

QUAN HỆ DI TRUYỀN VÀ ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI CÁC LOÀI CÁ CỐC THUỘC GIỐNG *Tylototriton* (AMPHIBIA: CAUDATA) Ở VIỆT NAM

Nguyễn Văn Thịnh¹, Ninh Thị Hòa^{2*}, Nguyễn Thị Ngân^{2,3},
Nguyễn Thiên Tạo², Đỗ Hữu Dũng², Phạm Thế Cường⁴, Phạm Văn Anh³,
Ngô Ngọc Hải², Nguyễn Quảng Trường^{1,4}, Hoàng Văn Chung⁵

¹Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Viện Nghiên cứu Hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

⁴Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

⁵Viện Điều tra Quy hoạch rừng

<https://doi.org/10.55250/jo.vnuf.2022.5.040-049>

TÓM TẮT

Ở Việt Nam hiện ghi nhận 6 loài cá cóc thuộc giống *Tylototriton*: Cá cóc gờ sọ mảnh *T. anguliceps*; Cá cóc sần *T. pasmansi*; Cá cóc sần *T. sparreboomi*; Cá cóc sần thái *T. thaiorum*; Cá cóc việt nam *T. vietnamensis* và Cá cóc sần zig-lor *T. ziegleri*. Kết quả trình tự đoạn gen ND2 cho thấy các mẫu của loài *T. anguliceps*, *T. pasmansi*, *T. sparreboomi*, *T. vietnamensis* và *T. ziegleri* có sai khác nhỏ hơn 1,80%, 0,50%, 0,02%, 0,50%, và 2,70%, tương ứng và không có sai khác về di truyền giữa các mẫu trong loài *T. thaiorum*. Sai khác di truyền giữa các loài trong giống *Tylototriton* dao động trong khoảng từ 3,86 đến 12,06%. Các loài cá cóc ở Việt Nam phân thành hai nhóm, nhóm I gồm năm loài *T. ziegleri*, *T. pasmansi*, *T. sparreboomi*, *T. thaiorum*, *T. vietnamensis* và nhóm II chỉ có loài *T. anguliceps*. Bên cạnh thảo luận về mối quan hệ di truyền của 6 loài cá cóc giống *Tylototriton* ở Việt Nam, chúng tôi mô tả hình thái của 6 loài ghi nhận, cụ thể kích thước dài thân (SVL) của các loài thuộc giống *Tylototriton* từ 56 đến 75 cm và có các nốt sần trên lưng, bụng màu nâu hoặc nâu sẫm. Vùng phân bố của các loài thuộc giống *Tylototriton* được ghi nhận từ Hà Giang đến Nghệ An.

Từ khóa: Cá cóc, ND2, quan hệ di truyền, *Tylototriton*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Họ Cá cóc Salamandridae có vùng phân bố ở hầu hết các vùng nhiệt đới và ôn đới, hiện ghi nhận gồm có 20 giống, trong đó có 5 giống đã được ghi nhận phân bố ở châu Á (Frost, 2022). Ở Việt Nam ghi nhận 2 giống là *Paramesotriton* và *Tylototriton*; riêng giống *Tylototriton* ghi nhận 6 loài phân bố ở miền Bắc từ Hà Giang đến Nghệ An (Frost, 2022).

Giống *Tylototriton* là một trong những nhóm lưỡng cư còn ít được nghiên cứu. Trong khoảng 10 năm trở lại đây có tới 25 loài mới cho khoa học được phát hiện trên thế giới và 5 loài trong số đó được mô tả dựa trên mẫu chuẩn tại Việt Nam. Do có đặc điểm hình thái khá giống nhau nên phân loại các loài trong giống *Tylototriton* còn có nhiều vấn đề chưa rõ ràng. Các quần thể của loài Cá cóc sần *Tylototriton asperrimus*

*Corresponding author: ninhhoa.hnue@gmail.com

trước đây ghi nhận ở Nam Trung Quốc và Bắc Việt Nam đã được mô tả thành bốn loài mới.

Việc đánh giá sự sai khác giữa các quần thể và giữa các loài sử dụng các chỉ thị sinh học phân tử kết hợp với phân tích các đặc điểm hình thái sẽ giúp làm sáng tỏ vị trí phân loại và quan hệ di truyền của các loài cá cóc trong giống *Tylototriton* ở Việt Nam. Trong nghiên cứu này, chúng tôi so sánh trình tự đoạn gen ND2 trong hệ gen ty thể và xây dựng cây quan hệ di truyền của 29 mẫu cá cóc thuộc 5 loài có vùng phân bố ghi nhận ở Việt Nam, đồng thời bổ sung các dẫn liệu về đặc điểm hình thái của các loài cá cóc thuộc giống *Tylototriton*.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Phân tích sinh học phân tử

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tách chiết và giải trình tự bổ sung cho các mẫu vật của loài *Tylototriton ziegleri* thu tại Quán Bạ, Hà Giang

trong năm 2022. Các mẫu gan hoặc cơ được tách chiết theo quy trình được trình bày trong nghiên cứu của Kuraishi và cộng sự (2013), bổ sung và hiệu chỉnh theo Nguyen và cộng sự (2015), sử dụng bộ kit chiết tách của hãng Qiagen (Đức). ADN tổng số sau khi chiết tách sẽ được sử dụng để khuếch đại bằng phương pháp PCR. Tỷ lệ thành phần các chất tham gia phản ứng chuỗi PCR như sau: Nước cất 7 μ l; Taq PCR Master Mix 10 μ l; Môi xuôi 0.5 μ l; Môi ngược: 0,5 μ l, ADN: 2 μ l. Hai đoạn môi được sử dụng dựa trên nghiên cứu của Wang và cộng sự 2018: SL-1 (môi xuôi) (5'-ATAGAGGTTCAAACCCTCTC-3') và SL-2 (môi ngược) (5'-TTAAAGTGTCTGGGTTGCATTCAG-3').

