

QUAN HỆ DI TRUYỀN VÀ ĐỊNH LOẠI CÁC LOÀI THUỘC HỌ CÁ CỐC SALAMANDRIDAE (AMPHIBIA: CAUDATA) Ở VIỆT NAM

Nguyễn Quảng Trường¹, Nguyễn Văn Sáng¹, Hồ Thị Loan¹, Lê Khắc Quyết², Nguyễn Thiên Tạo³

¹ Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

² Tổ chức Bảo tồn Động Thực vật hoang dã Quốc tế

³ Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam

TÓM TẮT

Hiện tại ghi nhận có 5 loài thuộc họ cá cóc Salamandridae ở Việt Nam bao gồm: Cá cóc bụng hoa *Paramesotriton deloustali* phân bố ở Lào Cai, Hà Giang, Tuyên Quang, Bắc Kạn, Quảng Ninh và Vĩnh Phúc; Cá cóc quang tây *P. guanxiensis* phân bố ở Cao Bằng; Cá cóc sần *Tylostotriton asperrimus* phân bố ở Hà Giang và Lào Cai; Cá cóc sần bướu đỏ *T. verrucosus* phân bố ở Lai Châu và cá cóc việt nam *T. vietnamensis* phân bố ở Bắc Giang, Phú Thọ và Lạng Sơn. Việc so sánh cấu trúc DNA đã được tiến hành trên các loài thuộc giống *Paramesotriton*. Do vậy, nghiên cứu này chúng tôi thực hiện việc so sánh cấu trúc DNA trên 5 mẫu của hai loài thuộc giống *Tylostotriton* ở Việt Nam. Kết quả so sánh trình tự của đoạn DNA với chiều dài 450 cặp nucleotide cho thấy: mẫu cá cóc sần *T. asperrimus* thu được ở Hà Giang và Lào Cai có tỷ lệ tương đồng là 100%; đối với loài *T. vietnamensis*: tỷ lệ tương đồng cũng là 100% giữa các mẫu thu được ở Bắc Giang và Phú Thọ; 99,8% giữa các mẫu thu được ở Bắc Giang và Lạng Sơn. Khoảng cách di truyền giữa 2 loài *T. asperrimus* và *T. vietnamensis* là 8 - 8,3%. Bên cạnh thảo luận về phân loại học của 5 loài cá cóc hiện biết ở Việt Nam, chúng tôi cũng so sánh về mặt hình thái giữa loài cá cóc việt nam *T. vietnamensis* và cá cóc hải nam *T. hainanensis*. Giữa hai loài trên có những đặc điểm khác biệt sau: chi trước của *T. vietnamensis* chạm hoặc vượt lỗ mũi khi gấp dọc theo đầu; dài thân của cá thể đực loài *T. vietnamensis* ngắn hơn dài đuôi (dài thân của cả cá thể đực và cái đều lớn hơn so với dài đuôi ở loài *T. hainanensis*).

Từ khóa: Cá cóc, phân loại, quan hệ di truyền, Salamandridae: *Paramesotriton*, *Tylostotriton*, Việt Nam

GIỚI THIỆU

Họ cá cóc Salamandridae hiện biết có 77 loài thuộc 20 giống, phân bố ở nhiều khu vực thuộc châu Á, châu Âu, châu Phi, Bắc và Trung Mỹ, trong đó có 5 loài thuộc 2 giống ghi nhận ở Việt Nam. Tuy nhiên, thành phần cũng như vị trí phân loại của các loài cá cóc hiện vẫn chưa thực sự rõ ràng và là vấn đề quan tâm của nhiều nhà nghiên cứu.

Trong các chuyến khảo sát gần đây, chúng tôi đã thu thập được mẫu cá cóc thuộc giống *Paramesotriton* ở Lào Cai, Hà Giang, Bắc Kạn, Quảng Ninh; mẫu cá cóc thuộc giống *Tylostotriton* ở Lào Cai, Hà Giang, Phú Thọ và phát hiện lại mẫu cá cóc ở núi Mẫu Sơn, tỉnh Lạng Sơn sau hơn nửa thế kỷ. Nghiên cứu này nhằm hệ thống và thảo luận về phân loại học và quan hệ di truyền của các loài cá cóc họ Salamandridae ở Việt Nam, đồng thời bổ sung các ghi nhận mới về vùng phân bố cũng như thông tin về sinh cảnh sống và sinh sản của chúng.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Khảo sát thực địa được tiến hành từ năm 2000 đến năm 2008 ở các địa điểm sau: Lai Châu: Phong Thổ, Tam Đường (năm 2006); Lào Cai: Văn Bàn (năm 2002 và 2004); Hà Giang: Xín Mần, Vị Xuyên, Quản Bạ (năm 2000, 2005, 2007 và 2008); Tuyên Quang: Sơn Dương (năm 2000 và 2004); Bắc Kạn: Ba Bể, Chợ Đồn (năm 2001, 2002, 2003 và 2004); Lạng Sơn: Cao Lộc, Lộc Bình (năm 2006, 2007, 2008); Quảng Ninh: Hoàn Bồ (năm 2006); Phú Thọ: Thanh Sơn (năm 2003 và 2007); Bắc Giang: Lục Nam, Sơn Động (năm 2000, 2001, 2002, 2003 và 2008); Vĩnh Phúc: Tam Đảo (năm 2000, và 2004). Hơn 80 mẫu vật cá cóc đã được thu thập trong các chuyến khảo sát trên.

