

ĐẠI HỌC QUỐC GIA HÀ NỘI
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC TỰ NHIÊN

Nguyễn Thị Thắm

ỨNG DỤNG CÁC CHỈ THỊ ADN TRONG BẢO TỒN MỘT SỐ
ĐỘNG VẬT HOANG DÃ TẠI VIỆT NAM

LUẬN ÁN TIẾN SĨ KHOA HỌC MÔI TRƯỜNG

Hà Nội - 2024

ĐẠI HỌC QUỐC GIA HÀ NỘI
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC TỰ NHIÊN

Nguyễn Thị Thắm

ỨNG DỤNG CÁC CHỈ THỊ ADN TRONG BẢO TỒN MỘT SỐ
ĐỘNG VẬT HOANG DÃ TẠI VIỆT NAM

Chuyên ngành: Khoa học môi trường Mã số: 9440301.01

LUẬN ÁN TIẾN SĨ KHOA HỌC MÔI TRƯỜNG

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

PGS.TS. Lê Đức Minh

PGS. TS. Nguyễn Thị Hồng Vân

Hà Nội - 2024

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của riêng tôi. Các số liệu, kết quả trong luận án là trung thực và chưa từng được công bố trong bất kỳ công trình nào khác. Các nội dung, số liệu tham khảo đều được trích dẫn nguồn.

Nghiên cứu sinh

Nguyễn Thị Thắm

LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành luận án này, tôi xin được bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến *PGS.TS. Lê Đức Minh* và *PGS.TS. Nguyễn Thị Hồng Vân* vì sự hướng dẫn tận tình và động viên tinh thần của thầy và cô trong quá trình hoàn thành luận án.

Tôi trân trọng cảm ơn sự giúp đỡ và tạo mọi điều kiện của Ban Giám hiệu, Phòng Đào tạo, Ban chủ nhiệm Khoa Môi trường và các thầy cô, cán bộ nhân viên của Bộ môn Sinh thái học, Khoa Môi trường, Bộ môn Di truyền học, Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội.

Tôi chân thành cảm ơn GS. TS. Nguyễn Quảng Trường, TS. Nguyễn Trường Sơn, TS. Phạm Thế Cường thuộc Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật, GS. TS. Thoma Ziegler thuộc Vườn thú Cologne CHLB Đức, Ban quản lý các KBTTN Chạm Chu, Bắc Mê, Nam Xuân Lạc, Tây Yên Tử, Vườn quốc gia Phia Oắc – Phia Đén, Vườn quốc gia Yok Đôn, Trung tâm bảo tồn voi Đắc Lắc đã giúp đỡ tôi trong quá trình điều tra, thu và phân tích các mẫu vật.

Tôi xin gửi lời cảm ơn đến quỹ thiên nhiên môi trường Nagao (NEF), vườn thú Cologne, Quỹ Quốc tế Bảo vệ thiên nhiên (WWF) Việt Nam, Đề tài ĐTĐL. CN-64/19 thuộc Chương trình 562 của Bộ Khoa học và Công nghệ, Quỹ học bổng Toshiba, Quỹ học bổng nghiên cứu sinh Đại học Quốc gia Hà Nội đã giúp đỡ về mặt tài chính cho các chuyến đi thực địa, kinh phí cho phân tích mẫu trong phòng thí nghiệm.

Tôi xin chân thành cảm ơn các nghiên cứu sinh, học viên, sinh viên thuộc Bộ môn Di truyền học, Khoa Sinh học, Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG Hà Nội đã hỗ trợ tôi rất nhiều trong quá trình học tập và thực hiện luận án.

Cuối cùng, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn đến gia đình, ban lãnh đạo và đồng nghiệp tại Viện Tài nguyên và Môi trường, Đại học Quốc gia Hà Nội những người đã luôn bên cạnh ủng hộ, động viên và tiếp sức cho tôi trong quá trình học tập, thực hiện luận án.

Hà Nội, ngày tháng năm 2024

Nghiên cứu sinh

MỤC LỤC

MỞ ĐẦU	9
1. Tính cấp thiết của đề tài	9
2. Mục tiêu nghiên cứu	10
3. Nội dung nghiên cứu	10
4. Những đóng góp mới của luận án	11
5. Ý nghĩa khoa học và khoa học thực tiễn	11
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	13
1.1. Ứng dụng các chỉ thị sinh học phân tử trong nghiên cứu bảo tồn động vật hoang dã trên thế giới.....	13
1.2. Ứng dụng chỉ thị sinh học trong nghiên cứu bảo tồn đa dạng động vật hoang dã ở Việt Nam	21
1.2.1. <i>Ứng dụng chỉ thị sinh học phân tử trong phân loại học</i>	<i>21</i>
1.2.2. <i>Các nghiên cứu ứng dụng xác định con lai, hiện trạng quần thể, bệnh động vật hoang dã</i>	<i>26</i>
1.3. Tổng quan về đối tượng nghiên cứu	31
1.3.1. <i>Các nghiên cứu Khu hệ thú nhỏ tại vùng núi đá vôi Đông Bắc.....</i>	<i>31</i>
1.3.2 <i>Quần thể Thần lằn cá sấu (Shinisaurus crocodilurus)</i>	<i>33</i>
1.3.3 <i>Quần thể Voi châu á tại vườn quốc gia Yok Đôn.....</i>	<i>36</i>
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	40
2.1. Phương pháp nghiên cứu.....	40
2.1.1. <i>Thu thập mẫu vật</i>	<i>40</i>
2.1.2. <i>Phân tích trong phòng thí nghiệm.....</i>	<i>52</i>
2.1.2.1. <i>Phân tích đặc điểm hình thái nhóm thú nhỏ</i>	<i>52</i>
2.1.2.2. <i>Phân tích sinh học phân tử</i>	<i>54</i>
2.2. Phân tích tin sinh.....	60
2.2.1. <i>Xử lý dữ liệu thô.....</i>	<i>60</i>

2.2.2. Phân tích dữ liệu.....	61
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN.....	64
3.1. Ứng dụng chỉ thị SHPT trong nghiên cứu đa dạng loài thú nhỏ ở khu vực núi đá vôi vùng Đông Bắc.....	64
3.1.1. Thành phần các loài thú nhỏ tại khu vực núi đá vôi Đông Bắc.....	64
3.1.2. Các các phát hiện mới.....	80
3.1.3. Các loài có giá trị bảo tồn	80
3.1.4. Ứng dụng chỉ thị SHPT trong xác định các taxon mới	80
3.1.5. Ứng dụng chỉ thị SHPT trong định danh các loài khó phân biệt bằng đặc điểm hình thái	102
3.2. Ứng dụng chỉ thị SHPT trong nghiên cứu di truyền quần thể loài Thần lằn cá sấu	109
3.2.1. Quan hệ di truyền giữa quần thể Thần lằn cá sấu Việt Nam và Trung Quốc.....	109
3.2.2. Đa dạng di truyền quần thể, giao phối cận huyết và đánh giá nút cổ chai của quần thể Thần lằn cá sấu tại Việt Nam.....	111
3.2.3. Xác định nguồn gốc mẫu Thần lằn cá sấu chưa rõ nguồn gốc.....	117
3.3. Ứng dụng chỉ thị sinh học phân tử trong nghiên cứu quần thể Voi châu á tại Vườn quốc gia Yok Đôn	118
3.3.1. Định danh các cá thể voi nhà và voi hoang dã trong khu vực nghiên cứu từ mẫu lông và phân	118
3.3.2. Xác định voi nhà và voi hoang dã từ mẫu phân	122
3.3.3. Đánh giá đa dạng di truyền, giao phối cận huyết trong các quần thể voi tại khu vực VQG Yok Đôn	128
3.4. Kiến nghị cho công tác bảo tồn cho các loài động vật hoang dã.....	130
3.4.1. Bảo tồn khu hệ thú nhỏ tại khu vực núi đá vôi Đông Bắc	130
3.4.2. Bảo tồn quần thể Thần lằn cá sấu tại Việt Nam	133
3.4.3. Kiến nghị bảo quần thể Voi châu á tại Yok Đôn	134
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	136

DANH MỤC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN 138

TÀI LIỆU THAM KHẢO 139

PHỤ LỤC 164

DANH MỤC CÁC KÍ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT

AMOVA	Analysis of Molecular Variance - Phân tích phương sai phân tử
ADN	Acid Deoxyribonucleic
ATP	Asian Turtle Program – Chương trình bảo tồn rùa châu Á
BLAST	Basic local alignment search tool – Công cụ tìm kiếm, đối chiếu trình tự
CITES	Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora - Công ước về buôn bán quốc tế các loài động, thực vật hoang dã nguy cấp, hay còn gọi là Công ước CITES
CL	Condylbasal length – Dài lồi cầu nền
CR	Critically Endangered – Cực kỳ nguy cấp
DDBJ	The DNA Data Bank of Japan – Ngân hàng dữ liệu ADN Nhật Bản
DL	Dental length – Rộng khoảng trống răng
EN	Endangered – Nguy cấp
GMB	Greatest mastoid breadth – Rộng xương chũm lớn nhất
GNB	Greatest neurocranium breadth – Rộng lớn nhất hộp sọ
GPB	Greatest palatal breadth – Rộng vòm miệng lớn nhất
GPF1	Độ rộng lớn nhất của răng cửa thứ nhất hàm trên I1
HAB	Height from Akrokranium to Basion – Dài từ Akrokranium tới Basion
HM	Height of the mandible at M1 – Chiều cao hàm dưới ở răng hàm M1
HR	Height of the vertical ramus to aboral border of the alveolus – Rộng hàm dưới
IUCN	International Union for Conservation of Nature and Natural Resources - Tổ chức Bảo tồn Thiên nhiên Quốc tế
KBTTN	Khu bảo tồn thiên nhiên
LA	Length from the angle – Dài hàm dưới
LAB	Length of auditory bulla – Dài của bulla thính giác
LBO	Least breadth between the orbits – Rộng nhỏ nhất giữa các hốc mắt

LBS	Length from Basion to Staphylion – Dài từ Basion tới Staphylion
LC	Length from the condyle – Dài hàm dưới
LIA	Length from Infradentale to aboral of the alveolus – Dài từ răng dưới đến mặt trong xương ổ răng
LIF	Length of incisive foramen - Dài lỗ xương khẩu cái
LR	Length of rostrum - Dài mõm
MLFI1	Minimum distance of upper first incisor I1 – Rộng tối thiểu của hàm trên răng cửa thứ nhất
mARN	Messenger ribonucleic acid – ARN thông tin
MPL	Median palatal length – Trung bình rộng vòm miệng
NCBI	National Center for Biotechnology Information – Trung tâm Công nghệ Thông tin Quốc gia (Hoa Kỳ)
PL	Profile length – Dài vòm miệng
RFLP	Restriction fragment length polymorphism – Đa hình chiều dài đoạn cắt giới hạn
SHPT	Sinh học phân tử
SL	Short lateral facial length – Dài mặt bên ngắn
SNP	Single nucleotide polymorphisms – Đa hình đơn nucleotide
VQG	Vườn quốc gia
VU	Vulnerable – Nguy cơ trở thành loài bị đe dọa tuyệt chủng
ZW	Zygomatic width – Rộng cung gò má

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 2.1. Hệ thống phân loại chất lượng mẫu phân theo WWF Campuchia.....	50
Bảng 2.2. Trình tự các môi microsatellite sử dụng với Thần lằn cá sấu.....	55
Bảng 2.3. Trình tự các môi microsatellite sử dụng với Voi châu á	56
Bảng 3.1. Hệ số tương đồng (Sorensen-Dice) về thành phần loài giữa các địa điểm nghiên cứu	65
Bảng 3.2. Danh mục các loài thú nhỏ tại bốn khu bảo tồn loài và sinh cảnh tại vùng núi đá vôi Đông Bắc.....	68
Bảng 3.3. So sánh đặc điểm hình thái ngoài và sọ của <i>Tupaia</i> sp. và <i>T. belangeri</i> ..	83
.Bảng 3. 4. Bảng Khoảng cách di truyền trên đoạn COI nhóm <i>Tupaia</i>	87
Bảng 3.5. Khoảng cách di truyền đoạn <i>cyt b</i> nhóm <i>Tupaia</i>	90
Bảng 3.6. So sánh chỉ số hình thái với một số loài trong giống <i>Euroscaptor</i>	96
Bảng 3.7. Khoảng cách di truyền trên gen <i>cyt b</i> các mẫu nghiên cứu và các loài khác trong giống <i>Euroscaptor</i>	99
Bảng 3.8. Kết quả so sánh các mẫu thú nhỏ có hình thái ngoài khó xác định.....	103
Bảng 3.9. Khoảng cách di truyền (p - value) giữa các nhánh trong cây phát sinh với nhóm Thần lằn cá sấu.....	110
Bảng 3.10. Kết quả phân tích hiện tượng thắt cổ chai với các quần thể Thần lằn cá sấu .	114
Bảng 3.11. Đặc điểm và mức độ khác biệt của các cá thể trong mỗi khu vực nghiên cứu .	115
Bảng 3.12. Kết quả BLAST của các trình tự Dloop với các mẫu phân, lông.....	119
Bảng 3.13. Kiểu gen 8 locus microsatellite các mẫu Voi châu á trong nghiên cứu này...	123
Bảng 3.14. Phân tích phương sai phân tử (AMOVA) với dữ liệu quần thể voi tại Yok Đôn.....	130
Bảng 3.15. Kết quả phân tích dữ liệu kiểu gen với quần thể Voi châu á tại Yok Đôn ..	130

DANH MỤC HÌNH ẢNH

Hình 1.1. Một số dạng sinh cảnh tại khu bảo tồn thiên nhiên Chạm Chu, Tuyên Quang	31
Hình 1.2. Một số loài thú nhỏ trong khu vực nghiên cứu	32
Hình 1.3. Khu vực phân bố của Thần lằn cá sấu (<i>Shinisaurus crocodilurus</i>) tại Việt Nam và Trung Quốc	34
Hình 1.4. Thần lằn cá sấu bị buôn bán	35
Hình 2.1. Các điểm khảo sát tại khu vực núi đá vôi Đông Bắc.	41
Hình 2.2. Bẫy chuyên dụng thu chuột chũi	42
Hình 2.3. Đặt lưới mồi trước cửa hang	43
Hình 2.4. Sinh cảnh sống của Thần lằn cá sấu (<i>Shinisaurus crocodilurus</i>).....	44
Hình 2.5. Cá thể Thần lằn cá sấu bám trên cành cây	45
Hình 2.6. Bản đồ xác định ô tiêu chuẩn cho khảo sát thực nghiệm thu mẫu phân Voi châu á tại VQG Yok Đôn	47
Hình 2.7. Bản đồ 23 điểm lấy mẫu phân Voi châu á tại VQG Yok Đôn vào mùa khô năm 2019 – 2020	48
Hình 2.8. Màu sắc, độ khô phân Voi châu á trong điều kiện VQG Yok Đôn thay đổi trong điều kiện trong và ngoài nắng.....	49
Hình 2.9. Các chỉ số đo hình thái so với mẫu Đồi	53
Hình 3.1. So sánh độ đa dạng giữa các khu vực nghiên cứu	64
Hình 3.2. Phân tích tập hợp theo nhóm về sự tương đồng thành phần loài giữa các khu vực nghiên cứu	65
Hình 3.3. So sánh số lượng loài ghi nhận trong luận án với nghiên cứu của Nguyễn Trường Sơn và cộng sự (2011)	67
Hình 3.4. Đặc điểm hình thái ngoài mẫu <i>Tupaia</i> sp. thu tại Cát Bà	81
Hình 3.5. Hình thái hộp sọ và công thức răng mẫu thu tại Cát Bà Việt Nam.....	82
Hình 3.6. Cây quan hệ di truyền Bayes dựa trên gen <i>COI</i> của hệ gen ty thể với nhóm <i>Tupaia</i>	86

Hình 3.7. Cây quan hệ di truyền Bayes dựa trên gen cytochrome <i>b</i> của hệ gen ty thể với nhóm <i>Tupaia</i>	92
Hình 3.8. Cây quan hệ di truyền kết hợp 4 đoạn gen <i>cytochrome b</i> , <i>COI</i> , <i>12S</i> , <i>16S</i> của ty thể với nhóm <i>Tupaia</i>	94
Hình 3.9. So sánh hình thái sọ mẫu Chuột chũi <i>Euroscaptor</i> sp. và một số loài khác trong giống <i>Euroscaptor</i>	95
Hình 3.10. Bộ lông của hai mẫu vật thu tại Chạm Chu có phần lông màu cam trước ngực.....	96
Hình 3.11. Cây quan hệ di truyền Bayes cho mẫu chuột chũi dựa trên ba gen, <i>12S</i> , cytochrome <i>b</i> và <i>Rag1</i>	98
Hình 3.12. Dúi mốc lớn <i>Rhizomys pruinosus</i> (Blyth, 1851).....	105
Hình 3.13. Dơi lá đông bắc (Vương Tân Tú và cộng sự, 2015)	106
Hình 3.14. Mẫu <i>Chiromyscus thomasi</i> thu tại KBTTN Chạm Chu,	107
Hình 3.15. Cây quan hệ di truyền nhóm <i>Niviventer</i> – <i>Chiromyscus</i>	108
Hình 3.16. Cây quan hệ di truyền nhóm Thằn lằn cá sấu.	110
Hình 3.17. Xác định cấu trúc quần thể Thằn lằn cá sấu dựa trên phần mềm STRUCTURE v2.3.4	111
Hình 3.18. Cây phân nhánh các quần thể Thằn lằn cá sấu dựa trên chỉ thị microsatellite	112
Hình 3.19. Kết quả phân tích hệ gen so sánh quần thể Việt Nam và Trung Quốc .	113
Hình 3.20. Kết quả chạy cây bằng phần mềm SplitTree với dữ liệu ngắn	117
Hình 3.21. Số cá thể trong mỗi nhánh phân loại tại các vườn thú tại Đức	118
Hình 3.22. Bản đồ phân bố các mẫu phân Voi châu á phân tích thành công microsatellite	128
Hình 3.23. Xác định cấu trúc quần thể Voi châu á tại VQG Yok Đôn dựa trên phần mềm STRUCTURE v2.3.4	129

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của đề tài

Do có sự đa dạng về địa hình, tiểu vùng khí hậu và các hệ sinh thái nên khu hệ động vật hoang dã của Việt Nam có sự đa dạng về thành phần loài, phân bố ở hầu hết các vùng địa lý và cảnh quan khác nhau [157]. Tuy nhiên, những ảnh hưởng của suy thoái các hệ sinh thái do tác động của con người, khai thác quá mức và gia tăng biến đổi khí hậu đã khiến nhiều loài động vật đứng trước nguy cơ bị tuyệt chủng [158].

Nghiên cứu về các đặc điểm sinh thái của loài, hiện trạng quần thể giúp hỗ trợ đắc lực cho việc định hướng bảo tồn. Tuy nhiên, các phương pháp nghiên cứu truyền thống dựa vào các chỉ thị hình thái, đặc điểm sinh thái chưa thể cung cấp đầy đủ và chính xác những thông tin cần thiết. Việc kết hợp thông tin có từ các chỉ thị sinh học phân tử sẽ giúp đưa ra các chiến lược bảo tồn phù hợp hơn. Tại Việt Nam, việc sử dụng các chỉ thị này đã hỗ trợ đắc lực cho nhiều nghiên cứu mô tả loài mới, ghi nhận mới với nhiều loài quý hiếm, nguy cấp cho khoa học như Giải thượng hải (*Rafetus swinhoei*), Sóc hòn khoai (*Callosciurus honkhoaiensis*), Thần lằn cá sấu (*Shinisaurus crocodilurus*),... [91, 121, 183]. Sử dụng chỉ thị sinh học phân tử cũng giúp xác định các cá thể Cá sấu xiêm (*Crocodylus siamensis*) thuần chủng giúp xác định nguồn tái thả để phục hồi quần thể tự nhiên [122].

Tuy nhiên các nghiên cứu bảo tồn tại Việt Nam hiện nay chưa khai thác hết được tiềm năng của các chỉ thị sinh học phân tử để ứng dụng vào thực tiễn bảo tồn. Do vậy đề tài: **“Ứng dụng các chỉ thị ADN trong bảo tồn một số động vật hoang dã tại Việt Nam”** được thực hiện để giải quyết các vấn đề liên quan tới bảo tồn đa dạng sinh học. Kết quả nghiên cứu luận án sẽ cung cấp phương pháp, quy trình và những kiến nghị cho việc thực hiện các nghiên cứu chuyên sâu có định hướng bảo tồn và cung cấp số liệu cần thiết nhằm bảo tồn các loài có nguy cơ đe dọa tuyệt chủng. Các kết quả của luận án là cơ sở để đưa ra những kiến nghị trong công tác bảo tồn nguyên vị và chuyển vị. Nghiên cứu này cũng giúp xây dựng nền tảng cơ

bản cho các nghiên cứu đa dạng di truyền và di truyền học bảo tồn của các loài động vật hoang dã tại Việt Nam trong tương lai.

2. Mục tiêu nghiên cứu

- Ứng dụng chỉ thị sinh học phân tử trong nghiên cứu bảo tồn đa dạng sinh học với một số đối tượng nghiên cứu điển hình

- Đề xuất biện pháp bảo tồn phù hợp với các đối tượng nghiên cứu dựa trên các kết quả thu được.

3. Nội dung nghiên cứu

Để thực hiện mục tiêu nghiên cứu, luận án thực hiện việc ứng dụng các chỉ thị sinh học phân tử trên ba đối tượng nghiên cứu đều đang chịu nhiều mối đe dọa đến sự tồn tại của loài, hướng đến bảo tồn trên ba cấp độ khu hệ, quần thể và loài. Nghiên cứu đã sử dụng nhiều loại chỉ thị khác nhau trên nhiều bản chất mẫu khác nhau nhằm giải quyết các vấn đề tồn tại với từng đối tượng nghiên cứu.

(1) Ứng dụng các chỉ thị sinh học phân tử trong nghiên cứu bảo tồn đa dạng sinh học các nhóm thú nhỏ, Thần lằn cá sấu và Voi châu á

(a) Nghiên cứu đa dạng khu hệ thú nhỏ tại khu vực núi vùng đá vôi Đông Bắc

- Lập danh lục thành phần thú nhỏ tại vùng núi đá vôi Đông Bắc dựa trên dữ liệu sinh học phân tử và đặc điểm hình thái nhận dạng.

- Xác định vị trí phân loại một số taxon dựa trên chỉ thị sinh học phân tử.

- Sử dụng chỉ thị sinh học phân tử kết hợp đặc điểm hình thái để định loại một số loài đồng hình, khó phân biệt bằng hình thái ngoài.

(b) Nghiên cứu di truyền quần thể Thần lằn cá sấu tại Việt Nam

- Xác định quan hệ di truyền giữa các quần thể tại Việt Nam và Trung Quốc.

- Đánh giá đa dạng di truyền quần thể, hiện tượng nút cổ chai, giao phối cận huyết của quần thể Thần lằn cá sấu tại Việt Nam.

- Xác định nguồn gốc phân bố mẫu Thần lằn cá sấu trong buôn bán và tại các cơ sở nuôi nhốt.

(c) Đánh giá quần thể Voi châu á tại VQG Yok Đôn

- Xác định các cá thể voi nhà và voi hoang dã trong khu vực nghiên cứu.

- Xác định voi nhà và voi hoang dã từ mẫu phân thu thập.
- Đánh giá đa dạng di truyền, mức độ giao phối cận huyết trong các quần thể voi nhà, voi tự nhiên tại khu vực VQG Yok Đôn.

(2) *Kiến nghị cho công tác bảo tồn các đối tượng nghiên cứu*

- Kiến nghị cho công tác bảo tồn các loài thú nhỏ ở vùng núi Đông Bắc
- Kiến nghị cho công tác bảo tồn Thần lằn cá sấu
- Kiến nghị cho công tác bảo tồn Voi châu á tại Yokdon

4. Những đóng góp mới của luận án

Việc sử dụng các chỉ thị sinh học phân tử kết hợp với các phương pháp nghiên cứu khác, luận án đã:

- Lập được danh lục cập nhật các loài thú nhỏ tại vùng núi đá vôi Đông Bắc, đưa ra dẫn liệu về sự khác biệt về mặt di truyền cho hai giống *Tupaia* và *Euroscaptor* tại khu vực nghiên cứu.

- Đánh giá được hiện trạng di truyền quần thể của loài Thần lằn cá sấu và quần thể Voi châu á tại Việt Nam.

- Bổ sung cơ sở dữ liệu ADN về gen ty thể, microsatellite của các loài nghiên cứu để sử dụng trong phân tích xác định nguồn gốc các cá thể thu được từ buôn bán và các nghiên cứu bảo tồn trong tương lai.

- Đưa ra được những khuyến nghị trong công tác bảo tồn các loài động vật hoang dã trong nghiên cứu, đặc biệt là với những loài còn ít nhận được sự quan tâm trong bảo tồn dựa trên kết quả nghiên cứu của luận án.

5. Ý nghĩa khoa học và khoa học thực tiễn

(a) Ý nghĩa khoa học

- Nghiên cứu này khẳng định các chỉ thị phân tử có thể được áp dụng để giải quyết các vấn đề về di truyền từ đó đưa ra các biện pháp cho quản lý bảo tồn khu hệ thú nhỏ, Thần lằn cá sấu và Voi châu á ở Việt Nam. Ngoài ra, luận án góp phần xây dựng và hoàn thiện phương pháp nghiên cứu sinh học phân tử ở đối tượng động vật hoang dã trong việc thu thập, lưu giữ và phân tích các loại mẫu vật đặc biệt là đối với các loại mẫu có chất lượng thấp, khó phân tích như mẫu phân và mẫu lông voi.

Các quy trình này sẽ là nguồn tham khảo hữu ích cho các nghiên cứu tương tự ở Việt Nam trong tương lai.

(b) Ý nghĩa thực tiễn

Các kết quả của luận án là cơ sở khoa học đáng tin cậy cho những định hướng trong việc bảo tồn các loài động vật hoang dã được nghiên cứu cụ thể như đánh giá mức độ đa dạng di truyền và tình trạng bảo tồn, khuyến nghị các biện pháp phù hợp trong bảo tồn nguyên vị, chuyển vị, tăng cường hiệu quả của các hoạt động thực thi pháp luật đối với các loài nguy cấp, quý hiếm, được ưu tiên bảo vệ thông qua định danh và xác định nguồn gốc bằng phương pháp sinh học phân tử và định hướng các nghiên cứu di truyền học bảo tồn có tính ứng dụng cao trong điều kiện đặc thù của Việt Nam trong tương lai.

Cấu trúc của luận án

Luận án được bố cục thành 3 chương, cùng với phần mở đầu, kết luận và tài liệu tham khảo:

Luận án được trình bày trong 136 trang A4, 18 bảng, 46 hình ảnh, 03 danh mục công trình khoa học của tác giả đã công bố, 06 tài liệu tham khảo tiếng Việt và 185 tài liệu tiếng Anh.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Ứng dụng các chỉ thị sinh học phân tử trong nghiên cứu bảo tồn động vật hoang dã trên thế giới

** Lược sử ra đời chỉ thị sinh học phân tử và ứng dụng trong nghiên cứu bảo tồn đa dạng động vật hoang dã thế giới*

Giai đoạn trước những năm 1960, những thay đổi về mặt di truyền chỉ được quan sát thông qua các quá trình lai tạo nên các kiểu hình hoặc phản ứng kháng nguyên – kháng thể sau khi tiêm protein tinh khiết vào thỏ [8, 140, 168]. Các phương pháp này không thể áp dụng đối với các quần thể động vật hoang dã bởi sẽ gây tử vong cá thể.

Sau những năm 1960, kỹ thuật điện di protein được phát triển đã giúp phát hiện những biến đổi di truyền trong các sản phẩm protein khác nhau của các alen khác nhau (allozyme). Tuy nhiên phương pháp này lại không có ý nghĩa đối với bảo tồn do phải lấy protein từ nội tạng dẫn đến làm chết cá thể. Mẫu cũng cần được đông lạnh ngay sẽ gây khó khăn trong việc bảo quản vì mẫu vật sử dụng trong nghiên cứu di truyền bảo tồn thường được thu trên thực địa tại những khu vực khó tiếp cận. Ngoài ra, độ đa hình của các allozyme là thấp, chỉ khoảng $\frac{1}{4}$ số locus là đa hình và độ dị hợp tử nhỏ hơn 0,1 [54].

Đến những năm 1980, với sự phát triển của kỹ thuật PCR và giải trình tự Sanger, các trình tự ADN thu được cho thấy sự khác biệt đến mức cá thể và quần thể. Mẫu vật sử dụng được trong phân tích đa dạng di truyền cũng đa dạng hơn nhiều về bản chất như lông, máu, cơ, da, vảy, xương, vỏ trứng ... ít gây tác động đến cá thể được thu mẫu [112, 167]. Điều kiện bảo quản mẫu cũng không quá khó khăn như việc bảo quản protein với các loại hóa chất đơn giản và sẵn có như cồn, silicagel, EDTA và có thể vận chuyển và sử dụng dễ dàng trong điều kiện điều tra thu mẫu trên thực địa [15, 130]. Thêm vào đó, phản ứng PCR đã chứng tỏ hiệu quả với cả những mẫu có chất lượng kém hoặc với lượng mẫu nhỏ. Mẫu ADN của các loài nghiên cứu có thể được thu từ bảo tàng, kho lưu trữ hoặc khảo cổ, chẳng hạn như Mèo răng kiếm 20.000 năm tuổi [70], Voi ma mút siberia 50.000 năm tuổi [52],

Một 120 triệu năm tuổi [21]. Mẫu vật cũng có thể được thu gián tiếp từ ngoài môi trường (eADN) thông qua phân [26, 46, 193], nước với các loài có sinh cảnh sống dưới nước như các loài cá, lưỡng cư, loài bán thủy sinh [134, 142] hay động vật ký sinh hút máu như vắt, đũa [20, 153, 191].

Như vậy phương pháp sinh học phân tử với cách lấy mẫu ít gây hại đến cá thể và không xâm lấn có tiềm năng lớn để nghiên cứu về quan hệ di truyền và quan trọng hơn là nghiên cứu di truyền quần thể giúp giải quyết các vấn đề như xác định mức độ kết nối và cách ly giữa các quần thể thông qua việc đánh giá xác suất trao đổi di truyền, ước tính mức độ phong phú về di truyền và giải quyết các vấn đề phá hệ, quan hệ phát sinh loài và hệ thống học [28, 151].

Từ những năm 1990, dự án hệ gen người được bắt đầu thực hiện mở ra thời kỳ nghiên cứu về hệ gen đã tạo ra nhiều dữ liệu di truyền của những vùng khác nhau trong hệ gen, là cơ sở dữ liệu để ứng dụng nghiên cứu các chỉ thị sinh học phân tử trong di truyền bảo tồn [51, 188]. Một số chỉ thị sinh học phân tử và ứng dụng của chúng trong bảo tồn sẽ được trình bày trong phần tiếp theo.

*** Một số chỉ thị sinh học phân tử sử dụng trong nghiên cứu bảo tồn động vật hoang dã**

Phân tích đoạn ADN (Fragment analysis)

Một loạt các kỹ thuật thuộc phương pháp phân tích đoạn, theo đó các đoạn ADN (ADN ty thể hoặc ADN nhân) được chạy điện di qua gel (điện di mao quản hoặc điện di polyacrylamide) để phân tách các đoạn ADN với kích thước khác nhau.