Các sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1%. Sản phẩm đã được nhân đoạn thành công sẽ được tinh sạch bằng bộ kit GeneJET™. Sản phẩm tinh sạch sau đó được gửi tới công ty Firstbase (Malaysia) để giải trình tự. Trình tự trả về được cắt bỏ môi bằng phần mềm Chromas Pro 2.1.6 Kết quả được so sánh bằng công cụ Blast trên Genbank để xác định loài.

Các trình tự mới phân tích và các trình tự tham khảo trên Genbank được sắp xếp bằng phần mềm Bio Edit. Khoảng cách di truyền giữa các đơn vị phân loại được tính toán bằng cách so sánh các số lượng khác biệt cố định và các đột biến chung, số lượng nu-clê-ô-tit (Nu) thay thế trung bình cũng như số lượng Nu thay thế thực tại từng vị trí. Cây phát sinh chủng loại sẽ được xây dựng dựa trên phương pháp phân tích hợp lý tối đa Maximum Likelihood (ML) có trong phần mềm Kakusan 4 và Treefinder. Mô hình tiến hóa của các trình tự sẽ được lựa chọn dựa trên tiêu chí thông tin Akaike (AIC) bằng cách so sánh các mô hình phân tích Kakusan. Phân tích mô phỏng phi thông số cung cấp độ tin cậy về thống kê cho các nhánh trong cây quan hệ di truyền dựa trên phân tích hợp lý tối đa và phương pháp Bayesian inference (BI)

bằng phần mềm MrBayes v3.2. các phân tích được thực hiện dựa trên cây ngẫu nhiên ban đầu và tính toán trong 1×10^7 thế hệ, tần số lấy mẫu cây được thực hiện sau 1000 thế hệ và cây cuối cùng thu được sau khi loại bỏ 30.001 cây (Burnin 1.000.000). Giá trị của gốc nhánh được coi là đáng tin cậy khi xác suất hậu nghiệm $\geq 95\%$. Với phân tích hợp lý tối đa Maximum Likelihood, giá trị độ tin cậy (bootstrap) được xác định khi chạy 10000 lần lặp và giá trị được coi là tin cậy khi $\geq 75\%$.

Trình tự gen ND2 của 29 mẫu vật thuộc giống *Tylototriton* thuộc 6 loài được sử dụng trong phân tích di truyền, hai trình tự của loài *Pleurodeles waltl* được sử dụng làm nhóm ngoài cho việc so sánh trong quá trình xây dựng cây quan hệ di truyền (Bảng 1).

Phân tích đặc điểm hình thái

Phân tích đặc điểm hình thái của các mẫu cá cóc theo tài liệu của Nishikawa và cộng sự (2011): Chiều dài thân (SVL, khoảng cách từ nút mõm đến rìa trước lỗ huyết); Chiều dài đuôi (TL, khoảng cách từ rìa sau lỗ huyết đến nút đuôi); Chiều dài lỗ hậu môn (L, khoảng cách từ rìa trước lỗ hậu môn đến rìa sau lỗ hậu môn); Chiều dài đầu (HL, khoảng cách từ nút mõm đến góc sau của hàm dưới); Chiều rộng đầu (HW, khoảng cách rộng nhất của đầu); Chiều cao đầu (HH, khoảng cách cao nhất của đầu); Chiều rộng miệng (MW, khoảng cách giữa góc sau miệng); Chiều dài miệng (ML, khoảng cách từ góc sau hàm đến nút mõm); Chiều dài mõm (SE, khoảng cách từ góc trước ổ mắt đến nút mõm); Đường kính mắt (ED, khoảng cách từ góc trước mắt đến góc sau mắt); OD: Chiều dài từ góc sau ổ mắt đến góc sau hàm; SE: Chiều dài từ nút mõm tới góc trước ổ mắt; Chiều dài chi trước (FoL, khoảng cách từ hốc nách đến nút ngón dài nhất); Chiều dài chi sau (HiL, khoảng cách từ hốc háng đến nút ngón dài nhất); Chiều dài nách - bẹn (AG, khoảng cách từ hốc nách đến háng).