Phân tích quan hệ di truyền. Việc so sánh về cấu trúc DNA đã được một số tác giả như Lu và đồng tác giả (2004), Weisrock và đồng tác giả (2006) thực hiện trên hai loài *Paramesotriton deloustali* và *Paramesotriton guanxiensis*. Nghiên cứu này chỉ tập trung trên các quần thể thuộc nhóm cá cóc sần

Tylototriton ở Việt Nam. Một đoạn DNA có tỷ lệ biến đổi cao thuộc gen cytochrome *b* (Cyt *b*) của hệ gen ty thể, thích hợp cho nghiên cứu biến đổi di truyền các quần thể có quan hệ gần gũi đã được chọn để phân tích.

Tách chiết DNA

DNA được tách chiết từ mẫu cơ bằng phương pháp phenol-chloroform theo quy trình được miêu tả bởi Sambrook và đồng tác giả (1989). Thành phần đệm chiết có thay đổi cho thích hợp với các thành phần như sau: 10 mM Tris HCl, pH = 8,0; 10 mM NaCl; 25 mM EDTA; proteinase K 5 mg/ml; SDS 1%. 200 mg mẫu được nghiền mịn trong nitrogen lỏng, bổ sung 600 μ l đệm chiết, lắc đều và ủ ở 37°C qua đêm. Dung dịch NaCl 5 M được sử dụng để đạt nồng độ NaCl trong dịch chiết là 1 M, sau đó được chiết 3 lần bằng dung dịch phenol: chloroform (24:1). DNA được kết tủa bằng ethanol tuyệt đối để lạnh và được rửa bằng dung dịch cồn 70%.

Nhân bản DNA và đọc trình tự

Phản ứng nhân bản DNA được thực hiện trong thể tích 20 μ l bao gồm: 100 ng DNA tổng số, 20 pmol mỗi loại mỗi, 1,0 μ l dNTP (10 mM; MBI), 2,0 μ l MgCl₂ (25 mM; MBI), 2,5 units *Taq* DNA polymerase (MBI) và 2,0 μ l 10X buffer [(NH₄)₂SO₄; MBI]. Phản ứng được biến tính ban đầu ở 95°C - 4 phút và sau đó là 35 chu kỳ: 95°C - 40 giây; gắn mỗi 62°C - 45 giây, và kéo dài ở 72°C - 1 phút. Kết thúc hoàn toàn phản ứng ở 72°C cho 10 phút, mẫu được giữ ở 4°C. Sản phẩm PCR được đọc trình tự trực tiếp trên máy đọc trình tự tự động ABI3100 (PE Applied Biosystems, Mỹ) sử dụng bộ hoá chất BigDye Terminator Kit (Perkin-Elmer).

Tất cả các dữ liệu trình tự thu được, được kiểm tra lại cho đúng với các pick của nó và sắp xếp so sánh nhờ chương trình MEGALIGN. Cây phát sinh chủng loại được xây dựng bằng phương pháp Maximum parsimony (MP) và Neighbour joining (NJ) dựa trên dữ liệu đoạn trình tự giải mã thuộc gen Cytochrome *b*.

Phân tích đặc điểm hình thái

Các số đo được đo bằng thước kẹp với đơn vị đo nhỏ nhất là 0,1 mm. Ngoài giá trị nhỏ nhất (min) và giá trị lớn nhất (max), giá trị trung bình và độ lệch chuẩn (TB \pm SE, với số cá thể tối thiểu $n \geq 2$) cũng được thống kê trong bảng chỉ tiêu hình thái. Các chỉ tiêu hình thái sau được sử dụng: SVL: dài thân (đo từ

mút mõm đến rìa trước của lỗ huyệt); TaL: dài đuôi (đo từ rìa trước của lỗ huyệt đến mút đuôi); AG: khoảng cách giữa nách và háng (đo từ rìa sau của chi trước đến rìa trước của chi sau); HL: dài đầu (đo từ mút mõm đến rìa trước của gờ sống lưng); HW: rộng đầu (đo phía sau hàm); NFIL: khoảng cách từ lỗ mũi đến rìa trước của chi trước; FIL: chiều dài chi trước; HIL: chiều dài chi sau; IOD: khoảng cách giữa hai ổ mắt (đo ở giữa góc trước hai ổ mắt); IND: khoảng cách giữa hai lỗ mũi; ED: đường kính mắt (đo ngang từ góc trước đến góc sau của ổ mắt); END: khoảng cách từ rìa trước ổ mắt đến lỗ mũi; PGW: chiều rộng tuyến mang tai (đo ngay sau ổ mắt); PGL: chiều dài tuyến mang tai (đo từ sau ổ mắt đến mút sau tuyến mang tai); VRW: chiều rộng gờ giữa lưng (đo ở vị trí tương ứng với cục bướu sườn số 5 bên trái đối với loài có bướu hoặc ở vị trí giữa chi trước và chi sau đối với loài chỉ có nốt sần chạy dọc hai bên sườn); WSL: chiều dài của cục bướu sườn số 5; TBH: chiều cao gốc đuôi (đo ngay mép sau lỗ huyệt), TBW: độ dày gốc đuôi (đo ngay mép sau lỗ huyệt), Bdw: số bướu sườn trên thân (bên trái), Taw: số bướu sườn ở gốc đuôi (bên trái).

