoides*, *M. mulatta* từ mẫu thu tại Việt Nam.

Cung cấp dữ liệu di truyền, góp phần bổ sung cơ sở dữ liệu còn thiếu về linh trưởng khu vực Tây Nguyên, Việt Nam

4. Cơ sở khoa học, độ tin cậy của những luận điểm và những kết luận nêu trong luận án

Luận án sử dụng các phương pháp nghiên cứu hiện đại kết hợp phương pháp truyền thống. Các phương pháp sử dụng phù hợp với mục tiêu và nội dung nghiên cứu. Số liệu được xử lý thống kê nên có độ tin cậy cao.

5. Ý nghĩa về lý luận, thực tiễn và những đề nghị sử dụng các kết quả nghiên cứu của luận án

Đề tài luận án có tính cần thiết và thời sự cao, phù hợp với xu thế nghiên cứu hiện đại trong lĩnh vực di truyền học phân tử, genomics và bảo tồn đa dạng sinh học, đặc biệt trong bối cảnh khủng hoảng suy giảm quần thể linh trưởng đang diễn ra trên phạm vi toàn cầu khi phần lớn các loài đang đứng trước nguy cơ tuyệt chủng. Tại Việt Nam – một trong những trung tâm đa dạng linh trưởng quan trọng của khu vực Đông Nam Á với nhiều loài đặc hữu và nguy cấp – việc thiếu hụt dữ liệu di truyền, nhất là dữ liệu hệ gene ty thể hoàn chỉnh, đang là hạn chế lớn đối với các nghiên cứu phát sinh loài và xây dựng chiến lược bảo tồn hiệu quả. Trên thế giới, xu hướng chuyển từ phân tích các marker đơn lẻ sang khai thác toàn bộ hệ gene ty thể bằng công nghệ giải trình tự thế hệ mới đã chứng minh ưu thế rõ rệt trong việc nâng cao độ phân giải và độ tin cậy của các nghiên cứu tiến hóa.

Trong bối cảnh đó, luận án không chỉ có ý nghĩa khoa học khi bổ sung dữ liệu hệ gene ty thể, làm sáng tỏ đặc điểm cấu trúc, tổ chức và sai khác di truyền, góp phần hoàn thiện cơ sở dữ liệu phục vụ nghiên cứu phát sinh loài linh trưởng, mà còn có ý nghĩa thực tiễn sâu sắc khi cung cấp luận cứ khoa học cho việc xác định đơn vị bảo tồn, hỗ trợ quản lý quần thể, kiểm soát buôn bán động vật hoang dã và xây dựng các chiến lược bảo tồn phù hợp, hướng tới mục tiêu phát triển bền vững và bảo vệ đa dạng sinh học.

6. Những thiếu sót về nội dung và hình thức của luận án

Luận án còn mắc một số lỗi nhỏ về hình thức và nội dung

Về hình thức

Còn mắc một số lỗi nhỏ về chính tả, viết tên loài, acid amin, lỗi số thập phân, trích dẫn và ghi nhận tài liệu tham khảo

Về nội dung

(Mẫu 6-HV-Bản giải trình chỉnh sửa, bổ sung cấp HV)

VIỆN HÀN LÂM
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VN
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

ĐẢNG CỘNG SẢN VIỆT NAM

**BẢN GIẢI TRÌNH CHỈNH SỬA, BỔ SUNG LUẬN ÁN TIẾN SĨ
CẤP HỌC VIỆN**

Ngày 27 tháng 5 năm 2026, Học viện Khoa học và Công nghệ đã tổ chức đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện cho nghiên cứu sinh Nguyễn Thị Thủy Trâm theo Quyết định số 228/QĐ-HVKHCN ngày 30 tháng 03 năm 2026 của Giám đốc Học viện.

Đề tài: Nghiên cứu đặc điểm bộ gene ty thể của một số loài linh trưởng ở Tây Nguyên

Ngành: Công nghệ sinh học,

Mã số: 9 42 02 01

Người hướng dẫn khoa học: PGS. TS. Lê Thành Long; PGS. TS. Thái Kế Quân

Theo Biên bản của Hội đồng, NCS phải bổ sung và chỉnh sửa luận án các điểm sau đây:

STT	Nội dung đề nghị chỉnh sửa, bổ sung	Nội dung đã được chỉnh sửa, bổ sung (Ghi rõ số trang/chương/mục... đã được chỉnh sửa)
1	Tầm quan của Linh trưởng	Đã chỉnh thành tầm quan trọng của linh trưởng, trang iii/ Mục lục
2	GT-skew	Đã chỉnh thành GC-skew, trang v/ danh mục từ viết tắt
3	Geneome: genome/mitochondrial genome, không phải geneome.	Đã điều chỉnh genome; trang vi/ danh mục bảng
4	Chà vá chân đỏ Trung Quốc: tên Việt của <i>Pygathrix nemaeus</i> không nhất quán; luận án đang dùng Chà vá chân nâu; dính và sai chữ củaakKhi	Đã điều chỉnh thành <i>Chà vá chân nâu</i> , bỏ chữ k dính liền; trang vi/ danh mục bảng
5	Bổ sung accession number	Đã bổ sung accession number <i>Chà vá chân xám</i> Tây Nguyên Việt Nam PP623106; trang viii/ Danh mục hình/
6	Hình 2. Loài thú linh trưởng được lưu trữ trong bảo tàng: quy ước đánh số hình sai; cần thống nhất Hình 2.1 hoặc theo chuẩn	Giữ nguyên vì chương 2 chỉ có 1 hình; trang viii/ danh mục hình