Thông thường các enzym giới hạn được sử dụng để phá vỡ các đoạn ADN được khuếch đại bằng phản ứng chuỗi polyme (PCR) tại các cặp base cụ thể (thường là 4–8) để tạo ra các đoạn đa hình với độ dài giới hạn (chỉ thị RFLP). Các đoạn có kích thước khác nhau được tạo ra tùy thuộc vào mức độ đột biến đã thay đổi trình tự DNA được nhận biết bởi enzyme giới hạn. Nếu kích thước của các đoạn giới hạn đặc trưng cho một loài hoặc cá thể, chúng có thể được sử dụng như một chỉ thị để nhận dạng. RFLP được sử dụng rộng rãi để phân biệt các loài từ các mẫu không xâm lấn được thu thập như phân hoặc lông. Chỉ thị này đã được sử dụng để

phân biệt Cáo san joaquin với các loài chó khác và phân biệt các loài cáo khác nhau ở Tây Bắc Hoa Kỳ [131]. Nếu mỗi dùng cho phản ứng PCR và enzym giới hạn chưa được thiết kế để tạo ra độ dài đoạn giới hạn cho một loài, thì các đoạn khuếch đại có thể được giải trình tự và so sánh với những cơ sở dữ liệu ADN lớn (ví dụ: GenBank NCBI, DDBJ). Đây là một marker đồng trội phân biệt được cá thể đồng hợp và dị hợp. Quy trình thực hiện phức tạp và yêu cầu chất lượng mẫu cao đã hạn chế việc sử dụng kỹ thuật này. Do đó, tại Việt Nam hiện nay chưa có nghiên cứu nào ứng dụng chỉ thị này trên đối tượng động vật hoang dã.

Mã vạch di truyền

Một phương pháp tiết kiệm thời gian và có hiệu quả cao là giải trình tự các đoạn gen ty thể (mtDNA) dùng làm mã vạch di truyền để định danh loài. Phương pháp này gần đây thường xuyên được sử dụng trong các nghiên cứu về di truyền [150]. Phương pháp này có thể được sử dụng với mẫu có chất lượng thấp bởi số lượng bản sao ty thể mỗi tế bào là khá cao (thường là 100-1000 bản sao hoặc nhiều hơn). Các nhà nghiên cứu cần xác định chính xác đoạn gen chỉ thị giúp phân biệt nhóm loài của mình. Phương pháp mã vạch di truyền là ý tưởng dựa trên việc xác định loài từ một trình tự gen ty thể ngắn nhưng có đủ thông tin để có thể xác định chính xác một loài. Phương pháp này đã được chấp nhận rộng rãi trong giới khoa học vì nó đã chứng tỏ được tính hiệu quả trong việc xác định các loài động và thực vật khác nhau [30, 58, 89]. Ví dụ, đoạn gen COI hay *cox1* đã giúp phân biệt 24 loài động vật có xương sống bị săn bắn ở Châu Phi và Nam Mỹ, tạo điều kiện thuận lợi cho việc giám sát nạn săn trộm và buôn bán thương mại các loài có nguy cơ tuyệt chủng và sản phẩm của chúng [32].

Tuy nhiên phương pháp này mới chỉ được sử dụng phổ biến ở các nước Đông Nam Á trong thời gian gần đây cho nghiên cứu phân loại học của một số nhóm động vật có xương sống. Nhiều nghiên cứu phân loại trong nhóm thú nhỏ, và một số loài linh trưởng phổ biến tại Việt Nam sử dụng chỉ thị phổ biến là đoạn gen *cyt b* được khuếch đại bằng các đoạn mồi “vạn năng” (universal primers) có trong công bố của Irwin (1991) và Kocher (1989) [68, 83]. Một số nghiên cứu sử dụng

Chỉ thị gen ty thể có thể kể đến như nghiên cứu của Balakirev và cộng sự (2014), Lu và cộng sự (2015), Zang và cộng sự (2016) [11, 99, 196] đều sử dụng các đoạn gen ty thể phổ biến và có nhiều cơ sở dữ liệu như *cyt b*, *ND2*, *COI*. Để đánh giá toàn diện hơn quan hệ phát sinh loài và hệ thống học, các nghiên cứu thường kết hợp giữa gen nhân (*GHR*, *RAG1*, *RAG2*, *Cmos*,...) và gen ty thể (*cyt b*, *COI*, *ND2*, *ND4*, *D-loop*,...) để xây dựng cây quan hệ di truyền. Nghiên cứu nhóm Dơi nếp mũi tại Đông Nam Á của Murray và cộng sự (2012) đã kết hợp các đoạn gen *NADH*, *ND2* và *RAG1* để xác nhận kết quả từ các nghiên cứu xây dựng danh lục dựa trên các phương pháp hình thái [114]. Các nghiên cứu trên nhóm *Cyrtodactylus* sử dụng kết các đoạn gen *COI*, *ND2*, *Rag1* để đánh giá đa dạng nhóm này tại khu vực Đông Nam Á [48, 118, 123, 124]. Một số nghiên cứu về đa dạng di truyền của các nhóm động vật hoang dã khác được thực hiện tại Việt Nam sẽ được đề cập chi tiết hơn ở phần dưới.

Microsatellite ADN

Chỉ thị microsatellite là một dạng phân tích đoạn ADN có mức độ đột biến đủ cao để phân biệt các quần thể khác nhau. Mỗi microsatellite chứa các trình tự lặp lại từ 5 đến 100 lần đoạn nucleotide ngắn (có độ dài 1–10 bp, thường là 2–5 bp). Microsatellite dễ dàng được khuếch đại bằng PCR, với kích thước của các alen được khuếch đại được xác định bởi kích thước và số lần lặp lại. Giống như với các loại phân tích đoạn khác, kích thước này được xác định bằng điện di (điện di mao quản hoặc điện di polyacrylamide).

Chỉ thị này thường được sử dụng với nghiên cứu di truyền quần thể truyền thống bởi đây là một chỉ thị đồng trội khác biệt với di truyền Mendel alen được biểu hiện ra kiểu hình. Theo đó, microsatellite tạo ra các loại thông tin tương tự với phân tích allozyme (bao gồm cả tính dị hợp tử và tính đa dạng của alen). Tuy nhiên, không giống như allozyme, microsatellite có mức độ biến đổi rất cao và có thể khuếch đại dễ dàng bằng phản ứng PCR, tạo điều kiện thuận lợi cho việc áp dụng các phương pháp lấy mẫu không gây chết và không xâm lấn [100]. Nghiên cứu của Huang và cộng sự (2014) đã xác định được 3 nhóm quần thể khác biệt về di truyền

của loài Thần lằn cá sấu tại Trung Quốc dựa trên 10 đoạn microsatellite [66]. Trong nghiên cứu này, phân tích sử dụng chỉ thị microsatellite đã tách một nhóm trong phân tích dựa trên đoạn gen ty thể thành hai nhóm bởi tốc độ biến đổi cao hơn của chỉ thị này so với các chỉ thị mã vạch di truyền dựa trên đoạn gen ty thể. Như vậy, chỉ thị microsatellite hữu hiệu hơn trong việc đánh giá mức độ đa dạng di truyền và được sử dụng nhiều trong những nghiên cứu di truyền quần thể.

Cho đến thời điểm hiện tại, ứng dụng microsatellite trên đối tượng động vật hoang dã tại Việt Nam mới được sử dụng để phân biệt các cá thể thuần chủng và lai của loài Cá sấu xiêm (*Crocodylus siamensis*) dựa trên 8 locus microsatellite [122]. Các kết quả của nghiên cứu này là nguồn cơ sở dữ liệu cho các chương trình nhân nuôi tái thả trong tương lai. Đây là một chỉ thị tiềm năng cần được thực hiện nhiều hơn trong các nghiên cứu khác tại Việt Nam bởi khả năng ứng dụng trong đánh giá hiện trạng quần thể, phân nhóm di truyền – những nghiên cứu chưa được thực hiện tại Việt Nam. Ứng dụng này giúp xác định chính xác biện pháp bảo tồn phù hợp khi biết được tính đa dạng di truyền của quần thể trong trường hợp quần thể có mức độ đa dạng di truyền thấp do nguyên nhân giao phối cận huyết làm ảnh hưởng đến sự tồn tại lâu dài của quần thể.

Đa hình nucleotide đơn (SNP)

SNPs là chỉ thị nằm trong các gen nhân đặc biệt phù hợp đối với các mẫu chất lượng thấp như mẫu thu không xâm lấn và có tiềm năng khám phá các locus với các trình tự phù hợp [113]. Như tên gọi của chúng, SNP là các vùng mà các loài hoặc cá thể khác nhau trong một loài có sự khác biệt về các nucleotide đơn lẻ (ví dụ: “G” thay vì “A”). Với mẫu chất lượng kém, SNP dễ khuếch đại hơn so với microsatellite vì ngắn hơn (50–70 bp) so với microsatellite (80–300 bp). Ngoài ra, SNP có số lượng nhiều hơn trong hệ gen (đối với nhiều loài cứ 200–500 bp sẽ có một SNP), vì vậy các nghiên cứu có thể sử dụng 50–100 locus SNP trở lên. Cơ sở dữ liệu SNP cho nhiều loài đang nhanh chóng được phát triển. SNP có thể được sàng lọc ở các vùng có chứa các gen biểu hiện, cung cấp thông tin về sự biểu hiện của gen đối với khả năng tồn tại của cá thể. SNP có thể thay thế microsatellite trong

nhiều nghiên cứu, chẳng hạn như xác định cấu trúc quần thể và ứng dụng với các mẫu thu không xâm lấn. Phân tích 214 SNP của Quỳ tasmanian là nguồn cơ sở để phân tích các biến thể liên quan đến khả năng sinh sản của loài này [19]. Do thiếu cơ sở dữ liệu hệ gen, hiện chưa có nghiên cứu ứng dụng chỉ thị này với các nghiên cứu về động vật hoang dã tại Việt Nam.

Nghiên cứu hệ gen (genome)

Nghiên cứu hệ gen đã tạo điều kiện thuận lợi để xác định sự biến đổi thích nghi, chức năng gen, khác biệt so với các chỉ thị trung tính. Công nghệ hiện đại được sử dụng nhiều và ngày càng được cải tiến là Giải trình tự thế hệ mới (NGS) [29]. Bởi vì ngoài các chỉ thị trung tính được sử dụng trong các nghiên cứu di truyền bảo tồn truyền thống, cơ sở dữ liệu từ nghiên cứu hệ gen cũng là cơ sở cho các phương pháp xác định biến thể thích nghi thông qua việc xác định các gen mang chức năng [9].

Nhược điểm lớn nhất của phương pháp nghiên cứu hệ gen là chi phí cao và dữ liệu quá lớn. Tuy nhiên các công nghệ giải trình tự thế hệ mới đang ngày được phát triển với chất lượng cao hơn và chi phí hợp lý hơn. Nghiên cứu hệ gen và transcriptomics (nghiên cứu hệ mARN) sẽ tiếp tục cách mạng hóa cách chúng ta nghiên cứu và quản lý các quần thể động vật hoang dã.

Sử dụng hệ gen trong việc phân tích tiến hóa và phân loại học là cách tiếp cận mới để giải quyết những vấn đề khó trong phân loại và hệ thống học [71]. Saola là loài thú móng guốc được mô tả tại Việt Nam năm 1993 [178]. Sau khi được phát hiện, đã có nhiều nghiên cứu về vị trí phân loại của loài này. Dung và cộng sự (1993) cho rằng loài này có quan hệ họ hàng với phân họ Bovinae khi phân tích trình tự ADN. Tuy nhiên, Thomas (1994) khi phân tích các đặc điểm hình thái lại cho rằng Saola có quan hệ họ hàng gần gũi với phân họ Caprinae [172]. Những nghiên cứu sau này (Hassanin và Douzery, 1999; Gatesy và Arctadner, 2000) phân tích dữ liệu của gen ty thể, gen nhân và đặc điểm hình thái đều đưa ra kết luận là Saola có họ hàng gần gũi với phân họ Bovinae, cụ thể là nằm trong tông Bovini [44, 55]. Những nghiên cứu gần đây sử dụng hệ gen ty thể và 18 gen nhân đều đưa ra kết

luận tương tự là Saola nằm trong nhóm Bovini [18, 56]. Tuy nhiên, các nghiên cứu này vẫn chưa thống nhất được vị trí chính xác của Saola trong nhóm Bovini. Như vậy, số liệu về hệ gen là cần thiết để giải quyết vấn đề phức tạp này.

Ngoài việc giải quyết những vấn đề còn tồn tại trong phân loại, phân tích hệ gen còn có thể đóng góp một phần đáng kể vào các nghiên cứu về di truyền quần thể và bảo tồn. Ví dụ, trong nghiên cứu gần đây Rovatsos và cộng sự (2017) đã chứng minh được rằng tất cả các loài rùa mai mềm thuộc họ ba ba đều có nhiễm sắc thể giới tính [147]. Đây là một phát hiện quan trọng vì phần lớn các loài rùa không có nhiễm sắc thể giới tính và giới tính được quyết định bởi nhiệt độ môi trường khi ấp trứng [177]. Khả năng xác định giới tính bằng phương pháp sinh học phân tử có ý nghĩa lớn trong công tác bảo tồn các loài ba ba vì đây là nhóm loài khó xác định giới tính bằng mắt thường. Các phương pháp xác định truyền thống khác như siêu âm có thể gây căng thẳng làm ảnh hưởng tới sức khỏe của chúng, đặc biệt là các loài có kích thước lớn khó thao tác và đặc biệt nguy cấp. Vì vậy, giải mã hệ gen của các loài này có thể giúp chúng ta thiết kế các đoạn mồi đặc hiệu giúp xác định giới tính một cách chính xác nhất [97, 98]

Giải mã hệ gen cũng giúp giải quyết việc phát triển chỉ thị sinh học phân tử microsatellite, đặc biệt là đối với những nhóm sinh vật còn ít được nghiên cứu. Microsatellite có thể giúp xác định các cá thể lai và loại chúng ra khỏi chương trình nuôi sinh sản phục vụ bảo tồn, xác định quan hệ huyết thống và xác định đa dạng di truyền của các cá thể nuôi nhốt để tránh hiện tượng giao phối cận huyết [75, 122, 136]. Trước đây, việc phát hiện đưa các chỉ thị microsatellite vào sử dụng trong các nghiên cứu di truyền quần thể khá công phu và tốn kém. Tuy nhiên, số liệu từ hệ gen có thể giúp tìm kiếm các chỉ thị này một cách dễ dàng và chính xác hơn bằng các phương pháp mới [7, 87, 107]. Hiện nay, phương pháp này mới chỉ được thực hiện với nhóm linh trưởng tại Việt Nam.

Các gen ảnh hưởng đến sức sống: gen chức năng, biến thể thích nghi và gen phiên mã

Sự phát triển nhanh chóng trong phân tích bộ gen người và các loài động, thực vật vật dã đã cung cấp nhiều thông tin cho các nghiên cứu mới. Hệ gen là

nguồn cơ sở dữ liệu giúp nghiên cứu các chỉ thị di truyền để phát hiện các biến thể di truyền trung tính, chẳng hạn như SNP hoặc microsatellite. Ví dụ, hậu quả của việc giảm số lượng nghiêm trọng các quần thể hoang dã cuối cùng của Bò rừng châu Âu (*Bison bonasus*), Bò rừng bizon đồng bằng (*B. bison bison*) và Bò rừng bizon núi (*B. bison athabascae*) được đánh giá bằng cách xác định 52.978 SNP trong hệ gen [132].

Một số cách tiếp cận hiện đang được sử dụng để xác định biến thể thích nghi thông qua việc sàng lọc để xem liệu chúng có thể ảnh hưởng đến đặc điểm ở loài mục tiêu hay không và mức độ ảnh hưởng như thế nào. Nghiên cứu của Storz và cộng sự (2007, 2009) đã xem xét sự thích nghi với độ cao liên quan đến những thay đổi axit amin trong phân tử hemoglobin đối với loài chuột hươu ở các độ cao khác nhau [159, 160]. Một phương pháp khác với giải trình tự toàn bộ hệ gen là sử dụng các enzym giới hạn để phá vỡ DNA thành các đoạn kích thước nhỏ hơn để giải trình tự như các chỉ thị di truyền thông thường [29, 33].

Tuy nhiên, những công nghệ và phương pháp hiện đại và có hiệu quả cao sử dụng số liệu hệ gen này hiện nay chưa được áp dụng vào nghiên cứu tiến hóa, di truyền, phân loại và bảo tồn các loài hoang dã tại Việt Nam.

Một số cơ sở dữ liệu ADN phổ biến

Trên thế giới, việc sử dụng các cơ sở dữ liệu trên nền web để truy xuất số liệu trực tuyến ngày càng trở nên phổ biến. Đối với cơ sở dữ liệu ADN của các loài động vật có xương sống, Ngân hàng gen (GenBank - <http://ncbi.nlm.nih.gov/>) là cơ sở dữ liệu đầy đủ nhất vì hầu hết tất cả các nghiên cứu liên quan tới sinh học phân tử của các loài đều tải các trình tự lên Ngân hàng gen. Các tạp chí quốc tế cũng yêu cầu tác giả của các bài báo liên quan tới sinh học phân tử cung cấp số đăng ký của Ngân hàng gen cho các trình tự ADN sử dụng trước khi các bài báo này được chính thức chấp nhận đăng. Ngân hàng gen có công cụ BLAST (Công cụ tìm kiếm bằng đóng hàng cơ bản ở mức độ địa phương – Basic Local Alignment Search Tool) để tìm kiếm những trình tự có mức tương đồng cao với trình tự cần tìm kiếm. Tuy vậy, công cụ này không đưa ra kết quả cụ thể nếu có nhiều trình tự có cùng mức độ

giống nhau vì cơ sở dữ liệu này không sử dụng các phương pháp phân tích có độ chính xác cao hơn như xây dựng cây phát sinh loài.

Cơ sở dữ liệu DNA Surveillance (<http://www.dna-surveillance.auckland.ac.nz/>) có sử dụng các công cụ tin sinh như dựng cây phát sinh loài bằng phương pháp khoảng cách di truyền (distance) và thích hợp tối đa (maximum likelihood), nhưng cơ sở dữ liệu này chỉ bao gồm một số nhóm loài như chuột (Giống *Rattus*), cá voi (Bộ phụ Cetacea) và vẹt Brazil (Họ Psittacidae). Một cơ sở dữ liệu khác cũng sử dụng các phần mềm tin sinh để xác định nguồn gốc và nhận dạng các trình tự ADN là DNABushmeat (<https://mbb.univ-montp2.fr/MBB/subsection/softExec.php?soft=dnabushmeat>). Cũng giống như DNA Surveillance cơ sở dữ liệu này chỉ bao gồm 60 loài thú thường bị săn bắt để làm thức ăn tại châu Phi. Các cơ sở dữ liệu này phổ biến sử dụng các trình tự của gen *COI* (Cytochrome C oxidase subunit I) và gen cytochrome *b* trong hệ gen ty thể. Các cơ sở dữ liệu này đều không có các thông tin về hình thái, sinh thái và phân bố của các loài.

1.2. Ứng dụng chỉ thị sinh học trong nghiên cứu bảo tồn đa dạng động vật hoang dã ở Việt Nam

Việc ứng dụng chỉ thị sinh học phân tử trong nghiên cứu về động vật hoang dã tại Việt Nam hiện nay chủ yếu sử dụng các mã vạch di truyền như đoạn gen ty thể và một số đoạn gen nhân nhằm hỗ trợ xác định chính xác tên khoa học của loài, đồng thời hỗ trợ mô tả các taxon phân loại mới. Có nhiều ứng dụng sinh học phân tử trong nghiên cứu phân loại và bảo tồn đa dạng sinh học động vật hoang dã ở Việt Nam, tuy nhiên trong khuôn khổ của luận án, chúng tôi chỉ đề cập khái quát một số nghiên cứu ứng dụng sinh học phân tử trong phân loại, nhận dạng con lai và bảo tồn, đồng thời tập trung tổng quan các nghiên cứu liên quan trực tiếp đến ba nhóm thú nhỏ, Thằn lằn cá sấu và voi ở Việt Nam.

1.2.1. Ứng dụng chỉ thị sinh học phân tử trong phân loại học

Phân loại học đóng vai trò quan trọng trong việc bảo tồn các loài với một số ứng dụng cụ thể như:

- Phân biệt các loài, xác định mức độ bảo tồn: đối với các loài chưa được nghiên cứu, phân loại học giúp xác định đơn vị phân loại, nhánh tiến hóa, mô tả các

đặc điểm đặc trưng của loài, bổ sung dữ liệu phân bố loài từ đó xác định tình trạng bảo tồn, mức độ nguy cấp. Các thông tin về đặc điểm di truyền bổ sung thông tin cho nghiên cứu hình thái và các thông tin khác (ví dụ: lịch sử hình thành loài, phạm vi địa lý) để xác định mối liên hệ về phân loại học. Thông tin di truyền có thể làm rõ lịch sử tiến hóa của các nhóm có tiến hóa riêng biệt để xây dựng các biện pháp và mức độ bảo tồn khác nhau. Đặc biệt với các loài đồng hình phân bố rộng, việc xác định sự khác biệt ở mức độ phân tử có thể giúp đưa ra chiến lược bảo tồn phù hợp với loài/quần thể khác biệt về di truyền ở mỗi khu vực. Ngược lại, đối với nhiều loài hoặc phân loài thực sự không khác biệt về mặt tiến hóa và phân loại, việc nhận biết mức độ tương đồng về di truyền giúp giảm các nguồn lực bảo tồn để có thể dành cho các loài có mức độ nguy cấp cao hơn. Các dữ liệu về di truyền cũng có thể bổ sung các thông tin quan trọng khác để giúp giải quyết các vấn đề còn tồn tại về phân loại ở cấp độ loài hoặc dưới loài [16, 91, 93, 182].

- Hỗ trợ các hoạt động tái thả và nhân nuôi sinh sản: việc tái thả động vật hoang dã bị tịch thu từ các hoạt động buôn bán trái phép hoặc nuôi nhốt trong các cơ sở bảo tồn về môi trường sống tự nhiên của chúng đã và đang được thực hiện tại nhiều nơi ở Việt Nam cũng như trên thế giới do các quần thể ngoài tự nhiên đang ngày càng suy giảm. Tuy nhiên, khu vực, sinh cảnh sống phù hợp với từng cá thể cần được quan tâm để tránh việc thả không đúng chỗ sẽ làm ảnh hưởng đến sức sống của cá thể tái thả, gây ô nhiễm nguồn gen tự nhiên do đưa vào các yếu tố di truyền ngoại lai và làm xáo trộn hệ sinh thái tự nhiên tại khu vực tái thả. Đặc biệt đối với những nhóm động vật có phân loại phức tạp, việc sử dụng các chỉ thị di truyền trong phân loại học giúp xác định các đặc điểm di truyền khác biệt của các vùng địa lý khác nhau của một loài và nhận biết vùng phân bố chính xác của các cá thể không rõ nguồn gốc hiện đang được nhân nuôi sinh sản trong các cơ sở bảo tồn và hỗ trợ việc tái thả đúng chỗ khi điều kiện cho phép [88, 93, 119].

Định danh và phát hiện các loài trong khu vực nghiên cứu:

- Là cơ sở xác định các loài khó phát hiện: với nhiều loài khó quan sát, số lượng cá thể còn quá ít, khó thu mẫu theo phương pháp truyền thống thì việc thu mẫu gián

tiếp thông qua mẫu ADN có trong môi trường (environmental DNA), bộ phận cơ thể tách rời khó nhận biết bằng phương pháp truyền thống như phân, vảy, lông, sừng, xương đóng vai trò quan trọng trong việc điều tra phát hiện các loài này [92, 129, 174].

- Hỗ trợ trong việc thực thi pháp luật trong quản lý buôn bán động vật trái phép: buôn bán động vật hoang dã được coi là một trong những mối đe dọa lớn nhất đối với đa dạng sinh học ở Đông Nam Á. Nhiều loài động vật có xương sống như tê tê, voi và rùa đã bị săn bắt cạn kiệt do nhu cầu cao chủ yếu từ thị trường Trung Quốc và các nước trong khu vực. Việt Nam được coi là điểm trung chuyển quan trọng trên con đường buôn bán và tiêu thụ động vật hoang dã bao gồm xuất khẩu, tiêu dùng và buôn bán [1, 93, 119].

Đa số các nghiên cứu về động vật hoang dã tại Việt Nam hiện nay chủ yếu sử dụng các chỉ thị mã vạch di truyền như đoạn gen ty thể và một số đoạn gen nhân nhằm giải quyết các vấn đề mà các phân tích về hình thái chưa cung cấp được số liệu về sự khác biệt và đa dạng trong loài, nhóm loài [16, 118, 138].

* *Một số ứng dụng chỉ thị sinh học phân tử ở nhóm lưỡng cư*

Phương pháp mã vạch di truyền đã được sử dụng để phát hiện nhiều loài ẩn sinh trong nhóm lưỡng cư tại vùng Đông Nam Á. Stuart và cộng sự năm 2006 đã nghiên cứu 2 nhóm loài ếch đá *Odorrana livida* và *Rana chalconota* sử dụng gen ty thể. Kết quả sử dụng phương pháp sinh học phân tử cho thấy những nhóm loài này trước đây từng được coi là một loài phân bố rộng thực chất là gồm nhiều nhánh tiến hóa riêng biệt có sự khác biệt lớn về di truyền (sai khác từ 10 đến 16%). Đặc biệt đây là những quần thể có phân bố cùng một địa điểm và rất khó phân biệt về mặt hình thái. Như vậy, sinh học phân tử đóng một vai trò quan trọng trong việc phát hiện các loài ẩn sinh tại những khu vực còn ít được nghiên cứu đặc biệt là những vùng có nhiều loài cùng phân bố.

Một ví dụ điển hình khác là nhóm cá cóc, giống *Tylototriton*, phân bố ở phía Nam Trung Quốc, Lào, Myanmar và miền Bắc của Việt Nam. Đây là nhóm có số lượng loài tăng lên đáng kể trong thời gian gần đây bắt nguồn từ những nghiên cứu

dựa trên ứng dụng của sinh học phân tử vì hình thái của chúng khá bảo thủ và ít thay đổi nên việc nhận dạng chỉ dựa vào đặc điểm hình thái gây ra nhiều khó khăn. Chỉ từ năm 2010 đến nay đã có 16 loài mới được mô tả trong tổng số 24 loài đã được công nhận. Loài đầu tiên được mô tả trong giống này là từ năm 1871 [47, 76, 139]. Trong số này có tới 13 loài được đưa vào trong Danh lục Đỏ IUCN và Sách Đỏ Việt Nam cũng có một số loài như *T. asperrimus*, *T. vietnamensis* và *T. anguliceps*. Ngoài ra, khi sử dụng sinh học phân tử để phân tích nhóm ếch nhèo, giống *Limnonectes*, các nghiên cứu gần đây cũng góp phần làm rõ về mặt phân loại học. Kết quả là có tới 18 loài được mô tả mới từ năm 2010 cho đến nay, trong đó có 3 loài từ Việt Nam [109, 138, 198].

* Một số ứng dụng chỉ thị sinh học phân tử ở nhóm bò sát

Giống Thằn lằn ngón - *Cyrtodactylus*, là một minh chứng về sự tăng đột biến số lượng loài trong nhóm bò sát kể từ khi các phương pháp sinh học phân tử được áp dụng vào nghiên cứu phân loại học của nhóm này. Giống *Cyrtodactylus* Gray, 1827 là nhóm có mức độ đa dạng cao nhất trong họ Tắc kè (Gekkonidae) với hơn 300 loài đã được mô tả [176]. Nhóm này có phân bố rộng từ Đông Nam Á, Đông Dương, Phi – líp - pin, quần đảo Indo – Ô-xtrây-li-a cho tới đảo Solomon [13, 123, 124]. Trong mười năm trở lại đây, có tới 140 loài mới được phát hiện trên thế giới và khu vực Đông Dương được coi là một trong những trung tâm có nhiều loài mới được phát hiện nhất [176].

Hay gần đây, việc áp dụng chỉ thị sinh học trong nghiên cứu phân loại học cũng đã mở ra hướng đi cho bảo tồn loài Rùa hoàn kiếm khi xác định Rùa hồ gươm là loài Giải sin-hoe - *Rafetus swinhoei* vào năm 2014 [91]. Thông qua việc phân tích mẫu nước hồ, Chương trình bảo tồn rùa châu Á ngày 11 tháng 4 năm 2008 đã ghi nhận sự có mặt của cá thể loài rùa quý hiếm này tại hồ Xuân Khanh nâng số cá thể ghi nhận của loài lên 3 cá thể hiện còn tồn tại trên thế giới, 1 cá thể tại Trung Quốc và 2 cá thể tại Việt Nam.

* Một số ứng dụng chỉ thị sinh học phân tử ở nhóm thú nhỏ

Một số nghiên cứu điển hình ứng dụng chỉ thị sinh học phân tử ở họ Chuột chũi (Talpidae) như: Bannikova và cộng sự (2011) đánh giá quan hệ di truyền của

một số loài Chuột chù răng trắng giống *Crocidura* (họ Soricidae) ở 14 địa điểm phân bố tại Việt Nam dựa trên so sánh trình tự của hai đoạn gen ty thể *cyt b* và *COI* [12]. Tiếp theo Zemlemerova và cộng sự (2013) đã cung cấp những dữ liệu mới về sinh học phân tử của nhóm chuột chũi khu vực Đông Á, trong đó có một số mẫu vật thu thập ở Việt Nam [194]. Shinohara và cộng sự (2014, 2015) và He và cộng sự (2014) cũng đã so sánh quan hệ di truyền của các loài chuột chũi thuộc hai giống *Euroscaptor* và *Mogera* thu thập tại một số địa điểm ở Việt Nam dựa trên so sánh trình tự của các gen *cyt b*, 12S rRNA và *Rag1* [57, 155, 156]. Zemlemerova và cộng sự (2016) đã phân tích gen nhân và gen ty thể và công bố hai loài chuột chũi mới cho khoa học (Chuột chũi o-lốp - *Euroscaptor orlovi* và Chuột chũi cu-nét-sốp - *E. kuznetsovi*) và một phân loài mới (Chuột chũi ngọc linh - *E. parvidens ngoclinhensis*) dựa trên bộ sưu tập mẫu vật thu thập ở Việt Nam hiện đang lưu giữ tại Bảo tàng Động vật, Viện Động vật Saint-Peterburg, Viện Hàn lâm Khoa học Nga [195].

Một số nghiên cứu khác ứng dụng chỉ thị sinh học phân tử ở họ Đồi (Tupaiaidae) như: nghiên cứu về hệ gen của loài *Tupaia belangeri* được thực hiện lần đầu trong và công bố bởi Schmitz và cộng sự (2000) [152]. Các nghiên cứu phân tử khác đã sử dụng chỉ thị gen ty thể và gen nhân để đánh giá mối quan hệ phát sinh loài và thời gian phân tách giữa các loài trong giống *Tupaia* [143, 144]. Trong các nghiên cứu, *T. belangeri* được chứng minh là nhóm chị em với *T. glis*. Hai loài này sống ở lục địa Đông Nam Á và có quan hệ họ hàng gần với nhóm có phân bố hẹp là *T. chrysogaster* - *T. longipes* [144].