Tên viết tắt của các bảo tàng lưu giữ mẫu vật: AMNH: Bảo tàng Lịch sử Tự nhiên Hoa Kỳ, New York, Hoa Kỳ; BM: Bảo tàng Anh, London, Anh; HNU: Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội; FU: Đại học Fudan, Thượng Hải, Trung Quốc; IEBR: Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Hà Nội; MNHN: Bảo tàng Lịch sử tự nhiên Quốc gia, Paris, Pháp; ZFMK: Bảo tàng Động vật Koenig, Bonn, Đức; ZMB: Viện Động vật học, Đại học Humboldt, Berlin, Đức.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Quan hệ di truyền của các loài thuộc giống *Tylototriton*

Kết quả đối chiếu trình tự nucleotide của các mẫu thuộc giống *Tylototriton* ở Việt Nam chia thành hai nhóm: nhóm 1 (gồm mẫu cá cóc sần thuộc giống *Tylototriton* thu ở Hà Giang và Lào Cai), giữa chúng không có sự sai khác nào về trình tự nucleotide và khoảng cách di truyền giữa quần thể này là 0%, theo định loại các mẫu này là loài *T. asperrimus*; nhóm 2 (gồm mẫu cá cóc sần thuộc giống *Tylototriton* thu tại Bắc Giang, Lạng Sơn và Phú Thọ), không có sự sai khác nào về trình tự nucleotide giữa mẫu thu ở Lạng Sơn và ở Phú Thọ, chỉ sai khác 1 nucleotide giữa mẫu thu ở Bắc Giang và ở Lạng Sơn, nên khoảng cách di truyền giữa các quần thể này là rất nhỏ (trong

khoảng 0 - 0,2%) và đây chỉ là sự sai khác giữa các quần thể của cùng một loài, theo định loại các mẫu này là loài *T. vietnamensis* (Bảng 1). Khoảng cách di truyền giữa hai loài *T. asperrimus* và *T. vietnamensis* nằm trong khoảng 8 - 8,3%.

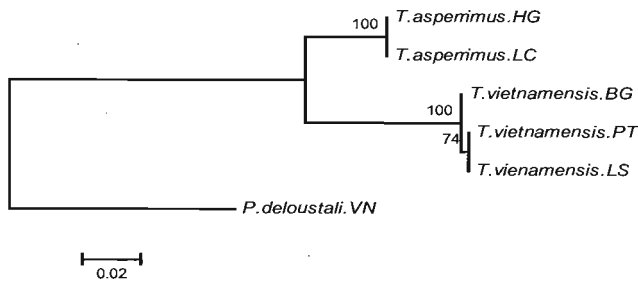
Cả hai cây phát sinh chủng loại NJ và MP đều cho thấy các loài trong giống này chia thành 2 nhánh

một nhánh gồm các mẫu Cá cóc sần *T. asperrimus* thu ở Lào Cai và Hà Giang; một nhánh gồm các mẫu Cá cóc việt nam *T. vietnamensis* thu ở Lạng Sơn, Bắc Giang và Phú Thọ. Mẫu Cá cóc bụng hoa *Paramesotriton deloustali* được sử dụng làm nhánh phát sinh ngoài, thể hiện ở nhánh tiến hóa khác biệt hẳn với nhóm *Tylototriton*.

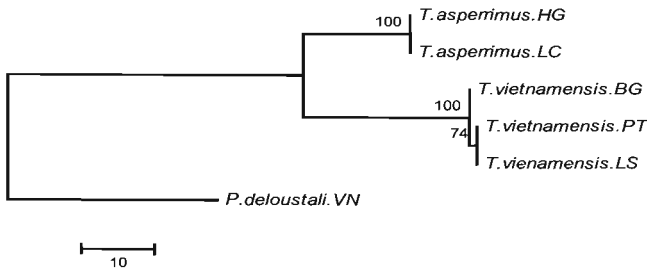
Bảng 1. Khoảng cách di truyền của các mẫu cá cóc giống *Tylototriton* ở Việt Nam.

		1	2	3	4	5
1	<i>T. vietnamensis</i> (LS)	–				
2	<i>T. vietnamensis</i> (PT)	0.000	–			
3	<i>T. vietnamensis</i> (BG)	0.002	0.002	–		
4	<i>T. asperrimus</i> (HG)	0.083	0.083	0.080	–	
5	<i>T. asperrimus</i> (LC)	0.083	0.083	0.080	0.000	–

Ghi chú: LS = Lạng Sơn, PT = Phú Thọ, BG = Bắc Giang, HG = Hà Giang, LC = Lào Cai, VN = Việt Nam.



Hình 1. Cây phát sinh chủng loại NJ (Số ở gốc nhánh là giá trị bootstrap).



Hình 2. Cây phát sinh chủng loại MP (Số ở gốc nhánh là giá trị bootstrap).

Định loại các loài thuộc họ cá cóc Salamandridae

Giống cá cóc *Paramesotriton* Chang, 1935

Bourret (1934) mô tả giống mới *Mesotriton* và loài chuẩn chính là cá cóc bụng hoa *Mesotriton*

deloustali với mẫu vật thu tại Tam Đảo, miền Bắc Việt Nam. Nhưng tên *Mesotriton* đã được Bolkay (1927) sử dụng trước đó, do vậy, tên giống *Mesotriton* của Bourret không có hiệu lực. Chang (1935) đã đề nghị dùng tên mới cho giống cá cóc mà Bourret đã mô tả là *Paramesotriton*.

Cá cóc bụng hoa *Paramesotriton deloustali* (Bourret, 1934)

Mẫu chuẩn: Syntype: MNHN 1935.119, thu tại Tam Đảo, miền Bắc Việt Nam.

Mẫu vật phân tích: 10 mẫu gồm IEBR 799, 827 thu ở Văn Bàn, Lào Cai; IEBR 1567 - 1568 thu ở Tam Đảo, Vĩnh Phúc; IEBR 3147 - 3148 thu ở Hoàng Bồ, Quảng Ninh; ZFMK 86346, 87496 thu ở Ba Bể, Bắc Kạn và ZFMK 85174 - 85175 thu ở Xín Mần, Hà Giang.