Lưu ý: Các chữ ký xác nhận cần gắn với nội dung trên cùng một trang giấy. Học viện sẽ không xác nhận nếu phần chữ ký tách rời với nội dung

	luận án.	
7	Hình 3. 16.: đánh số hình bị trùng/sai; cần rà lại Hình 3.15-3.16.	Đã điều chỉnh thành Hình 3.15; trang viii/ danh mục hình
8	PP633106: mã accession sai; cần kiểm tra, có vẻ phải là PP623106.	Đã điều chỉnh thành PP623106; trang viii/ danh mục hình
9	tên Việt của <i>Pygathrix nemaeus</i> không nhất quán; luận án đang dùng Chà vá chân nâu.	Đã điều chỉnh thành <i>Chà vá chân nâu</i> ; trang ix/ danh mục hình
10	Các cá thể linh trưởng Tây Nguyên có biểu hiện các đặc điểm di truyền riêng biệt so với các quần thể cùng loài ở các khu vực khác hay không?: phát biểu liên quan quần thể; với n=1 mỗi loài cần tránh suy luận quần thể.	Đã lược bỏ nội dung; trang 3/ Mở đầu
11	Làm rõ đặc điểm cấu trúc và tổ chức hệ gene ty thể của các loài linh trưởng nghiên cứu, đồng thời chỉ ra các sai khác trình tự di truyền có ý nghĩa trong so sánh phát sinh loài; phát biểu “có ý nghĩa” cần cơ sở thống kê/tiêu chí rõ; hiện chưa có kiểm định ý nghĩa.	Đã lược bỏ nội dung; trang 4/ Mở đầu
12	Tầm quan của Linh trưởng: nên là “Tầm quan trọng của Linh trưởng”.	Đã chỉnh sửa; trang 5/ Chương 1 / mục 1.1
13	Những đột biến xảy ra trên ADN ty thể không làm ảnh hưởng đến khả năng tồn tại của sinh vật, do đó, đột biến xảy ra trên ty thể không làm mất đi những kiểu gene của sinh vật đã được chọn lọc trong quá trình tiến hóa; khẳng định quá rộng và sai; nhiều biến thể mtDNA có thể ảnh hưởng chức năng.	Đã lược bỏ nội dung; trang 10/ Chương 1 / mục 1.2
14	Gần đây công nghệ NGS phân cụm theo đơn vị phân loại vận hành (OTU): lệch trọng tâm: OTU/ASV thuộc phân tích microbiome 16S, không phù hợp với mtDNA 16S của linh trưởng nếu không giải thích.	Giữ nguyên, nội dung nêu rõ phân tích trên vi sinh vật; trang 21/Chương 1 / mục 1.3
15	ASV: lệch trọng tâm: ASV là khái niệm trong amplicon/microbiome, cần bỏ hoặc giải thích vì sao liên quan.	Giữ nguyên vì nội dung trình bày liên quan đến một số phương pháp giải trình tự để làm rõ sự đa dạng di truyền; trang 22/ trang 21/ Chương 1 / mục 1.3

16	Ngoài ra, những nghiên cứu trên toàn bộ Hệ gene Ty thể sẽ là minh chứng quan trọng trong: Câu bị bỏ dờ/không hoàn chỉnh.	Đã điều chỉnh; trang 24/ Chương 1 / mục 1.4
17	nito lỏng -80: nitơ lỏng là -196°C và -80°C là hai điều kiện khác nhau; cần viết lại chính xác.	Đã điều chỉnh trong điều kiện -80°C; trang 25/ Chương 2/ mục 2.1
18	Sau đó, mẫu mô được trữ ở -8 oC trong eppendorf 1,5ml và chuyển nhanh về phòng thí nghiệm để thực hiện thí nghiệm: Bằng cách nào mà trữ -8 độ?	Đã điều chỉnh bảo quản lạnh; trang 25/ Chương 1 / mục 2.2
19	Hình 2. Loài thú linh trưởng được lưu trữ trong bảo tàng: quy ước đánh số hình sai; cần thống nhất Hình 2.1 hoặc theo chuẩn luận án.	Giữ nguyên vì trong chương 2 chỉ có 1 hình 2; trang 25/ Chương 2/ mục 2.1
20	Nước không có RNAase: không chuẩn trong ngữ cảnh DNA; cần kiểm tra có phải nước không DNase/nuclease-free không, vì đang tách DNA.; tại sao Nước viết hoa?	Đã điều chỉnh; trang 26/ Chương 2/ mục 2.2.1
21	Phần phương pháp: cần trình bày chi tiết hơn, đảo bảo tính lặp lại của thí nghiệm.	Đã bổ sung trang 26/ chương 2/ mục 2.2.1
22	khuếch đại nó lên tới 40 triệu lần: mô tả mang tính quảng cáo/không cần thiết; nếu giữ phải có cơ sở kỹ thuật rõ.	Đã điều chỉnh; trang 27/ Chương 2/ mục 2.2.1
23	Sau đó, thư viện giải trình tự toàn hệ gene: chưa rõ thư viện NGS tạo từ DNA tổng số hay DNA ty thể đã làm giàu; cần mô tả pipeline nhất quán.	Nội dung trên đã giải thích rõ việc ADN tổng số được tách chiết bằng QIAamp DNA Mini Kit. Sau đó, ADN ty thể được làm giàu từ ADN tổng số bằng REPLI-g Mitochondrial DNA Kit dựa trên nguyên lý khuếch đại đẳng nhiệt Multiple Displacement Amplification, nhằm khuếch đại chọn lọc toàn bộ hệ gene ty thể phục vụ giải trình tự. Do đó trong mục này không bổ sung thêm; trang 27/ Chương 2/ mục 2.2.1
24	Các mẫu có kích thước DNA <1000 bp bị loại bỏ; chưa rõ mẫu nào bị loại/không bị loại; nếu đã loại thì vì sao vẫn có đủ 5 mẫu phân tích.	Ban đầu nghiên cứu sử dụng nhiều mẫu; sau đó loại còn lại 5 mẫu; trang 27/ Chương 2/ mục 2.2.1
25	Các chuỗi t-RNA đã được căn chỉnh với các gene của các loài tương tự. Bằng cách	Đã điều chỉnh; trang 28/ Chương 3/ mục 2.2.3