Bảng 1. Danh sách các mẫu vật được sử dụng trong phân tích di truyền

STT	Tên khoa học	Số hiệu thực địa	Địa điểm thu mẫu	Mã genbank	Tài liệu tham khảo
1	<i>P. waltl</i>	MVZ162384	Morocco	AY916026	Weisrock et al., 2005
2	<i>P. waltl</i>	MVZ231894	Cadiz, Andalusia, Tây Ban Nha	EU880330	Zhang et al., 2008
3	<i>T. anguliceps</i>	NCSM 82953	Viêng Phoukha, Luông Nặm Thà, Lào	KT304297	Phimmachak et al., 2015
4	<i>T. anguliceps</i>	NUOL 00448	Viêng Phoukha, Luông Nặm Thà, Lào	KT304298	Phimmachak et al., 2015
5	<i>T. anguliceps</i>	NUOL 00419	Viêng Phoukha, Luông Nặm Thà, Lào	KT304299	Phimmachak et al., 2015
6	<i>T. anguliceps</i>	NCSM 82952	Viêng Phoukha, Luông Nặm Thà, Lào	KT304300	Phimmachak et al., 2015
7	<i>T. anguliceps</i>	NUOL 00420	Viêng Phoukha, Luông Nặm Thà, Lào	KT304301	Phimmachak et al., 2015
8	<i>T. anguliceps</i>	VNMN A.2014.3	Mường Nhé, Điện Biên, Việt Nam	LC017832	Le et al., 2015
9	<i>T. anguliceps</i>	TBU PAE.671	Thuận Châu, Sơn La, Việt Nam	LC017833	Le et al., 2015
10	<i>T. anguliceps</i>	IEBR A.2014.10	Thuận Châu, Sơn La, Việt Nam	LC017834	Le et al., 2015
11	<i>T. anguliceps</i>	HNUE A.I.1.111	Mường Nhé, Điện Biên, Việt Nam	LC017836	Le et al., 2015
12	<i>T. anguliceps</i>	KUHE: AJW2	VQG Khun Chae Thái Lan	LC505611	Pomchote et al., 2019
13	<i>T. anguliceps</i>	KUHE: AJW2	VQG Khun Chae Thái Lan	LC505613	Pomchote et al., 2019
14	<i>T. pasmansi</i>	IEBR 4466	Đà Bắc, Hòa Bình, Việt Nam	MT210166	Bernardes et al., 2020
15	<i>T. pasmansi</i>	IEBR 4467	Đà Bắc, Hòa Bình, Việt Nam	MT210167	Bernardes et al., 2020
16	<i>T. sparreboomi</i>	IEBR 4476	Sin Hồ, Lai Châu, Việt Nam	MT210162	Bernardes et al., 2020
17	<i>T. sparreboomi</i>	IEBR 4477	Sin Hồ, Lai Châu, Việt Nam	MT210163	Bernardes et al., 2020
18	<i>T. thaiorum</i>	ZMMU A-7577	VQG Pù Hoạt	MW883478	Poyarkov, 2021
19	<i>T. thaiorum</i>	ZMMU A-7578	VQG Pù Hoạt	MW883479	Poyarkov, 2021
20	<i>T. thaiorum</i>	ZMMU A-7579	VQG Pù Hoạt	MW883480	Poyarkov, 2021
21	<i>T. thaiorum</i>	ZMMU A-7580	VQG Pù Hoạt	MW883481	Poyarkov, 2021
22	<i>T. vietnamensis</i>	IEBR A.2014.43	KBTTN Đồng Sơn - Kỳ Thượng, Hoàng Bô, Quảng Ninh	KX609961	Bernardes et al., 2017
23	<i>T. vietnamensis</i>	IEBR A.2014.44	Mẫu Sơn, Lộc Bình, Lạng Sơn	KX609962	Bernardes et al., 2017
24	<i>T. vietnamensis</i>	IEBR A.2014.45	Mẫu Sơn, Lộc Bình, Lạng Sơn	KX609963	Bernardes et al., 2017
25	<i>T. vietnamensis</i>	IEBRA.0701	Mẫu Sơn, Lộc Bình, Lạng Sơn	KY800873	Wang et al., 2017
26	<i>T. zieglerei</i>	VNUHHG.082	Quản Bạ, Hà Giang, Việt Nam	KY800870	Wang et al., 2017
27	<i>T. zieglerei</i>	VNUHHG.081	Quản Bạ, Hà Giang, Việt Nam	KY800871	Wang et al., 2017
28	<i>T. zieglerei</i>	VNMN3389	Bảo Lạc, Cao Bằng, Việt Nam	KY800888	Wang et al., 2017
29	<i>T. zieglerei</i>	VNMN3390	Quản Bạ, Hà Giang, Việt Nam	KY800889	Wang et al., 2017
30	<i>T. zieglerei</i>	HG.2022.1	Quản Bạ, Hà Giang, Việt Nam	Nghiên cứu này	Nghiên cứu này
31	<i>T. zieglerei</i>	HG.2022.2	Quản Bạ, Hà Giang, Việt Nam	Nghiên cứu này	Nghiên cứu này

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Quan hệ di truyền của các loài cá cóc thuộc giống *Tylototriton* ở Việt Nam

Hai dạng cây di truyền BI và ML được xây dựng dựa trên hai phương pháp có hình dạng tương tự nhau, giá trị $-LnL$ mỗi mô hình là 3856,384 và 3654,6155, giá trị alpha đối với cây BI là 0,361 và giá trị gamma với cây ML là 0,3629. Cây quan hệ di truyền dạng BI được thể hiện ở Hình 1 và khoảng cách di truyền được trình bày ở Bảng 2.