* Một số ứng dụng chỉ thị sinh học phân tử ở một số loài thú lớn

Trong vùng Đông Nam Á, nhóm mang thuộc giống *Muntiacus* là nhóm có nhiều loài được phát hiện mới dựa trên dẫn liệu về sinh học phân tử. Đáng chú ý là các loài Mang trường sơn (*Muntiacus truongsongensis*) có phân bố trong vùng Trường Sơn giữa Lào và Việt Nam và Mang putao (*M. putaoensis*) phân bố ở phía Bắc Myanmar và Ấn Độ [10, 50, 69]. Gần đây hơn, Le và cộng sự (2014) đã sử dụng phương pháp sinh học phân tử để ghi nhận loài Mang rô-se-ven (*M.*

rooseveltorum) lần đầu tiên tại Việt Nam. Ngoài ra, nghiên cứu này cũng chỉ ra rằng Mang rô-se-ven là một nhánh tiến hóa riêng biệt và có quan hệ gần gũi với các loài mang mang khác trong dãy Trường Sơn như Mang lớn, Mang trường sơn và Mang putao ở Myanmar và Ấn Độ. Martins và cộng sự (2017) sử dụng hệ gen ty thể để nghiên cứu nhóm loài Mang vó vàng (*M. vaginalis*) [108]. Kết quả nghiên cứu này cho thấy có ít nhất 3 nhánh tiến hóa riêng biệt phân bố ở lục địa châu Á, vùng Sunda (các đảo thuộc Indonesia và Malaysia), và vùng phía Nam Ấn Độ và Sri Lanka phân tách cách đây từ 1.1-1.5 triệu năm. Các nhánh tiến hóa này có thể là các loài hoặc phân loài mới tách ra từ loài Mang vó vàng. Đây là những phát hiện có ý nghĩa quan trọng kể cả về phân loại học và bảo tồn vì mặc dù mang là nhóm thú lớn nhưng những thông tin về chúng vẫn còn rất ít. Nhóm này cũng có nhiều loài được đưa vào trong Danh lục Đỏ IUCN.

Ngoài ra, các nghiên cứu tìm kiếm phân bố của loài cũng được thực hiện với một số loài quý hiếm như Sao la (*Pseudoryx nghetinhensis*) [20], Thỏ vằn trường sơn (*Nesolagus timminsi*) [191] thông qua việc lấy mẫu vết và phân tích ADN môi trường. Tuy nhiên các nghiên cứu chỉ ghi nhận được sự có mặt của thỏ vằn trường sơn (*Nesolagus timminsi*) còn ghi nhận Sao la – loài thú lớn cực kỳ nguy cấp vẫn còn rất nhiều khó khăn.

1.2.2. Các nghiên cứu ứng dụng xác định con lai, hiện trạng quần thể, bệnh động vật hoang dã

* Một số ứng dụng chỉ thị sinh học phân tử trong xác định con lai

Sự lai tạo giữa các loài khác nhau hiếm khi xảy ra trong tự nhiên nhưng diễn ra phổ biến hơn trong thời gian gần đây bởi việc di chuyển các loài từ khu vực phân bố tự nhiên của chúng sang các khu vực khác phục vụ nhu cầu của con người [40, 161]. Kết quả của quá trình này phụ thuộc vào hướng chọn lọc của tự nhiên. Có nhiều khả năng xảy ra do kết quả của quá trình lai tạo: hai loài hợp nhất thành một loài và hai loài bố mẹ hoàn toàn biến mất; hàng rào sinh sản sẽ được tạo ra giữa hai loài bố mẹ; vật liệu di truyền sẽ được chuyển vào hai loài và được giữ lại bởi quá trình chọn lọc thích nghi; một loài lai mới được hình thành; khu vực lai sẽ được tạo

ra mà không làm ảnh hưởng đến sự tồn tại của loài bố mẹ [170]. Nghiên cứu về con lai về động vật hoang dã ít được thực hiện tại Việt Nam mặc dù hiện tượng lai khác loài khá phổ biến.

Về chính sách quản lý, theo Nghị định 06/2019/NĐ-CP của Chính phủ thì loài lai là kết quả giao phối hay cấy ghép hai loài hoặc hai phân loài động vật hoặc thực vật với nhau. Trong trường hợp loài lai là kết quả giao phối hay cấy ghép giữa hai loài được quy định trong các Nhóm hoặc Phụ lục khác nhau, loài lai đó được quản lý theo loài thuộc Nhóm hoặc Phụ lục mức độ bảo vệ cao hơn [2]. Tuy nhiên việc xác định con lai tại Việt Nam mới được thực hiện khá hạn chế. Các cá thể lai do các hoạt động của con người tạo ra cần được loại ra khỏi các chương trình nhân nuôi bảo tồn.

Ví dụ điển hình ở loài Cá sấu xiêm bị lai tạo nhiều với hai loài Cá sấu nước mặn (*Crocodylus porosus*) và Cá sấu cuba (*Crocodylus rhombifer*) trong các cơ sở nuôi nhốt, vườn thú Hà Nội, vườn thú Lào và vườn thú Sài Gòn [39, 122]. Hiện nay loài này có tên trong phụ lục I của công ước CITES (2023) (bị cấm buôn bán dưới mọi hình thức) và thuộc nhóm IB trong Nghị định 84/2021/NĐ-CP. Nghiên cứu của Nguyễn và cộng sự (2018) thông qua sử dụng chỉ thị microsatellite đã xác nhận chỉ 80% các cá thể cá sấu nuôi nhốt tại các vườn thú tại Việt Nam và Lào là các cá thể thuần chủng và là nguồn con giống phù hợp cho các chương trình tái thả trong tương lai. Các cá thể lai cần được loại bỏ khỏi các chương trình bảo tồn, nhân nuôi tái thả. Nghiên cứu cũng xác nhận một cá thể ngoài tự nhiên tại khu vực Khammoune tại Lào cũng là cá thể thuần chủng bởi trước đó có nhiều nghi ngờ cá thể này không có nguồn gốc hoang dã mà bị thoát ra từ các trang trại gần đó. Mẫu phân của cá thể cá sấu hoang dã này đã được sử dụng để phân tích microsatellite. Việc phát hiện cá thể hoang dã thuần chủng có thể sẽ là cơ sở để phát hiện ra các quần thể mới trong tự nhiên.

Một ví dụ khác là các loài chà vá thuộc giống *Pygathrix*. Đây là nhóm loài đặc hữu của Đông Dương có phân bố ở phía Đông sông Mê Kông. Trước đây, chỉ có hai loài riêng biệt được công nhận: Chà vá chân nâu - *P. nemaeus* (Linnaeus,

1771), ở Bắc Trung Bộ Việt Nam, Trung Lào và Đông Bắc Campuchia [141] và Chà vá chân đen, *P. nigripes* (Milne-Edwards, 1871), có phân bố ở Nam Trung Bộ Việt Nam và Đông Bắc Campuchia. Chà vá chân xám - *P. nemeus cinereus* lần đầu tiên được mô tả là một phân loài của Voọc chà vá chân nâu, nhưng nghiên cứu di truyền học gần đây cho thấy có sự khác biệt ở cấp độ loài [146]. Việc nâng *P. cinerea* lên cấp độ loài cũng được hỗ trợ bởi các nghiên cứu các phân tích khác [49]. Brandon-Jones và cộng sự (2004) đã phân loại *P. cinerea* là một phân loài của *P. nemeus*, dựa vào những dẫn chứng chưa đầy đủ về các khu vực lai tạo và vùng phân bố. *P. cinerea* dường như được bao quanh bởi các quần thể *P. nemeus* và có bằng chứng cho thấy *P. cinerea* lai với *P. nemeus* khi cả hai có khu vực phân bố chung ở tỉnh Quảng Nam [96]. Tuy nhiên, không có dữ liệu cụ thể nào để kết luận về hiện tượng lai tạo trong ba loài thuộc giống *Pygathrix*. Có ý kiến cho rằng *P. cinerea* có nguồn gốc là loài lai giữa *P. nemeus* và *P. nigripes* [49]. Tuy nhiên, các nghiên cứu di truyền gần đây kết hợp dữ liệu ty thể, nhiễm sắc thể Y và nhiễm sắc thể thường cho thấy rằng cả ba loài trong giống *Pygathrix* đều có sự khác biệt và *P. cinerea* có quan hệ họ hàng gần với *P. nemeus* hơn là *P. nigripes* [146]. Mặc dù các dẫn liệu về sinh học phân tử hiện nay chưa thể đưa ra kết luận rõ ràng về vấn đề Chà vá chân xám có phải là loài lai hay không, nhưng nếu loài này là loài lai thì đây là loài lai trong tự nhiên mà không phải do tác động con người. Do đó, trong việc quản lý, loài này nên được coi như những loài tự nhiên khác.

** Phát hiện bệnh ở động vật hoang dã bằng chỉ thị sinh học phân tử*

Mặc dù nhiều bệnh có thể gây chết hàng loạt đối với nhiều quần thể động vật hoang dã, nghiên cứu tác động của bệnh đến thể trạng của động vật hoang dã vẫn ít nhận được sự quan tâm tại Việt Nam. Trong khi đó các bệnh có khả năng lây nhiễm từ dơi và chuột sang người được quan tâm nhiều hơn. Nghiên cứu của Berto và cộng sự (2017) đã xác nhận sự có mặt của paramyxovirus và coronavirus trên các mẫu phân dơi và chuột tại Việt Nam. Các chủng virus này cũng có quan hệ gần gũi với các chủng trên thế giới và cũng có những chủng mới trong quần thể Việt Nam. Năm 2020, nghiên cứu của Nguyễn Quỳnh Hương và cộng sự cũng phát hiện 6 loại

coronavirus đã biết ở dơi và các loài gặm nhấm tại các khu vực chợ cho thấy tiềm năng lây lan từ động vật sang người [17, 67]. Gần đây một số nghiên cứu trên lưỡng cư đã chỉ ra rằng trong hai loài nấm ký sinh *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*) và *B. salamandrivorans* (*Bsal*) - mối đe dọa lớn đối với đa dạng lưỡng cư, thì *B. salamandrivorans* (*Bsal*) xuất hiện nhiều hơn tại Việt Nam và cũng là nguồn lây sang châu Âu thông qua con đường buôn bán sinh vật cảnh [90, 128].

Các nghiên cứu về hai mầm gây bệnh nguy hiểm ở Rùa đầu to (*Platysternon megacephalum*) là *Mycoplasma* và *Herpesvirus* được thực hiện trên các mẫu vật thu trong buôn bán bằng phương pháp sàng lọc sử dụng kỹ thuật sinh học phân tử. Kết quả của nghiên cứu này cho thấy nhiều mẫu dương tính với hai loại mầm bệnh trên, tuy nhiên *Herpesvirus* dường như không gây bệnh cụ thể trên đối tượng nghiên cứu [64]. Ứng dụng của nghiên cứu này là xác định các cá thể khỏe mạnh để tái thả vào tự nhiên bởi chương trình Bảo tồn Rùa châu Á (ATP) [64].

* Một số ứng dụng chỉ thị sinh học phân tử trong đánh giá hiện trạng quần thể động vật hoang dã

Các nghiên cứu về cấu trúc di truyền quần thể, tỷ lệ giới tính vẫn còn hạn chế ở Việt Nam mặc dù các nghiên cứu này cung cấp thông tin quan trọng về hiện trạng nội tại của quần thể [5]. Các nghiên cứu về quần thể, giới tính sử dụng đa dạng các loại chỉ thị như microsatellite, SNP, mã vạch di truyền [192]. Việc các nghiên cứu này bị hạn chế nhiều chủ yếu là do tình trạng suy giảm của các quần thể tự nhiên và khó khăn trong việc thu mẫu và chi phí cao [46].

Nhận xét

Các phương pháp SHPT đã giúp giải quyết nhiều vấn đề khó khăn trong việc nghiên cứu với đối tượng động vật như khó khăn trong việc lấy mẫu, bảo quản mẫu đồng thời giải quyết các vấn đề liên quan đến bảo tồn:

+ Trong phân loại học, phương pháp sinh học phân tử giúp đưa ra các thông tin về khác biệt di truyền có tính chính xác và hiệu quả cao ở cấp độ loài hoặc dưới loài. Các thông tin này dựa trên việc so sánh trình tự các đoạn gen ty thể hoặc gen nhân có sự tốc độ biến đổi phù hợp với mục đích định danh như giám định hỗ trợ pháp luật, xác định quan hệ di truyền, sàng lọc, đánh giá tình trạng sức khỏe...

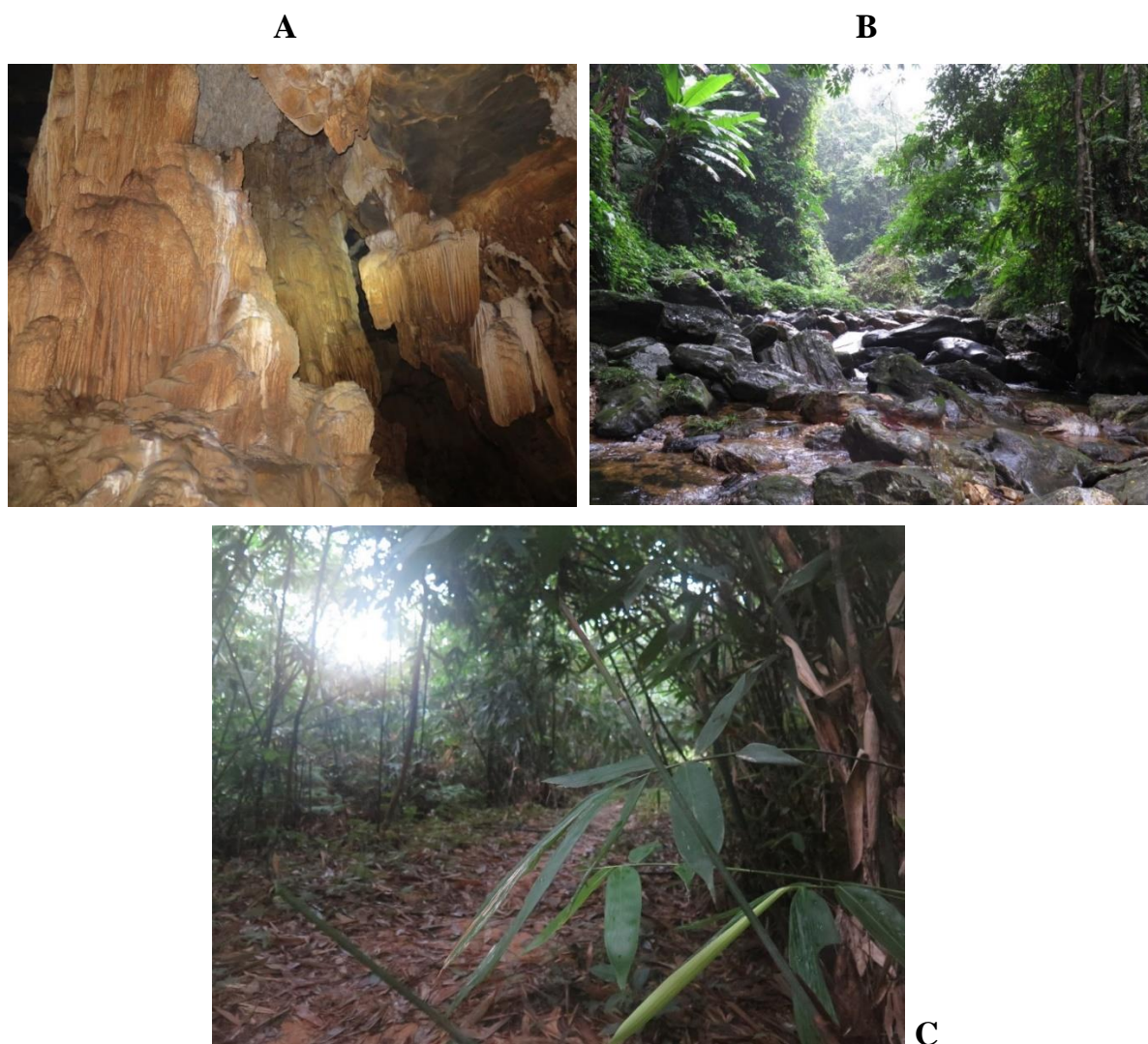
+ Nghiên cứu di truyền quần thể giúp đánh giá chính xác hiện trạng đa dạng di truyền trong quần thể, đánh giá giao phối cận huyết, thắt cổ chai từ đó xây dựng kế hoạch bảo tồn hiệu quả đến cấp độ quần thể.

+ Các cơ sở dữ liệu sinh học phân tử đang ngày càng phát triển và lượng thông tin lưu trữ rất lớn từ nghiên cứu hệ gen là nguồn thông tin hữu ích cho các nghiên cứu trong tương lai ứng dụng trong bảo tồn.

1.3. Tổng quan về đối tượng nghiên cứu

1.3.1. Các nghiên cứu Khu hệ thú nhỏ tại vùng núi đá vôi Đông Bắc

Vùng đá vôi phía Đông Bắc Việt Nam có các mỏm đá vôi lớn được bao quanh bởi các đồi và núi thấp [157, 158]. Các đỉnh núi đá vôi tạo thành một cao nguyên rộng lớn nhưng bị chia cắt nhiều [157]. Khu vực này có đa dạng các loại sinh cảnh như hang đá, rừng tre nứa, suối, vũng nước, thác cao và sự thay đổi sinh cảnh rừng theo đai độ cao (Hình 1.1).



Hình 1.1. Một số dạng sinh cảnh tại khu bảo tồn thiên nhiên Chạm Chu, Tuyên Quang; (Ảnh: Nguyễn Thị Thắm) A: Sinh cảnh hang động B: Suối nước chảy mạnh C: Rừng tre nứa

Khu vực Đông Bắc cũng là nơi cư trú của nhiều loài thú đặc hữu, [23] điển hình như: Voọc mũi hếch *Rhinopithecus avunculus* [116], Chuột núi đào văn tiến *Tonkinomys daovantieni* [104, 115] và Vượn cao vút *Nomascus nasutus* [106] (Hình 1.2). Thêm vào đó, khu vực này còn nằm trong khu đa dạng thú thuộc tiểu vùng sông Mê Kông nên đây là một khu vực quan trọng trong nghiên cứu đa dạng các loài thú ở khu vực châu Á.



Hình 1.2. Một số loài thú nhỏ trong khu vực nghiên cứu

Tên loài theo thứ tự từ trái sang phải

Hàng trên: *Crocidura tanakae*, *Rattus nitidus*, *Lyroderma lyra*, *Hipposideros armiger*,

Hàng dưới: *Chimarrogale himalayca*, *Niviventer fulvescens*

Các nghiên cứu trước đây về khu hệ thú nhỏ ở vùng núi đá vôi Đông Bắc như nghiên cứu của Nguyễn Trường Sơn và cộng sự (2011), Đặng Huy Huỳnh và cộng sự (2008) chủ yếu tập trung vào việc lập danh mục thành phần loài và đánh giá tình trạng bảo tồn, hiện trạng quần thể thông qua phỏng vấn, quan sát và phân biệt sơ bộ hình thái [4, 6]. Do đó, tình trạng phân loại và tình trạng bảo tồn của nhiều loài thú nhỏ trong khu vực này cần được nghiên cứu chi tiết hơn. Một số loài thú nhỏ trong khu vực nghiên cứu được ghi nhận như Dơi mũi lá đông bắc (*Aselliscus dongbacanus*) [171], Dơi mũi ống nhỏ (*Murina eleryi*) [43] tại Bắc Cạn, Chuột chù

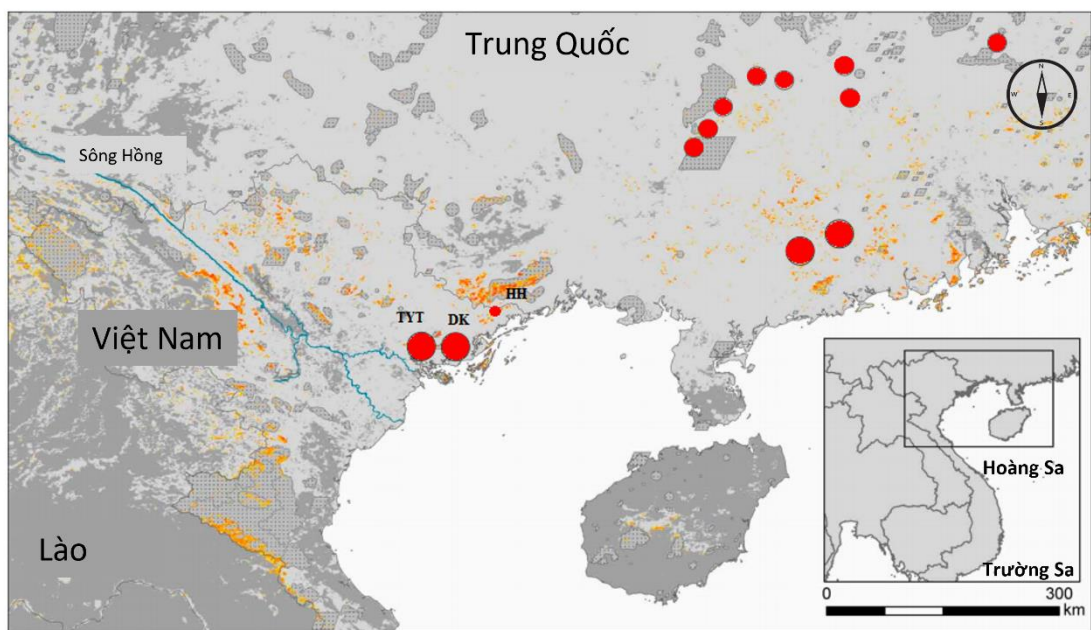
cao văn sung *Chodsigoa caovansunga* [102] tại Tây Côn Lĩnh (Hà Giang) là một số loài thú nhỏ mới được công bố gần đây. Trong đó nghiên cứu về Dơi mũi lá đông bắc và Dơi mũi ống nhỏ đã kết hợp so sánh đoạn gen *COI* với dữ liệu hình thái để mô tả loài mới.

Hiện nay, thú nhỏ thường ít nhận được sự quan tâm bảo tồn ở Việt Nam mặc dù chúng đóng một vai trò quan trọng trong việc duy trì các dịch vụ hệ sinh thái quan trọng. Các loài này đặc biệt bị đe dọa vì thiếu dữ liệu về tình trạng bảo tồn và tính dễ bị tổn thương của chúng trước các tác động của con người. Do đó, việc tiến hành các nghiên cứu chuyên sâu để hiểu rõ hơn về mức độ đa dạng, phân bố và các đặc điểm hình thái và di truyền của các đơn vị phân loại tại khu vực này là thực sự cần thiết.

Việc kết hợp phân tích hình thái ngoài và hợp sọ với sinh học phân tử đang ngày càng trở nên phổ biến trong nghiên cứu phân loại học của các loài thú nhỏ và đã được thực hiện trong công trình công bố một số loài mới cho khoa học như Chuột đá đào văn tiến và Dơi lá đông bắc [171]. Tuy nhiên, nghiên cứu đánh giá khu hệ thú nhỏ áp dụng việc kết hợp các số liệu về hình thái và sinh học phân tử cũng chỉ mới được thực hiện với Khu bảo tồn thiên nhiên Hữu Liên, Lạng Sơn từ năm 2007 [104]. Nghiên cứu này sẽ mở rộng khu vực nghiên cứu và giúp giải quyết các câu hỏi về phân loại học chưa có lời giải và giúp bảo vệ tốt hơn các loài thú nhỏ. Trong nghiên cứu này, các nhóm thú nhỏ được đề cập đến bao gồm bộ Nhiều răng, bộ Ăn sâu bọ, bộ Dơi, và bộ Gặm nhấm.

1.3.2 Quần thể Thần lằn cá sấu (*Shinisaurus crocodilurus*)

Thần lằn cá sấu (*Shinisaurus crocodilurus*) lần đầu được phát hiện tại Trung Quốc vào năm 1930 và ghi nhận phân bố trong các vùng rừng có thời tiết ôn hòa ở vùng Hồ Nam, Quảng Tây, Quý Châu (Trung Quốc). Loài này lần đầu được ghi nhận ở Việt Nam bởi Lê và Ziegler vào năm 2003 [94]. Năm 2016, loài được ghi nhận khu vực phân bố mới tại vùng núi thuộc huyện Hải Hà tại tỉnh Quảng Ninh [183] (Hình 1.3) .



Hình 1.3. Khu vực phân bố của Thần lằn cá sấu (*Shinisaurus crocodilurus*) tại Việt Nam và Trung Quốc (Theo Huang và cộng sự (2014) có chỉnh sửa) [66]. Các điểm màu đỏ là các địa điểm có phân bố của loài. (TYT: Tây Yên Tử; DK: Đồng Sơn Kỳ Thượng; HH: Hải Hà)

Thần lằn cá sấu là một loài động vật quý hiếm có khả năng tuyệt chủng cao vì phải chịu nhiều mối đe dọa nghiêm trọng do con người gây ra như mất và phân mảnh môi trường sống do khai thác than đá, xây đập thủy điện, đánh cá bằng điện và săn bắt trái phép để buôn bán làm cảnh (Hình 1.4) [179, 180]. Các đánh giá của Huang và cộng sự và van Schigen và cộng sự ước tính ở Trung Quốc còn khoảng 950 cá thể và ở Việt Nam có khoảng 150 cá thể trưởng thành [65, 180, 181, 184]. Tuy nhiên, năm 2021, nghiên cứu của Ngô Thị Hạnh và cộng sự ước tính quần thể tại Việt Nam chỉ còn khoảng dưới 100 cá thể ở Việt Nam sau những chuyến khảo sát ở miền Bắc. Với những mối đe dọa về phân mảnh vùng phân bố và suy giảm mạnh môi trường sống Liên minh Bảo tồn Thiên nhiên Quốc tế (IUCN) đã xếp loài này vào tình trạng nguy cấp (EN), và Công ước về buôn bán quốc tế các loài động thực vật hoang dã (CITES) xếp loài này vào Phụ lục I [66, 180, 182].



Hình 1.4. Thần lằn cá sấu bị buôn bán (Ảnh: van Schigen)

Đánh giá ban đầu về sự biến đổi di truyền và hình thái của các quần thể bị cô lập về mặt địa lý dựa trên một bộ dữ liệu hạn chế chưa chỉ ra sự khác biệt chính xác giữa các quần thể [197]. Tuy nhiên, nghiên cứu gần đây của van Schigen và cộng sự (2016) dựa trên dữ liệu phân tử, hình thái và sinh thái toàn diện hơn cùng với mô hình sinh thái học cho thấy các quần thể từ Việt Nam và Trung Quốc đại diện cho ít nhất hai đơn vị bảo tồn và phân loại riêng biệt, dẫn đến việc mô tả quần thể tại Việt Nam là một loài phụ riêng biệt, *Shinisaurus crocodilurus vietnamensis* [183].

Mặc dù các nghiên cứu hình thái và sinh thái học cho thấy có sự khác biệt giữa Thần lằn cá sấu Trung Quốc và Việt Nam [183, 197, 199], các phân tích sinh học phân tử với dữ liệu hạn chế chưa thể giải quyết rõ ràng các mối quan hệ phát sinh loài của các quần thể. Trong đó, các nghiên cứu trước đây sử dụng chỉ thị sinh học phân tử có nguồn gốc từ ty thể đều chỉ ra rằng các mẫu từ Việt Nam tách thành một nhánh riêng biệt và các mẫu từ Trung Quốc được chia thành hai nhánh độc lập

với một nhánh tiến hóa chỉ nhận được chỉ số xác suất nhánh thấp trong cả phân tích Bayesian và hợp lý tối đa (Maximum Likelihood) [66]. Tuy nhiên, phân tích dữ liệu microsatellite của Huang và cộng sự (2014) và nghiên cứu gần đây sử dụng dữ liệu hệ gen của Xie và cộng sự cho thấy các quần thể ở Trung Quốc được chia thành tổng cộng ba, thay vì hai nhóm di truyền riêng biệt [66, 192].

Để xây dựng được kế hoạch bảo tồn cho loài bò sát nguy cấp này, cần phải có các thông tin cụ thể về đa dạng di truyền, mức độ khác biệt giữa các quần thể Việt Nam và Trung Quốc nằm trong vùng phân bố. Trong nghiên cứu này, các phân tích và đánh giá mức độ đa dạng di truyền của các quần thể tại Việt Nam và Trung Quốc được thực hiện dựa trên dữ liệu đoạn gen ty thể bao gồm gen cytochrome *b*, một phần *ND6* và *tRNA-Glu* và 8 locus microsatellite. Dữ liệu thu được được so sánh với các dữ liệu từ các nghiên cứu của Huang và cộng sự (2014). Nguồn gốc và vị trí phân loại của các cá thể trong nuôi nhốt và buôn bán cũng được xác định thông qua phân tích di truyền dựa trên các gen ty thể. Kết quả của nghiên cứu này sẽ đóng góp các thông tin hữu ích cho việc bảo tồn các quần thể trong tự nhiên, thông tin về nguồn tái thả trong tương lai, giúp tránh lai chéo giữa các cá thể không cùng nguồn gốc trong điều kiện nuôi nhốt và giúp xây dựng phương pháp ứng dụng chỉ thị sinh học phân tử cho các nghiên cứu về các quần thể loài bò sát quý hiếm trong tự nhiên, trong điều kiện Việt Nam.

1.3.3 Quần thể Voi châu á tại vườn quốc gia Yok Đôn

Voi châu á trước đây sống từ Tây Á dọc theo bờ biển Iran vào tiểu lục địa Ấn Độ, về phía Đông của Đông Nam Á bao gồm Sumatra, Java và Borneo, và đến khu vực sông Dương Tử Trung Quốc [95, 163, 164]. Chúng được xếp vào mức Nguy cấp (EN) trong Danh lục Đỏ IUCN [189] và mức Cực kỳ nguy cấp theo Sách Đỏ Việt Nam và được đưa vào Phụ lục I của công ước CITES do các hoạt động buôn bán ngà voi đã và đang diễn ra rất sôi động trên phạm vi toàn cầu. Công ước CITES xây dựng chương trình MIKE (Monitoring the Illegal Killing of Elephants) gồm 28 điểm ở 13 quốc gia với mục đích giám sát lâu dài các quần thể Voi châu á tại cuộc họp lần thứ 41 của Ủy ban thường trực CITES

tháng 2 năm 1999. Tại Việt Nam, loài đã từng phân bố khá rộng từ Lai Châu dọc theo dãy Trường Sơn tới Bình Phước, Tây Ninh và một số tỉnh duyên hải Nam Trung Bộ như Bình Thuận, Ninh Thuận, Bà Rịa – Vũng Tàu [105]. Vào khoảng năm 1980, ước tính số voi hoang dã của Việt Nam còn khoảng 1.500 – 2000 cá thể [105, 110]. Tính đến năm 2006 Việt Nam chỉ còn khoảng 76-94 cá thể ngoài tự nhiên và khoảng 165 cá thể voi nhà theo ước tính của Sukumar năm 2006 [164]. Hiện nay, theo số liệu từ năm 2019, số cá thể voi hoang dã tại Việt Nam là khoảng dưới 100, phân bố của yếu ở ba tỉnh Nghệ An, Quảng Nam và Đắk Lắk với tình trạng phân mảnh rõ rệt thành các nhóm nhỏ từ 1-80 cá thể và một số nhóm có liên kết với các quần thể tại Lào và Campuchia [110].