16	Ngoài ra, những nghiên cứu trên toàn bộ Hệ gene Ty thể sẽ là minh chứng quan trọng trong: Câu bị bỏ dờ/không hoàn chỉnh.	Đã điều chỉnh; trang 24/ Chương 1 / mục 1.4
17	nitơ lỏng -80: nitơ lỏng là -196°C và -80°C là hai điều kiện khác nhau; cần viết lại chính xác.	Đã điều chỉnh trong điều kiện -80°C; trang 25/ Chương 2/ mục 2.1
18	Sau đó, mẫu mô được trữ ở -8 oC trong eppendorf 1,5ml và chuyển nhanh về phòng thí nghiệm để thực hiện thí nghiệm: Bằng cách nào mà trữ -8 độ?	Đã điều chỉnh bảo quản lạnh; trang 25/ Chương 1 / mục 2.2
19	Hình 2. Loài thú linh trưởng được lưu trữ trong bảo tàng: quy ước đánh số hình sai; cần thống nhất Hình 2.1 hoặc theo chuẩn luận án.	Giữ nguyên vì trong chương 2 chỉ có 1 hình 2; trang 25/ Chương 2/ mục 2.1
20	Nước không có RNAase: không chuẩn trong ngữ cảnh DNA; cần kiểm tra có phải nước không DNase/nuclease-free không, vì đang tách DNA.; tại sao Nước viết hoa?	Đã điều chỉnh; trang 26/ Chương 2/ mục 2.2.1
21	Phần phương pháp: cần trình bày chi tiết hơn, đảo bảo tính lặp lại của thí nghiệm.	Đã bổ sung trang 26/ chương 2/ mục 2.2.1
22	khuếch đại nó lên tới 40 triệu lần: mô tả mang tính quảng cáo/không cần thiết; nếu giữ phải có cơ sở kỹ thuật rõ.	Đã điều chỉnh; trang 27/ Chương 2/ mục 2.2.1
23	Sau đó, thư viện giải trình tự toàn hệ gene: chưa rõ thư viện NGS tạo từ DNA tổng số hay DNA ty thể đã làm giàu; cần mô tả pipeline nhất quán.	Nội dung trên đã giải thích rõ việc ADN tổng số được tách chiết bằng QIAamp DNA Mini Kit. Sau đó, ADN ty thể được làm giàu từ ADN tổng số bằng REPLI-g Mitochondrial DNA Kit dựa trên nguyên lý khuếch đại đẳng nhiệt Multiple Displacement Amplification, nhằm khuếch đại chọn lọc toàn bộ hệ gene ty thể phục vụ giải trình tự. Do đó trong mục này không bổ sung thêm; trang 27/ Chương 2/ mục 2.2.1
24	Các mẫu có kích thước DNA <1000 bp bị loại bỏ: chưa rõ mẫu nào bị loại/không bị loại; nếu đã loại thì vì sao vẫn có đủ 5 mẫu phân tích.	Ban đầu nghiên cứu sử dụng nhiều mẫu; sau đó loại còn lại 5 mẫu; trang 27/ Chương 2/ mục 2.2.1
25	Các chuỗi t-RNA đã được căn chỉnh với các gene của các loài tương tự. Bằng cách	Đã điều chỉnh; trang 28/ Chương 3/ mục 2.2.3

	so sánh với các gene ty thể khác của Pygathrix, các gene mã hóa protein (PCGs) giàu A + T và r-RNA đã được xác định: câu sai logic kỹ thuật; cần viết lại: xác định PCGs, rRNAs và vùng giàu A+T bằng so sánh/chú giải.	
26	NADH dehydrogenase: sai chính tả NADH dehydrogenase.	Đã điều chỉnh; trang 28/ Chương 2/ mục 2.2.3
27	GeneBank; sai chính tả đúng là GenBank.	Đã điều chỉnh; trang 30/ Chương 2/ mục 2.2.4
28	geneome; sai chính tả genome/mitochondrial genome, không phải geneome.	Đã điều chỉnh; trang 32/ Chương 3/ mục 3.1.1
29	Bảng. S1, S2, S3, S4, S5: cần kiểm tra phụ lục/supplement có đủ và truy xuất được; format "Bảng." cũng chưa chuẩn.	Bảng nằm trong phần phụ lục; format "Bảng." đã được điều chỉnh; trang 32/ Chương 3/ mục 3.1.1
30	Hình 3. 4. Cấu trúc gene ty thể hoàn chỉnh của Khỉ vàng Tây Nguyên Việt Nam; sai vì còn chữ vietnamese trong hình; tương tự trang 35 Hình 3.6 còn chữ Fish trên hình;	Đã điều chỉnh; trang 34/ Chương 3/ mục 3.2.1
31	BẢNG 3.3 cột Độ che phủ: tên cột: các giá trị âm/dương trong bảng là overlap/intergenic nucleotide, không phải độ che phủ sequencing.	Đã điều chỉnh; trang 36/ Chương 3/ mục 3.2.1
32	Liss: nhãn amino acid sai; cần dùng Lys/Lysine nếu là lysine.	Đã điều chỉnh; trang 38/ Chương 3/ mục 3.2.1.1
33	Các chỉ số AT-skew và GC-skew dùng để đánh giá độ biến thiên thành phần nucleotide trên các PCGs; phần lớn các PCGs của Chà vá chân xám cho thấy AT-skew dương (Bảng 3. 5), nghĩa là tần suất xuất hiện của axit amin adenine cao hơn thymine: Sai diễn giải AT-skew nếu giá trị dương; giá trị âm nghĩa là T cao hơn A.	Đã điều chỉnh; trang 40/ Chương 3/ mục 3.2.1.2
34	Tổng GC-skew trong vùng điều khiển là -0.349, AT-skew là 58%, và hàm lượng A + T là -0.013: Sai logic chỉ số: AT-skew không phải %, A+T content không thể âm; có vẻ đảo lộn chỉ số.	Đã điều chỉnh; trang 42/ Chương 3/ mục 3.2.1.3
35	Methyonine: sai chính tả, đúng là	Đã điều chỉnh; trang 45/ Chương 3/ mục 3.2.1.5