Đặc điểm nhận dạng: Dài thân xấp xỉ dài đuôi, cá thể đực: SVL 66 - 98 mm, TaL 64 - 99 mm; cá thể cái: SVL 74 - 98 mm, TaL 71 - 103 mm. Đầu dài hơn rộng, chiều dài từ mắt đến lỗ mũi lớn hơn đường kính ở mắt. Mồm gần tròn, hơi vát khi nhìn từ trên xuống. Chi trước vượt qua ổ mắt hoặc chạm lỗ mũi khi kéo gập dọc theo đầu về phía trước cơ thể. Da trên lưng và hai bên sườn có nốt sần rất nhỏ, đôi khi có các nếp nhăn chạy ngang. Gờ giữa sống lưng nổi rõ, chạy từ phía sau đầu đến gốc đuôi. Các bướu dọc hai bên sườn không phát triển, chỉ là những nốt sần có kích cỡ không đồng đều xếp thành hàng chạy dọc từ phía sau chi trước đến hết gốc đuôi. Đuôi dẹp theo chiều thẳng đứng. Bụng có các đốm màu vàng hoặc màu cam rất lớn xen kẽ với các vệt màu đen tạo thành hình mạng lưới. Con cái thường có kích thước lớn hơn con đực, vào mùa sinh sản, phần giữa đuôi con đực thường có màu xanh nõn chuối, con cái có màu đỏ hồng.

Phân bố: Hiện tại, đây là loài đặc hữu của Việt Nam, phân bố ở Lào Cai (Văn Bàn), Hà Giang (Xín Mần), Tuyên Quang (Sơn Dương), Vĩnh Phúc (Tam Đảo), Bắc Kạn (Ba Bể, Chợ Đồn), Quảng Ninh (Hoành Bồ).

Cá cóc Quảng Tây *Paramesotriton guanxiensis* (Huang, Tang & Tang, 1983)

Mẫu chuẩn: Holotype: FU 81501 thu tại Paiyang, Ningming, Quảng Tây, Trung Quốc.

Mẫu vật phân tích: Chưa thu được mẫu của loài này.

Đặc điểm nhận dạng: Cơ thể dẹp, SVL 120 - 140 mm. Đuôi dẹp, ngắn hơn thân. Đầu hình tam giác, dài hơn rộng. Dài mũi lớn hơn đường kính mắt. Chân trước ngắn, chạm chân sau khi gập theo chiều dọc cơ thể. Da thô ráp với những hạt nhỏ, có nhiều nếp nhăn ngang thân. Gờ da giữa sống lưng nhô cao, kéo dài đến gốc đuôi. Lưng màu nâu sẫm, phía dưới

bụng màu đen với những đốm lớn, không đều nhau màu vàng hoặc màu cam. Riềm da phía dưới đuôi màu cam, nhạt dần về phía mút đuôi. Con cái có màu nhạt hơn. Trong mùa sinh sản, lỗ huyết của con đực phồng to hơn.

Phân bố: Ở Việt Nam: Cao Bằng (Nguyễn Bình).

Thế giới: Quảng Tây (Trung Quốc).

Giống cá cóc sần *Tylostotriton Anderson, 1871*

Nussbaum & Brodie (1982) mô tả giống mới *Echinotriton*. Sau đó Zhao & Adler (1993), đã sử dụng tên *Echinotriton* cho loài *Tylostotriton asperrimus* với 2 phân loài là *E. asperrimus asperrimus* và *E. asperrimus wexianensis*. Một số tài liệu sau đó cũng đã sử dụng tên giống này nhưng Nussbaum và đồng tác giả (1995) đã đề nghị giữ nguyên tên giống *Tylostotriton* cho loài *T. asperrimus*, giống *Echinotriton* hiện chỉ gồm loài chuẩn *E. andersoni* và loài *E. chinhaiensis*.

Cá cóc sần *Tylostotriton asperrimus Unterstein, 1930*

Mẫu chuẩn: Syntypes: ZMB (2 mẫu, ZMB 34089 được coi là holotype của loài) thu tại Yao Shan (Dayao Shan), Quảng Tây, Trung Quốc.

Mẫu vật phân tích: 9 mẫu con đực HNU HG081 - HG082, HG084 - HG0810; 1 mẫu con cái HNU HG083 thu thập tại Quán Bạ, Hà Giang. Ngoài ra, sử dụng mẫu DNA của mẫu vật AMNH FS 15547 thu tại Vị Xuyên, Hà Giang và AMNH FS 16496 thu ở Văn Bàn, Lào Cai.

Đặc điểm nhận dạng: Thân thường ngắn hơn đuôi, cá thể đực: SVL 60 - 69 mm, TaL 61 - 75 mm; cá thể cái: SVL 78 mm, TaL 73 mm. Đầu rộng hơn dài, nhìn từ trên xuống, đầu hơi vát. Mồm ngắn, hơi xiên khi nhìn từ mặt trên, dạng tròn và hơi nhô ra ở hàm dưới. Lỗ mũi ở gần mút mồm. Môi trên dày, ria mép có thể trùm kín môi dưới ở phần phía dưới mắt. Tuyến mang tai gồ cao, phình rộng, hơi xiên về phía sau. Răng lá mía xếp thành hai hàng, tách biệt nhau. Lưỡi không có ria tự do. Gờ giữa sống lưng gồ cao, chạy từ phía sau đầu cho đến gốc đuôi. Có hai hàng gồm 15 - 17 u lồi khá lớn, tách biệt nhau (11 - 12 ở dọc thân, 3 - 5 ở gốc đuôi), chạy dọc hai bên sườn từ phía sau chi trước đến gốc đuôi. Da lưng, sườn và vùng dưới cằm có những nốt sần nhỏ, bụng có những nếp nhăn chạy ngang rất rõ. Chi trước thường không