Những thách thức đối với việc bảo tồn voi ở hầu hết các quốc gia là mất, suy giảm và phân mảnh môi trường sống, xung đột với người, săn trộm và buôn bán trái phép [59, 95, 110, 163, 164]. Cùng với những hạn chế trong việc giám sát các quần thể voi trong tự nhiên và các biện pháp, chính sách bảo tồn còn chưa hợp lý, các nỗ lực trong việc bảo tồn Voi châu á mặc dù khá nhiều nhưng chưa giúp chúng ta có các thông tin đầy đủ về các quần thể của loài và có biện pháp bảo tồn một cách phù hợp [60, 164].

Voi châu á là loài có phạm vi hoạt động lớn bởi chúng thường dành 12-18 tiếng mỗi ngày cho việc tìm kiếm thức ăn là các loài thực vật và phụ thuộc theo mùa [61, 162, 164]. Các nghiên cứu về loài bằng cả phương pháp hiện đại và cổ điển vẫn được thực hiện. Bằng việc sử dụng bẫy ảnh, nhóm Petit và cộng sự (2021) đã xác định số lượng cá thể và đề xuất khu vực bảo tồn phù hợp cho quần thể Voi châu á tại khu bảo tồn Phu Khieo (Thái Lan) [133]. Phương pháp bẫy ảnh để nhận diện cá thể cũng được áp dụng để nghiên cứu ước tính mật độ quần thể tại vùng Đông Nam Trung Quốc thông qua sử dụng mô hình không gian bắt thả bắt lại (SECR) [165]. Tuy nhiên các phương này về cơ bản giúp định dạng các cá thể khác nhau nhưng vẫn có hạn chế là không cung cấp thông tin về dạng di truyền, mức độ giao phối cận huyết của quần thể được nghiên cứu.

Vườn quốc gia Yok Đôn là nơi có số lượng đàn voi lớn nhất trên cả nước và chủ yếu di chuyển qua vùng biên giới giữa Việt Nam và Campuchia. Mặc dù Gray và cộng sự (2014) đã nghiên cứu về di truyền quần thể đối với đàn voi ở Campuchia, tuy nhiên nghiên cứu về voi tại Yok Đôn hiện vẫn chưa được thực hiện [46]. Việc tuần tra, khảo sát quần thể voi vẫn liên tục được thực hiện bởi Trung tâm Bảo tồn voi Đắc Lắc và kiểm lâm VQG Yok Đôn. Nghiên cứu về voi tại Campuchia từ năm 2014 của nhóm Gray và cộng sự ghi nhận có sự di chuyển của đàn voi từ Cam-pu-chia sang Việt Nam vào mùa khô.

Các đối tượng nghiên cứu được lựa chọn trong nghiên cứu này bao gồm khu hệ thú nhỏ vùng núi đá vôi Đông Bắc, Thần lằn cá sấu và Voi châu á.

** Khu hệ thú nhỏ tại khu vực núi đá vôi Đông Bắc*

Khu hệ thú nhỏ đặc trưng của vùng núi đá vôi Đông Bắc với nhiều loài đặc hữu phân bố hẹp nhưng ít nhận được quan tâm về bảo tồn. Thêm vào đó, nhiều loài chưa được xác định được vị trí phân loại rõ ràng sẽ gây khó khăn cho các nỗ lực bảo tồn như nhóm Đồi (*Tupaia*), Chuột chũi (*Euroscaptor*) và một số loài gặm nhấm khác.

** Quần thể Thần lằn cá sấu tại Việt Nam*

- Là loài duy nhất trong một họ đơn giống do đó có đặc trưng hoàn toàn riêng biệt về tiến hóa và đang được phân loại ở mức nguy cấp (EN) theo IUCN. Đặc biệt, quần thể tại Việt Nam tại ba khu vực phân bố của loài bao gồm khu vực núi Tây Yên Tử, KBTTN Đông Sơn Kỳ Thượng và huyện Hải Hà chỉ còn khoảng dưới 100 cá thể do việc săn bắt và mất sinh cảnh diễn ra trong một thời gian dài và chưa có dấu hiệu giảm sút. Thêm vào đó các quần thể phân bố tại Việt Nam và Trung Quốc có sự khác biệt đáng kể về mặt hình thái và di truyền. Điều này làm tăng mức độ nguy cấp của quần thể tại Việt Nam lên nhiều lần.

- Trong những năm gần đây, các quần thể bị suy giảm mạnh vì bị săn bắt trái phép vì mục đích buôn bán làm cảnh. Do đó cần có biện pháp nhân nuôi bảo tồn phù hợp để tái thả các cá thể tích thu từ các vụ buôn bán về đúng vùng phân bố tự nhiên.

** Quần thể Voi châu á tại VQG Yok Đôn*

- Quần thể di chuyển thường xuyên giữa biên giới hai nước gây khó khăn trong quản lý bảo tồn.

- Loài đang trong tình trạng nguy cấp EN theo IUCN. Theo ước tính trước đó của Gray và cộng sự (2014, chỉ còn khoảng 42 cá thể Voi châu á còn di chuyển qua lại giữa biên giới hai nước Việt Nam – Cam-pu-chia tại khu vực VQG Yok Đôn [46]. Tuy nhiên, hiện nay chưa có nghiên cứu ước tính số lượng cá thể, đánh giá hiện trạng quần thể bằng phương pháp sinh học phân tử tại VQG Yok Đôn.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

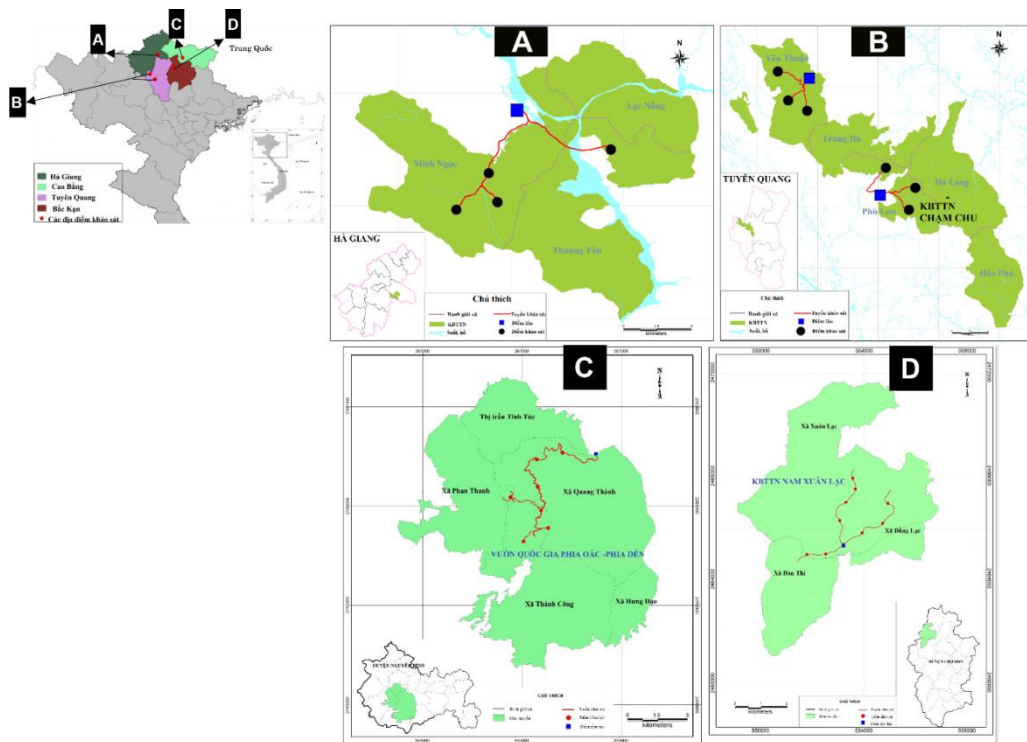
2.1. Phương pháp nghiên cứu

2.1.1. Thu thập mẫu vật

Thu mẫu thú nhỏ tại vùng núi đá vôi Đông Bắc

Khảo sát thực địa: đã tiến hành 8 đợt khảo sát tại 4 khu vực bao gồm KBTTN Chạm Chu (Tuyên Quang), KBTTN Bắc Mê (Hà Giang), VQG Phia Oắc – Phia Đén (Cao Bằng), KBTTN Nam Xuân Lạc, Bắc Kạn đã được tiến hành. Tại mỗi khu vực, tiến hành 2 đợt khảo sát (1 đợt vào mùa mưa và 1 đợt vào mùa khô) mỗi đợt 7 ngày trong thời gian từ cuối năm 2018 đến cuối năm 2021. Đã thực hiện phỏng vấn với người dân địa phương để thu thập thông tin cơ bản về khu hệ nhằm xác định các địa điểm khảo sát thích hợp trong khu vực. Những người được phỏng vấn bao gồm nhân viên của khu bảo tồn, kiểm lâm và thợ săn.

Các tuyến khảo sát được thiết lập dựa trên bản đồ địa hình và độ che phủ rừng, các đường mòn hiện có và các tuyến mới để điều tra khu hệ tại các loại sinh cảnh khác nhau (Hình 2.1). Trong quá trình khảo sát, các thành viên trong nhóm khảo sát đi bộ dọc theo tuyến điều tra với tốc độ 1-1,5km/giờ. Các thành viên lắng nghe âm thanh và quan sát các loài mục tiêu hoặc các dấu hiệu cho thấy sự hiện diện của cá thể cũng như ghi lại những tác động của con người lên sinh cảnh tự nhiên.



Hình 2.1. Các điểm khảo sát tại khu vực núi đá vôi Đông Bắc A: KBTTN Bắc Mê, B: KBTTN Chạm Chu, C: VQG Phia Oắc – Phia Đén, D: KBTTN Nam Xuân Lạc (Biên tập từ dữ liệu bản đồ các tỉnh).

Các loại bẫy khác nhau đã được sử dụng trong các chuyến khảo sát phù hợp với từng đối tượng khác nhau:

- Các loài gặm nhấm: Bẫy Sherman (bẫy hộp) với kích thước lớn hơn được sử dụng để bắt các loài thuộc giống các *Maxomys*, *Niviventer*, *Rattus*, *Mus* và chuột chù. Bẫy Sherman (bẫy hộp) với kích thước trung bình được sử dụng cho các loài thuộc giống các *Crocidura*, *Brarinella*, *Chodsigoa*, *Episoriculus*, *Hylomys* và Chuột chù nước Bẫy lồng với kích thước lớn được đặt để thu thập các loài thuộc các giống *Leopoldamys*, *Bandicota*, *Berylmys* và các bẫy địa phương dùng cho các loài thuộc giống *Callosciurus*, *Dremomys*, *Tamiops*, *Menetes*. Bẫy Pitfall hoạt động tốt với các loài gặm nhấm kích thước nhỏ, giống *Mus* và các giống Chuột chù *Crocidura*, *Brarinella*, *Chodsigoa*, *Episoriculus*, *Hylomys* và thậm chí cả các loài thuộc giống *Niviventer* có kích thước lớn hơn. Nghiên cứu này đã sử dụng 20 bẫy đặt dọc theo

những con đường mòn hoặc theo dấu vết của chuột chũi có thể quan sát được (Hình 2.2). Bẫy hàng rào cũng được sử dụng là các bẫy cao 0,5m và được đóng cố định xuống đất bằng đinh với khoảng cách 3-4m. Hàng rào chạy qua giữa mỗi bẫy. Mỗi hàng gồm 10-20 bẫy với tổng chiều dài từ 50-100m.

Tùy thuộc vào môi trường sống và môi trường xung quanh, bẫy được đặt trên mặt đất hoặc các thân cây đổ ven suối hoặc dọc theo sinh cảnh sống thích hợp. Khoảng cách giữa các bẫy tùy thuộc vào mức độ phức tạp của địa hình. Địa hình càng phức tạp bẫy càng được đặt gần nhau. Bẫy được đặt trên cành cây hoặc trên mặt đất. Các bẫy được đánh dấu bằng các dây bất sáng và được đánh số để tránh bị bỏ sót trong quá trình kiểm tra. Mồi sử dụng trong bẫy có mùi hấp dẫn các loài gặm nhấm từ xa, dính và chậm phân hủy. Hỗn hợp bao gồm bơ đậu phộng, bột mì, nho khô và thịt lợn trộn theo tỷ lệ 6: 2: 2: 1. Ngoài ra, các loại mồi địa phương khác như sắn, xôi lạc, quả khô cũng được sử dụng. Mồi được thay hàng ngày vào lúc chạng vạng để thu hút các loài ăn đêm. Tuy nhiên, vì một số loài cũng hoạt động vào ban ngày, nên mồi cũng được thay vào buổi sáng khi kiểm tra bẫy.



Hình 2.2. Bẫy chuyên dụng thu chuột chũi (Ảnh: Nguyễn Thị Thắm)

- Các loài dơi: lưới mờ và bẫy thụ cầm đã được bố trí để thu mẫu dơi tại các đường mòn trong rừng, bìa rừng, khe suối hoặc bên ngoài cửa hang (Hình 2.3).



Hình 2.3. Đặt lưới mờ trước cửa hang (Ảnh: Nguyễn Thị Thắm)

Bẫy thụ cầm cũng được đặt ở các địa điểm tương tự. Lưới mờ và bẫy thụ cầm được đặt từ 17:30 - 18:00 đến 22:00 - 23:00 và kiểm tra 20 phút một lần trước khi trời tối (Hình 2.3). Sau khi trời tối hẳn, lưới mờ và bẫy thụ cầm được kiểm tra thường xuyên hơn để đảm bảo dơi không bị chết vì vướng vào lưới quá lâu.

Tổng cộng 237 mẫu vật từ cả 4 khu vực nghiên cứu (Phụ lục 1) đã được thu thập, đo đếm hình thái để định loại. Trong đó có 35 mẫu vật (Bảng 3.8) có hình thái ngoài khó phân biệt đã được thu mẫu ADN để phân tích.

- Lấy mẫu ADN: Mẫu mô cơ hoặc gan được lấy từ các mẫu vật đại diện cho các nghiên cứu phân loại và phát sinh loài cho phân tích ADN. Ngoài ra, nghiên cứu sử dụng một số mẫu vật như mẫu Đồi thu tại VQG Cát Bà, KBTTN Hữu Liên, KBTTN Tây Côn Lĩnh từ các đợt khảo sát trước đây của các chuyên gia thuộc Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật.

Xử lý mẫu vật: Tất cả các mẫu thu trên thực địa được định danh tạm thời và các dữ liệu như độ tuổi, giới tính và hình thái cơ bản cũng được ghi lại. Những cá thể khó định danh được thu làm mẫu vật tiêu bản để nghiên cứu chi tiết hơn tại phòng thí

nghiệm tại Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật. Các mẫu vật được bảo quản trong cồn 70% và lưu trữ tại Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

Thu mẫu Thần lằn cá sấu

Đối với nhóm Thần lằn cá sấu, chúng thường sống ở những suối có tốc độ chảy nhanh do đời sống bán thủy sinh (Hình 2.4). Về đêm, chúng thường nằm trên các cành cây và thường đứng yên khi có ánh sáng chiếu vào (Hình 2.5). Do đó, mẫu vật được thu thập bằng tay. Danh sách mẫu vật bao gồm 50 mẫu vật thu ngoài tự nhiên tại Việt Nam (KBTTN Tây Yên Tử, Yên Tử và KBTTN Đồng Sơn – Kỳ Thượng, huyện Hải Hà, Quảng Ninh), 127 mẫu vật cần xác định nguồn gốc từ các vườn thú châu Âu và buôn bán, 14 trình tự tham khảo của loài trên GenBank và 3 trình tự nhóm ngoài được thể hiện ở Phụ lục 3.



Hình 2.4. Sinh cảnh sống của Thần lằn cá sấu (*Shinisaurus crocodilurus*)

[182]

Mẫu vật được bắt bằng tay, đo đếm các chỉ số hình thái cơ bản và chụp ảnh. Mẫu vật dùng cho phân tích ADN là một mẫu chóp đuôi hoặc da và ngâm trong dung dịch cồn 70% để bảo quản. Sau đó, cá thể được thả lại ngay tại địa điểm đã thu mẫu.



Hình 2.5. Cá thể Thần lằn cá sấu bám trên cành cây (Ảnh: Phan Quang Tiến)

Thu mẫu phân Voi châu á tại Vườn quốc gia Yok Đôn

Voi là loài động vật lớn và di chuyển trong một khu vực rộng lớn nên rất khó để thu mẫu trực tiếp. Vì vậy, nghiên cứu này tiến hành thu mẫu phân để phân tích ADN. Do Yok Đôn có hai mùa mưa và mùa khô nên cần thiết lập phương án thu mẫu trong một mùa khô duy nhất để tránh mẫu bị phân rã bởi nước mưa và đánh giá chính xác tình hình voi di chuyển trong một năm. Thêm vào đó, vào mùa khô, voi thường xuất hiện tại các điểm có nguồn nước và thức ăn nên dễ dàng xác định địa điểm để thu mẫu.

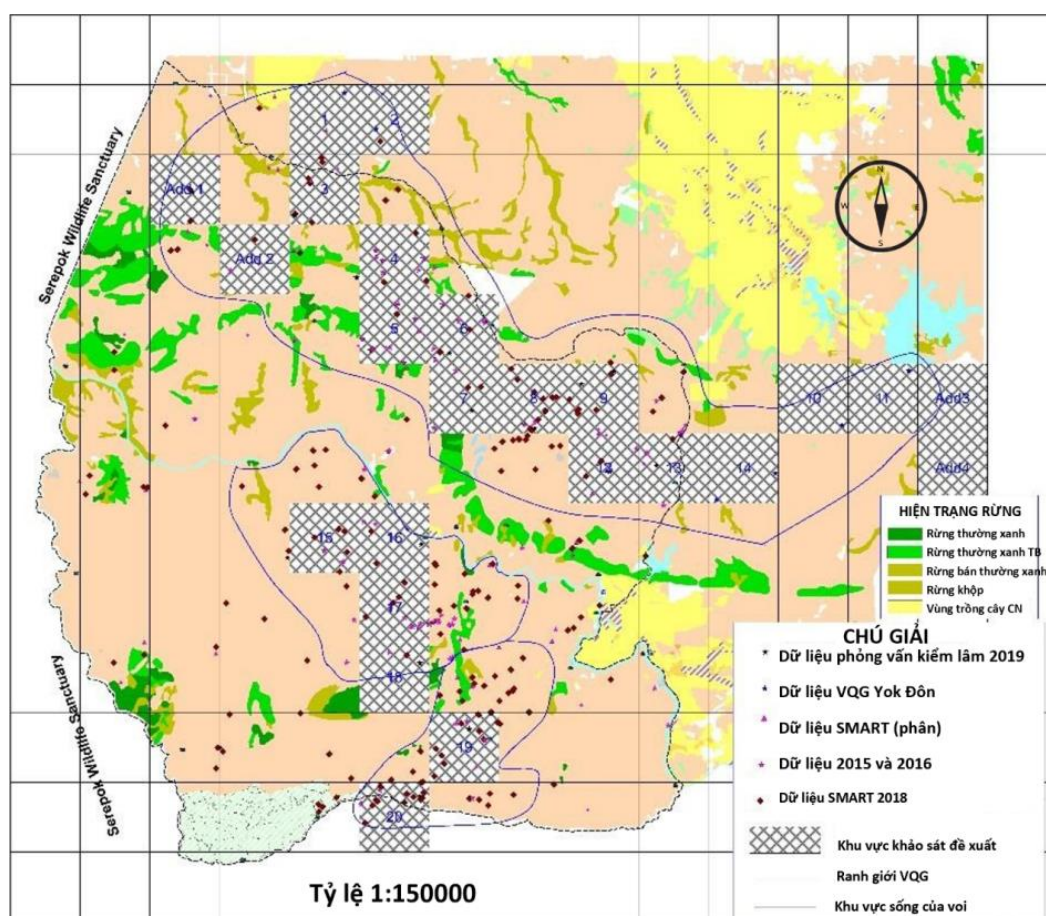
Để quy trình thu mẫu ngoài thực địa đạt hiệu quả cao vào mùa khô 2019-2020, các địa điểm thu mẫu đã được khảo sát và xác định trước từ mùa khô 2018-2019. Các dấu hiệu về sự hiện diện của voi như dấu chân và phân voi đã được quan sát và đánh dấu lại trong bước khảo sát thí điểm theo quy trình:

Bước 1: Nhóm khảo sát thảo luận với các cán bộ kiểm lâm hiện trường, cán bộ bảo vệ rừng để xác định các điểm khảo sát (dấu vết/đường đi của voi, điểm liếm muối, hố nước...) theo từng ô tiêu chuẩn (4x4km)

Thiết lập 24 ô tiêu chuẩn và một điểm tại Vườn Quốc gia Yok Đôn để thực hiện các cuộc điều tra thăm dò nhằm tìm dấu vết của voi. Để đạt được mục tiêu đầu tiên, các thông tin có trước đây về các điểm xuất hiện của voi trong VQG được tổng hợp, bao gồm:

- 1) Điểm khảo sát là nơi có nhiều thông tin về sự hiện diện của voi do kiểm lâm tại địa bàn cung cấp (dữ liệu phỏng vấn năm 2019);
- 2) Phân và dấu chân voi được cán bộ kiểm lâm viên ghi lại trong quá trình tuần tra từ cơ sở dữ liệu SMART năm 2017 và 2018
- 3) Dấu hiệu của voi được ghi nhận trong các chuyến điều tra năm 2015 và 2016.

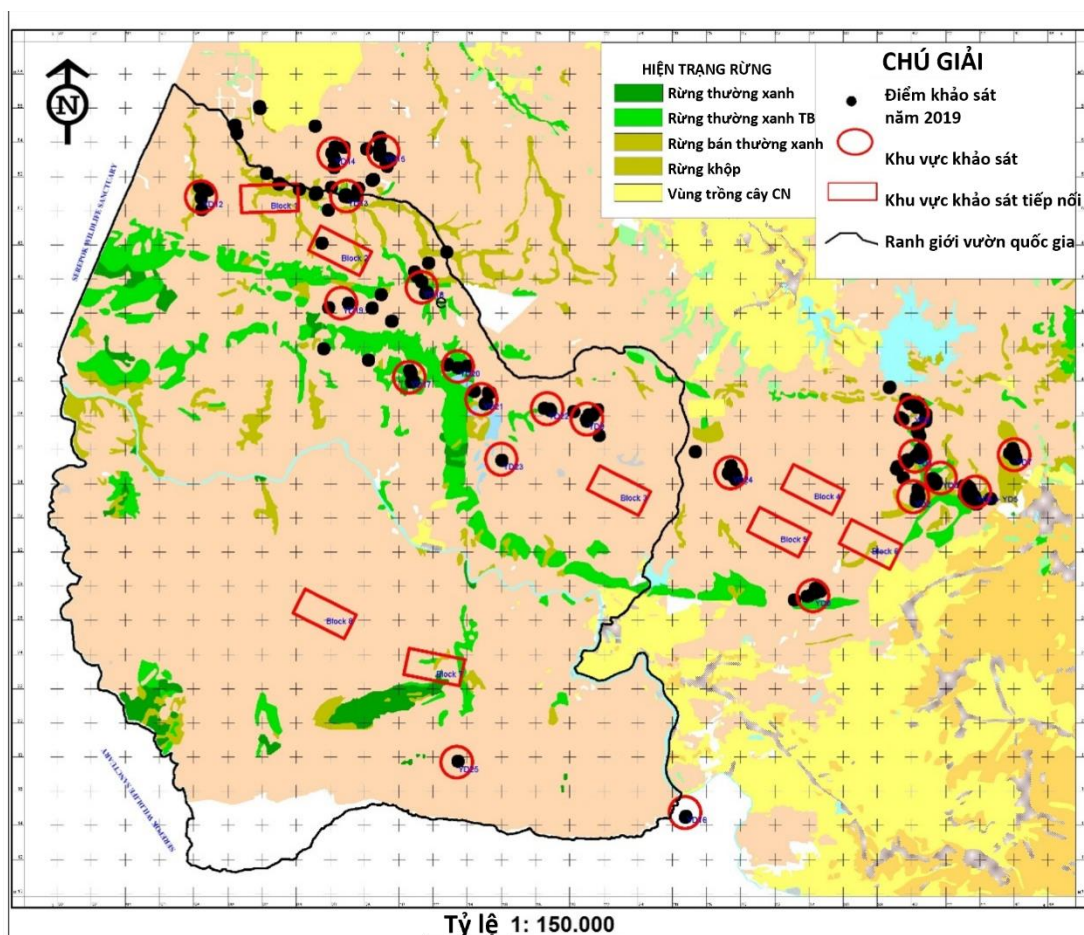
Chồng ba lớp thông tin lên bản đồ để tạo ra các ô tiêu chuẩn với kích thước mỗi chiều 4 km (diện tích của từng ô sẽ tương tự như hình tròn bán kính 2 km) bao phủ sinh cảnh sống của quần thể voi hoang dã. Tổng cộng có 15 ô bên trong VQG Yok Đôn có chứa cả ba lớp thông tin về dấu hiệu xuất hiện của voi như đã đề cập ở trên và 5 ô bên ngoài VQG Yok Đôn bao gồm các điểm khảo sát (được giám sát bởi Trung tâm bảo tồn voi Đắc Lắc DECC trong những năm gần đây) được xác định là các khu vực điều tra mẫu phân voi. Hai ô bổ sung ở phía Tây Bắc của VQG Yok Đôn cũng được chọn để khảo sát vì các ô này có vai trò quan trọng trên các hành lang di chuyển của voi (kiểm lâm thường xuyên ghi nhận dấu hiệu của voi khi tuần tra). Chi tiết được thể hiện trong Hình 2.6.



Hình 2.6. Bản đồ xác định ô tiêu chuẩn cho khảo sát thực nghiệm thu mẫu phân Voi châu á tại VQG Yok Đôn (ô hình vuông gạch chéo màu xanh). Chấm màu đỏ: các điểm bắt gặp voi được ghi nhận thông qua các cuộc khảo sát và phỏng vấn. (Biên tập từ dữ liệu giám sát VQG Yok đôn)

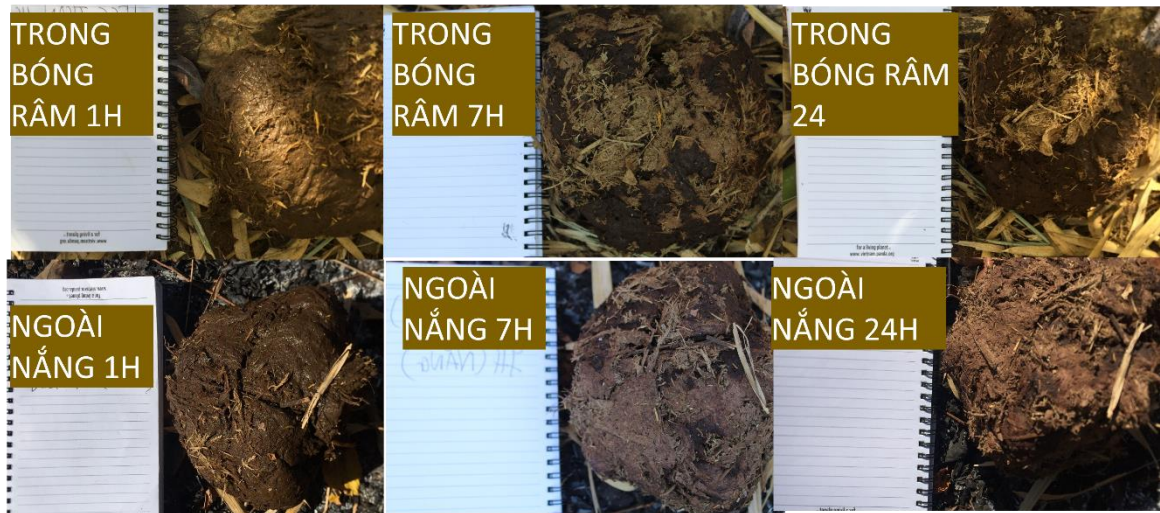
Bước 2: Điều tra tất cả các điểm khảo sát và khu vực lân cận để phát hiện phân voi. Ghi lại thông tin vào biểu dữ liệu và thu mẫu để thử nghiệm quy trình phân tích trong phòng thí nghiệm.

Bước 3: Lập bản đồ tất cả các lớp thông tin mới thu thập và phân tích để chọn điểm khảo sát và ô tiêu lấy mẫu cho khảo sát trong mùa khô 2019 – 2020 (Hình 2.7).



Hình 2.7. Bản đồ 23 điểm lấy mẫu phân Voi châu á tại VQG Yok Đôn vào mùa khô năm 2019 – 2020 (Biên tập từ dữ liệu giám sát VQG Yok Đôn)

Vào mùa khô năm 2019 – 2020, tổng cộng 108 mẫu đã được thu thập, trong đó có 35 mẫu lông đuôi được thu từ voi nhà và 73 mẫu phân voi hoang dã được thu tại các điểm nghiên cứu trong và ngoài VQG Yok Đôn (Hình 2.7). Các điểm thu được mẫu chủ yếu tại các điểm như vườn điều, vườn sắn, nông trại, và một số sinh cảnh thông thường tại VQG Yok Đôn như rừng khộp, rừng tre, rừng thường xanh. Chi tiết địa điểm và các thông tin liên quan của các mẫu thu thập được thể hiện ở Phụ lục 5. Trong mùa khô 2019-2020, số lượng voi rừng xuất hiện tại VQG Yok Đôn ít hơn hẳn so với những năm trước. Do đó đoàn thực địa không thể thu thập được nhiều mẫu phân chất lượng cao dẫn tới lượng dữ liệu thu được từ các mẫu bị hạn chế.



Hình 2.8. Màu sắc, độ khô phân Voi châu á trong điều kiện VQG Yok Đôn thay đổi trong điều kiện trong và ngoài nắng (các hình phía dưới) và trong bóng râm (các hình phía trên) trong thời gian 1 ngày (Ảnh : Nguyễn Thị Thảo)

Quy trình thu mẫu phân

1. Phân công vai trò cho các thành viên trong nhóm. Ghi ghép các thông tin bao gồm tuổi phân của từng mẫu.
2. Chuẩn bị nhiều bộ dụng cụ trong túi ziplock: Ống có nhãn 15 ml (mặt trên & mặt bên) với 9 ml ethanol (95% hoặc 70%) bên trong + một đôi que tre hoặc dụng cụ y tế + thìa nhựa + giấy nhôm và Parafilm
3. Đeo găng tay (không để da tiếp xúc với mặt ngoài găng tay hoặc đồng phân) Lưu ý: mỗi mẫu thay một đôi găng tay. Đeo khẩu trang .
4. Thu phân vào ống đến mức khoảng 12-13 ml bằng thìa và que.