	Methionine.	
36	Arganine: sai chính tả, đúng là Arginine.	Đã điều chỉnh; trang 45/ Chương 3/ mục 3.2.1.5
37	Leusine: sai chính tả, đúng là Leucine.	Đã điều chỉnh; trang 45/ Chương 3/ mục 3.2.1.5
38	Mô hình Tamura–Nei và phương pháp Maximum Likelihood đã được sử dụng để phân tích lịch sử tiến hóa: không nhất quán với phương pháp IQ-TREE/ModelFinder/UFBoot; cần thống nhất pipeline phân tích phát sinh loài vì không nhất quán với mục 2.2.4 dùng IQ-TREE; cần nêu rõ cây nào dùng MEGA, cây nào dùng IQ-TREE.	Đã điều chỉnh; trang 46/ Chương 3/ mục 3.2.1.6
39	Các vị trí codon được đưa vào gồm có 1st, 2nd, 3rd và +Noncoding. Các phân tích tiến hóa đã được thực hiện trong MEGA11: diễn đạt lại Anh-Việt và chưa rõ alignment/partition; cần viết lại rõ.	Đã điều chỉnh; trang 46/ Chương 3/ mục 3.2.1.6
40	Các họ hàng gần nhất còn sống của linh trưởng là Hominidae: sai/không chính xác về phát sinh loài; Hominidae là một họ trong Primates, không phải họ hàng gần nhất ngoài linh trưởng.	Đã điều chỉnh; trang 46/ Chương 3/ mục 3.2.1.6
41	Toàn bộ cây linh trưởng có nguồn gốc từ loài Dermoptera tức Bộ Cánh Da, họ chồn bay: Dermoptera/colugo là outgroup hoặc sister group, không phải nguồn gốc của cây linh trưởng.	Đã điều chỉnh; trang 46/ Chương 3/ mục 3.2.1.6
42	PP633106: mã accession sai; cần kiểm tra, có vẻ phải là PP623106.	Đã điều chỉnh; trang 47/ Chương 3/ mục 3.2.1.6
43	Sự phân kỳ giữa các gene ty thể cho thấy chuỗi đã công bố trước đó (JQ_821842) có thể đến từ một quần thể địa lý hoặc phân loài khác của Chà vá chân xám, điều này có thể giải thích cho những khác biệt gene quan sát được, hoặc khả năng tồn tại các phân loài bí mật hoặc các đơn vị tiến hóa quan trọng trong quần thể Chà vá chân xám: n=1 và mtDNA đơn lẻ không đủ để suy ra phân loại phụ ẩn (thay cho bí mật)	Đã điều chỉnh; trang 48/ Chương 3/ mục 3.2.1.6

	cryptic subspecies/ESU;	
44	GeneBank, viết đúng là GenBank.	Đã điều chỉnh; trang 48/ Chương 3/ mục 3.2.1.6
45	Các đặc điểm gene độc đáo được xác định trong Chà vá chân xám Tây Nguyên Việt Nam, đặc biệt là trong vùng điều khiển và các gene tRNA, nhấn mạnh tầm quan trọng của việc bảo tồn sự đa dạng gene của nó: nói quá mức, diễn đạt mạnh; cần chuyển thành “sai khác trình tự được ghi nhận” nếu không có kiểm định chức năng.	Đã điều chỉnh; trang 49/ Chương 3/ mục 3.2.1.7
46	Hiểu biết về sự khác biệt gene giữa Chà vá chân xám Tây Nguyên và các mẫu Chà vá chân xám khác có thể thông báo cho các nỗ lực bảo tồn bằng cách xác định các quần thể khác biệt có thể cần các chiến lược quản lý cụ thể: không thể xác định quần thể khác biệt từ một cá thể/loài.	Đã điều chỉnh; trang 49/ Chương 3/ mục 3.2.1.7
47	Macaca leonina: tên loài sai chính tả; dư 1 chữ n, cần kiểm tra lại Macaca leonina.	Đã điều chỉnh; trang 49/ Chương 3/ mục 3.2.1.7
48	Bảng 3.7 cột Độ che phủ: Sai vì với các giá trị âm/dương trong bảng thì đo là là overlap/intergenic nucleotide, không phải độ che phủ sequencing.	Đã điều chỉnh; trang 49/ Chương 3/ mục 3.2.1.7
49	Hình 3. 2: Sai tham chiếu hình trong mục Khi mặt đỏ;	Đã điều chỉnh; trang 52/ Chương 3/ mục 3.2.2.1
50	Phân tích chỉ số RSCU của các gen mã hóa protein trong hệ gene ty thể của Khi mặt đỏ cho thấy sự đặc điểm giàu A/T phổ biến của hệ gene ty thể ở các loài linh trưởng () :Lỗi diễn đạt tiếng Việt.	Đã điều chỉnh; trang 53/ Chương 3/ mục 3.2.2.1
51	trường ():Lỗi trích dẫn: ngoặc rỗng, thiếu tài liệu tham khảo.	Đã điều chỉnh; trang 53/ Chương 3/ mục 3.2.2.1
52	Khi mặt đỏ: Sai chính tả/thiếu dấu: Khi mặt đỏ.	Đã điều chỉnh; trang 53/ Chương 3/ mục 3.2.2.1
53	đối với phân loài khi đuôi lợn thể hiện khác biệt ở mức độ phần trăm thấp phản ánh sự sai khác di truyền ở mức thấp: Sai/không chuẩn: Macaca leonina là loài, không phải phân loài của Khi mặt đỏ.	Đã điều chỉnh; trang 53/ Chương 3/ mục 3.2.2.1