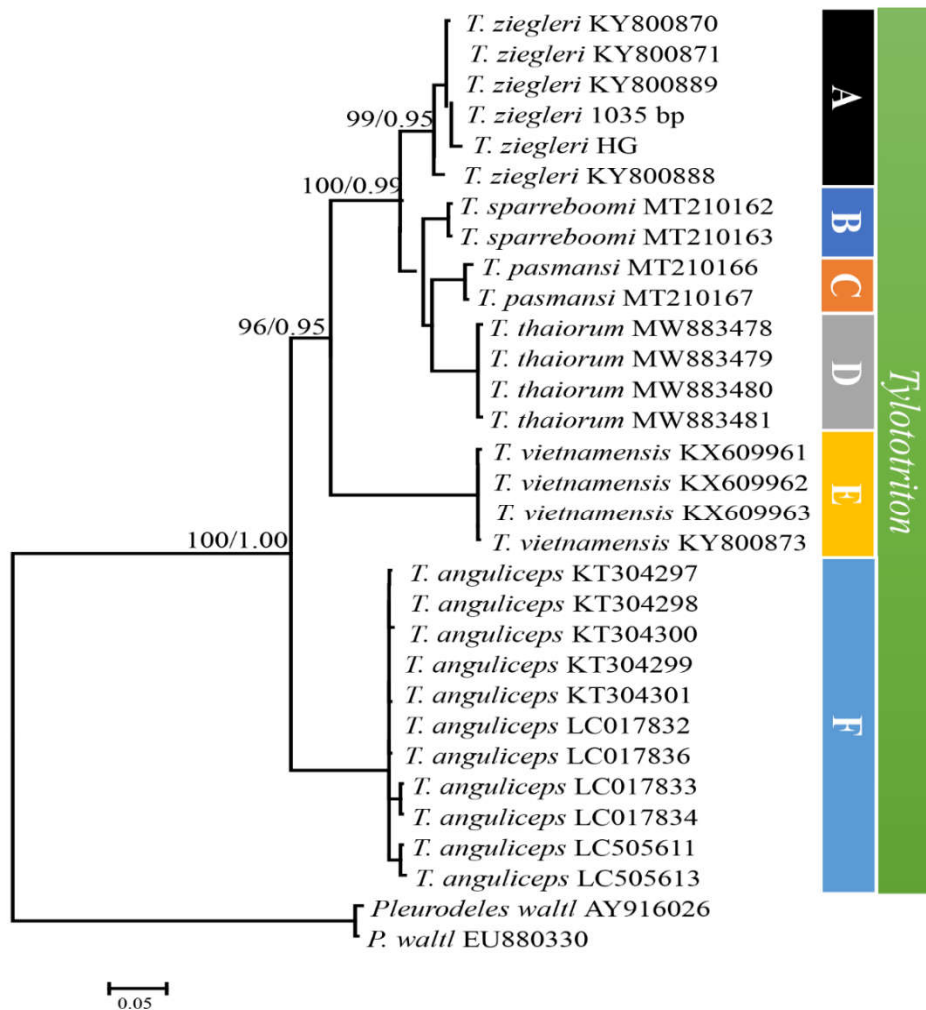
Giá trị thể hiện ở các gốc nhánh là giá trị độ tin cậy của mô hình ML/giá trị xác suất hậu nghiệm của mô hình BI

Kết quả phân tích 29 mẫu vật cá cóc của 6 loài thuộc giống *Tylototriton* ghi nhận ở Việt Nam cho thấy chúng cùng chung một gốc nhánh trên cây quan hệ di truyền với giá trị xác suất hậu nghiệm gốc nhánh đạt tuyệt đối 100/1.00.

Đồng thời, mẫu vật của sáu loài tạo thành hai nhóm riêng biệt: Nhóm I gồm năm loài *T. pasmansii*, *T. sparreboomi*, *T. thaiorum*, *T. vietnamensis* và *T. ziegleri*, khoảng cách di truyền giữa các loài này từ 3,86 đến 12,06%. Nhóm II chỉ có loài *T. anguliceps*. Kết quả này có sự tương đồng với nghiên cứu của Wang và cộng sự (2018).

Sáu loài cá cóc thuộc giống *Tylototriton* ở Việt Nam phân thành 6 nhánh tách biệt:

Phân nhánh A gồm các mẫu vật thuộc loài *T. ziegleri* thu tại huyện Quản Bạ, tỉnh Hà Giang, khoảng cách di truyền giữa các cá thể từ 0,00 - 2,70%, trong đó cá thể KY800888 phân bố ở Cao Bằng có sai khác tương đối tách biệt với các mẫu khác của quần thể phân bố ở Hà Giang. Khoảng cách di truyền giữa các cá thể còn lại nhỏ hơn 0,9%.



Hình 1. Cây quan hệ di truyền của các loài cá cóc thuộc giống *Tylototriton* ở Việt Nam xây dựng trên mô hình BI

Phân nhánh B gồm các mẫu vật thuộc loài *T. sparreboomi* thu tại huyện Sin Hồ, tỉnh Lai Châu. Về di truyền, sai khác giữa hai cá thể sử dụng trong nghiên cứu nhỏ hơn 0,20%.

Phân nhánh C gồm các mẫu vật thuộc loài *T. pasmansii* thu từ huyện Đà Bắc, tỉnh Hòa Bình, khoảng cách di truyền nhỏ hơn 0,50%.

Phân nhánh D gồm các mẫu vật thuộc loài *T. thaiorum* thu từ Vườn Quốc gia (VQG) Pù Hoạt, tỉnh Nghệ An, giữa các cá thể này không ghi nhận sai khác về di truyền.