Lưu ý: thu từ cục phân mới nhất trong một đồng thay vì nhiều cục khác nhau (Hình 2.8). Tiêu chuẩn chọn mẫu được tham khảo của WWF Cam - pu – chia (Bảng 2.1)

Đối với giai đoạn thử nghiệm, các mẫu voi nhà có tuổi phân đến 10 ngày vẫn cho kết quả tốt, nhưng các mẫu được thu thập từ voi hoang dã có tuổi phân hơn 3 ngày không có kết quả tốt. Do đó, nghiên cứu này chỉ thu thập các mẫu có tuổi phân là tối đa 3 ngày trong thang phân loại phân của WWF Campuchia. Ngoài ra, các mẫu trung bình hoặc cũ cũng được thu nếu lượng mẫu chất mới

không đủ, tuy nhiên có ghi lại các thông số môi trường như thời tiết, nhiệt độ, độ ẩm và sinh cảnh, để tránh nhiễm mẫu.

Không thu thập mẫu bên trong cục phân mặc dù nó có thể trông tươi hơn.

Không ấn phân vào (cố gắng phá vỡ) hoặc đẩy phân vào đáy ống.

5. Đóng nắp và kiểm tra số hiệu trên nắp khớp với số hiệu trên thành ống.

Cuốn nắp ống bằng Parafilm để ngăn rò rỉ.

Cuốn ống 15 ml bằng giấy nhôm để ngăn ánh sáng trực tiếp chiếu vào mẫu.

Đặt ống vào túi Ziplock có ghi cùng mã ID.

Lưu ý: Giữ các ống luôn thẳng đứng trong giá đựng mẫu để tránh rò rỉ.

6. Không sử dụng cùng một bộ que, thìa nhựa và găng tay trên các mẫu khác nhau.

7. Đo chu vi bên ngoài của 3 cục phân nguyên vẹn lớn nhất (ghi kích thước vào sổ dữ liệu).

Phá hủy (dập trên) tất cả các cục phân, để đảm bảo rằng sẽ không thu lại mẫu đó trong chuyến khảo sát sau.

Sau khi hoàn thành, đảm bảo tất cả các ống phân đã được phá hủy và các mẫu được dán nhãn chính xác, bảng dữ liệu được điền chính xác và đầy đủ trước khi rời hiện trường.

8. Thực hiện theo quy trình tương tự cho tất cả các mẫu sử dụng bộ thu mẫu và găng tay mới cho mỗi lần thu tiếp theo.

9. Mang rác để xử lý theo quy định.

10. Sau các chuyến đi thực địa, lưu trữ mẫu trong tủ đông (0° C hoặc thấp hơn) trước khi gửi đến phòng thí nghiệm.

Bảng 2.1. Hệ thống phân loại chất lượng mẫu phân theo WWF Campuchia

Hệ thống Mike để phân loại phân động vật (Hedges & Lawson 2006 [22]).	Hệ thống phân loại của WWF Campuchia kết hợp với hệ thống được mô tả trong Hedges và cs. 2012 [61].	Ghi chú
S1 Tất cả các cục phân đều còn nguyên	Mới: 1-2 ngày (S1 - S3). Tất cả các cục phân phân đều còn	Có sự chồng chéo giữa các thang đo vì sự

<p>vện (xem ghi chú bên dưới trong Hedges và cs.).</p>	<p>nguyên vẹn (trừ khi đã bị đâm lên). Nếu rất tươi, bên ngoài sẽ nhớt và dính khi chạm vào. Có thể ẩm hoàn toàn, hoặc đọng nước ở một số chỗ. Nếu bên ngoài khô thì bên trong vẫn có thể ẩm. Nhìn trực quan, có sự phản xạ lại ánh sáng mặt bởi có độ ẩm, đôi khi có ruồi bâu.</p>	<p>phân hủy phụ thuộc vào thời tiết, nhiệt độ, địa điểm, môi trường sống, v.v ... Đây là lý do tại sao cần thiết tập huấn với các mẫu thực tế trong một điều kiện môi trường tương tự.</p>
<p>S2 Một hoặc nhiều cục phân (nhưng không phải tất cả) còn nguyên vẹn</p>	<p>Trung bình: 3 - 7 ngày (S3-4) Hầu hết các cục phân (boli) đều còn nguyên vẹn. Không có dấu hiệu của nấm hoặc mối / kiến bên</p>	
<p>S3 Không có cục phân nào còn nguyên vẹn, nhưng vẫn còn sự kết hợp trong cục phân (các sợi được giữ với nhau bằng vật liệu phân, xem ghi chú bên dưới</p>	<p>trong cục phân (trong một số trường hợp, một phần nhỏ có thể đã bị phân hủy, tuy nhiên phần lớn hơn vẫn còn nguyên vẹn .. Về màu sắc tối hơn, không còn sáng như mẫu mới còn tươi. Cũ: 8- 14 ngày (S3-S4). PHẢI sử dụng sự phán đoán để xác định việc có thu mẫu hay không phụ thuộc vào mức độ phân hủy. Kiểm tra đáy / mặt dưới vì có thể trong đó, mẫu có chất lượng tốt hơn để thu.</p>	
<p>S4 Không có cục phân còn nguyên vẹn; chỉ còn lại dấu vết (ví</p>	<p>Rất cũ - Không thu mẫu được xác định trong cấp độ này (S4-5). Đóng phân hoàn toàn bị phân hủy,</p>	

dụ, sợi thực vật); không có mảnh liên kết nào còn tồn tại (nhưng các sợi có thể được giữ lại bằng bùn, xem ghi chú bên dưới).	không còn hình dạng, bề mặt bên ngoài, có dấu hiệu của côn trùng và một lượng lớn nấm.	
S5 Không còn vật liệu phân (bao gồm cả sợi thực vật).		

2.1.2. Phân tích trong phòng thí nghiệm

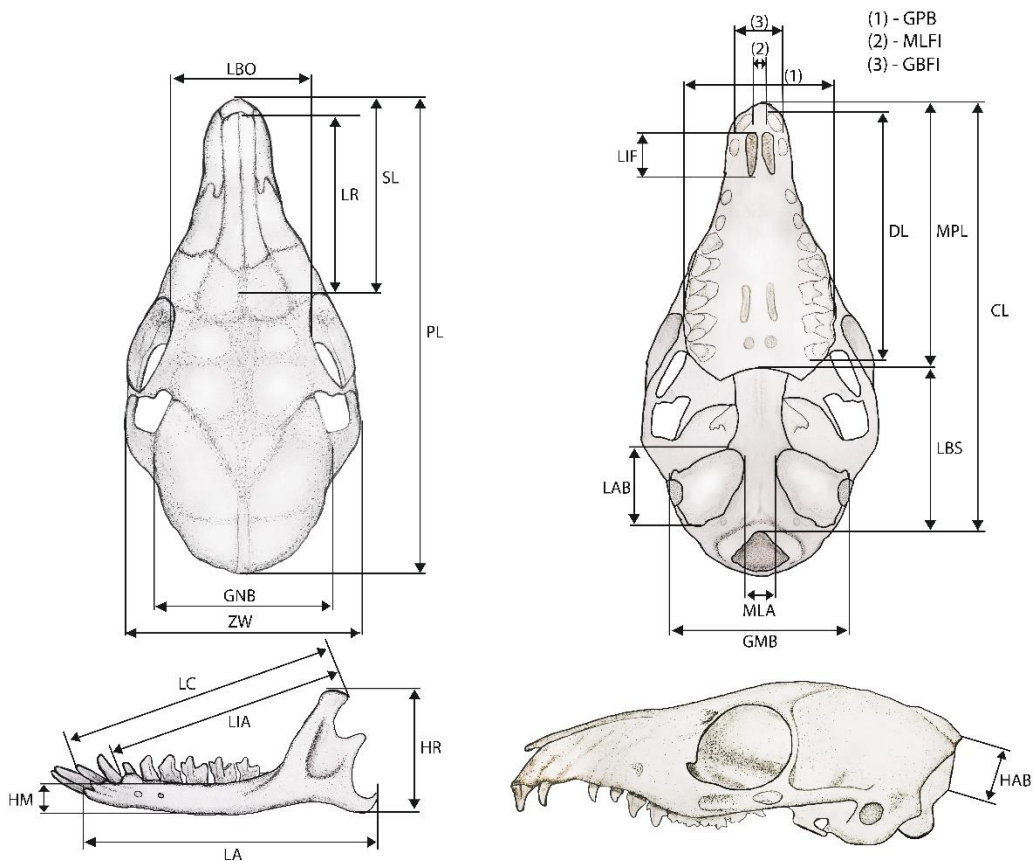
2.1.2.1. Phân tích đặc điểm hình thái nhóm thú nhỏ

Chúng tôi tiến hành đo các đặc điểm hình thái theo phương pháp của Driesch (1976) [186], Lunde và Nguyen (2001) [101], Endo và cộng sự 1999, 2000 [34, 35] với độ chính xác đến 0,01 mm hoặc 0,01 g, bao gồm các dữ liệu được thu thập theo các bước sau:

- Đo hình thái ngoài: Chiều dài thân đầu (HB, từ đầu đến lỗ cằm), chiều dài đuôi (TL, chiều dài từ lỗ cằm đến chop đuôi không tính lông), chiều dài bàn chân sau (HF từ gót chân đến đầu ngón không tính móng chân), chiều dài tai (E chiều dài tai đo từ hướng sọ ra ngoài không tính lông), trọng lượng (Wt).

- Đo hình thái sọ: Các chỉ số được dùng để đo hình thái sọ bao gồm chiều dài vòm miệng (PL), Chiều dài lồi cầu nền (CL), Chiều dài mặt bên ngắn (SL), chiều dài lỗ xương khẩu cái (LIF), chiều dài mõm (LR), độ rộng lớn nhất của răng cửa thứ nhất hàm trên I1 (GBFI1), độ rộng tối thiểu của hàm trên răng cửa thứ nhất (MLFI1), độ rộng cung gò má (ZW), chiều rộng nhỏ nhất giữa các hốc mắt (LBO), Độ rộng lớn nhất hộp sọ (GNB), trung bình độ rộng vòm miệng (MPL), chiều dài từ Basion đến Staphylion (LBS), độ rộng vòm miệng lớn nhất (GPB), độ rộng khoảng trống răng (DL), chiều dài của bulla thính giác (LAB), Chiều rộng xương chũm lớn

nhất (GMB), Khoảng cách tối thiểu của bulla thính giác (MLA), chiều dài từ Akrokranium tới Basion (HAB), chiều dài hàm dưới (LC), chiều dài hàm dưới (LA), Chiều dài từ răng dưới đến mặt trong của xương ổ răng (LIA), Độ rộng hàm dưới (HR), chiều cao hàm dưới ở răng hàm M1 (HM) (Chi tiết mô tả ở Hình 2.9).



Hình 2.9. Các chỉ số đo hình thái sọ với mẫu Đồi

- Mô tả hình thái bên ngoài như màu lông, đầu, mắt, tai, cổ, lưng, bụng, đuôi.
- Ảnh: Mẫu vật được chụp từ các góc chụp khác nhau và ở các vị trí khác nhau để ghi lại hình thái bên ngoài như lưng, bụng, đầu, đuôi.

- Việc định loại loài dựa trên các tài liệu sau: Các loài thú của Vùng Indomalayan [25]; A photographic guide to mammals of Thailand and Southeast Asia [41]; A guide to the mammals of Southeast Asia (Francis, 2008) [42]; Mammals species of the World [190]; Squirrels of the world [175]; Bat of Vietnam [86]; Horseshoe bats of the World: (Chiroptera: Rhinolophidae) [27]. Các ấn phẩm khoa học khác cũng được sử dụng cho mục đích định loại, bao gồm: Marianne và

cộng sự. (2017)[185], Zemlemerova và cộng sự (2016) [195], Nguyen và cộng sự (2015a, b, 2013) [125-127]. Abramov và cộng sự (2013); Daosavanh và cộng sự. (2013) [148], Jenkins và cộng sự. (2013, 2009, 2007) [72-74]; Kawada và cộng sự. (2008, 2009, 2012) [77-81], Kruskop và Eger (2008)[78], Kruskop và cộng sự. (2006) [85], Musser và cộng sự. (2006) [115], Vũ và Trần (2005)[187], Lunde và cộng sự (2004) [103], Hendrichsen và cộng sự (2001) [62].

- Đánh giá tình trạng bảo tồn của loài, dựa theo Sách Đỏ Việt Nam, phần Động vật (2007), Danh lục Đỏ IUCN (2023), Nghị định 84/2021/NĐ-CP của Chính phủ, Phụ lục CITES (2023).

2.1.2.2. Phân tích sinh học phân tử

*** Các chỉ thị sử dụng trong nghiên cứu**

Gen ty thể

Đoạn gen ty thể được khuếch đại với mẫu Thần lằn cá sấu là một đoạn gen ty thể gồm đoạn *cyt b*, một phần *tRNA-Glu*, và một phần *D-loop* đã được sử dụng trong nghiên cứu của Huang và cộng sự (2014)[66] với trình tự như sau:

Mũi xuôi: Shini 1: 5'- GCAATTGAATAAGCAAAAACCAC '3'

Mũi ngược Shini 2: 5'- TAGTTTATTAAAAATGCTAGTTTTGGG - 3'

Đoạn gen ty thể được khuếch đại với mẫu voi là một phần *D-loop* đã được sử dụng trong nghiên cứu của Kaden và cộng sự (2018) với trình tự như sau:

Mũi xuôi: AEL_dloop_1360_F: 5'- GCATCACATTATTTACCCCATGC '3'

Mũi ngược AEL_dloop_1564_R: 5'- GGTTGATGGTTTCTCGGAGG - 3'

Các đoạn gen dùng để định danh và sử dụng trong nhóm thú nhỏ là các đoạn *cyt b*, *COI*, *12S* được tham khảo trong nghiên cứu của Irwin 1991, Mindel và cộng sự 1991, Kocher và cộng sự 1989, Geller và cộng sự (2013) [45, 68, 83, 111]

Đoạn *cyt b* dùng cho các nhóm gặm nhấm và Bộ nhiều răng

L14724: 5' CGA AGC TTG ATA TGA AAA ACC ATC GTT G 3'

H15149: 5' AAA CTG CAG CCC CTC AGA ATG ATA TTT GTC CTC A 3'

Đoạn *12S* giúp bổ sung thông tin cho phân tích đoạn ty thể được sử dụng trong phân tích nhóm Chuột chũi

L613 5'- CAGGAAACAGCTATGACCACACAAAGCATGGCACTGAA -3

H1478 5' - TGTAACGACGGCCAGTGGGGTATCTAATCCCAGTTTG -3'

Đoạn *COI* được sử dụng trong phân tích nhóm dơi do đoạn này có nhiều biến đổi trong nhóm này

LCO1490: 5' GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G 3'

HCO2198: 5' TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA 3'

Gen nhân

Đoạn *Rag 1* được sử dụng trong phân tích phân loại học với nhóm chuột chũi được tham khảo từ nghiên cứu của Saoto và cộng sự (2004), Shinohara và cộng sự (2004), Teeling và cộng sự (2000) [149, 154, 169]

Rag1-F1851: 5'- ACATGGAAGAAGACATCTTGGAAGG -3'

Rag1-R2486: 5'- AATGTCACAGTGAAGGGCATCTATGGAAGG -3'.

Rag1-F2401: 5'- CCGAGAACCCTGGAGCGCTATGAGGTCTGG -3'

Rag1-R2951: 5'- GAGCCATCCCTCTCAATAATTCAGG -3'

Micosatellite

Các mồi để khuếch đại các đoạn micosatellite với Thằn lằn cá sấu được gắn huỳnh quang với hai màu là HEX và FAM ở một chiều xuôi (Bảng 2.2).

Bảng 2.2. Trình tự các mồi micosatellite sử dụng với Thằn lằn cá sấu (Bei và cộng sự, 2012) [14]

Tên mồi	Trình tự mồi	Đánh dấu
EX01F	CATCAGCCTGGAAAGACTCA	FAM
EX01R	GACAGTTATTCGTTAGGTGGAA	
EX03F	TCAACGAACCATTCAGC	HEX
EX03R	CATGTCATGCGAACAAGC	
EX04F	CCCAGGTAGGCTTGTATG	FAM
EX04R	TGACCACCGACCAGTTAT	
EX06F	GCATATTAAGAACTGGAGCCT	HEX

EX06R	GTGCAGCCCACATGATTG	
EX07F	ACAAGCTGGA ACTCAAGGG	HEX
EX07R	TGACATACACGAAATAACGAAT	
EX08F	TGAGTGCGTGTATGTGTAT	FAM
EX08R	ATCCGTCCCGATGAAATG	
EX09F	TGGAAGGCAAAGTGGTGA	FAM
EX09R	GAGGGATGGAAATGAGTGAG	
EX10F	CCTGTATCCTCCCCTCCT	FAM
EX10R	TGCTGCACTGTGCCTATT	
EX11F	AGCAATGAGCAGGACTGAA	HEX
EX11R	ACATGCTGAGATGGAGGG	
EX12F	GGCACTTCTTCCTCTTAC	FAM
EX12R	TCTCACTGGAGCATTTTG	

Các mồi để khuếch đại các đoạn microsatellite với Voi châu á được gắn huỳnh quang với 4 màu là HEX, FAM, TAMRA, và ATTO565 ở một chiều xuôi (Bảng 2.3).

Bảng 2.3. Trình tự các mồi microsatellite sử dụng với Voi châu á [24, 84, 117]

Tên mồi	Trình tự mồi (5'-3')	Đánh dấu
Bộ 1		
Emu03_Eleph_F	AGAAGCAAACCCATGAAGC	HEX
Emu03_Eleph_R	TTGAAACTTGCCAGCCTCTT	
Emu04_Eleph_F	TGACTCTCCCTCTTCTGCATC	FAM
Emu04_Eleph_R	GGCTGAGAGGGAAAGAAATTG	
Emu07_Eleph_F	GAGCAGTGCCTTTCGTGAC	TAMRA
Emu07_Eleph_R	AGCCTGGGAGGTAAGTAGCA	
Emu12_Eleph_F	CAAAGAAGACCCATGTTCC	ATTO565
Emu12_Eleph_R	CTGACTATGGGGGAGACTGC	

FH48_Eleph_F	GAGTCTCCATAATCAAGAGCG	FAM
FH48_Eleph_R	CCTCCCTGGAATCTGTACAG	
FH60_Eleph_F	CAAGAAGCTTTGGGATTGGG	TAMRA
FH60_Eleph_R	CCTGCAGCTCAGAACACCTG	
Bộ 2		
Emu10_Eleph_F	AATCGACTCAGCAGCAACAG	FAM
Emu10_Eleph_R	CCAGTAAATCCATATCACTCGTC	
Emu14_Eleph_F	GCCTACATGCAGGGTTTGC	FAM
Emu14_Eleph_R	TGAGCCTCTGGCATTATGA	
Emu15_Eleph_F	TTCGGGATGTTCTCTTCTGT	HEX
Emu15_Eleph_R	GGGGCTTAACTAATAGGCTTCA	
Emu17_Eleph_F	CACTCAGAGTTCCAAGAAGCAG	TAMRA
Emu17_Eleph_R	TGCCAGCCATTTCTCTC	
LafMS03_Eleph_F	CATATGAACATACCGGAAC	ATTO565
LafMS03_Eleph_R	GAAACTCCTCGAGTAGTAGAA	

*** Quy trình thí nghiệm**

Hóa chất và thiết bị

Hai bộ Kit tách chiết ADN được sử dụng trong nghiên cứu bao gồm Kit Dneasy Blood ADN Tissue (Qiagen, Đức) và GeneJET Genomic DNA Purification Kit (Thermo Fisher), Ethanol (Merck, Đức). Sản phẩm tách chiết được sử dụng hai loại Kit để khuếch đại đoạn gen mong muốn bao gồm Dream Taq Master Mix (Thermo Fisher) và Hot StarTaq Master Mix Kit. Các môi được sử dụng bao gồm các môi đánh dấu huỳnh quang (FAM, HEX) cho các phản ứng khuếch đại microsatellite và môi không đánh dấu. Hóa chất cho điện di kiểm tra bao gồm: đệm TBE 10X với công thức pha 250 ml: 27 g Tris Base Sigma, 13,75 g Boric Acid Merck và 1,875 g EDTA Merck, Ethidium bromide của Invitrogen, gel agarose (Invitrogen), marker 100 bp, 1 kb (Thermo Fisher). Sản phẩm PCR được tinh sạch bằng bộ Kit GeneJET PCR Purification (Thermo Fisher). Thiết bị được sử dụng

trong nghiên cứu có tại Phòng thí nghiệm Bộ môn Di truyền học, Khoa Sinh học, trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội bao gồm: bể ủ nhiệt, máy li tâm Hettich Mikro 22R, Máy PCR SimpliAmp™ Thermal Cycler, máy soi gel, bể điện di Bio-RAD, pipet các loại.

Quy trình

Tách chiết mẫu mô

- *GeneJET Genomic DNA Purification Kit*: Bộ kit này được sử dụng để tách các mẫu mô có chất lượng tốt. Quy trình tách chiết cụ thể được thực hiện như sau:

Trước khi thực hiện cần chú ý: Ủ các dung dịch đệm trong trường hợp dung dịch bị kết tủa, ly tâm ở nhiệt độ phòng. Để ly giải tế bào cần cắt 10mg mẫu thành những mảnh nhỏ, để khô, cho vào ống eppendorf 1,5ml. Sau đó, mẫu cần được bổ sung 180 µl dung dịch Digestion Solution và 20 µl Proteinase K, trộn đều hỗn hợp. Quá trình ủ mẫu được thực hiện ở 56°C trong 3 giờ. Trong quá trình ủ hỗn hợp cần được thường xuyên trộn đều. Để loại bỏ ARN, bổ sung 20 µl Rnase A Solution, trộn đều hỗn hợp. Sau đó, mẫu được ủ ở nhiệt độ phòng trong 10 phút. Để kết tủa ADN cần bổ sung 400 µl cồn 50%, trộn nhẹ hỗn hợp.

Sau đó là quá trình thu ADN trên cột: chuyển toàn bộ hỗn hợp sang cột lọc GeneJET Genomic DNA Purification Column, ly tâm vận tốc 6000 x rcf trong 1 phút ở nhiệt độ phòng và thay ống xả. Để rửa mẫu, bổ sung 500 Wash Buffer I, ly tâm vận tốc 8000 x g trong 1 phút, loại bỏ dịch lọc. Bước rửa lần 2 cần bổ sung 500 µl Wash Buffer II, ly tâm vận tốc 12000 x g trong 1 phút 30 giây và loại bỏ dịch lọc. Để làm khô màng lọc, cột lọc cần được ly tâm ở vận tốc 8000 x g trong 1 phút ở nhiệt độ phòng. Cuối cùng, chuyển cột lọc sang ống eppendorf 1.5 ml, bổ sung 60 µl đệm Elution và ủ mẫu ở nhiệt độ phòng trong 10 phút. Sau khi ủ xong, để thu mẫu cần ly tâm vận tốc 8000 x rcf trong 1 phút ở nhiệt độ phòng. Mẫu vật cần được bảo quản ở 4°C để sử dụng lâu dài.

Tách chiết mẫu phân

- *QIAamp DNA Stool Mini Kit (Quiagen)*:

Bộ Kit này được sử dụng để tách chiết các mẫu phân với một vài thay đổi so với quy trình của nhà sản xuất cụ thể như sau. Mẫu vật cần được xử lý trước bằng cách trộn đều thật mạnh mẫu khoảng 5 phút, loại bỏ các sợi hay cục to, cho vào một ống eppendorf mới, ly tâm vận tốc 20000 x rcf trong 5 phút ở nhiệt độ phòng, hút bỏ phần dịch nổi, dùng đầu tip gạt mỏng phần cặn lắng dọc theo chiều dài thành ống, mở nắp ống rồi đặt nằm ngang ống lên mặt phẳng và giữ mẫu ở 4°C qua đêm.

Nếu muốn rút ngắn thời gian thì để mẫu trong máy hút chân không trong 1 giờ sẽ khô, bước này để nhằm loại bỏ hết còn được dùng khi bảo quản mẫu để tránh ảnh hưởng đến kết quả các bước sau. Sau đó là bước ly giải tế bào: bổ sung 10 lần đệm ASL so với lượng mẫu. (0,1 g mẫu cần bổ sung 1 ml đệm ASL), trộn mạnh mẫu khoảng 3 – 5 phút cho vỡ hết mảnh lớn của phân, ủ mẫu ở 4°C trong 4 ngày. Trong quá trình ủ thường xuyên trộn đều hỗn hợp. Sau đó, lấy 2 ml dịch, ly tâm vận tốc 20000 x rcf trong 1 phút ở nhiệt độ phòng, lấy 1,4 ml dịch nổi, bổ sung 1 viên InhibitEx, trộn mẫu mạnh trong 3 phút đến khi dung dịch đồng nhất, ủ mẫu ở nhiệt độ phòng trong 5 phút, ly tâm vận tốc 20000 x rcf trong 6 phút ở nhiệt độ phòng, lấy 600 µl dịch nổi, bổ sung 35 µl Proteinase K, ủ mẫu ở nhiệt độ phòng trong 5 phút.

Để kết tủa ADN: bổ sung 600 µl đệm AL và trộn đều hỗn hợp, ủ mẫu ở 70°C trong 15 phút, bổ sung 600 µl cồn (96 – 100%), trộn nhẹ hỗn hợp. Để thu ADN trên cột cần chuyển 600 µl hỗn hợp sang cột lọc DNeasy Mini Spin Columns 2 ml; ly tâm vận tốc 20000 x rcf trong 1 phút; loại bỏ dung dịch trong ống xả; lặp lại bước này 2 lần. Sau đó là nước rửa mẫu bằng cách thay ống xả; bổ sung 500 µl đệm AW1, ly tâm vận tốc 20000 x rcf trong 1 phút, loại bỏ dịch lọc; bổ sung 500 µl đệm AW2, ly tâm vận tốc 20000 x rcf trong 1 phút, loại bỏ dịch lọc. Để làm khô màng lọc, mẫu vật cần được ly tâm khô vận tốc 20000 x g trong 1 phút. Cuối cùng, chuyển cột lọc sang ống eppendorf 1,5 ml và bổ sung 60 µl đệm AE, ủ mẫu ở nhiệt độ phòng trong 30 phút và ly tâm vận tốc 20000 x rcf trong 1 phút. Mẫu vật cần được bảo quản ở 4°C để sử dụng lâu dài.

PCR

Với các đoạn gen ty thể, tổng thể tích phản ứng là 21 µl bao gồm: 2 µl khuôn, 2 µl mỗi chiều mỗi, 5 µl H₂O, và 10 µl Dream Taq Mastermix hoặc HotStar Taq Mastermix. Điều kiện phản ứng PCR: 95° C trong 15 phút với HotStar Taq (Qiagen) và 5 phút với Dream Taq Mastermix (Thermo Fisher) để hoạt hoá Taq, 35 chu kỳ gồm; 95° C trong 30 giây, 45 giây gắn mỗi với nhiệt độ tùy thuộc vào mỗi, 72° C trong 1 phút, và bước kéo dài cuối 72° C trong 6 phút.

Các locus microsatellite đã được khuếch đại với tổng thể tích 24,7 µl bao gồm 1,7 µl khuôn; 1,5 µl mỗi chiều mỗi; 7,5 µl H₂O; và 12,5 µl Dream Taq Mastermix hoặc HotStar Taq Mastermix. Điều kiện phản ứng PCR: 95°C trong 15 phút với HotStar Taq (Qiagen) và 5 phút với Dream Taq Mastermix (Thermo Fisher) để hoạt hoá Taq, 35 chu kỳ gồm; 95°C trong 30 giây, 30 giây gắn mỗi với nhiệt độ tùy thuộc vào mỗi hoặc set PCR, 72°C trong 40 giây, và bước kéo dài cuối 72°C trong 6 phút.

Tinh sạch sản phẩm PCR

Các mẫu giải trình tự cần được tinh sạch để loại bỏ các yếu tố gây ảnh hưởng đến phản ứng giải trình tự. Quy trình tinh sạch cụ thể như sau:

+ Chuyển sản phẩm PCR lên cột lọc: Bổ sung 15 µl Binding Buffer; Chuyển toàn bộ dịch sang cột lọc GeneJET Purification Column; Ly tâm vận tốc 13000rpm trong 1 phút ở nhiệt độ phòng.

+ Rửa mẫu: Bổ sung 500 µl Wash Buffer; Ly tâm vận tốc 13000rpm trong 1 phút ở nhiệt độ phòng; Loại bỏ dịch lọc.

+ Làm khô màng lọc: Ly tâm vận tốc 13000rpm trong 1 phút ở nhiệt độ phòng.

+ Thu ADN: Bổ sung 30 µl Elution Buffer; Ly tâm vận tốc 13000rpm trong 1 phút ở nhiệt độ phòng.

2.2. Phân tích tin sinh

2.2.1. Xử lý dữ liệu thô

Dữ liệu trình tự gen ty thể, gen nhân

ClustalX v2.1 [173]: Phần mềm này được sử dụng để đóng hàng các trình tự để xây dựng ma trận dữ liệu xếp thẳng hàng các vị trí với các cài đặt mặc định.

Sequencher v5.4: Phần mềm này được sử dụng để ghép nối hai chiều trình tự các trình tự ADN để có trình tự cuối có độ dài tốt hơn với cài đặt mặc định

Dữ liệu microsatellite

Geneious v.7.1.8 [82]: Phần mềm này được sử dụng để phân tích dữ liệu genotyping thô cho ra kết quả là kiểu gen các locus microsatellite với cài đặt mặc định.

2.2.2. Phân tích dữ liệu

- *Phân tích tương đồng về thành phần loài:*

Để đánh giá về sự tương đồng về thành phần loài giữa các khu vực và đánh giá mức độ gần gũi về thành phần loài giữa các nhóm, phần mềm **Past Statistics** được sử dụng [53]. Số liệu được mã hóa theo dạng đối xứng: có mặt (1) và không có mặt (0). Chỉ số Sorensen–Dice được sử dụng để so sánh sự tương đồng về thành phần loài giữa hai vùng. Chỉ số này được tính dựa theo công thức:

$$d_{jk} = 2M / (2M + N)$$

Trong đó M là số loài xuất hiện ở cả hai vùng và N là tổng số loài chỉ xuất hiện ở một vùng.

- *Phân tích dữ liệu quần thể:*

STRUCTURE v2.3.4 [37]: Phần mềm này được sử dụng để xác định cấu trúc của toàn bộ dữ liệu và phân nhóm các cá thể thành các nhóm riêng biệt bằng phương pháp phân nhóm Bayesian. Giá trị chuỗi Markov là 10.000 với giá trị burnin là 1.000.000, 5 lần chạy độc lập được sử dụng để so sánh với giá trị K từ 1 đến 5. Ngoài ra, giá trị ΔK cũng được ước tính để chọn ra giá trị K phù hợp nhất bằng chương trình phân tích online Structure Harvester. Giá trị không phân tích được (missing data) được thay thế bằng giá trị -9. Kết quả sẽ được hiển thị bằng website STRUCTURE HARVESTER [31].

Arlequin v3.5.2.2 [38]: Phần mềm này được sử dụng để phân tích giá trị thống kê F.