54	Liss: nhãn amino acid sai; dùng Lys/Lysine	Đã điều chỉnh; trang 53/ Chương 3/ mục 3.2.2.1
55	giữa khởi đầu sao chép: Câu gãy/ngữ pháp sai; cần viết lại.	Đã điều chỉnh; trang 59/ Chương 3/ mục 3.2.2.3
56	Methyonine: Methionine.	Đã điều chỉnh; trang 60/ Chương 3/ mục 3.2.2.4
57	Hệ gene ty thể của Khi mặt đỏ Tây Nguyên Việt Nam thể hiện mức độ tương đồng cao với cá thể Khi mặt đỏ Trung Quốc, phản ánh tính ổn định di truyền của loài này trong phạm vi phân bố rộng ở khu vực châu Á: nói quá từ một mẫu Việt Nam và một mẫu Trung Quốc; không đủ để kết luận ổn định trong toàn phạm vi phân bố.	Đã điều chỉnh; trang 622/ Chương 3/ mục 3.2.2.6
58	Bảng 3.11 Độ che phủ: Tên cột sai: các giá trị âm/dương trong bảng là overlap/intergenic nucleotide, không phải độ che phủ sequencing.	Đã điều chỉnh; trang 63/ Chương 3/ mục 3.2.3
59	Mục 3.2.3. Đặc điểm hệ gene ty thể hoàn chỉnh của cá thể Chà vá chân nâu (<i>Pygathrix nemaeus</i>) Tây Nguyên Việt Nam Việt : ADN ty thể của Khi mặt đỏ Tây Nguyên Việt Nam (16,539 bp): Sai taxon trong mục Chà vá chân nâu: phải là DNA ty thể của Chà vá chân nâu, không phải Khi mặt đỏ.	Đã điều chỉnh; trang 63/ Chương 3/ mục 3.2.3
60	Liss: nhãn amino acid sai; dùng Lys/Lysine.	Đã điều chỉnh; trang 66/ Chương 3/ mục 3.2.3.1
61	Methylonine: Methionine.	Đã điều chỉnh; trang 71/ Chương 3/ mục 3.2.3.4
62	Ph và Leu: Nhãn hình bị lỗi/thiếu ký tự; cần xuất lại hình tRNA.	Đã xuất lại hình; trang 72/ Chương 3/ mục 3.2.3.4
63	((48,102): Lỗi format trích dẫn: dư dấu ngoặc.	Đã điều chỉnh; trang 74/ Chương 3/ mục 3.2.3.6
64	((100,103): Lỗi format trích dẫn: dư dấu ngoặc.	Đã điều chỉnh; trang 74/ Chương 3/ mục 3.2.3.6
65	Nghiên cứu này cho kết quả hệ gene ty thể hoàn chỉnh đầu tiên của Chà vá chân đen Tây Nguyên Việt Nam, gồm 16,535 bp (Hình 3, 3) với cấu trúc đặc trưng, có kích thước lớn hơn hệ gene ty thể của hai mẫu	Đã điều chỉnh; trang 75/ Chương 3/ mục 3.2.3.6