Phân nhánh E gồm các mẫu vật thuộc loài *T. vietnamensis* thu từ các tỉnh Quảng Ninh và Lạng Sơn, trong đó các mẫu vật có khoảng cách di truyền từ 0,20 đến 0,50% (Bảng 2).

Phân nhánh F gồm các mẫu vật thuộc loài *T. anguliceps* thu từ Luông Nậm Tha (Lào), Điện Biên, Sơn La và VQG Khun Chae (Thái Lan). Trong đó các mẫu vật được thu từ Điện Biên và

Sơn La không có sai khác về di truyền, giữa hai cá thể thu từ VQG Khun Chae Thái Lan là 0,20% và các mẫu vật thu từ Luông Nậm Tha (Lào) là 0,00 - 0,40%. Về khoảng cách di truyền giữa các quần thể cụ thể như sau: giữa quần thể ở Điện Biên và Sơn La nhỏ hơn 0,10%; giữa quần thể ở Điện Biên và Luông Nậm Tha (Lào) nhỏ hơn 0,30%; giữa quần thể ở Điện Biên và Thái Lan từ 0,90 đến 1,20%; giữa quần thể ở Sơn La và Lào từ 1,00 đến 1,13 %; giữa quần thể Sơn La và Thái Lan từ 1,60 đến 1,80%; và giữa quần thể ở Lào và Thái Lan từ 0,90 đến 1,10%.

Về sai khác di truyền giữa các loài được thể hiện ở Bảng 2. Khoảng cách về di truyền giữa các loài cá cóc thuộc giống *Tylostotriton* ở Việt Nam đối với gen ND2 nằm trong khoảng 3,86 đến 12,80%.

Bảng 2. Khoảng cách di truyền các loài cá cóc thuộc giống *Tylostotriton* ở Việt Nam

STT	Tên khoa học	1	2	3	4	5	6
1	<i>T. anguliceps</i>	0,00-1,80					
2	<i>T. pasmansii</i>	11,4-12,1	0,50				
3	<i>T. sparreboomi</i>	10,7-11,5	3,96-4,26	0,20			
4	<i>T. thaiorum</i>	10,7-11,2	4,64-4,93	4,64-4,83	0		
5	<i>T. vietnamensis</i>	12,8-14,0	11,59-12,26	10,55-11,25	11,55-12,06	0,2-0,5	
6	<i>T. ziegleri</i>	9,30-11,08	4,39-5,99	3,86-4,77	4,83-6,21	10,94-12,42	0,00-2,70

Như vậy, về khoảng cách di truyền giữa các quần thể của năm loài *T. anguliceps*, *T. pasmansii*, *T. sparreboomi*, *T. thaiorum*, *T. vietnamensis* hiện ghi nhận phân bố ở Việt Nam nhỏ hơn 1,80%. Riêng loài *T. ziegleri* có sai khác di truyền giữa một mẫu vật KY800888 với các cá thể còn lại đạt 2,70%. So với các giá trị sai khác của các loài còn lại, đây được xem là một giá trị tương đối lớn. Do đó cần có nghiên cứu thêm về hình thái của mẫu vật này trong nghiên cứu tiếp theo, đồng thời tiến hành mở rộng nghiên cứu thêm để phát hiện thêm các quần thể mới của loài này hoặc có thể là ghi nhận phân loài của chúng.

3.2. Đặc điểm hình thái của các loài cá cóc thuộc giống *Tylostotriton* ở Việt Nam

***Tylostotriton anguliceps* Le, Nguyen, Nishikawa, Nguyen, Pham, Matsui, Bernardes & Nguyen, 2015 – Cá cóc gờ sọ mảnh**

Mẫu vật nghiên cứu (n = 4): 02 mẫu đực (TBUML.2019.1, SL2016.153) và 02 mẫu cái (TBUML.2019.2, SL2016.171) mẫu được thu tại Sơn La.

Kích thước: SVL: 63-69,8 mm (♂); 56,5-63,3 mm (♀), HL: 16,5-18,4 mm (♂); 15,4-17,2 mm (♀), HW: 15,9-17,9 mm (♂); 14,8-17 mm (♀).

Đặc điểm nhận dạng: Kích thước cơ thể trung bình; Các nốt sần lớn chạy dọc hai bên gờ lưng - sườn; gờ rìa hai bên đầu rõ, dốc và mảnh; gờ xương ở giữa đỉnh đầu rõ và mảnh; da nhám với các nốt sần nhỏ; gờ sống lưng nổi rõ, hơi phân đoạn; chân dài và nhỏ; đuôi mỏng; phần đầu, các chi, gờ sống lưng, các mụn lớn ở dọc

gờ lưng bên và phần đuôi.

Màu sắc mẫu sống: Cơ thể màu nâu đỏ, các mụn lớn dọc sống lưng và phần đuôi màu da cam; mặt bụng màu nâu hoặc đen nâu; các phần còn lại của cơ thể màu đen thẫm (Hình 2).



Hình 2. Mặt lưng của loài *P. anguliceps*

Phân bố: Ở Việt Nam, loài *P. anguliceps* ghi nhận phân bố ở Điện Biên và Sơn La (Frost, 2022). Trên thế giới loài này ghi nhận phân bố ở Lào và Thái Lan (Frost, 2022) (Hình 2).