chạm đến lỗ mũi khi gấp về phía trước dọc theo đầu. Ngón tay không có màng bơi, chân chỉ có màng bơi ở phần sát gốc bàn chân. Đuôi dẹp theo chiều thẳng đứng, mút đuôi nhọn. Mặt lưng và bụng có màu nâu sẫm gần như đen. Đầu ngón chân và tay màu cam. Đuôi màu nâu sẫm, riềm dưới đuôi màu cam, viền xung quanh lỗ hậu môn màu đen.

Phân bố: Ở Việt Nam: Lào Cai (Văn Bàn) và Hà Giang (Vị Xuyên, Quản Bạ).

Thế giới: Quảng Đông, Quảng Tây, Cam Túc, Tứ Xuyên, Hồ Bắc.

Cá cóc sần bướu đỏ *Tylotriton verrucosus* Anderson, 1871

Mẫu chuẩn: Syntypes: BM 1874.6.1.34 và ZSI 10366, 10368, 10370 - 10372, 10374 - 10375, 10377 - 10378, 10380 - 10381 thu tại Nantın, Momien (Tengchong) và Hotha (Husa, Longchuan), Vân Nam, Trung Quốc.

Mẫu vật phân tích: Chưa thu được mẫu của loài này.

Đặc điểm nhận dạng: Thân thường dài hơn đuôi, SVL 72 - 91 mm, TaL 70 - 79 mm. Đầu dài hơn rộng, gờ bên đầu gần tạo thành góc hình tam giác, gờ ở giữa chạy từ trước ra sau nhưng không tiếp xúc với gờ giữa sống lưng. Mồm tròn, lỗ mũi nằm gần mút mồm. Răng lá mía nhỏ, xếp thành hai hàng, tiếp xúc nhau ở phía trước nhưng tách biệt nhau ở phía sau, lưỡi trung bình, hơi có ria tự do. Gờ da giữa sống lưng chạy từ phía sau đầu đến gốc đuôi. Có 15 bướu tròn, nổi rõ, chạy dọc hai bên sườn đến gốc đuôi, trong đó 3 bướu nằm phía sau chi sau. Da trên lưng và gốc đuôi có nhiều nốt sần nhỏ, kích cỡ khác nhau; vùng cằm và họng có nhiều nốt sần nhỏ; bụng có nhiều nếp nhăn chạy ngang. Đuôi dẹp theo chiều thẳng đứng. Ria trong của lỗ huyệt có nhiều nếp gấp. Khi gấp dọc theo cơ thể về phía trước, chi trước kéo dài đến lỗ mũi, chi sau kéo dài đến điểm giữa của nách và háng, hai chi vượt qua nhau nếu gấp ngược chiều dọc theo cơ thể. Gờ trên đầu màu nâu sẫm hoặc màu cam, cơ thể màu nâu sẫm, môi nhạt màu hơn, mồm, cằm, họng và phía dưới chi màu nâu nhạt. Dưới đuôi màu vàng cam, hai bên nhạt hơn.

Phân bố: Ở Việt Nam: Lai Châu.

Thế giới: Ấn Độ, Butan, Nepal, Trung Quốc, Mianma và miền Bắc Thái Lan.

Cá cóc việt nam *Tylotriton vietnamensis* Boehme, Schoettler, Nguyen & Koehler, 2005

Mẫu chuẩn: Holotype: ZFMK 80637 thu tại Đồng Vành, xã Lục Sơn, huyện Lục Nam, tỉnh Bắc Giang, miền Bắc Việt Nam.

Mẫu vật phân tích: 12 mẫu con đực IEBR 507, 510, 559 - 561, 573 - 575, 1280 thu ở Lục Nam, Bắc Giang và IEBR A.0701 - A.0702 thu ở Mẫu Sơn, Lạng Sơn

Đặc điểm nhận dạng: Thân thường ngắn hơn đuôi, SVL 53 - 62 mm, TaL 52 - 65 mm. Đầu rộng hơn dài, nhìn từ trên xuống đầu hơi vát. Mồm ngắn, hơi xiên khi nhìn từ mặt trên, phía trước mồm gần tròn. Lỗ mũi ở gần mút mồm. Môi trên dày, ria mép trên có thể trùm kín môi dưới. Tuyến mang tai phình rộng, hơi xiên về phía sau. Răng lá mía xếp thành hai hàng, bắt đầu từ phía sau của răng hàm trên sau cùng cho đến giữa lỗ khẩu cái, tách biệt nhau. Lưỡi kém phát triển, không có ria tự do. Gờ giữa sống lưng nổi rõ, chạy từ phía sau đầu đến hết phần gốc đuôi. Có hai hàng gờ 13 - 15 u lỗ nhỏ, tách biệt nhau (10 - 11 ở dọc thân, 3 - 5 ở gốc đuôi), chạy dọc hai bên sườn từ phía sau chi trước đến gốc đuôi. Phần da lưng có những nốt sần rất nhỏ, hai bên sườn có nếp nhăn, phía dưới bụng nhẵn. Chi trước chạm hoặc vượt lỗ mũi khi gấp về phía trước dọc theo đầu. Ngón tay không có màng bơi, chân có màng bơi ở phần sát gốc bàn chân. Đuôi dẹp theo chiều thẳng đứng, mút đuôi nhọn. Mặt lưng và bụng có màu nâu nhạt. Đầu ngón chân và tay màu cam. Đỉnh các nốt sần cũng có màu vàng nhạt vào mùa sinh sản. Đuôi màu nâu nhạt, cả riềm trên và riềm dưới đuôi đều màu cam, viền xung quanh lỗ hậu môn màu cam.