	Chà vá chân đen khác được thu thập ở Nanning, Trung Quốc (16,536 bp): Mẫu thuần số liệu: 16,535 bp không lớn hơn 16,536 bp.	
66	Cann et al., 1987; Su et al., 2018: Không thống nhất kiểu trích dẫn với danh mục đánh số; cần chuyển về số tham khảo thống nhất toàn luận án.	Đã điều chỉnh; trang 75/ Chương 3/ mục 3.2.3.6
67	Thành phần nucleotide tổng thể cho thấy sự phong phú cao hơn của adenine (A) và thymine (T) so với guanine (G) và cytosine (C). Sự giàu có A-T này là đặc trưng của nhiều hệ gene ty thể của linh trưởng và gợi ý về các chiến lược tiến hóa thích nghi.: nói quá thích nghi từ thành phần nucleotide; cần kiểm định chọn lọc/chức năng trước khi kết luận.	Đã điều chỉnh; trang 77/ Chương 3/ mục 3.2.4
68	Tỷ lệ T cao như vậy có thể gợi ý một vai trò trong các chức năng điều hòa hoặc một sự thích ứng cụ thể làm tăng hiệu quả phiên mã của nó: nói quá chức năng; không có dữ liệu phiên mã/chức năng trong luận án.	Đã điều chỉnh; trang 77/ Chương 3/ mục 3.2.4.1
69	Nội dung GC trung bình dường như cao hơn ở các cá thể khi của chi macaca, được phản ánh qua GC-skew dương của chúng, chỉ ra một thành phần nucleotide cân bằng hơn so với các cá thể chà vá: Sai diễn giải: các bảng đang cho GC-skew âm ở nhóm Macaca; cần sửa.	Đã điều chỉnh; trang 79/ Chương 3/ mục 3.2.4.2
70	Hình 3. 21. Thành phần axit amin và tỷ lệ tương đối (%) của chúng trong hệ gene ty thể hoàn chỉnh của Chà vá chân đen Tây Nguyên Việt Nam; Chà vá chân đen Trung Quốc và Chà vá chân đỏ Trung Quốc: tên Việt của <i>Pygathrix nemaeus</i> không nhất quán; luận án đang dùng Chà vá chân nâu.	Đã điều chỉnh; trang 82/ Chương 3/ mục 3.2.2.4
71	Liss: nhãn amino acid sai; cần sửa Lys/Lysine.	Đã điều chỉnh; trang 82/ Chương 3/ mục 3.2.2.4
72	Bảng 3. 18. Tỷ lệ phần trăm của thành phần axit amin trong toàn bộ hệ gene ty thể của các cá thể chà vá: Chà vá chân đen Tây	Đã điều chỉnh; trang 83/ Chương 3/ mục 3.2.2.4

	Nguyên Việt Nam, Chà vá chân đen Trung Quốc, và Chà vá chân đỏ Trung Quốc: tên Việt của <i>Pygathrix nemaeus</i> không nhất quán; luận án đang dùng Chà vá chân nâu.	
73	Liss: nhãn amino acid sai; cần sửa Lys/Lysine.	Đã điều chỉnh; trang 83/ Chương 3/ mục 3.2.2.4
74	Nghiên cứu này lần đầu tiên công bố hệ gene ty thể hoàn chỉnh của Chà vá chân đen Tây Nguyên Việt Nam, một loài linh trưởng đang bị đe dọa nghiêm trọng và đặc hữu của Việt Nam: <i>Pygathrix nigripes</i> của Việt Nam và Campuchia.	Đã điều chỉnh; trang 84/ Chương 3/ mục 3.2.2.6
75	RNA chuyển vị (tRNA): tRNA là RNA vận chuyển, không phải RNA chuyển vị.	Đã điều chỉnh; trang 86/ Chương 3/ mục 3.2.5
76	Bảng 3.21 Giá trị TA Skew và GC Skew Khi vàng Tây nguyên Việt Nam -0.00605 và -0.35278 : Dòng số liệu Khi vàng có vẻ bị lấy nhầm từ chà vá chân đen <i>Pygathrix cinerea</i> ; mâu thuẫn với <i>Macaca mulatta</i> tham chiếu, cần kiểm tra lại toàn bộ Bảng 3.21.	Đã điều chỉnh; trang 89/ Chương 3/ mục 3.2.5
77	Đối với Khi vàng, GC-skew có giá trị là -0.35278 , cho thấy sự chiếm ưu thế của A và T so với G và C trong hệ gene ty thể.: Sai định nghĩa GC-skew: GC-skew phản ánh G so với C, không phải A/T so với G/C.	Đã điều chỉnh; trang 90/ Chương 3/ mục 3.2.5.1
78	KKhi: thừa chữ K.	Đã điều chỉnh; trang 90/ Chương 3/ mục 3.2.5.1
79	3.2.15.2: đánh số mục sai; phải thuộc mục 3.2.5.x.	Đã điều chỉnh; trang 91/ Chương 3/ mục 3.2.5.1
80	Series1: Biểu đồ còn nhãn Excel mặc định; cần sửa legend theo mẫu/loài thực tế.	Đã điều chỉnh; trang 91/ Chương 3/ mục 3.2.5.1
81	Viết: Hình 3. 23. Tỷ lệ phần trăm tần suất thành phần axit amin trong toàn bộ hệ gene ty thể của các cá thể khi của chi macaca: Khi vàng Việt Nam; Khi vàng Myanmar; Khi vàng Trung Quốc. Nhưng trên hình là Chinese <i>Macaca leonina</i> : Sai đối tượng trong hình/caption: <i>Macaca leonina</i> là khi	Đã điều chỉnh; trang 92/ Chương 3/ mục 3.2.5.1