BOTTLENECK 1.2.02 [137]: Hiện tượng thắt cổ chai xảy ra khi quần thể sinh sản (effective population) bị giảm sút đáng kể làm ảnh hưởng nghiêm trọng tới

mức độ đa dạng di truyền trong quần thể. Hiện tượng thất cổ chai được đánh giá thông qua 3 loại kiểm định là kiểm tra dấu hiệu (Sign Test), kiểm tra khác biệt chuẩn (Standardized Differences Test) và kiểm tra Wilcoxon (Wilcoxon Sign Rank Test). Các phân tích này nhằm xác định độ lệch dị hợp tử giữa quần thể thực tế và quần thể lý thuyết. Phần mềm BOTTLENECK 1.2.02 với 3 mô hình, Mô hình alen vô hạn (IAM), Mô hình đột biến từng bước (SMM) và Mô hình hai pha (TPM), được sử dụng cho phân tích này. Trong bước chạy mô phỏng, 1.000.000 lần lặp được thực hiện cho mỗi phân tích.

Phân tích dữ liệu trình tự liên quan đến phân loại, xác định phân bố

Dữ liệu được phân tích bằng phương pháp Bayes (BI) trong phần mềm **MrBayes v3.2.1** [145]. Mô hình tiến hóa nucleotide phù hợp được xác định bằng phần mềm **Jmodeltest v2.1.4** [135] với các tham số được ước tính bởi MrBayes v3.2.1. Hai phân tích đồng thời với bốn chuỗi Markov (một chuỗi lạnh và ba chuỗi nóng) được thực hiện với 10 triệu thế hệ sử dụng cây khởi đầu ngẫu nhiên và được lấy mẫu sau 1.000 thế hệ. Chỉ số Log-likelihood của các điểm mẫu được lập biểu đồ dựa trên thời gian để xác định điểm ổn định của chuỗi Markov. Những cây được tạo ra trước khi Log-likelihood đạt đến độ ổn định sẽ bị loại bỏ khỏi các phân tích cuối bằng lệnh burn-in. Hai phân tích độc lập được chạy đồng thời. Giá trị xác suất hậu nghiệm cho các nhánh chính trong cây cuối cùng tuân thủ quy tắc đa số được đưa vào cây.

Phân tích dữ liệu bằng cách sử dụng phân tích tiết kiệm tối đa (Maximum Parsimony - MP) được thực hiện trong phần mềm **PAUP * 4.0b10** [166], phương pháp hợp lý tối đa (Maximum Likelihood - ML) trong phần mềm **IQ-TREE v1.6.7.1** [120] với một mô hình tiến hóa và 10.000 lần lặp ultrafast bootstrap và phương pháp Bayes trong phần mềm **MrBayes v3.2** [145] với 10^7 thế hệ và một mô hình tiến hóa. Chỉ số nhánh là giá trị Bootstrap (BP) được ước tính trong phần mềm PAUP * 4.0b10 và Ultrafast Bootstrap (UBP) được ước tính trong phần mềm IQ-TREE v1.6.7.1 và xác suất hậu nghiệm (PP) được ước tính trong phần mềm

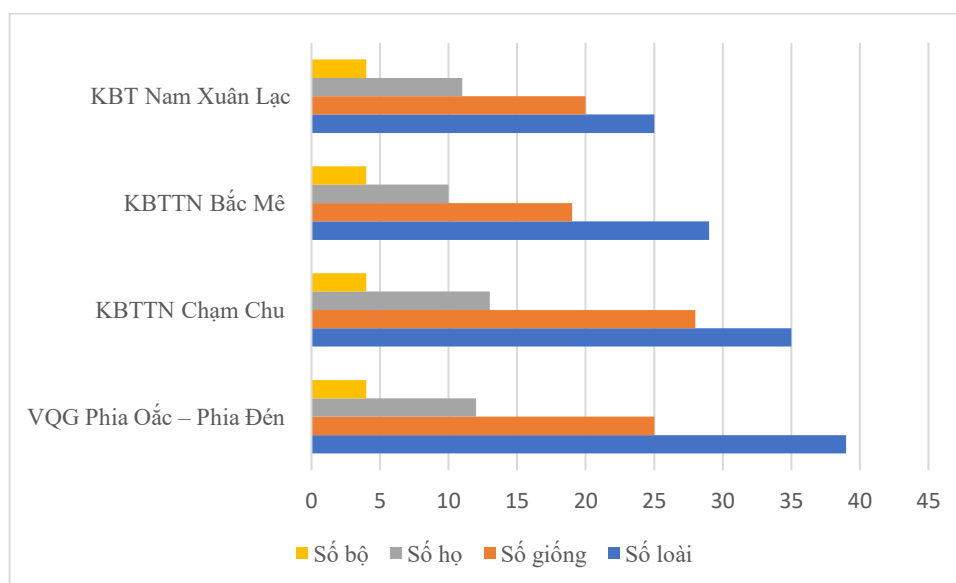
MrBayes v3.2. Giá trị BP ≥ 70 [63] và Ultrafast Bootstrap (UBP) và PP $\geq 95\%$ được coi là giá trị tin cậy cao cho một nhánh [120, 145]. Các nút có giá trị PP và UBP từ 90 đến 94 được coi là giá trị tin cậy tốt. Khoảng cách di truyền theo cặp chưa hiệu chỉnh (uncorrected pairwise distance) được tính bằng PAUP * 4.0b10.a

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ứng dụng chỉ thị SHPT trong nghiên cứu đa dạng loài thú nhỏ ở khu vực núi đá vôi vùng Đông Bắc

3.1.1. Thành phần các loài thú nhỏ tại khu vực núi đá vôi Đông Bắc

Kết hợp các dữ liệu về sinh học phân tử với các đặc điểm về hình thái ngoài và hình thái sọ cùng các thông tin phỏng vấn, nghiên cứu đã lập danh lục các loài thú nhỏ ở vùng Đông Bắc (Bảng 3.2). Kết quả đã ghi nhận được 64 loài thuộc 4 bộ, 14 họ, 37 giống. Trong đó, Khu bảo tồn loài và sinh cảnh Nam Xuân Lạc được ghi nhận 25 loài thuộc 4 bộ, 11 họ, 20 giống; KBTTN Bắc Mê ghi nhận 29 loài thuộc 4 bộ, 10 họ, 19 giống; KBTTN Chạm Chu được ghi nhận 35 loài thuộc 4 bộ, 13 họ, 28 giống và VQG Phia Oắc – Phia Đén ghi nhận 39 loài thuộc 4 bộ, 12 họ, 25 giống (Hình 3.1).



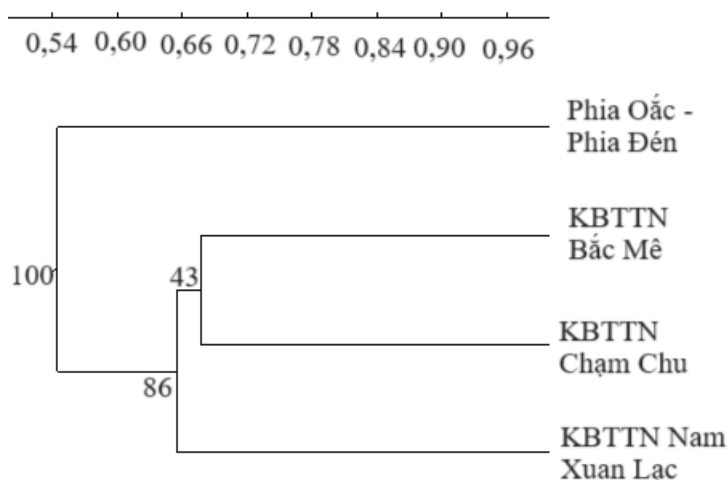
Hình 3.1. So sánh độ đa dạng giữa các khu vực nghiên cứu

* *Đánh giá mối quan hệ thành phần loài giữa các địa điểm nghiên cứu*

Giữa các khu vực nghiên cứu có mức độ tương đồng trên trung bình về thành phần loài ($d_{jk} = 0,52055 - 0,6774$) (Bảng 3.1). Trong đó KBTTN Bắc Mê và KBTTN Chạm Chu có mức độ tương đồng lớn nhất ($d_{jk} = 0,67742$) và mức độ tương đồng thấp nhất là giữa KBTTN Chạm Chu và VQG Phia Oắc - Phia đén (Bảng 3.1).

Bảng 3.1. Hệ số tương đồng (Sorensen-Dice) về thành phần loài giữa các địa điểm nghiên cứu

	KBTTN Nam Xuân Lạc	KBTTN Bắc Mê	KBTTN Chạm Chu	VQG Phia Oắc - Phia đén
KBTTN Nam Xuân Lạc	-			
KBTTN Bắc Mê	0,65455	-		
KBTTN Chạm Chu	0,65574	0,67742	-	
VQG Phia Oắc - Phia đén	0,54545	0,56716	0,52055	-



Hình 3.2. Phân tích tập hợp theo nhóm về sự tương đồng thành phần loài giữa các khu vực nghiên cứu (giá trị gốc nhánh với số lần lặp lại là 1.000) bằng phần mềm Past Statistics.

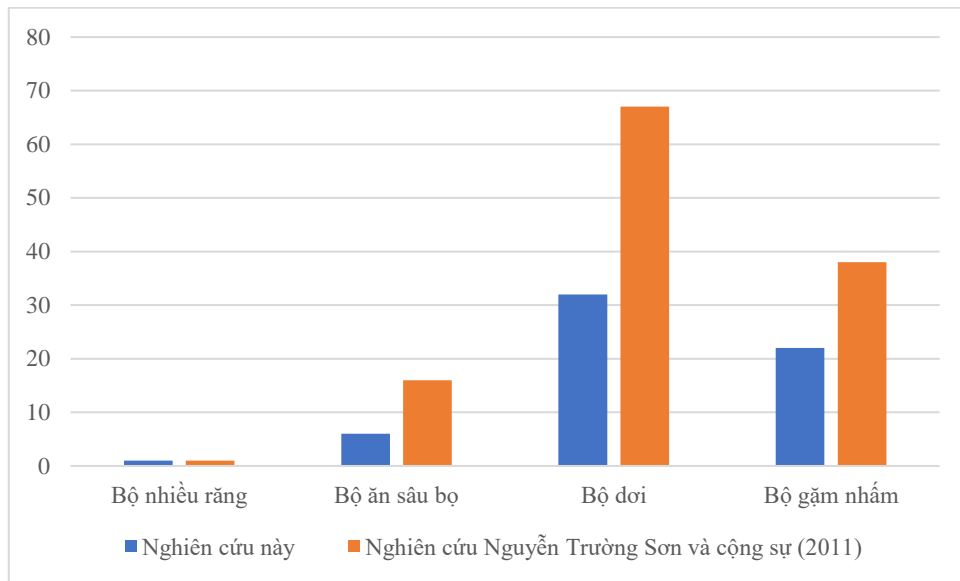
Phân tích tập hợp nhóm (Hình 3.3) cho thấy có sự tách biệt về thành phần loài giữa các khu vực nghiên cứu. Do có mức độ tương đồng lớn nên hai KBTTN Chạm Chu và Bắc Mê được nhóm thành một nhánh với chỉ số nhánh thấp là 43. Chỉ số nhánh tách hai khu trên với KBTTN Nam Xuân lạc là 86. VQG Phia Oắc – Phia

đến có sự tách biệt so với các khu vực nghiên cứu còn lại bởi được tách ra trong phân tích nhóm và có hệ số tương đồng thấp hơn hệ số tương đồng giữa ba khu vực còn lại (đều nhỏ hơn 0,6).

Về cơ bản, các khu vực khảo sát vẫn có sự tương đồng về thành phần loài bởi sự tương đồng về địa hình và một số sinh cảnh đặc trưng của vùng núi đá vôi phía Bắc. Sự khác biệt về thành phần loài giữa các khu vực này có thể do ảnh hưởng của nỗ lực điều tra, sự đa dạng về hệ sinh thái, tác động con người và lịch sử tiến hóa. Mỗi khu vực chỉ được khảo sát tại một số sinh cảnh đặc trưng của mỗi khu vực do thời gian khảo sát có hạn. Các khu vực khảo sát chịu tác động nhiều bởi săn bắt và các hoạt động khác nhau của con người. Trong đó, KBTTN Chạm Chu chịu ảnh hưởng của việc phá rừng trồng cam trên diện rộng, khu vực khảo sát tại KBTTN Bắc Mê, KHBTTN Nam Xuân Lạc và VQG Pịa Oắc – Pịa đến bị tàn phá bởi việc phá rừng làm đường và khai thác khoáng sản, .

Nhiều điểm khảo sát từ các nghiên cứu trước đó của Nguyễn Trường Sơn và cộng sự (2011) cũng cho thấy sự giảm đáng kể về đa dạng loài và số lượng loài [6]. Do đó những tác động khác nhau của con người đã ảnh hưởng đến các loài khác nhau khiến cho có sự khác biệt trong hiện trạng đa dạng các loài thú nhỏ. Ngoài ra, sự khác biệt về thành phần loài có thể chịu ảnh hưởng trong lịch sử tiến hóa các loài, các rào cản phát tán, sự thích nghi với các điều kiện sống khác nhau. Mặc dù khu vực nghiên cứu cùng nằm trong một vùng địa sinh học nhưng trong phạm vi khu vực Đông Bắc có một số loài chỉ được phát hiện trong một phạm vi hẹp như Chuột núi đá Đông Bắc hay thậm chí có phân bố ở phía Tây Bắc và mở rộng khu vực phân bố như Chuột thomas [104, 158]. Thực hiện thêm các nghiên cứu về địa sinh học và tiến hóa sẽ giúp làm sáng tỏ các quá trình lịch sử đã tạo nên sự khác biệt giữa các vùng nghiên cứu.

Sự đặc trưng về thành phần loài thú nhỏ tại mỗi khu vực cho thấy các chương trình bảo tồn cần được thực hiện trên diện rộng để bảo toàn được tính đa dạng sinh học và đặc tính riêng của mỗi khu vực.



Hình 3.3. So sánh số lượng loài ghi nhận trong luận án với nghiên cứu của Nguyễn Trường Sơn và cộng sự (2011)

So sánh với thống kê của Nguyễn Trường Sơn và cộng sự (2011), nghiên cứu này chỉ ghi nhận lại 64/122 loài thú nhỏ (52,45%) [6]. So sánh số lượng loài trong từng bộ, số lượng loài ghi nhận lại hầu như đều thấp hơn: bộ nhiều răng (100%), bộ ăn sâu bọ (37,5%), bộ dơi (47,7%), bộ gặm nhấm (57,89%) (Hình 3.2). Bộ nhiều răng chiếm tỷ lệ cao nhất do chỉ có một loài, bộ gặm nhấm có tỷ lệ ghi nhận lại cao nhất và thấp nhất là bộ ăn sâu bọ.

Bảng 3.2. Danh mục các loài thú nhỏ tại bốn khu bảo tồn loài và sinh cảnh tại vùng núi đá vôi Đông Bắc

STT	Tên Tiếng Việt	Tên khoa học	Nam Xuân Lạc	Bắc Mê	Chạm Chu	Phia Oắc Phia đén	Sách Đỏ Việt Nam 2007	Danh lục Đỏ IUCN 2024	NTS (2011)
	I. BỘ NHIỀU RĂNG	SCADNENTIA Wagner, 1855							
	1. Họ Đồi	Tupaiaidae Gray, 1825							
1.	Đồi	<i>Tupaia belangeri</i> (Wagner, 1841)	L	M	M	L		LC	+
	II. BỘ ĂN SÂU BỘ	EULIPOTYPHLA Gregory, 1910							
	2. Họ Chuột voi	Erinaceidae Fischer, 1814							
2.	Chuột voi đồi	<i>Hylomys suillus</i> Müller, 1840			M			LC	+
	3. Họ Chuột chù	Soricidae Fischer, 1814							
3.	Chuột chù nước miền bắc	<i>Chimarrogale himalayica</i> (Gray, 1842)			M			LC	+

STT	Tên Tiếng Việt	Tên khoa học	Nam Xuân Lạc	Bắc Mê	Chạm Chu	Phia Oắc Phia đen	Sách Đỏ Việt Nam 2007	Danh lục Đỏ IUCN 2024	NTS (2011)
4.	Chuột chù đuôi đen	<i>Crocidura tanakae</i> Kuroda, 1938		M	M			LC	+
5.	Chuột chù nhà	<i>Suncus murinus</i> (Linnaeus, 1766)	K, QS	K, QS	K, QS	K, QS		LC	+
	4. Họ Chuột chũi	Talpidae Fischer, 1814							
6.	Chuột chũi mũi dài	<i>Euroscaptor longirostris</i> (Milne Edwards, 1870)				M			+
7.	Chuột chũi	<i>Euroscaptor</i> sp.	PV,M	M	M	M			+
	III. BỘ DƠI	CHIROPTERA Blumbach, 1779							
	5. Họ Dơi quả	Pteropodidae Gray, 1821							
8.	Dơi chó cánh ngắn	<i>Cynopterus brachyotis</i> (Muller, 1838)	L					LC	+
9.	Dơi chó cánh dài	<i>Cynopterus sphinx</i> (Vahl,	L	M	M			LC	+

STT	Tên Tiếng Việt	Tên khoa học	Nam Xuân Lạc	Bắc Mê	Chạm Chu	Phia Oắc Phia đến	Sách Đỏ Việt Nam 2007	Danh lục Đỏ IUCN 2024	NTS (2011)
		1797)							
10.	Đoi quả lười dài	<i>Eonycteris spelaea</i> (Dobson, 1871)	M		M			LC	+
11.	Đoi ăn mật hoa lớn	<i>Macroglossus sobrinus</i> Andersen, 1911			M			LC	+
12.	Đoi quả núi cao	<i>Sphaerias blanfordi</i> (Thomas, 1891)	M		M			LC	+
13.	Đoi ngựa nâu	<i>Rousettus leschenaultii</i> (Desmarest, 1820)				L		LC	+
	6. Họ Đoi lá mũi	Rhinolophidae Gray, 1825							
14.	Đoi lá đuôi	<i>Rhinolophus affinis</i> Horsfield, 1823	L	M	M	L		LC	+
15.	Đoi lá mũi péc xôn	<i>Rhinolophus pearsonii</i> Horsfield, 1851	L,M			M		LC	+

STT	Tên Tiếng Việt	Tên khoa học	Nam Xuân Lạc	Bắc Mê	Chạm Chu	Phia Oắc Phia đen	Sách Đỏ Việt Nam 2007	Danh lục Đỏ IUCN 2024	NTS (2011)
16.	Đoi lá tô ma	<i>Rhinolophus thomasi</i> ADNersen, 1905	M		M	L		LC	+
17.	Đoi lá nam á	<i>Rhinolophus microglobosus</i> Csorba & Jenkins, 1998	M	M	M			LC	+
18.	Đoi lá mũi nhỏ	<i>Rhinolophus pusillus</i> Temminck, 1834		M		L		LC	+
19.	Đoi lá quạt	<i>Rhinolophus rex</i> Allen, 1923			M			LC	+
20.	Đoi lá tai dài	<i>Rhinolophus siamensis</i> Blyth, 1844				L		LC	+
	7. Họ Đoi nếp mũi	Hipposideridae Lydekker, 1891							
21.	Đoi nếp mũi quạ	<i>Hipposideros armiger</i> (Hodgson, 1835)	L, M	M	M	L		LC	+

STT	Tên Tiếng Việt	Tên khoa học	Nam Xuân Lạc	Bắc Mê	Chạm Chu	Phia Oắc Phia đến	Sách Đỏ Việt Nam 2007	Danh lục Đỏ IUCN 2024	NTS (2011)
22.	Đoi nếp mũi vương miện	<i>Hipposideros diadema</i> (Geoffroy, 1813)	L					LC	
23.	Đoi nếp mũi xám	<i>Hipposideros poutensis</i> (Allen 1906)	M	M	M	L		LC	+
24.	Đoi nếp mũi xinh	<i>Hipposideros gentilis</i> (Andersen, 1918)		M	M	L		EN	+
25.	Đoi nếp mũi ba lá	<i>Aselliscus dongbacanus</i> Tu, Csorba, Gorfol, Arai, Son, Thanh & Hassanin, 2015		M	M	L		LC	+
	8. Họ Đoi muỗi	Vespertilionidae Gray, 1821							
26.	Đoi muỗi xám	<i>Pipistrellus javanicus</i> (Gray, 1838)	L					LC	+
27.	Đoi muỗi nâu	<i>Pipistrellus coromandra</i>				L		LC	+

STT	Tên Tiếng Việt	Tên khoa học	Nam Xuân Lạc	Bắc Mê	Chạm Chu	Phia Oắc Phia đến	Sách Đỏ Việt Nam 2007	Danh lục Đỏ IUCN 2024	NTS (2011)
		(Gray, 1838)							
28.	Đoi muỗi mắt	<i>Pipistrellus tenuis</i> (Temminck, 1840)				L		LC	+
29.	Đoi muỗi ca-dora	<i>Hypsugo cadornae</i> Thomas, 1916				L		LC	+
30.	Đoi tai sọ cao	<i>Myotis alticraniatus</i> (Osgood, 1932)				L		LC	+
31.	Đoi tai bắc việt	<i>Myotis laniger</i> (Peters, 1870)				L		LC	
32.	Đoi mũi ống cánh lông	<i>Harpiocephalus harpia</i> (Temminck, 1840)				L		LC	+
33.	Đoi mũi ống	<i>Murina huttoni</i> (Peters, 1872)				L			+
34.	Đoi mũi ống nhỏ	<i>Murina eleryi</i> Furey, Thong, Bates, Csorba,				L			+

STT	Tên Tiếng Việt	Tên khoa học	Nam Xuân Lạc	Bắc Mê	Chạm Chu	Phia Oắc Phia đen	Sách Đỏ Việt Nam 2007	Danh lục Đỏ IUCN 2024	NTS (2011)
		2009							
35.	Đoi mũi ống lông vàng	<i>Murina chrysochaetes</i> Eger, Lim 2011				L			+
36.	Đoi ống tai tròn	<i>Murina cyclotis</i> Dobson, 1872	M			L			+
37.	Đoi tai nam á	<i>Myotis chinensis</i> (Tomes, 1857)			M			LC	+
38.	Đoi mũi nhẵn xám	<i>Kerivoula hardwickii</i> (Horsfield, 1824)				M		LC	+
39.	Đoi mũi nhẵn Mi- an-ma	<i>Kerivoula kachinensis</i> (Bates, Struebig, Rossiter, Kingston, Sia Sein Lein Oo & Khin Mya Mya, 2004)				L		LC	
40.	Đoi mũi nhẵn lớn	<i>Kerivoula titania</i> (Bates,				L		LC	+

STT	Tên Tiếng Việt	Tên khoa học	Nam Xuân Lạc	Bắc Mê	Chạm Chu	Phia Oắc Phia đen	Sách Đỏ Việt Nam 2007	Danh lục Đỏ IUCN 2024	NTS (2011)
		Struebig, Hayes, Furey, Mya Mya, Thong, Tien, Son, Harrison, Francis & Csorba, 2007)							
	9. Họ Dơi cánh	Miniopteridae Dobson, 1875							
41.	Dơi gập cánh dài	<i>Miniopterus fuliginosus</i> (Kuhl, 1819)				L		VU	+
	10. Họ Dơi ma	11. Megadermatidae Allen, 1864							
42.	Dơi ma bắc	<i>Lyroderma lyra</i> Geoffroy, 1810			M			LC	+
	IV. BỘ GẶM NHẮM	RODENTIA Bowdich, 1821							
	11. Họ Sóc bay	Pteromyidae Brand,							

STT	Tên Tiếng Việt	Tên khoa học	Nam Xuân Lạc	Bắc Mê	Chạm Chu	Phia Oắc Phia đen	Sách Đỏ Việt Nam 2007	Danh lục Đỏ IUCN 2024	NTS (2011)
		1855my							
43.	Sóc bay lớn	<i>Petaurista philippensis</i> (Elloit, 1839)	PV	PV		PV		LC	+
44.	Sóc bay lông tai	<i>Belomys pearsonii</i> (Gray, 1842)		M	QS	L		DD	+
45.	Sóc bay sao	<i>Petaurista elegans</i> (Müller, 1840)				L		LC	+
	12. Họ Sóc cây	Sciuridae Fischer de Waldheim, 1817							
46.	Sóc đen	<i>Ratufa bicolor</i> (Sparrman, 1778)	L, PV	PV	QS	L		NT	+
47.	Sóc bụng đỏ	<i>Callosciurus erythraeus</i> (Pallas, 1779)	L,M	PV,M ,QS	QS,M	QS		LC	+
48.	Sóc mõm hung	<i>Dremomys rufigenis</i> (Blanford, 1878)	L,M	PV	QS	M		LC	+

STT	Tên Tiếng Việt	Tên khoa học	Nam Xuân Lạc	Bắc Mê	Chạm Chu	Phia Oắc Phia đen	Sách Đỏ Việt Nam 2007	Danh lục Đỏ IUCN 2024	NTS (2011)
49.	Sóc chuột hải nam	<i>Tamiops maritimus</i> (Bonhote, 1900)	L,PV	PV,M,Q S	QS	PV		LC	+
50.	Sóc bụng xám	<i>Callosciurus inornatus</i> (Gray, 1867)		M	QS			LC	+
	13. Họ Dúi	Spalacidae Gray, 1821							
51.	Dúi mốc lớn	<i>Rhizomys pruinosus</i> (Blyth, 1851)	L,M,PV	PV	PV	PV,M		LC	+
	14. Họ Chuột	Muridae Illiger, 1811							
52.	Chuột nhắt nhà	<i>Mus musculus</i> (Linnaeus, 1758)	L	L	L	L		LC	+
53.	Chuột núi đuôi dài	<i>Leopoldamys edwardsi</i> (Thomas, 1882)	M	PV	M			LC	+
54.	Chuột hươu bé	<i>Niviventer fulvescens</i> (Gray, 1847)	M	M	M	M		LC	+
55.	Chuột mốc lớn	<i>Berylmys bowersi</i>	L	M		L,M		LC	+

STT	Tên Tiếng Việt	Tên khoa học	Nam Xuân Lạc	Bắc Mê	Chạm Chu	Phia Oắc Phia đen	Sách Đỏ Việt Nam 2007	Danh lục Đỏ IUCN 2024	NTS (2011)
		(Anderson, 1879)							
56.	Chuột núi	<i>Leopoldamys sabanus</i> (Thomas, 1887)		PV					+
57.	Chuột nhắt nương	<i>Mus pahari</i> (Thomas, 1916)		M				LC	+
58.	Chuột thường	<i>Rattus rattus</i> (Linnaeus, 1758)		QS				LC	+
59.	Chuột bóng	<i>Rattus nitidus</i> (Hodgson, 1845)			M			LC	+
60.	Chuột lang-bi-an	<i>Niviventer langbianis</i> (Robinson & Kloss, 1922)		M	M			LC	+
61.	Chuột rừng đông dương	<i>Rattus andamanensis</i> (Blyth, 1860)		M				LC	+
62.	Chuột nhắt cây	<i>Chiropodomys gliroides</i> (Blyth, 1856)			M			LC	+

STT	Tên Tiếng Việt	Tên khoa học	Nam Xuân Lạc	Bắc Mê	Chạm Chu	Phia Oắc Phia đen	Sách Đỏ Việt Nam 2007	Danh lục Đỏ IUCN 2024	NTS (2011)
63.	Chuột su-ri	<i>Maxomys surifer</i> (Miller, 1900)			M			LC	
64.	Chuột Thomas	<i>Chiromyscus thomasi</i> (Balakirev, Abramov & Rozhnov, 2014)			M				

Ghi chú: L – Tham khảo; QS - Quan sát trực tiếp; PV - Phỏng vấn; M - Mẫu vật Danh lục Đỏ IUCN: EN - Nguy cấp; VU – Sẽ nguy cấp; NT – Gần bị đe dọa; LR – Ít quan ngại

3.1.2. Các các phát hiện mới

Quần thể đười *Tupaia* sp. phân bố trong khu vực Đông Bắc với mẫu vật thu tại các Cát Bà (Hải Phòng), Hữu Liên (Lạng Sơn), Bắc Mê (Hà Giang) có khả năng là loài mới bởi khác biệt so với các loài trong giống *Tupaia* với khoảng cách di truyền nhỏ nhất là với gen *COI* là 11,23% và 10,6% với đoạn gen *cyt b*.

Quần thể Chuột chũi *Euroscaptor* sp. mới ghi nhận tại KBTTN Chạm Chu có khả năng là một đơn vị phân loại mới với khoảng cách di truyền trên đoạn gen *cyt b* với loài *E. orlovi* là 5,35 - 6,35%. Quần thể tại KBTTN Tây Côn Lĩnh có khoảng cách di truyền so với nhóm bao gồm quần thể tại Chạm Chu và *E. orlovi* là 5,56-7,1% trên đoạn gen *cyt b*.

Nghiên cứu này cũng ghi nhận vùng phân bố mới của loài Chuột thomas (*Chiromyscus thomasi*), ghi nhận ở KBTTN Chạm Chu.

3.1.3. Các loài có giá trị bảo tồn

Theo danh lục Đỏ IUCN 2023, kết quả nghiên cứu chỉ ghi nhận trong phạm vi nghiên cứu 01 loài nguy cấp (EN) là Dơi nếp mũi xinh (*Hipposideros gentilis*), 01 loài gần bị đe dọa (NT) Sóc đen (*Ratufa bicolor*), 01 loài sắp nguy cấp (VU) là Dơi gập cánh dài (*Miniopterus fuliginosus*) (Bảng 3.2).

Nghiên cứu không ghi nhận loài có tên trong các danh mục ưu tiên bảo tồn khác như Nghị định 84/2021/NĐ-CP, Nghị định 64/2019/NĐ-CP, danh lục CITES (2023) và Sách Đỏ Việt Nam (2007) [3].

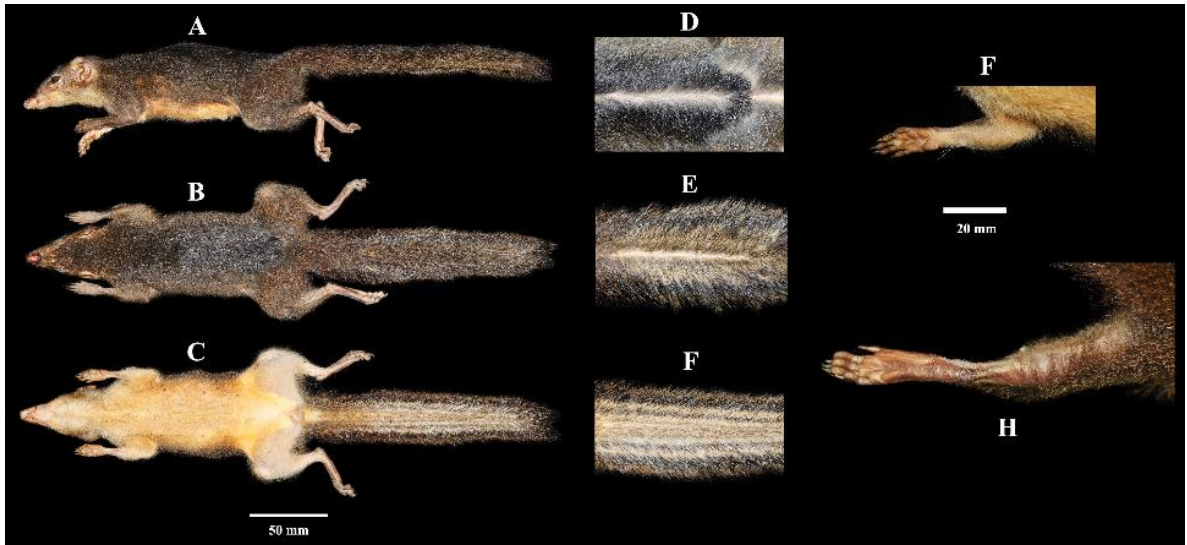
Nghiên cứu không ghi nhận sự có mặt của loài Chuột núi đào văn tiến (*Tonkinomys daovantieni*). Hiện nay loài chuột này chỉ được ghi nhận trong vùng nhỏ trong KBTTN Hữu Liên (Lạng Sơn) [104].