Phân bố: Loài này hiện mới chỉ ghi nhận ở miền Bắc Việt Nam: Cao Bằng (Nguyễn Bình), Lạng Sơn (Lộc Bình), Quảng Ninh (Uông Bí), Bắc Giang (Lục Nam, Sơn Động) và Phú Thọ (Thanh Sơn).

Bảng 2. Số đo và đặc điểm hình thái của *Paramesotriton deloustali*, *Tylostotriton asperrimus* và *T. vietnamensis*.

	<i>P. deloustali</i>		<i>T. asperrimus</i>		<i>T. vietnamensis</i>
	Đực (n = 4)	Cái (n = 6)	Đực (n = 9)	Cái (n = 1)	Đực (n = 12)
Giới tính	Min - max TB ± SE	Min - max TB ± SE	Min - max TB ± SE		Min - max TB ± SE
SVL	66,2 - 98,1 78,5 ± 13,82	73,9 - 97,5 87,08 ± 9,96	59,8 - 68,6 65,14 ± 3,09	77,5	53,2 - 61,5 57,25 ± 2,88
TaL	64,2 - 99,2 79,45 ± 14,57	70,5 - 102,8 85,92 ± 14,09	60,5 - 74,9 69,41 ± 5,33	72,7	52,7 - 64,5 59,55 ± 4,09
AG	31,1 - 50,2 37,23 ± 8,75	37,9 - 50,8 46,05 ± 5,81	29,4 - 34,1 32,29 ± 1,43	42,8	28,1 - 33,7 30,26 ± 2,02
HL	16,7 - 24,4 19,9 ± 3,28	17,5 - 24,9 21,15 ± 2,75	13,4 - 15,5 14,79 ± 0,61	16,8	13,2 - 14,9 13,99 ± 0,61
HW	14,9 - 24,3 19,05 ± 3,89	15,8 - 23 20,38 ± 2,82	14,9 - 16,9 16,23 ± 0,63	17,4	14,3 - 16,9 15,68 ± 0,75
NFID	24,3 - 34,2 28,7 ± 4,42	26,2 - 32,6 29,17 ± 2,53	21,1 - 24 22,67 ± 1,02	25,8	16,1 - 21,3 18,54 ± 1,66
FIL	22,9 - 29,4 25,75 ± 2,83	24,7 - 28,4 26,48 ± 2,27	21,1 - 23,3 22,11 ± 0,78	27,1	18,5 - 21,6 19,76 ± 1,04
HIL	21,5 - 32,6	25,2 - 31,3	20,2 - 24,4	27,8	18,5 - 22,7
IOD	9,7 - 13,1	11,2 - 14,3	8,9 - 10,2	10,5	8,4 - 9,9
IND	4,9 - 5,4	5,4 - 7,2	5,1 - 6,8	6,5	5,2 - 7
END	5,8 - 7,5 6,58 ± 0,85	6,1 - 7,9 6,98 ± 0,74	3,9 - 5,2 4,54 ± 0,79	4,2	3,3 - 4,5 4,05 ± 0,37
ED	4,6 - 6,4 5,4 ± 0,76	4,4-6,4 5,62 ± 0,72	34,2 - 4,8 4,39 ± 0,2	4	3,6 - 4,2 3,9 ± 0,23
PGW	2,6 - 3,3	2,5 - 4,5	2,6 - 3,5	3,1	1,7 - 2,8
PGL	11,2 - 16,8	11,9 - 17	11,6 - 13,5	12,8	9,7-11,3
VRW	1,2 - 3,2	2 - 3,2	2,9 - 3,7	3,7	2,1 - 2,7
W5L	-	-	2,7 - 3,2	3,3	1,3 - 1,8
TBH	10,6 - 18,6 13,85 ± 3,39	13,6 - 18,3 15,33 ± 2,67	8 - 9 8,53 ± 0,32	7,3	6,5 - 9,1 7,77 ± 0,74
TBW	8,2 - 15,2 10,98 ± 2,99	9,7 - 13,8 11,22 ± 2,26	5,3 - 7 5,84 ± 0,62	6,3	4,7 - 7,6 6,25 ± 0,95
Bdw	-	-	11 - 12	12	10 - 11
Taw	-	-	3 - 5	5	3 - 5

Ghi chú: Thuật ngữ viết tắt trong bảng xem phần nguyên liệu và phương pháp.

KẾT LUẬN

Hiện nay, các loài cá cóc phân bố ở Việt Nam bao gồm:

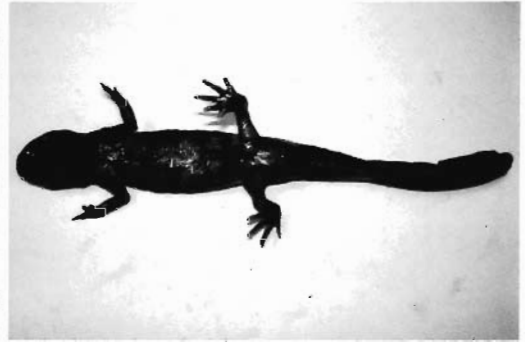
Cá cóc bụng hoa *Paramesotriton deloustali* phân bố ở Lào Cai, Hà Giang, Tuyên Quang, Bắc Kạn, Quảng Ninh và Vĩnh Phúc. Quần thể cá cóc quảng tây *P. guanxiensis* ghi nhận ở Cao Bằng mặc dù có quan hệ di truyền gần gũi và đặc điểm hình

thái rất giống với *P. deloustali*, nhưng chúng tôi tạm thời chấp nhận đây là hai loài riêng biệt cho đến khi có các nghiên cứu kỹ hơn cả về sinh học phân tử và đặc điểm hình thái.