	đuôi lợn phương Bắc không phải Khi vàng Trung Quốc	
82	Lys: nhân amino acid sai; cần sửa Lys/Lysine.	Đã điều chỉnh; trang 92/ Chương 3/ mục 3.2.5.1
83	của khi: thiếu khoảng trắng / dính chữ.	Đã điều chỉnh; trang 94/ Chương 3/ mục 3.2.5.4
84	Methyonine: Methionine.	Đã điều chỉnh; trang 95/ Chương 3/ mục 3.2.5.4
85	Arganine: Arginine.	Đã điều chỉnh; trang 95/ Chương 3/ mục 3.2.5.4
86	Leusine: Leucine.	Đã điều chỉnh; trang 95/ Chương 3/ mục 3.2.5.4
87	Các nghiên cứu trước đây đã chỉ ra sự phân kỳ gene di truyền đáng kể giữa các cá thể khi của chi macaca , cho thấy các động lực tiến hóa phức tạp được hình thành bởi các áp lực môi trường và thích ứng với môi trường sống. Mối quan hệ di truyền gần gũi giữa cá thể Việt Nam và Myanmar, với chỉ 704 khác biệt nucleotide, gợi ý về tổ tiên chung gần đây và các áp lực tiến hóa tương tự: Diễn giải cần thận trọng; 704 khác biệt mtDNA không tự động chứng minh tổ tiên chung gần đây nếu thiếu phân tích khoảng cách/niên đại	Đã điều chỉnh; trang 98/ Chương 3/ mục 3.2.5.6
88	Phân tích Sử Dụng Codon Tương Đương Tương Đối (RSCU) cho thấy sự ưa thích đối với một số codon: dịch sai RSCU Relative Synonymous Codon Usage nên là “mức sử dụng codon đồng nghĩa tương đối”.	Đã điều chỉnh; trang 98/ Chương 3/ mục 3.2.5.6
89	dụng nucleotide: thiếu khoảng trắng giữa “dụng” và “nucleotide”.	Đã điều chỉnh; trang 98/ Chương 3/ mục 3.2.5.6
90	Phân tích Sử Dụng Codon Tương Đương Tương Đối (RSCU) cho thấy sự ưa thích đối với một số codon, đặc biệt là đối với leucine và serine, có thể tăng cường hiệu suất dịch mã. Sự ưa thích này rất quan trọng để tối ưu hóa quá trình tổng hợp protein nhằm đáp ứng các nhu cầu chuyên	Đã điều chỉnh; trang 99/ Chương 3/ mục 3.2.5.7

	hóa đa dạng, đặc biệt trong các môi trường đô thị có biến động; Lịch dữ liệu nghiên cứu; không có bằng chứng về môi trường đô thị trong mẫu bảo tàng Tây Nguyên.	
91	Điều này chỉ ra rằng Chà vá chân xám Tây Nguyên đã biệt lập so với các dòng ở khu vực khác	Đã điều chỉnh; trang 103/ Chương 3/ mục 3.3
92	Cây phát sinh loài Linh trưởng Tây Nguyên từ trình tự 16S rRNA: không thể kết luận biệt lập địa lý/di truyền từ một cá thể: cây không thể hiện bootstrap/support; cần bổ sung giá trị hỗ trợ nút hoặc giải thích, bổ sung mã số truy cập các OTU còn thiếu	Đã điều chỉnh; trang 106/ Chương 3/ mục 3.3
93	Kết hợp dữ liệu từ cả hai bảng chỉ ra rằng biến dị tồn tại đồng thời ở cả vùng bảo tồn (16S) lẫn vùng mã hóa protein (cytb), từ đó có gợi ý sự tồn tại của một dòng di truyền riêng biệt tại khu vực Tây Nguyên: n=1 không đủ xác lập dòng di truyền riêng biệt/quần thể biệt lập.	Đã điều chỉnh; trang 109/ Chương 3/ mục 3.3
94	GeneBank: tên cơ sở dữ liệu sai; chuẩn là GenBank.	Đã điều chỉnh; trang 109/ Chương 3/ mục 3.3
95	Sự hiện diện của nhiều đột biến trên cả gene cytb và 16S rRNA củng cố khả năng hình thành một dòng di truyền biệt lập tại Tây Nguyên.: cần nhiều cá thể, nhiều locus và kiểm định quần thể.	Đã điều chỉnh; trang 110/ Chương 3/ mục 3.3
96	Tổng thể, Khi vàng Tây Nguyên thể hiện một mẫu hình biến dị phân tán và độc lập, phản ánh khả năng tiến hóa biệt lập tương đối lâu dài: tuyên bố rất mạnh từ dữ liệu mtDNA của một cá thể; cần chỉnh lại.	Đã điều chỉnh; trang 111/ Chương 3/ mục 3.3
97	GeneBank: tên cơ sở dữ liệu sai; chuẩn là GenBank.	Đã điều chỉnh; trang 111/ Chương 3/ mục 3.3
98	Cây phát sinh loài Linh trưởng Tây Nguyên từ trình tự gene cytb: cây không thể hiện bootstrap/support; cần bổ sung giá trị hỗ trợ nút hoặc giải thích.	Đã điều chỉnh; trang 111/ Chương 3/ mục 3.3
99	Sự khác biệt hoàn toàn giữa nhóm Tây Nguyên – NC088556 và nhóm NC018063	Đã điều chỉnh; trang 114/ Chương 3/ mục 3.3