3.1.4. Ứng dụng chỉ thị SHPT trong xác định các taxon mới

*Giống đười - *Tupaia*

Với phân tích sinh học phân tử kết hợp với hình thái, nghiên cứu đã xác định được một số mẫu vật có khả năng là loài mới phân bố tại khu vực Đông Bắc, bao gồm 1 mẫu tại KBTTN Bắc Mê (Hà Giang), 2 mẫu tại KBTTN Hữu Liên (Lạng Sơn), 3 mẫu tại VQG Cát Bà (Hải Phòng).

Phân tích đặc điểm hình thái



Hình 3.4. Đặc điểm hình thái ngoài mẫu *Tupaia* sp. thu tại Cát Bà
A: mặt bên, B: mặt trên, C: mặt bụng, D: bên trên lông đuôi, E: bên cạnh lông đuôi, F: bên dưới lông đuôi, G: chi trước, H: chi sau.

Về hình thái ngoài, các mẫu vật này có đặc điểm bộ lông và hình thái dương vật không tương tự nhóm *T. belangeri* (Hình 3.4). Chiều dài đầu và thân, chiều dài đuôi, chiều dài bàn chân sau và chiều dài tai lần lượt là HB: 182 – 210 mm, TL: 158 – 168 mm, HF: 13,26 – 15,8 mm, E: 38,8 – 42,5 mm, 150 – 200 g (Bảng 3.3).





Hình 3.5. Hình thái hộp sọ và công thức răng mẫu thu tại Cát Bà Việt Nam.

Nghiên cứu của Endo và cộng sự, 2021 dựa trên sự biến đổi hình thái sọ trong *T. belangeri* tại các nước Đông Nam Á cho thấy nhóm này tại miền Bắc Việt Nam (mẫu thu thập tại Hà Nội, Bắc Giang, Lào Cai) có hình thái tương đồng với các quần thể ở Trung Lào và miền Bắc và Đông Thái Lan [36]. Các mẫu thu được trong nghiên cứu này khác biệt với các nhóm *Tupaia belangeri* ở Đông Nam Á bởi kích thước hộp sọ nhỏ hơn (Bảng 3.3). Hộp sọ của loài nhỏ, nhưng có vòm cao khác với các loài *Tupaia* khác (Hình 3.5). Răng hàm của loài này khá nhỏ nên tạo nên những khoảng trống lớn cho răng. Đặc biệt, khoảng trống của răng cửa trên I1 tương đối rộng hơn. Đặc điểm bên ngoài của các mẫu thu thập được tương tự như *T. belangeri* nhưng kích thước cơ thể trung bình nhỏ hơn đáng kể.

Bảng 3.3. So sánh đặc điểm hình thái ngoài và sọ của *Tupaia* sp. và *T. belangeri* (Dữ liệu tham khảo từ Endo và cộng sự, 2021) [36]

Chỉ số	<i>Tupaia</i> sp.					Đực - <i>Tupaia belangeri</i>			Cái - <i>Tupaia belangeri</i>		
	n	TB	SD	Min	Max	n	Mean	SD	n	Mean	SD
Hình thái ngoài											
HB	5	191,20	11,63	182,00	210,00	160 - 230					
TL	5	156,60	8,65	145,00	168,00	150 - 200					
E	5	12,90	1,70	10,92	15,18	15 - 20					
HF	5	43,73	3,14	39,73	46,85	38 - 45					
Wt	5	166,00	27,02	130,00	200,00	160 - 200					
Sọ						<i>Tham khảo: Wilson 2017</i>					
PL	7	45,39	1,81	48,28	52,83	22	52,57	1,07	38,00	51,81	1,14
CL	7	39,39	1,47	41,95	46,15	22	45,59	1,06	38,00	44,98	1,04
SL	7	19,48	1,33	19,70	23,16	22	23,02	0,96	38,00	22,49	0,73
LIF	7	4,70	0,25	4,13	4,77	22	-	-	38,00	-	-
LR	7	16,53	1,28	15,80	19,19	22	-	-	38,00	-	-
GBFI	7	3,98	0,63	2,69	4,22	22	-	-	38,00	-	-
MLF1	7	2,59	0,40	1,54	2,64	22	-	-	38,00	-	-
ZW	7	22,83	0,88	23,97	26,56	22	26,34	0,87	38,00	25,34	0,89
LBO	7	13,17	0,46	13,61	14,97	22	15,85	0,67	38,00	14,38	0,54
GNB	7	18,17	0,23	19,47	20,14	22	19,67	0,30	38,00	19,70	0,45
MPL	7	24,12	0,92	25,33	27,71	22	28,18	0,81	38,00	27,32	0,72
LBS	7	16,39	0,66	16,82	18,48	22	17,72	0,54	38,00	17,54	0,54
GPB	7	15,01	0,84	14,83	17,15	22	16,39	0,53	38,00	16,38	0,50

Chỉ số	<i>Tupaia</i> sp.					Đực - <i>Tupaia belangeri</i>			Cái - <i>Tupaia belangeri</i>		
	n	TB	SD	Min	Max	n	Mean	SD	n	Mean	SD
DL	7	23,45	0,70	24,85	26,91	22	27,64	0,62	38,00	27,74	0,79
LAB	7	9,14	0,54	8,62	10,18	22	-	-	38,00	-	-
GMB	7	16,66	0,51	17,16	18,60	22	21,01	0,58	38,00	20,74	0,47
MLA	7	3,83	0,38	2,83	3,94	22	-	-	38,00	-	-
HAB	7	6,45	0,55	5,64	7,03	22	12,51	0,42	38,00	12,22	0,35
LC	7	30,35	1,00	32,30	34,61	22	36,02	1,03	38,00	35,10	0,86
LA	7	30,68	1,61	31,59	35,83	22	36,14	1,12	38,00	35,22	0,89
LIA	7	25,83	0,94	27,03	29,33	22	22,61	0,68	38,00	22,23	0,64
HR	7	12,54	0,64	12,49	14,51	22	14,33	0,84	38,00	13,81	0,52
HM	7	4,42	0,33	3,52	4,45	22	3,91	0,39	38,00	3,74	0,25

Quan hệ di truyền

Ba phân tích dựa trên dữ liệu các đoạn *cyt b*, *COI* và dữ liệu kết hợp (bốn gen *cyt b*, *COI*, *12S* và *16S*) đã được thực hiện. Các mô hình tiến hóa tối ưu được chọn lần lượt là TVM + I + G, TVM + G và GTR + G lựa chọn bởi phần mềm jModelTest v2.1.4. Phân tích Bayes được thực hiện trên phần mềm MrBayes v3.2.1, lần lượt giá trị burnin được đặt là 10, 7 và 10 khi giá trị lnL đạt mức ổn định sau 10.000, 7.000 và 10.000 thế hệ với ba phân tích dựa trên gen *cyt b*, *COI* và phân tích dữ liệu kết hợp. Sáu mẫu từ 3 khu vực thuộc Đông Bắc được chọn từ các mẫu hình thái bao gồm 3 mẫu từ VQG Cát Bà, Hải Phòng; 1 mẫu từ KBTTN Bắc Mê, Hà Giang; 2 mẫu được thu thập tại KBTTN Hữu Liên, Lạng Sơn.

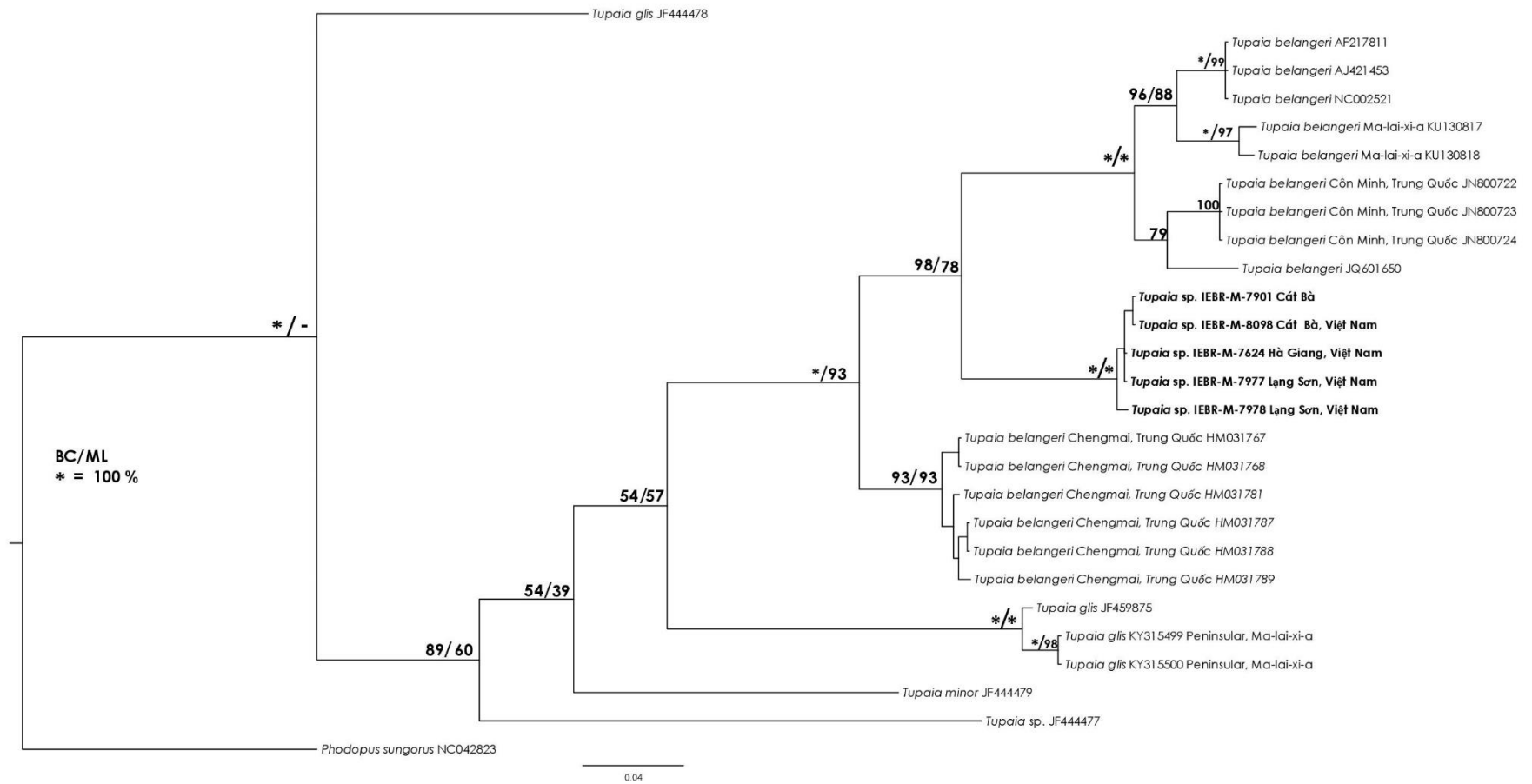
Các thông tin chi tiết về mã truy cập các đoạn gen, địa điểm thu của mẫu vật trong nghiên cứu và các trình tự tham khảo trên GenBank được thể hiện trong Phụ lục 2 Trong đó tổng cộng 71 taxon được đưa vào trong tất cả các phân tích, bao gồm 6 mẫu trong nghiên cứu này, 8 mẫu *Tupaia glis*, 29 mẫu *T. belangeri*, 3 mẫu *T. minor*, 7 mẫu *T. tana*, 3 mẫu *T. splendidula*, 1 mẫu *T. salatana*, 1 mẫu *T. montana*,

1 mẫu *T. palawanensis*, 1 mẫu *T. moellendorffi*, 1 mẫu *T. javanica*, 1 mẫu *T. nicobarica*, 1 mẫu *T. gracilis*, 2 mẫu *T. dorsalis*, 1 mẫu *T. longipes*, 1 mẫu *T. chrysogaster* và 4 trình tự dùng làm nhóm ngoài bao gồm 1 trình tự của loài *Urogale everetti*, 2 trình tự của loài *Dendrogale murina* và 1 trình tự của loài *Phodopus sungorus*.

Cây quan hệ di truyền với 3 phân tích khác nhau (Hình 3.6, 3.7, 3.8) cho thấy các mẫu vật đò tại Đông Bắc Việt Nam tạo thành một nhóm riêng biệt với các nhóm *Tupaia belangeri* và các loài khác trong giống *Tupaia* với một vài điểm khác biệt như sau:

Trong cả hai cây này, các mẫu thu tại Đông Bắc, Việt Nam tách thành một nhánh riêng biệt với chỉ số nhánh đáng tin cậy cho cả hai phân tích BC và ML (Hình 3.6, 3.7). Cây quan hệ di truyền dựa trên đoạn gen *COI* bao gồm 27 trình tự: 1 nhóm ngoài, 21 trình tự các đoạn *COI* của các loài trong giống *Tupaia* thu thập trên ngân hàng gen và 5 trình tự thu được trong nghiên cứu này. Trong 21 trình tự thu thập trên ngân hàng gen có 09 mẫu *Tupaia belangeri* thu tại Trung Quốc (6 mẫu tại Chengmai, và 3 mẫu tại Côn Minh), 02 mẫu *Tupaia belangeri* thu tại Ma-lai-xi-a, 04 mẫu *Tupaia belangeri* không rõ nguồn gốc và một số mẫu *Tupai glis* và *Tupaia minor*.

Phân tích dựa trên đoạn *COI* cho thấy nhóm các mẫu mới thu và các mẫu được coi là *Tupaia belangeri* tách thành một nhánh riêng biệt với các loài khác trong giống *Tupaia* thu tại một số nước trong khu vực như Trung Quốc, Ma-lai-xi-a. Trong nhánh lớn này, các mẫu chia ra thành 3 nhóm nhỏ, trong đó nhánh Việt Nam và nhánh có mẫu ở Côn Minh, Trung Quốc là hai nhánh chị em tách biệt với chỉ số nhánh cả hai phân tích BC và ML đều là 100. Khoảng cách di truyền của đoạn gen *COI* với các mẫu *Tupaia* khác trong cây quan hệ đều có giá trị lớn hơn 11.23%. Nhóm cá thể phân bố quanh khu vực Đông Bắc thu được trong nghiên cứu này không có sự khác biệt đáng kể 0-0,92% (Bảng 3.4).



Hình 3.6. Cây quan hệ di truyền Bayes dựa trên gen *COI* của hệ gen ty thể với nhóm *Tupaia*. Các mẫu thu thập từ Cát Bà, Lạng Sơn (KBT thiên nhiên Hữu Liên) và Hà Giang (Khu bảo tồn thiên nhiên Bắc Mê) được tô đậm

.Bảng 3. 4. Bảng Khoảng cách di truyền trên đoạn COI nhóm *Tupaia*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1 NC042823 <i>Phodopus sungorus</i> -													
2 AF217811 <i>Tupaia belangeri</i>	18,97	-											
3 AJ421453 <i>Tupaia belangeri</i>	18,97	0,00	-										
4 JN800722 <i>Tupaia belangeri</i>	19,58	6,00	6,00	-									
5 JN800723 <i>Tupaia belangeri</i>	19,58	6,00	6,00	0,00	-								
6 JN800724 <i>Tupaia belangeri</i>	19,58	6,00	6,00	0,00	0,00	-							
7 NC <i>Tupaia belangeri</i>	18,97	0,00	0,00	6,00	6,00	6,00	-						
8 Tb1 <i>Tupaia</i> sp CatBa	18,07	12,92	12,92	12,00	12,00	12,00	12,92	-					
9 Tb6 <i>Tupaia</i> sp HaGiang	18,54	13,00	13,00	11,72	11,72	11,72	13,00	0,31	-				
10 Tb7 <i>Tupaia</i> sp LangSon	18,38	12,92	12,92	12,00	12,00	12,00	12,92	0,92	0,64	-			
11 Tb14 <i>Tupaia</i> sp LangSon	18,38	12,92	12,92	11,69	11,69	11,69	12,92	0,31	0,00	0,62	-		
12 Tb18 <i>Tupaia</i> sp Cat Ba	18,07	12,92	12,92	12,00	12,00	12,00	12,92	0,00	0,31	0,92	0,31	-	
13 HM031767 <i>Tupaia belangeri</i>	18,52	13,23	13,23	12,92	12,92	12,92	13,23	11,85	11,90	11,85	11,85	11,85	-
14 HM031768 <i>Tupaia belangeri</i>	18,52	13,23	13,23	12,92	12,92	12,92	13,23	11,85	11,90	11,85	11,85	11,85	0,00
15 HM031781 <i>Tupaia belangeri</i>	18,52	13,08	13,08	13,08	13,08	13,08	13,08	11,23	11,27	11,23	11,23	11,23	1,23
16 HM031787 <i>Tupaia belangeri</i>	18,52	13,08	13,08	13,54	13,54	13,54	13,08	11,54	11,59	11,54	11,54	11,54	1,54
17 HM031788 <i>Tupaia belangeri</i>	18,52	13,08	13,08	13,54	13,54	13,54	13,08	11,54	11,59	11,54	11,54	11,54	1,54
18 HM031789 <i>Tupaia belangeri</i>	18,21	13,54	13,54	13,69	13,69	13,69	13,54	11,39	11,75	11,69	11,69	11,39	1,69
19 JQ601650 <i>Tupaia belangeri</i>	19,67	6,51	6,51	5,25	5,25	5,25	6,51	12,26	12,14	11,95	11,94	12,26	12,24
20 KU130817 <i>Tupaia belangeri</i>	19,51	5,38	5,38	6,74	6,74	6,74	5,38	12,97	12,90	12,64	12,64	12,97	12,44

21	KU130818	<i>Tupaia belangeri</i>	19,69	5,06	5,06	6,75	6,75	6,75	5,06	13,14	13,08	12,81	12,81	13,14	13,13
22	JF444477	<i>Tupaia sp.</i>	22,02	21,01	21,01	18,91	18,91	18,91	21,01	18,25	18,15	18,60	18,09	18,25	18,79
23	JF444478	<i>Tupaia glis</i>	17,21	18,60	18,60	19,59	19,59	19,59	18,60	18,29	18,33	18,12	18,29	18,29	17,10
24	JF444479	<i>Tupaia minor</i>	19,35	17,55	17,55	18,40	18,40	18,40	17,55	18,57	18,43	18,57	18,57	18,57	16,90
25	JF459875	<i>Tupaia glis</i>	21,48	19,23	19,23	18,80	18,80	18,80	19,23	18,48	18,28	18,16	18,32	18,48	16,55
26	KY315499	<i>Tupaia glis</i>	20,11	18,46	18,46	18,46	18,46	18,46	18,46	18,00	17,79	17,69	17,85	18,00	16,92
27	KY315500	<i>Tupaia glis</i>	20,71	18,50	18,50	18,46	18,46	18,46	18,50	18,31	18,07	17,90	18,12	18,31	15,69

	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
14 HM031768 <i>Tupaia belangeri</i>	-													
15 HM031781 <i>Tupaia belangeri</i>	1,23	-												
16 HM031787 <i>Tupaia belangeri</i>	1,54	0,62	-											
17 HM031788 <i>Tupaia belangeri</i>	1,54	0,62	0,00	-										
18 HM031789 <i>Tupaia belangeri</i>	1,69	0,77	0,77	0,77	-									
19 JQ601650 <i>Tupaia belangeri</i>	12,24	12,08	11,92	11,92	12,71	-								
20 KU130817 <i>Tupaia belangeri</i>	12,44	12,28	12,95	12,95	12,94	7,43	-							
21 KU130818 <i>Tupaia belangeri</i>	13,13	12,96	13,63	13,63	13,62	7,77	1,35	-						
22 JF444477 <i>Tupaia sp</i>	18,79	18,80	18,64	18,64	18,97	19,14	20,34	20,52	-					
23 JF444478 <i>Tupaia glis</i>	17,10	17,45	16,94	16,94	17,44	18,83	19,57	19,91	18,29	-				
24 JF444479 <i>Tupaia minor</i>	16,90	17,24	16,90	16,90	16,90	16,78	17,80	17,97	19,68	17,27	-			
25 JF459875 <i>Tupaia glis</i>	16,55	16,70	17,17	17,17	17,17	18,14	18,03	17,87	20,72	20,67	17,79	-		
26 KY315499 <i>Tupaia glis</i>	16,92	16,77	16,92	16,92	16,92	18,16	18,39	18,05	20,60	20,49	18,26	2,08	-	
27 KY315500 <i>Tupaia glis</i>	15,69	15,65	15,86	15,86	16,21	17,00	17,46	17,69	20,88	19,33	16,54	1,89	0	-

Bảng 3.5. Khoảng cách di truyền đoạn cyt *b* nhóm Tupaia

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
1	AY321634 <i>Dendrogale melanura</i>	-														
2	EU531758 <i>Tupaia belangeri</i>	16,53	-													
3	EU531756 <i>Tupaia belangeri</i>	16,44	0,27	-												
4	EU531755 <i>Tupaia belangeri</i>	16,53	0,00	0,27	-											
5	HQ836337 <i>Tupaia belangeri</i>	16,62	0,27	0,18	0,27	-										
6	HQ836336 <i>Tupaia belangeri</i>	16,71	0,18	0,27	0,18	0,09	-									
7	HQ836335 <i>Tupaia belangeri</i>	16,53	0,00	0,27	0,00	0,27	0,18	-								
8	HQ836325 <i>Tupaia belangeri</i>	16,53	0,18	0,44	0,18	0,44	0,36	0,18	-							
9	DQ986459 <i>Tupaia belangeri</i>	16,62	0,71	0,80	0,71	0,98	0,89	0,71	0,89	-						
10	KU130880 <i>Tupaia belangeri</i>	16,67	5,22	5,20	5,22	5,20	4,95	5,22	5,43	6,05	-					
11	KU130879 <i>Tupaia belangeri</i>	16,45	5,97	5,94	5,97	5,94	5,69	5,97	6,17	6,78	1,24	-				
12	NC2521 <i>Tupaia belangeri</i>	16,33	8,26	8,17	8,26	8,17	8,08	8,26	8,35	8,61	3,23	3,99	-			
13	AJ421453 <i>Tupaia belangeri</i>	16,33	8,26	8,17	8,26	8,17	8,08	8,26	8,35	8,61	3,23	3,99	0,00	-		
14	AF217811 <i>Tupaia belangeri</i>	16,33	8,26	8,17	8,26	8,17	8,08	8,26	8,35	8,61	3,23	3,99	0,00	0,00	-	
15	AY321637 <i>Tupaia chinensis</i>	16,53	0,18	0,44	0,18	0,44	0,36	0,18	0,36	0,71	5,47	6,22	8,43	8,43	8,43	-
16	MT442048 <i>Tupaia tana</i>	14,72	17,04	17,04	17,04	17,04	17,04	17,04	17,04	17,40	15,70	15,44	16,26	16,26	16,26	17,22
17	MT442049 <i>Tupaia tana</i>	14,71	17,12	17,11	17,12	17,11	17,11	17,12	17,12	17,47	15,70	15,44	16,24	16,24	16,24	17,29
18	MT442047 <i>Tupaia tana</i>	14,71	17,03	17,03	17,03	17,03	17,03	17,03	17,03	17,39	15,71	15,45	16,33	16,33	16,33	17,20
19	AY321644 <i>Tupaia glis</i>	12,36	15,73	15,64	15,73	15,64	15,73	15,73	15,73	16,18	15,24	15,02	15,62	15,62	15,62	15,82
20	MT442046 <i>Tupaia tana</i>	14,80	17,12	17,12	17,12	17,12	17,12	17,12	17,12	17,47	15,95	15,70	16,41	16,41	16,41	17,29
21	MT442045 <i>Tupaia tana</i>	14,89	17,12	17,11	17,12	17,11	17,11	17,12	17,12	17,47	15,71	15,45	16,24	16,24	16,24	17,29
22	AY321639 <i>Tupaia glis</i>	11,91	15,38	15,29	15,38	15,29	15,38	15,38	15,38	15,82	14,76	14,54	15,36	15,36	15,36	15,47
23	AY321646 <i>Tupaia longipes</i>	17,51	15,29	15,38	15,29	15,38	15,29	15,29	15,38	15,56	13,82	13,57	16,42	16,42	16,42	15,38

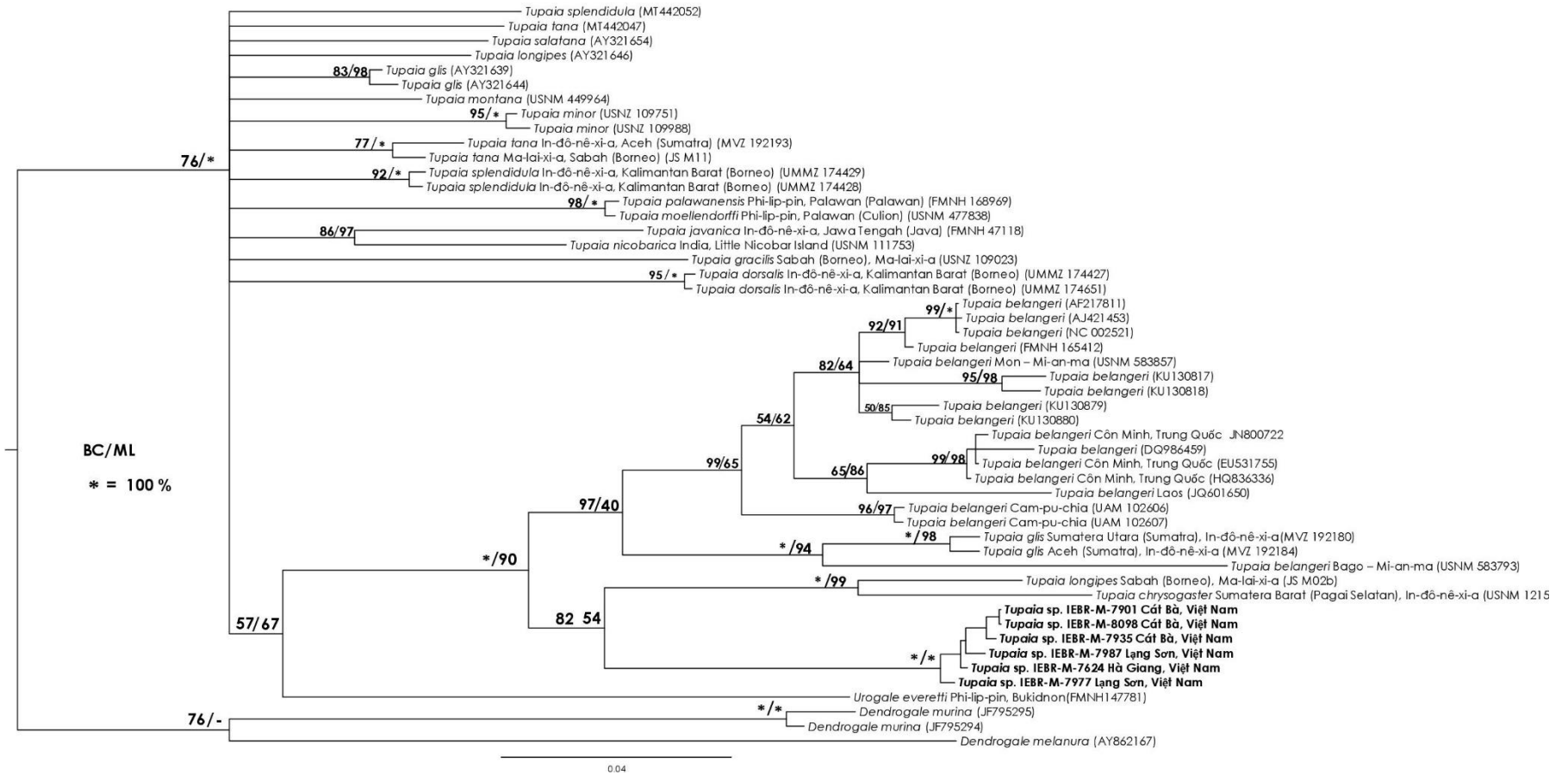
24	MT442052 <i>Tupaia splendidula</i>	16,15	16,87	16,69	16,87	16,69	16,69	16,87	16,87	17,05	14,65	14,89	16,28	16,28	16,28	17,05
25	AY321654 <i>Tupaia salatana</i>	18,04	17,24	17,07	17,24	17,07	17,07	17,24	17,33	17,51	17,02	17,75	17,67	17,67	17,67	17,33
26	Tb1 <i>Tupaia</i> sp. CatBa	17,04	12,68	12,59	12,68	12,59	12,51	12,68	12,68	12,77	11,11	10,87	12,57	12,57	12,57	12,77
27	Tb6 <i>Tupaia</i> sp. HaGiang	16,77	12,34	12,25	12,34	12,25	12,16	12,34	12,34	12,61	10,35	10,11	11,91	11,91	11,91	12,43
28	Tb7 <i>Tupaia</i> sp. LangSon	16,95	12,15	12,06	12,15	12,06	11,97	12,15	12,15	12,42	10,62	10,38	12,30	12,30	12,30	12,23
29	Tb14 <i>Tupaia</i> sp. LangSon	16,77	11,97	11,88	11,97	11,88	11,79	11,97	11,97	12,24	10,60	10,36	12,06	12,06	12,06	12,06
30	Tb18 <i>Tupaia</i> sp. Cat Ba	17,03	12,68	12,59	12,68	12,59	12,51	12,68	12,68	12,77	11,11	10,87	12,59	12,59	12,59	12,77

		16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
16	MT442048 <i>Tupaia tana</i>	-														
17	MT442049 <i>Tupaia tana</i>	0,17	-													
18	MT442047 <i>Tupaia tana</i>	0,00	0,17	-												
19	AY321644 <i>Tupaia glis</i>	15,98	15,88	16,06	-											
20	MT442046 <i>Tupaia tana</i>	0,09	0,26	0,09	16,15	-										
21	MT442045 <i>Tupaia tana</i>	0,17	0,35	0,17	16,15	0,26	-									
22	AY321639 <i>Tupaia glis</i>	15,63	15,52	15,70	0,80	15,79	15,79	-								
23	AY321646 <i>Tupaia longipes</i>	15,44	15,60	15,42	16,80	15,51	15,51	16,62	-							
24	MT442052 <i>Tupaia splendidula</i>	12,38	12,54	12,45	16,60	12,54	12,45	16,34	17,03	-						
25	AY321654 <i>Tupaia salatana</i>	17,31	17,30	17,30	15,91	17,39	17,38	15,73	11,47	19,70	-					
26	Tb1 <i>Tupaia</i> sp. CatBa	15,65	15,72	15,72	15,45	15,80	15,80	15,62	15,53	17,40	18,29	-				
27	Tb6 <i>Tupaia</i> sp. HaGiang	15,35	15,42	15,42	15,01	15,51	15,51	15,18	15,63	16,92	18,21	0,95	-			
28	Tb7 <i>Tupaia</i> sp. LangSon	15,30	15,37	15,37	15,00	15,45	15,45	15,18	15,34	16,79	18,37	1,03	0,60	-		
29	Tb14 <i>Tupaia</i> sp. LangSon	15,14	15,21	15,21	15,18	15,30	15,30	15,35	15,35	16,62	18,38	1,29	0,69	0,94	-	
30	Tb18 <i>Tupaia</i> sp. Cat Ba	15,68	15,75	15,75	15,44	15,84	15,84	15,62	15,53	17,42	18,30	0,00	0,95	1,03	1,29	-

Cây quan hệ di truyền được phân tích dựa trên đoạn gen *cyt b* bao gồm 30 trình tự: 1 nhóm ngoài, 5 mẫu được phân tích trong nghiên cứu này, 14 trình tự *Tupaia belangeri* (4 mẫu có nguồn gốc từ Côn Minh, Trung Quốc), 10 trình tự một số loài trong giống *Tupaia* bao gồm *Tupaia tana*, *Tupaia splendidula*, *Tupaia longipes*, *Tupaia salatana*, *Tupaia glis* (Hình 3.7). Cây quan hệ di truyền thu được cho thấy nhóm bao gồm mẫu Việt Nam và các mẫu *Tupaia belangeri* tách thành một nhóm riêng biệt với các loài khác trong giống *Tupaia*. Trong nhóm này, các mẫu Việt Nam tách biệt với các mẫu còn lại với chỉ số nhánh ở cả phân tích BC và ML là 99-100. Khoảng cách di truyền với đoạn *cyt b* của mẫu Việt Nam với các mẫu khác là lớn hơn 10,6%. Trong nhóm các cá thể Việt Nam khoảng cách di truyền trên đoạn gen *cyt b* là 0-1,29% (Bảng 3.5).