Các loài cá cóc sần bao gồm: Cá cóc sần *Tylostotriton asperrimus* phân bố ở Lào Cai và Hà Giang; Cá cóc sần bướu đỏ *T. verrucosus* phân bố ở Lai Châu; Cá cóc việt nam *T. vietnamensis* phân bố ở Lạng Sơn, Quảng Ninh, Bắc Giang và Phú Thọ.

So sánh trình tự DNA của mẫu cá cóc *T. asperrimus* thu được ở Hà Giang và Lào Cai cho thấy chúng có tỷ lệ tương đồng là 100%, tỷ lệ này cũng là 100% giữa các mẫu *T. vietnamensis* thu được ở Bắc Giang và Phú Thọ, 99,8% giữa các mẫu thu được ở Bắc Giang và Lạng Sơn. Khoảng cách di truyền giữa 2 loài trên là 8 - 8,3%. Chúng

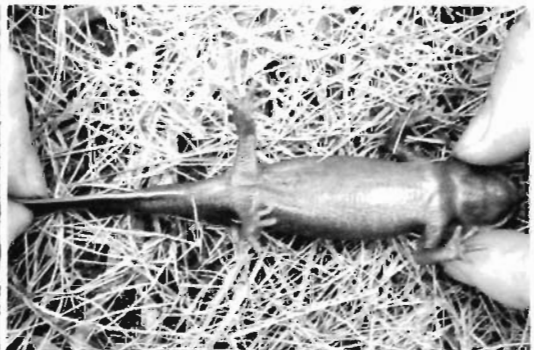
tôi cũng sử dụng tên khoa học của loài cá cóc sần bướt đỏ là *T. verrucosus* theo các tài liệu trước đây cho đến khi phát hiện lại được mẫu của loài này ở Việt Nam cũng như có kết luận rõ ràng hơn về tính hiệu lực của loài *T. shanjing* phân bố ở Vân Nam (Trung Quốc), vùng giáp ranh với khu vực Tây Bắc Việt Nam.



Hình 3. Cá cóc bụng hoa *Paramesotriton deloustali*.



Hình 4. Cá cóc sần *Tylotriton asperrimus*.



Hình 5. Cá cóc việt nam *Tylotriton vietnamensis*

Lời cảm ơn: Các tác giả xin cảm ơn PGS. Lê Xuân Cảnh, TS. Đặng Tất Thế, CN. Hồ Thu Cúc, TS. Nguyễn Tiến Hiệp, PGS. Nguyễn Xuân Đặng (Viện Sinh thái và TNSV), PGS. Lưu Đàm Cư và TS. Phạm Văn Lực (Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam), ông Vũ Ngọc Thành (Trường Đại học Khoa học Tự nhiên), GS. Wolfgang Boehme, Timo Hartmann (Bảo tàng Động vật Koenig, Đức), Thomas Schoetler (Đức), PGS. Thomas Ziegler (Cologne, Đức), TS. David Kizirian và Th.S Raoul Bain (Bảo tàng Lịch sử Tự nhiên Hoa Kỳ) đã ủng hộ và giúp đỡ trong quá trình thực hiện nghiên cứu thực địa cũng như phân tích mẫu vật. Xin cảm ơn Cục Kiểm lâm, các Chi cục Kiểm lâm Lai Châu, Lào Cai, Hà Giang, Bắc Giang và Quảng Ninh đã cấp phép khảo sát thực địa. Nghiên cứu thực địa được tài trợ bởi Chương trình nghiên cứu Khoa học cơ bản (Bộ Khoa học và Công nghệ, mã số 613101, 632304, 605006 từ năm 2001-2008), và các chương trình hợp tác giữa Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam với Sở Khoa học và Công nghệ Lạng Sơn, Bảo tàng Lịch sử Tự nhiên Hoa Kỳ, Tổ chức Bảo tồn Động Thực vật hoang dã Quốc tế (FFI) - Chương trình Hỗ trợ Bảo tồn Việt Nam, Chương trình Hỗ trợ dự án nhỏ (NEF) của Quỹ NAGAO, Nhật Bản và Cơ quan Trao đổi Hàn lâm Đức (DAAD).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Anderson J (1871) Description of a new genus of newts from western Yunnan. *Proc Zool Soc London* 1871: 423-425.

Bain RH, Nguyen QT (2004) Herpetofaunal diversity of Ha Giang Province in northeastern Vietnam, with description of two new species. *Amer Mus Novit* 3453: 1-42.

Boehme W, Schoetler T, Nguyen QT, Koehler J (2005) A new species of salamander, genus *Tylostotriton* (Urodela: Salamandridae), from Northern Vietnam. *Salamandra* 41(4): 215-220.

Bourret R (1942) Les Batraciens de l'Indochine. Institut Océanographique de l'Indochine, Hanoi.

Fei L, Ye C, Yang R (1984) A new species and a new subspecies of the genus *Tylostotriton* (Caudata: Salamandridae). *Acta Zool Sinica* 30(1): 85-91.