	– JQ_821842 gợi ý rằng có thể tồn tại 2 dòng tiến hóa chính trong loài Chà vá chân: Phát biểu không đúng khi \mẫu quần thể quá ít và dùng marker độc lập để nói về dòng tiến hóa.	
100	Sự khác biệt này có thể cho thấy có thể Việt Nam là nơi tồn tại các điều kiện sinh thái độc đáo, tạo nên các dòng di truyền đặc trưng cho cá thể Chà vá chân nâu, khác biệt so với các loài ở khu vực lân cận: nói quá về bối cảnh quá rộng so với dữ liệu một số mẫu bảo tàng.	Đã điều chỉnh; trang 114/ Chương 3/ mục 3.3
101	D-loop đóng vai trò như một chỉ dấu mạnh mẽ để đánh giá sự khác biệt di truyền nội bộ loài và sự phân hóa giữa các quần thể cận lâm sàng: Thuật ngữ sai ngữ cảnh; nên là quần thể gần/quan hệ gần nếu cần.	Đã điều chỉnh; trang 114/ Chương 3/ mục 3.3
102	Cây phát sinh loài Linh trưởng Tây Nguyên từ trình tự gene D-loop: cây không thể hiện bootstrap/support; cần bổ sung giá trị hỗ trợ nút hoặc giải thích.	Đã điều chỉnh; trang 115/ Chương 3/ mục 3.3
103	Cây phát sinh loài Linh trưởng Tây Nguyên từ trình tự của toàn hệ: cây không thể hiện bootstrap/support; cần bổ sung giá trị hỗ trợ.	Đã điều chỉnh; trang 117/ Chương 3/ mục 3.3
104	Đối với các loài chà vá, cá thể linh trưởng ở Tây Nguyên thường mang kiểu nucleotide riêng biệt và chia sẻ rất ít alen với các mẫu tham chiếu từ các khu vực khác: Dùng “alen” không phù hợp với so sánh trình tự mtDNA đơn lẻ; cần nói “vị trí nucleotide/haplotype” nếu có cơ sở.	Đã điều chỉnh; trang 118/ Chương 3/ mục 3.3
105	Những kết quả này phù hợp với các nghiên cứu gần đây về tiến hóa và đa dạng di truyền linh trưởng ở khu vực Đông Dương và Đông Nam Á, nơi các cao nguyên và dãy núi đóng vai trò như các “đảo sinh học” thúc đẩy quá trình phân hóa di truyền nội loài (8,64,74): ần dụ địa sinh học không chuẩn xác; cần dẫn chứng và không nên suy ra từ n=1 mỗi loài.	Đã điều chỉnh; trang 119/ Chương 3/ mục 3.3

106	ADN ty thể; sai chính tả ADN ty thể.	Đã điều chỉnh; trang 120/ Chương 3/ mục 3.3
107	Kiến nghị xây dựng một ngân hàng dữ liệu gene linh trưởng Việt Nam tích hợp dữ liệu hình thái, sinh thái và di truyền – nhằm phục vụ việc nhận diện nhanh các loài, cá thể trong cứu hộ, tái thả và giám sát quần thể trong tự nhiên: Ứng dụng thực tiễn quá mạnh so với n=1 mỗi loài; nên viết là dữ liệu tham khảo ban đầu.	Đã điều chỉnh; trang 121/ Chương 3/ mục 3.3
108	Geneome: genome/mitochondrial genome, không phải geneome.	Đã điều chỉnh; trang 122/ Chương 3/ mục 3.3
109	terling EJ: tên tác giả ở tài liệu tham khảo sai; thiếu chữ S: Sterling.	Tên tác giả trong tktk ban đầu là Sterling; vì vậy không thay đổi; trang 132/ Chương 2/ mục 3.2
110	Xét về kỹ thuật và phương pháp nghiên cứu: làm thế nào tác giả phân biệt được gene ty thể và gene trong nhân?	Đã điều chỉnh và bổ sung trang 26 và trang 28/ Chương 2/ mục 2.2
111	Nghiên cứu có khác biệt gì so với dữ liệu đã công bố	Xuyên suốt trong luận văn đã trình bày những điểm khác biệt so với các trình tự đã được công bố ví dụ sự khác nhau về độ dài gene ty thể của khỉ mặt đỏ Việt Nam và trên thế giới trang 36/ Chương 3/ mục 3.1
112	Bổ sung chức năng của 13 gene mã hóa protein	Đã bổ sung trang 48/ chương 3; mục 3.2.1.7
113	Giải thích ý nghĩa hình <i>tRNA</i>	Đã bổ sung trang 42/ chương 3; mục 3.2.1.4
114	Chưa khai thác sâu về ý nghĩa tiến hóa của thiên lệch này cũng như chưa so sánh với các nhóm linh trưởng khác	Nghiên cứu chỉ sử dụng 1 cá thể đại diện nên không khai thác sâu về ý nghĩa tiến hóa, chỉ dừng lại ở sự phân tích đặc điểm bộ gene ty thể và so sánh với 1 số cá thể đã được công bố
115	Phần tổng quan cần bổ sung thông tin đầy đủ hơn về xu hướng tiến hóa	Đã bổ sung trang 10/ chương 1/ mục 1.2
116	Phần kết quả - thảo luận: Nên có biện luận thêm về hạn chế của số lượng mẫu, làm rõ	Đã bổ sung trang 118/ chương 3/ mục 3.3.5

hơn cách lấy mẫu trong nghiên cứu, làm rõ hơn xu hướng tiến hóa, nên có thêm biện luận về kết quả đạt được.	
---	--

Nghiên cứu sinh chân thành cảm ơn Quý thầy, cô trong Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện đã góp ý và tạo cơ hội cho NCS hoàn thiện luận án của mình.

Xin trân trọng cảm ơn./.

Hà Nội, ngày 30 tháng 5 năm 2026

TẬP THỂ HƯỚNG DẪN

(Trường hợp có 02 người hướng dẫn xin chữ ký cả 02 người, ký và ghi rõ họ tên)

PGS. TS. Lê Thành Long

PGS. TS. Thái Kế Quân

NGHIÊN CỨU SINH

Nguyễn Thị Thủy Trâm

**XÁC NHẬN CỦA
HỌC VIỆN KHCN**



**KT. GIÁM ĐỐC
PHÓ GIÁM ĐỐC**

Nguyễn Thị Trung

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG

GS. TS. Hoàng Nghĩa Sơn

THƯ KÝ

TS. Nguyễn Hoàng Dũng