Tylototriton pasmansii Bernardes, Le, Nguyen, Pham, Pham, Nguyen & Ziegler, 2020

Mẫu vật nghiên cứu (n = 1): 01 mẫu đực (IEBR 4466) thu tại Hoà Bình.

Kích thước: SVL: 64,2 mm (♂), HL: 17,7 mm, HW: 11,9 mm, ED: 3,1 mm.

Đặc điểm nhận dạng: Kích thước cơ thể trung bình; đầu dài hơn rộng, mõm ngắn,

khoảng cách giữa hai mắt lớn, gờ xương trên đầu rõ, có nếp gấp và nốt sần trên lưng nổi cao kéo dài từ đầu đến gốc đuôi, các nốt sần bên sườn rõ, tròn nhỏ, đuôi mỏng và nhọn về phía sau, da mặt lưng sần và nhiều hạt, mặt bụng có nốt sần nhỏ và có nếp gấp.

Màu sắc mẫu sống: Cơ thể màu xám đen, mặt bụng màu nâu sẫm mút ngón chân, tay màu cam, một dải màu cam kéo dài từ hậu môn đến mút đuôi (Hình 3).

Phân bố: Ở Việt Nam, loài *T. pasmansii* ghi nhận phân bố ở Hoà Bình, Phú Thọ, Sơn La và Thanh Hoá (Frost, 2022) (Hình 3).



Hình 3. Mặt lưng của loài *T. pasmansii*

(Ảnh: Phạm Văn Anh)

***Tylostotriton sparreboomi* Bernardes, Le, Nguyen, Pham, Pham, Nguyen & Ziegler, 2020**

Mẫu vật nghiên cứu (n = 15): 15 mẫu đực (SH.1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15) thu ở Lai Châu.

Kích thước: SVL: 60,1 - 77,7 mm, HL: 18,1 - 21,2 mm, HW: 15,5 - 19,1 mm, ED: 8,0 - 9,9 mm.

Đặc điểm nhận dạng: Đặc điểm hình thái của mẫu vật phù hợp với mô tả của Bernardes và

cộng sự (2020). Kích thước cơ thể trung bình; da trên toàn bộ cơ thể sần, xương sống nổi rõ, đứt đoạn, gờ xương trên đầu phát triển, dọc hai bên sườn có các nốt sần kéo dài từ nách tới bẹn, các chi ngắn, mặt bụng nhẵn, họng và ngực sần, đuôi mỏng.

Màu sắc mẫu sống: Cơ thể màu nâu nâu đỏ, bụng màu nâu, mút ngón tay, ngón chân và mặt dưới đuôi màu cam (Hình 4, 5).



Hình 4. Mặt lưng của loài *T. sparreboomi*
(Ảnh: Hoàng Văn Chung)



Hình 5: Mặt bụng của loài *T. sparreboomi*
(Ảnh: Ngô Ngọc Hải)

Phân bố: Ở Việt Nam, loài *T. sparreboomi* ghi nhận phân bố ở Lai Châu (Bernardes et al., 2020) (Hình 4,5).

***Tylostotriton thaiorum* Poyarkov, Nguyen & Arkhipov, 2021**

Mẫu vật nghiên cứu (n = 1): 01 mẫu đực (ZMMU A-7577) thu ở Nghệ An.

Kích thước: SVL: 65,2 mm (♂), HL: 15,2 mm, HW: 14,3 mm, ED: 3,8 mm.

Đặc điểm nhận dạng: Đặc điểm hình thái của mẫu vật phù hợp với mô tả của Poyarkov et al. (2021). Kích thước cơ thể trung bình; đầu dài

hơn rộng, mõm ngắn, gờ xương trên đầu rõ, có nếp gấp và nốt sần trên lưng nổi cao kéo dài từ đầu đến gốc đuôi, các nốt sần bên sườn rõ, tròn nhỏ, đuôi mỏng và tù về phía sau, da mặt lưng sần và nhiều hạt, mặt bụng có nốt sần nhỏ và có nếp gấp.

Màu sắc mẫu sống: Cơ thể màu nâu, hậu môn màu nâu xám, các chi màu nâu đậm, các ngón chân và tay màu cam đỏ, các nốt sần ở cổ chân màu đỏ, hậu môn mà mặt bụng của đuôi có màu cam (Hình 6).



Hình 6. Mặt lưng của loài *T. thaiorum*
(Ảnh: Hoàng Văn Chung)

Phân bố: Ở Việt Nam, loài *T. thaiorum* ghi nhận phân bố ở Nghệ An (Frost, 2022). Trên thế giới loài này ghi nhận phân bố ở Lào (Frost, 2022).

***Tylototriton vietnamensis* Böhme, Schöttler, Nguyen & Köhler, 2005** - Cá cóc việt nam

Mẫu vật nghiên cứu (n = 13): 13 mẫu đực (SD.1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13) thu ở Bắc Giang.

Kích thước: SVL: 59,0-68,7 mm, HL: 17,1-19,8 mm, HW: 16,3-18,6 mm, ED: 8,7-10,1 mm.



Hình 7. Mặt lưng của loài *T. vietnamensis*
(Ảnh: Ngô Ngọc Hải)

Đặc điểm nhận dạng: Đặc điểm hình thái của mẫu vật phù hợp với mô tả của Bernardes và cộng sự (2012), Böhme và cộng sự (2005). Kích thước cơ thể trung bình; da trên toàn bộ cơ thể sần, xương sống nổi rõ, gờ xương trên đầu phát triển, dọc hai bên sườn có nốt sần kéo dài từ nách tới bẹn, các chi ngắn, đuôi mỏng.