Frost DR (2008) Amphibian Species of the World: an online reference. Version 5.0 (2008). Electronic Database accessible at <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.php>. American Museum of Natural History, New York, USA.

Kumar S, Tamura K, Nei M (2006) MEGA 3: Integrated software for molecular evolutionary genetic analysis and sequence alignment.

Lư SQ, Yuan ZG, Pang JF, Yang DT, Yu, FH, McGuire P,

Xie F, Zhang YP (2004) Molecular phylogeny of the genus *Paramesotriton* (Caudata: Salamandridae). *Biochem Genet* 42: 139-148.

Nguyễn Văn Sáng, Hồ Thu Cúc (1996) Danh lục bò sát và ếch nhái Việt Nam. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.

Nguyễn Văn Sáng, Hồ Thu Cúc, Nguyễn Quang Trường (2005) Danh lục ếch nhái và bò sát Việt Nam. Nhà xuất bản Nông nghiệp.

Nguyen VS, Ho TC, Nguyen QT (2009) Herpetofauna of Vietnam. Edition Chimaira. Frankfurt am Main.

Nussbaum RA, Brodie JrED (1982) Partitioning of the salamandrid genus *Tylostotriton* Anderson (Amphibia: Caudata) with a description of a new genus. *Herpetologica* (38): 320-332.

Nussbaum RA, Brodie JrED, Datong Y (1995) A taxonomic review of *Tylostotriton verrucosus* Anderson (Amphibia: Caudata: Salamandridae). *Herpetologica* 51(3): 257-268.

Orlov NL, Murphy RW, Ananjeva NB, Ryabov SA, Ho TC (2002) Herpetofauna of Vietnam. A checklist. Part I. Amphibia. *Russ J Herpetol* 9(2): 81-104.

Pang J, Jiang Y, Hu Q (1992) A systematic study on the Chinese newt genus *Paramesotriton* (Caudata: Salamandridae), pp 89-100. In: Jiang Y (ed), *Collected papers on Herpetology*. Sichuan Sci Tech Publ House, Chengdu.

Sambrook J, Fitch E, Maniatis T (1989) Molecular cloning: A laboratory manual. Second edition. USA: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Weisrock DW, Papenfuss TJ, Macey JR, Litvinchuk SN, Polymeni R, Ugurtas IH, Zhao E, Jowkar H, Larson A (2006) A molecular assessment of phylogenetic relationships and lineage accumulation rates within the family Salamandridae (Amphibia, Caudata). *Mol Phylogenet Evol* 41: 368-383.

Zhang MW, Rao DQ, Yu GH, Yang JX (2007) The validity of Red Knobby Newt (*Tylostotriton shanjing*) Species Status Based on Mitochondrial Cyt b Gene. *Zool Res* 28(4): 430-436.

Zhao E, Adler K (1993) Herpetology of China. Society for the Study of Amphibians and Reptiles. Oxford (Ohio).

Ziegler T, Hartmann T, Van der Straeten K, Karbe D, Boehme W (2008) Captive breeding and larval morphology of *Tylostotriton shanjing* Nussbaum, Brodie & Yang, 1995, with an updated key of the genus *Tylostotriton* (Amphibia: Salamandridae). *Zool Garten* 77: 246-260.

PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS AND TAXONOMIC REVIEW OF THE FAMILY SALAMANDRIDAE (AMPHIBIA: CAUDATA) FROM VIETNAM

Nguyen Quang Trung¹, Nguyen Van Sang¹, Ho Thi Loan¹, Le Khắc Quyết², Nguyen Thien Tao^{3,*}

¹*Institute of Ecology and Biological Resources*

²*Fauna and Flora International*

³*Vietnam National Museum of Nature*

SUMMARY

Five species of the family Salamandridae are currently recognized from Vietnam: *Paramesotriton deloustali* from Lao Cai, Ha Giang, Tuyen Quang, Bac Kan, Quang Ninh and Vinh Phuc provinces; *P. guanxiensis* from Cao Bang province; *Tylototriton asperrimus* from Ha Giang and Lao Cai provinces; *T. verrucosus* from Lai Chau province; and *T. vietnamensis* from Bac Giang, Phu Tho, and Lang Son provinces. Specimens of *Tylototriton* species were collected from different localities in Northern Vietnam for phylogenetic analysis. Comparison of 450 base pairs of partial Cytochrome *b* mitochondrial DNA sequences shows 100% identity between *Tylototriton asperrimus* from Ha Giang and Lao Cai provinces. The same comparisons show 100% identity between specimens of *Tylototriton vietnamensis* from Bac Giang and Phu Tho provinces and 99.8% between specimens from Bac Giang and Lang Son provinces. This identity shows little geographic variation of conspecific species. However, the sequences of the *T. asperrimus* and *T. vietnamensis* from above localities showed an uncorrected pairwise sequence divergence of 8 – 8.3%. Diagnostic morphological characters of the five Vietnamese species are presented based on examined specimens or literature. Comparison of morphological characters between *T. vietnamensis* and *T. hainanensis* showed that the first species differs from the latter by having tip of forelimb reaching to nostril (tip of forelimb reaching to eye in *T. hainanensis*), snout-vent length shorter than tail length (snout-vent length longer than tail length in *T. hainanensis*). Furthermore, we provided additional data on the habitat and reproduction of *Paramesotriton deloustali*, *Tylototriton asperrimus*, and *T. vietnamensis*.

Keywords: Salamander, taxonomy, phylogenetic relationship, Salamandridae: *Paramesotriton*, *Tylototriton*, Vietnam.

* Author for correspondence: Tel: 84-4-22165676, E-mail: nguyenthientao@gmail.com