Màu sắc mẫu sống: Cơ thể màu nâu sẫm tới đen, mặt bụng màu nâu, mút ngón tay và ngón chân, đỉnh của các nốt sần và mặt dưới đuôi màu cam (Hình 7, 8).



Hình 8. Mặt bụng của loài *T. vietnamensis*
(Ảnh: Ngô Ngọc Hải)

Phân bố: Ở Việt Nam, loài *T. vietnamensis* ghi nhận phân bố ở Cao Bằng, Lạng Sơn, Bắc Giang, Phú Thọ (Nguyen et al., 2009; Frost, 2022) (Hình 7,8).

***Tylototriton zieglerei* Nishikawa, Matsui & Nguyen, 2013** - Cá cóc zig-lơ

Mẫu vật nghiên cứu (n = 17): 17 mẫu đực (PDT.1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, BL.1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) thu ở Cao Bằng.

Kích thước: SVL: 66,6 - 74,5 mm, HL: 18,9 - 21,8 mm, HW: 15,7 - 19,3 mm, ED: 9,0 - 10,6 mm.



Hình 9. Mặt lưng của loài *T. zieglerei*

Đặc điểm nhận dạng: Đặc điểm hình thái của mẫu vật phù hợp với mô tả của Nishikawa et al. (2013). Kích thước cơ thể trung bình; da thô ráp, xương sống nổi và phân đoạn, gờ xương trên đầu phát triển, dọc hai bên sườn có các nốt sần kéo dài từ cổ đến bẹn, các chi ngắn, mặt bụng sần, đuôi mỏng.

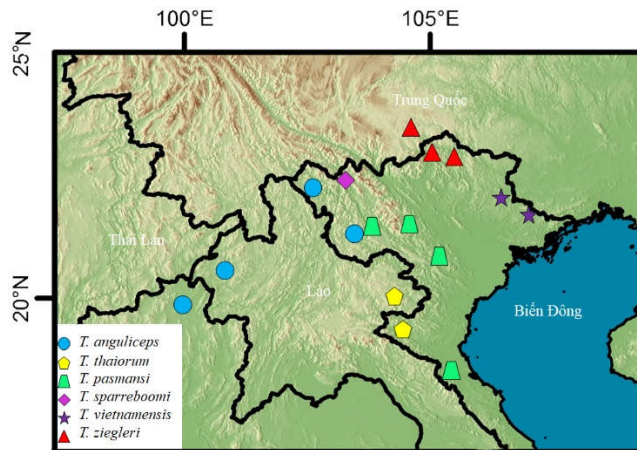
Màu sắc mẫu sống: Cơ thể màu nâu thẫm hoặc đen, bụng màu nâu, mút ngón tay, mút ngón chân và phía đuôi có màu cam (Hình 9, 10).



Hình 10. Mặt bụng của loài *T. zieglerei*
(Ảnh: Ngô Ngọc Hải)

Phân bố: Ở Việt Nam, loài *T. zieglerei* ghi nhận phân bố ở Hà Giang, Cao Bằng. Trên thế

giới loài này ghi nhận phân bố ở Trung Quốc (Frost, 2022) (Hình 11).



Hình 11. Sơ đồ phân bố sáu loài cá cóc hiện ghi nhận ở miền Bắc Việt Nam

4. KẾT LUẬN

Việt Nam hiện ghi nhận 6 loài cá cóc thuộc giống *Tylototriton* bao gồm: Cá cóc gờ sọ mảnh *T. anguliceps*; Cá cóc sần *T. pasmansii*; *T. sparreboomi*; Cá cóc sần thái *T. thaiorum*; Cá cóc việt nam *T. vietnamensis* và Cá cóc sần zig-ler *T. zieglerei*.

Kết quả so sánh trình tự đoạn gen ND2 cho thấy các mẫu vật của loài *T. anguliceps* có sai khác nhỏ hơn 1,80%, các mẫu vật của loài *T. pasmansii* sai khác nhỏ hơn 0,50%, các mẫu vật của loài *T. sparreboomi* sai khác nhỏ hơn 0,02%, các mẫu vật của loài *T. vietnamensis* sai khác nhỏ hơn 0,50%, các mẫu vật của loài *T. zieglerei* sai khác nhỏ hơn 2,70% và không có sai khác về di truyền giữa các mẫu vật loài *T. thaiorum*. Sai khác di truyền giữa các loài dao động trong khoảng từ 3,86 đến 12,06%.

Hình thái và di truyền, các loài cá cóc ở Việt Nam phân thành hai nhóm, nhóm I gồm năm loài *T. zieglerei*, *T. pasmansii*, *T. sparreboomi*, *T. thaiorum*, *T. vietnamensis* có hình thái tương đồng thuộc về cùng nhánh có mối quan hệ di truyền gần gũi và nhóm II chỉ có loài *T. anguliceps*.

Về phân bố các loài cá cóc giống *Tylototriton* ở Việt Nam được ghi nhận ở Bắc Giang, Quảng Ninh, Lạng Sơn, Cao Bằng, Bắc Kạn, Hà Giang, Phú Thọ, Lào Cai, Lai Châu, Sơn La, Điện Biên, Hoà Bình, Thanh Hoá và Nghệ An.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nishikawa K., Matsui M., and Nguyen TT. (2013). A New Species of *Tylototriton* from northern Vietnam (Amphibia: Urodela: Salamandridae). *Current Herpetology*. Kyoto 32: 34–49.
- Bernardes M., Rödder D., Pham CT., Nguyen TQ., Ziegler T. (2012). Integration of Species Distribution Modeling with *In Situ* Research for the Conservation of the Endemic Vietnamese Crocodile Newt (*Tylototriton vietnamensis*). *Froglog* 20(5): 24-25.
- Bernardes M., Le MD., Nguyen TQ., Pham TC., Pham AV., Nguyen TT., Rödder D., Bonkowski M., and Ziegler T. (2020). Integrative taxonomy reveals three new taxa within the *Tylototriton asperrimus* complex (Caudata, Salamandridae) from Vietnam. *ZooKeys* 935: 121–164.
- Kuraishi N., Matsui M., Hamidy A., Belabut D. M., Ahmad N., Panha S., Sudin A., Yong H. S., Jiang J. P., Ota H., Thong H. T., Nishikawa K. (2013). Phylogenetic and taxonomic relationships of the *Polypedates leucomystax* Complex (Amphibia) *Zoologica Scripta* 42: 54–70.
- Phimmachak S., Aowphol A., Stuart B. L. (2015). Morphological and molecular variation in *Tylototriton* (Caudata: Salamandridae) in Laos, with description of a new species *Zootaxa*, 4006(2): 285-310.
- Le DT., Nguyen TT., Nishikawa K., Nguyen SLH., Pham AV., Matsui M., Nguyen TQ. (2015). A new species of *Tylototriton* Anderson, 1871 (Amphibia: Salamandridae) from northern Indochina *Current Herpetology*, 34(1): 38-50.
- Pomchote P., Khonsue W., Sapewisut P., Eto K., & Nishikawa, K. (2020). Discovering a population of *Tylototriton verrucosus* (Caudata: Salamandridae) from Thailand: implications for conservation *Tropical Natural*

History, 20(1): 1-15.

8. Poyarkov NA., Nguyen TV., Arkhipov DV. (2021). A new species of the genus *Tylototriton* (Amphibia, Caudata, Salamandridae) from Central Vietnam *Taprobanica*, 10(1): 4-22.

9. Bonkowski M., Ziegler T. (2017). Comparative morphometrics and ecology of a newly discovered population of *Tylototriton vietnamensis* from

northeastern Vietnam including remarks on species conservation *Salamandra*, 53(3), 451-457.

10. Wang B., Nishikawa K., Matsui M., Nguyen TQ., Xie F., Li C., Jiang J. (2018). Phylogenetic surveys on the newt genus *Tylototriton* sensu lato (Salamandridae, Caudata) reveal cryptic diversity and novel diversification promoted by historical climatic shifts *PeerJ*, 6(e4384).

PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS AND TAXONOMIC REVIEW OF THE GENUS *Tylototriton* (AMPHIBIA: CAUDATA) FROM VIETNAM

Nguyen Van Thinh¹, Ninh Thi Hoa^{2*}, Nguyen Thi Ngan^{2,3},
Nguyen Thien Tao², Do Huu Dung², Pham The Cuong⁴, Pham Van Anh³,
Ngo Ngoc Hai², Nguyen Quang Truong^{1,4}, Hoang Van Chung⁵

¹Graduate University of Sciences and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology

²Institute of Genome Research, Vietnam Academy of Science and Technology

³VNU - University of Science

⁴Institute of Ecology and Biological Resources, Vietnam Academy of Science and Technology

⁵Forest Inventory and Planning Institute

SUMMARY

In Vietnam, the salamandrid (Asian newt) genus *Tylototriton* has six species, namely *T. anguliceps* - Angular-headed Newt; *T. pasmansi* - Pasmans' Crocodile Newt; *T. sparreboomi* - Sparreboom's Crocodile Newt; *T. thaiorum* - Thai Crocodile Newt; *T. vietnamensis* - Vietnamese Knobby Newt and *T. ziegleri* - Ziegler's Knobby Newt. The results of molecular analyses based on the ND2 fragment showed that the genetic distance between the populations of *T. anguliceps*, *T. pasmansi*, *T. sparreboomi*, *T. vietnamensis*, *T. ziegleri* species was less than 1.80%, 0.50%, 0.02%, 0.50%, 2.70%, respectively. There was no genetic distance within *T. thaiorum*. The genetic variation among species ranged from 3.86 to 12.06%. Species in the genus *Tylototriton* in Vietnam are divided into two groups - group I containing five species, viz *T. ziegleri*, *T. pasmansi*, *T. sparreboomi*, *T. thaiorum*, *T. vietnamensis*, and group II with only *T. anguliceps*. Morphologically, the snout to vent length (SVL) of species of the genus *Tylototriton* ranges from 56 - 75 cm and is generally characterized by brown or dark brown dorsal with ventral granules. The distribution of the species in Vietnam has been reported from Ha Giang to Nghe An province.

Keywords: ND2, Newt, phylogenetic relationships, *Tylototriton*.

Ngày nhận bài : 10/7/2022

Ngày phản biện : 13/8/2022

Ngày quyết định đăng : 24/8/2022