Với cây quan hệ di truyền kết hợp dữ liệu của 4 đoạn gen *cyt b*, *COI*, *12S* và *16S*, bao gồm 51 trình tự: 4 trình tự nhóm ngoài, 6 trình tự mẫu phân tích trong nghiên cứu và 43 trình tự là các mẫu trong giống *Tupaia* có phân bố trong khu vực Trung Quốc - Đông Nam Á bao gồm Trung Quốc, Ma-lai-xi-a, In-đô-nê-xi-a, Phi-líp-pin, Cam-pu-chia, và các mẫu không rõ nguồn gốc (Hình 3.8) tham khảo từ nghiên cứu. Cây quan hệ di truyền có nhiều nhánh phân loại, trong đó có chỉ số nhánh đáng tin cậy là trên 90 với BC và trên 70 với ML. Các mẫu vật tại Đông Bắc Việt Nam có mối quan hệ gần gũi với nhóm hai loài *Tupaia longipes* và *Tupaia chrysogaster* với chỉ số tin cậy (99-100) cho cả hai phân tích BC và ML. Thêm vào đó, khoảng cách di truyền các mẫu vật thu được trên đoạn *cyt b* và *COI* với dữ liệu trên ngân hàng gen đều trên 10%. Với dữ liệu phân tích hiện tại, các mẫu vật thu được có nhiều khác biệt với các mẫu *T. belangeri* trong khu vực Đông Nam Á và Trung Quốc.

Nghiên cứu này chưa thu được mẫu ADN khu vực phía Tây Bắc như trong nghiên cứu của Endo và cộng sự (2021) nên chưa có sự so sánh giữa hai khu vực Đông Bắc và Tây Bắc Việt Nam.

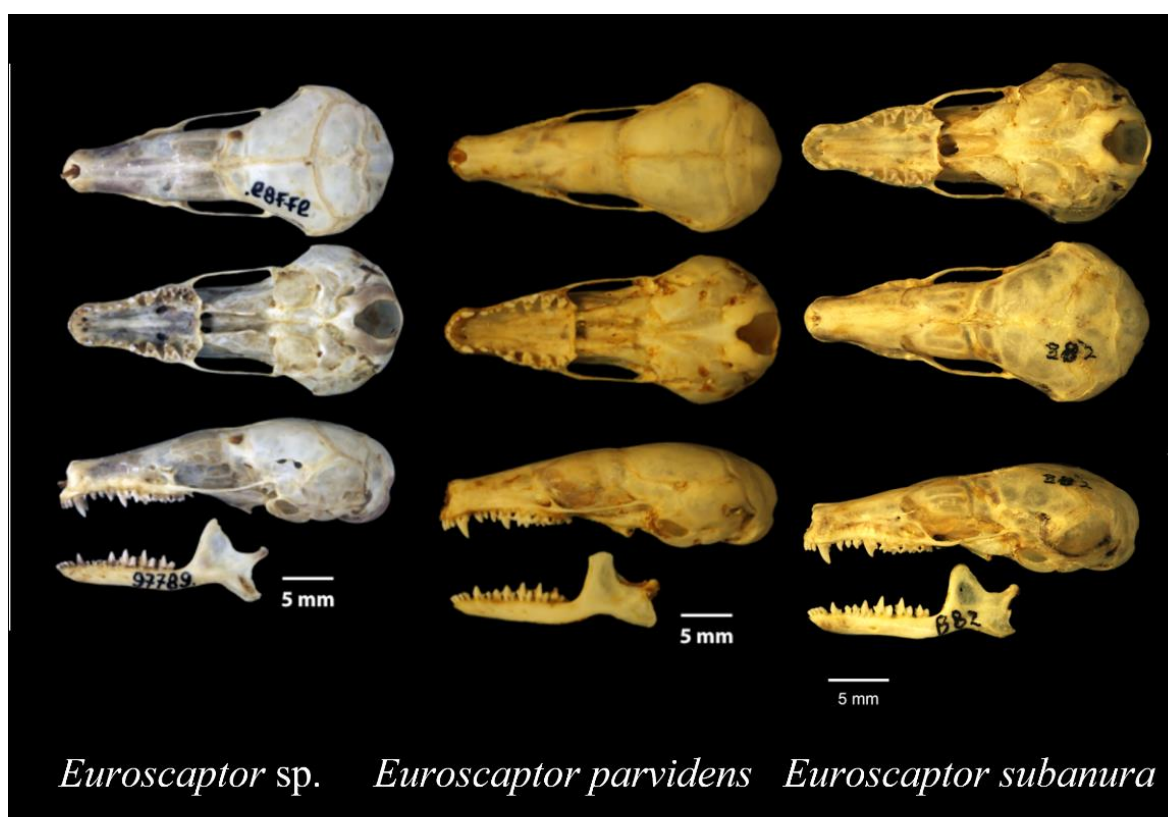


Hình 3.8. Cây quan hệ di truyền kết hợp 4 đoạn gen *cytochrome b*, *COI*, 12S, 16S của ty thể với nhóm *Tupaia*. Các mẫu thu thập từ Cát Bà, Lạng Sơn và Hà Giang (Khu bảo tồn thiên nhiên Bắc Mê) được tô đậm.

* Chuột chũi – giống *Euroscaptor*

Phân tích đặc điểm hình thái

Bốn mẫu vật bao gồm 3 mẫu thu tại KBTTN Chạm Chu và 1 mẫu tại KBTTN Tây Côn Lĩnh (mã thực địa AV0 thu tại Tây Côn Lĩnh năm 2018) đã được thu thập và so sánh. Các mẫu vật này có cùng kích thước cơ thể và hình dạng đuôi giống nhau với hai loài trên trong khi khác nhau về cấu trúc răng và màu xám đen của bộ lông (Bảng 3.6 và Hình 3.9). Một số mẫu vật được thu thập ở Phù Lưu cho thấy có màu cam sẫm đặc biệt ở cổ và cẳng tay (Hình 3.10).



Hình 3.9. So sánh hình thái sọ mẫu Chuột chũi *Euroscaptor* sp. và một số loài khác trong giống *Euroscaptor* (Ảnh: Bùi Tuấn Hải, 2022)



Hình 3.10. Bộ lông của hai mẫu vật thu tại Chạm Chu có phần lông màu cam trước ngực (Ảnh: Bùi Tuấn Hải, 2020)

Các nghiên cứu gần đây đã nhận định rằng cả *E. orlovi* và *E. kuznetsovi* đều sinh sống ở các khu vực có độ cao lớn (trung ứng là 1.900–2.330 m và 700– 1.300 m), trong khi *E. subanura* được tìm thấy ở độ cao thấp hơn (250–570 m), không có sự chùng chéo về phân bố theo chiều dọc [80, 195]. Tuy nhiên, các mẫu vật thu tại Chạm Chu trong nghiên cứu này được thu thập ở cả hai độ cao là khoảng 200 m (Phù Lư) và 700 m (Cao Đường) so với mặt nước biển.

Bảng 3.6. So sánh chỉ số hình thái với một số loài trong giống *Euroscaptor*

	BW	HB	TL	TR
<i>Euroscaptor</i> sp. CHAMCHU	54,85±6,15	129,08±5,79	14,82 ± 3,57	11,5
(nghiên cứu này)	45,6-64,5	120,71-137,62	8,93-19,28	
<i>Euroscaptor orlovi</i> (Zemlemerova và cộng sự, 2016)	-	132-136		12,6-13,7
<i>Euroscaptor subanura</i> (Kawada và cộng sự, 2012)	38,97 ± 3,68 33,8–43,0	122,88 ± 5,51 113,0–130,0	4,38 ± 0,44 4,0–5,0	3,6
<i>Euroscaptor parvidens</i> (Kawada và cộng sự, 2012)	52,98 ± 7,28 37,3–63,5	143,75 ± 3,75 135,0–148,5	6,95 ± 6,95 5,5–9,0	4,8
<i>Euroscaptor longirostris</i> (Kawada và cộng sự, 2012)	59,62 ± 10,18 42,3–76,7	138,45 ± 3,39 133,0–144,0	15,37 ± 1,01 14,0–17,0	11,1
<i>Euroscaptor malayana</i> (Kawada và cộng	57,36 ± 7,72	131,15 ± 1,94	5,70 ± 5,70	4,4

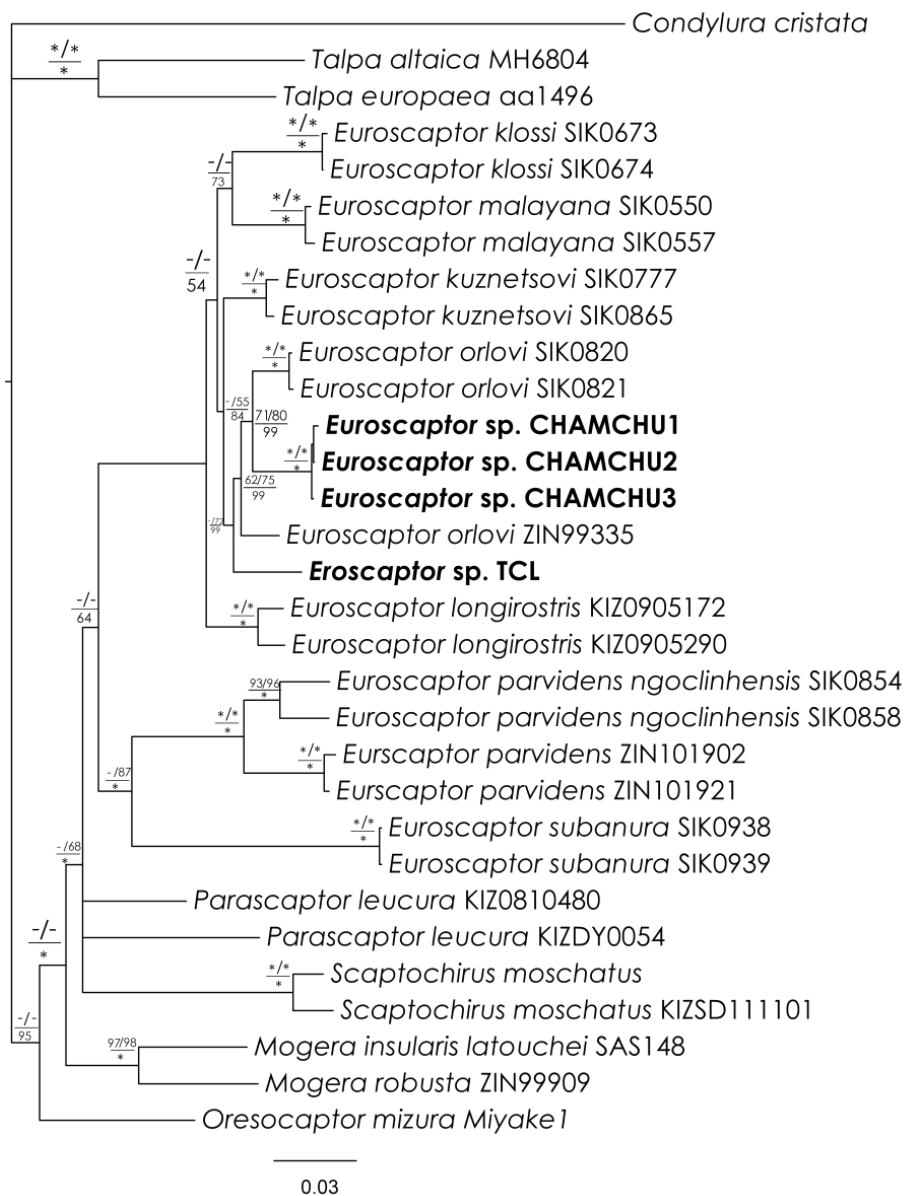
sự, 2012)	43,6–71,5	128,5–134,5	4,5–8,5	
<i>Euroscaptor klossi</i> (Kawada và cộng sự, 2012)	51,65 ± 5,44	132,75 ± 3,89	5,70 ± 0,71	7,5
<i>Euroscaptor mizura</i> (Kawada và cộng sự, 2012)	28,6	102,0	22	21,6

Ghi chú: Các số liệu hình thái được so sánh với dữ liệu từ các nghiên cứu của Zemlemerova và cộng sự, 2016 và Kawada và cộng sự, 2012 [80, 195].

Quan hệ di truyền

Ba phân tích bao gồm phân tích tiết kiệm tối đa, thích hợp tối đa và Bayes, và dựa trên ba đoạn gen hai ty thể *12S*, *cyt b* và một gen nhân *RAG1*, cho thấy quần thể Chuột chũi ở KBTTN Chạm Chu khác biệt rõ ràng so với tất cả các loài khác trong cùng giống *Euroscaptor* (Hình 3.11). Cây quan hệ di truyền bao gồm 31 trình tự, trong đó bao gồm ba mẫu thu tại KBTTN Chạm Chu và một mẫu thu tại KBTTN Tây Côn Lĩnh, các trình tự loài cùng trong giống *Euroscaptor* và một số loài chuột chũi khác. Cây quan hệ di truyền cho thấy các mẫu chuột chũi thu được tại KBTTN Chạm Chu và KBTTN Tây Côn Lĩnh thuộc giống *Euroscaptor* và giống này tách thành một nhánh tiến hóa riêng biệt so với các loài chuột chũi khác. Ba mẫu thu thập từ KBTTN Chạm Chu cũng có quan hệ gốc nhánh và có quan hệ gần nhất với loài *E. orlovi* với khoảng cách di truyền là 5,35 - 6,35% (Bảng 3.7). Ngoài ra, quần thể có phân bố tại KBTTN Tây Côn Lĩnh cũng khác biệt với các loài khác trong giống này (Hình 3.11).

Nhóm này cũng có quan hệ gốc nhánh gần nhất với nhóm bao gồm *E. orlovi* và các cá thể tại KBTTN Chạm Chu với khoảng cách di truyền giữa hai nhóm là 5,56-7,1%. Trong đó, khoảng cách với quần thể tại Chạm Chu là 6,74-7,1%. Kết quả cho thấy tính đa dạng của giống hiện đang chưa được đánh giá chính xác và miền Bắc Việt Nam có thể còn nhiều quần thể thuộc giống *Euroscaptor* có sự khác biệt về di truyền và cần được nghiên cứu bổ sung để có các kết luận về phân loại chính xác hơn. Các nghiên cứu thêm về hiện trạng quần thể và các đặc điểm sinh thái khác kết hợp với chỉ thị sinh học phân tử cần được thực hiện.



Hình 3.11. Cây quan hệ di truyền Bayes cho mẫu chuột chũi dựa trên ba gen, *12S*, cytochrome *b* và *Rag1*. Ba mẫu vật được thu thập từ Khu Bảo tồn Thiên nhiên Chạm Chu và một từ Khu Bảo tồn Thiên nhiên Tây Côn Lĩnh (được tô đậm) được đưa vào phân tích. Các trình tự khác được lấy từ GenBank. Trong đó, chỉ số nhánh ở dòng trên là xác suất hậu nghiệm trong BC, hai chỉ số dưới là bootstrap UBП và MP. Dấu sao thể hiện các chỉ số nhánh tương đương với 100%.

Bảng 3.7. Khoảng cách di truyền trên gen *cyt b* các mẫu nghiên cứu và các loài khác trong giống *Euroscaptor*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1 <i>Condylura cristata</i>	-														
2 <i>Euroscaptor klossi</i> SIK0673	16,49	-													
3 <i>Euroscaptor klossi</i> SIK0674	16,49	0,18	-												
4 <i>Euroscaptor kuznetsovi</i> SIK0777	16,23	8,33	8,16	-											
5 <i>Euroscaptor kuznetsovi</i> SIK0865	15,70	7,90	7,72	1,14	-										
6 <i>Euroscaptor longirostris</i> KIZ0905172	16,40	8,60	8,42	7,54	7,11	-									
7 <i>Euroscaptor longirostris</i> KIZ0905290	16,32	8,51	8,33	7,46	7,02	3,25	-								
8 <i>Euroscaptor malayana</i> SIK0550	16,93	8,60	8,42	7,19	7,11	8,16	8,77	-							
9 <i>Euroscaptor malayana</i> SIK0557	16,75	8,60	8,42	6,67	6,58	8,16	8,42	0,88	-						
10 <i>Euroscaptor orlovi</i> SIK0820	16,32	7,98	7,81	5,70	5,61	7,81	7,54	7,81	7,28	-					
11 <i>Euroscaptor orlovi</i> SIK0821	16,32	7,98	7,81	5,70	5,61	7,81	7,54	7,81	7,28	0,18	-				
12 <i>Euroscaptor orlovi</i> ZIN99335	17,03	8,64	8,47	5,12	5,03	7,32	7,94	6,97	7,32	4,85	4,85	-			
13 <i>Euroscaptor parvidens</i> <i>ngoclinhensis</i> SIK0854	17,37	13,60	13,60	12,90	12,46	12,63	12,72	12,72	13,16	12,28	12,46	11,82	-		
14 <i>Euroscaptor parvidens</i> <i>ngoclinhensis</i> SIK0858	17,37	13,25	13,25	13,16	12,54	12,46	12,37	13,51	13,68	13,07	13,07	12,35	6,05	-	
15 <i>Euroscaptor parvidens</i> ZIN101902	17,63	12,72	12,72	12,11	11,32	12,46	12,37	12,54	13,33	12,28	12,28	11,82	8,68	8,60	-
16 <i>Euroscaptor parvidens</i> ZIN101921	17,46	12,90	12,90	12,28	11,49	12,28	12,37	12,64	13,43	12,64	12,64	12,17	8,51	8,78	0,97

17	<i>Euroscaptor subanura</i> SIK0938	18,42	15,70	15,70	15,09	14,74	15,44	15,88	14,83	14,74	15,70	15,88	16,13	14,21	15,53	15,00
18	<i>Euroscaptor subanura</i> SIK0939	18,33	15,79	15,79	15,18	14,83	15,53	15,97	14,91	14,83	15,79	15,97	16,22	14,30	15,61	15,09
19	<i>Euroscaptor</i> sp.CHAMCHU1	17,19	9,12	8,95	6,23	6,32	8,86	8,33	8,42	8,42	5,79	5,79	6,35	13,86	13,77	12,46
20	<i>Euroscaptor</i> sp.CHAMCHU2	17,64	8,67	8,49	5,87	5,96	8,58	8,03	8,04	8,04	5,33	5,33	5,96	13,45	13,54	12,18
21	<i>Euroscaptor</i> sp.CHAMCHU3	17,91	8,99	8,81	6,05	6,15	8,73	8,19	8,28	8,28	5,61	5,61	6,15	13,61	13,62	12,09
22	<i>Erosaptor</i> sp.TCL	16,68	7,91	7,90	6,01	5,74	8,26	8,27	7,64	7,64	6,10	5,92	5,56	12,27	13,17	12,80
23	<i>Mogera insularis latouchei</i> SAS148	16,84	13,95	13,95	12,28	11,84	13,77	13,86	13,60	13,77	13,77	13,77	12,87	13,68	14,74	14,83
24	<i>Mogera robusta</i> ZIN99909	16,67	12,98	12,98	11,93	11,23	13,42	13,60	13,25	13,25	13,86	14,04	12,87	13,25	13,86	14,65
25	<i>Oresocaptor mizura</i> Miyake1	17,02	13,42	13,42	12,28	11,75	11,84	11,75	12,54	12,54	12,63	12,63	12,52	14,65	13,95	13,86
26	<i>Parascaptor leucura</i> KIZ0810480	16,05	12,11	12,11	11,14	10,61	11,32	11,23	10,88	11,23	11,49	11,49	10,41	11,23	12,54	12,28
27	<i>Parascaptor leucura</i> KIZDY0054	17,90	13,68	13,68	12,28	11,93	12,90	12,90	12,90	12,90	13,07	13,25	12,88	14,39	14,30	13,77
28	<i>Scaptochirus moschatu</i>	16,93	12,90	12,72	12,46	11,75	12,98	12,98	13,25	13,33	12,90	12,90	12,52	14,39	13,77	13,77
29	<i>Scaptochirus moschatu</i> KIZSD111101	16,93	13,95	13,95	12,63	11,93	14,04	13,25	12,90	13,16	13,25	13,42	12,88	13,95	13,51	13,60
30	<i>Talpa altaica</i> MH6804	17,02	15,53	15,53	14,30	13,77	14,65	15,53	15,18	15,18	15,35	15,18	14,56	15,88	15,26	16,23
31	<i>Talpa europaea</i> aa1496	17,90	14,47	14,30	12,81	12,46	14,12	14,74	13,77	13,77	12,90	12,90	12,62	15,70	15,70	15,97

	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
16 <i>Euroscaptor parvidens</i> ZIN101921	-															
17 <i>Euroscaptor subanura</i> SIK0938	14,65	-														
18 <i>Euroscaptor subanura</i> SIK0939	14,74	0,09	-													
19 <i>Euroscaptor</i> sp.CHAMCHU1	12,81	16,32	16,40	-												
20 <i>Euroscaptor</i> sp.CHAMCHU2	12,53	16,15	16,24	0,37	-											
21 <i>Euroscaptor</i> sp.CHAMCHU3	12,45	16,01	16,10	0,45	0,09	-										
22 <i>Euroscaptor</i> sp.TCL	12,89	15,88	15,97	7,10	6,74	6,83	-									
23 <i>Mogera insularis latouchei</i> SAS148	14,65	13,68	13,77	13,16	13,08	13,06	12,89	-								
24 <i>Mogera robusta</i> ZIN99909	14,74	13,77	13,86	13,42	13,09	13,27	12,54	8,95	-							
25 <i>Oresocaptor mizura</i> Miyake1	13,86	15,00	15,09	13,25	12,82	13,09	11,92	12,37	13,16	-						
26 <i>Parascaptor leucura</i> KIZ0810480	12,02	13,33	13,42	11,93	11,75	11,58	11,29	11,67	11,32	11,93	-					
27 <i>Parascaptor leucura</i> KIZDY0054	13,78	14,83	14,91	13,86	13,63	13,71	12,45	11,40	12,63	12,19	11,84	-				
28 <i>Scaptochirus moschatu</i>	13,86	16,58	16,67	13,60	13,45	13,53	12,62	13,77	14,21	14,47	12,11	13,16	-			
29 <i>Scaptochirus moschatu</i> KIZSD111101	13,51	15,97	16,05	13,86	13,64	13,71	12,64	14,12	14,21	15,18	11,23	12,63	4,04	-		
30 <i>Talpa altaica</i> MH6804	16,23	16,84	16,93	16,05	15,81	15,86	14,55	14,21	15,44	14,30	13,51	16,05	16,14	15,97	-	
31 <i>Talpa europaea</i> aa1496	16,14	16,23	16,32	14,12	13,92	14,07	13,46	13,95	15,09	13,68	13,60	13,95	13,51	13,86	13,07	-

3.1.5. Ứng dụng chỉ thị SHPT trong định danh các loài khó phân biệt bằng đặc điểm hình thái

Dựa trên 35 mẫu ADN đã được phân tích của các nhóm loài có đặc điểm hình thái tương tự nhau (Bảng 3.8) bao gồm:

Bộ nhiều răng: 6 mẫu đòi chưa rõ vị trí phân loại (*Tupaia* sp.); Bộ ăn sâu bọ: 9 mẫu chuột chũi (*Euroscaptor*) bao gồm 8 mẫu chưa rõ vị trí phân loại và 01 mẫu *Euroscaptor longirostris*, 01 mẫu chuột chù (*Crocidura tanakae*); Bộ Dơi: 02 mẫu Dơi chó cánh dài (*Cynopterus sphinx*), 03 mẫu Dơi nếp mũi ba lá (*Aselliscus dongbacanus*), 04 mẫu *Hipposideros* bao gồm 1 mẫu Dơi nếp mũi quạ (*Hipposideros armiger*) và 3 mẫu Dơi nếp mũi xám (*Hipposideros poutensis*), 01 mẫu Dơi tai nam á (*Myotis chinensis*), 03 mẫu *Rhinolophus* bao gồm 02 mẫu Dơi lá đuôi (*Rhinolophus* cf. *affinis*) và 01 mẫu Dơi lá mũi nhỏ (*Rhinolophus pusillus*); Bộ gặm nhấm: 01 mẫu Dúi mốc lớn (*Rhizomys pruinosus*), 01 mẫu Chuột thomas (*Chiromyscus thomasi*), 03 mẫu chuột hươu (*Niviventer*) bao gồm 02 mẫu Chuột hươu bé (*Niviventer fulvescens*) và 01 mẫu Chuột lang-bi-an (*Niviventer langbians*), 01 mẫu Sóc bụng xám (*Callosciurus inornatus*).

Việc sử dụng chỉ thị sinh học phân tử đã giải quyết một số trường hợp liên quan đến nghiên cứu khu hệ bao gồm:

- Xác định tên phân loại những cá thể có đặc điểm hình thái khác biệt với loài (ví dụ: Dúi mốc lớn *Rhizomys pruinosus*).
- Phân biệt những loài đã có đặc điểm nhận dạng tuy nhiên khó phân biệt với các loài đồng hình khác (ví dụ: Dơi nếp mũi ba lá *Aselliscus dongbacanus*).
- Hỗ trợ phát hiện khu vực phân bố của loài (ví dụ: Chuột thomas *Chiromyscus thomasi*).

Kết quả nghiên cứu sử dụng chỉ thị sinh học phân tử kết hợp các đặc điểm hình thái ngoài và hình thái hộp sọ cũng đã làm rõ hơn và chỉ ra được các sai khác so với các nghiên cứu trước đó.

Bảng 3.8. Kết quả so sánh các mẫu thú nhỏ có hình thái ngoài khó xác định

STT	Mã PTN	Mã thực địa	Kết quả BLAST	% tương đồng	Đoạn gen khuếch đại	Trình tự tham khảo	Địa điểm
1	Cd1	NTS.2019.04.40	<i>Crocidura tanakae</i>	99,57%	cyt <i>b</i>	FJ814031.1 (Esselstyn và cộng sự, 2009)	Chạm Chu, Tuyên Quang
2	Rh1	NTS.2019.04.58	<i>Rhizomys pruinosus</i>	99,29%	cyt <i>b</i>	KY754146 (Steppan,S.J. và Schenk,J.J., 2017)	Chạm Chu, Tuyên Quang
3	Ni1	C.CHU.18.01	<i>Chiromyscus thomasi</i>	99,35 %	cyt <i>b</i>	JQ755934 (Balakirev và cộng sự, 2013)	Chạm Chu, Tuyên Quang
4	Ni2	NTS 2019.04.31	<i>Niviventer fulvescens</i>	99,82%	cyt <i>b</i>	KY068837.1L (Zang và cộng sự, 2016)	Chạm Chu, Tuyên Quang
5	Ap1	NTS 2019.10.38	<i>Niviventer fulvescens</i>	99,82%	cyt <i>b</i>	KY068837.1L (Zang và cộng sự, 2016)	Bắc Mê, Hà Giang
6	Ni3	NTS 2019.10.37	<i>Niviventer langbianis</i>	98,65%	cyt <i>b</i>	HM217434 (Pages và cộng sự, 2010)	Chạm Chu, Tuyên Quang
7	Ci1	NTS 2019.10.45	<i>Callosciurus inornatus</i>	99,53%	cyt <i>b</i>	AB499907 (Oshida và cộng sự, 2011)	Bắc Mê, Hà Giang
8	Ri4	BM 2019.05.09	<i>Rhinolophus cf. affinis</i>	98,29%	cyt <i>b</i>	MK976912 (Mao và cộng sự, 2019)	Bắc Mê, Hà Giang
9	Cy3	C.CHU.18.11	<i>Cynopterus sphinx</i>	99,71%	<i>COI</i>	MK410368 (Arai, 2019)	Chạm Chu, Tuyên Quang
10	Sp1	C.CHU.18.14	<i>Cynopterus sphinx</i>	99,65%	<i>COI</i>	DQ445703	Chạm Chu, Tuyên Quang
11	As1	NTS 2019.04.07	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	99,26%	<i>COI</i>	LC406432 (Arai, 2019)	Chạm Chu, Tuyên Quang
12	As2	NTS 2019.04.08	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	99,26%	<i>COI</i>	LC406432 (Arai, 2019)	Chạm Chu, Tuyên Quang
13	As3	NTS 2019.10.09	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	99,26%	<i>COI</i>	LC406432 (Arai, 2019)	Chạm Chu, Tuyên Quang
14	Ch1	C.CHU.18.22	<i>Euroscaptor cf. orlovi</i>	?	cyt <i>b</i> , <i>12S</i> , <i>Rag1</i>	Zemlemerova và cộng sự, 2016	Chạm Chu, Tuyên Quang
15	Ch2	C.CHU.18.31	<i>Euroscaptor cf. orlovi</i>	?	cyt <i>b</i> , <i>12S</i> , <i>Rag1</i>	Zemlemerova và cộng sự, 2016	Chạm Chu, Tuyên Quang
16	Ch3	C.CHU.18.32	<i>Euroscaptor cf. orlovi</i>	?	cyt <i>b</i> , <i>12S</i> , <i>Rag1</i>	Zemlemerova và cộng sự, 2016	Chạm Chu, Tuyên Quang
17	Ch4	NTS.2019.04.38	<i>Euroscaptor cf. orlovi</i>	?	cyt <i>b</i> , <i>12S</i> , <i>Rag1</i>	Zemlemerova và cộng sự, 2016	Chạm Chu, Tuyên Quang
18	Ch5	NTS.2019.04.48	<i>Euroscaptor cf. orlovi</i>	?	cyt <i>b</i> , <i>12S</i> , <i>Rag1</i>	Zemlemerova và cộng sự, 2016	Chạm Chu, Tuyên Quang
19	Ch6	NTS.2019.04.50	<i>Euroscaptor cf orlovi</i>	?	cyt <i>b</i> , <i>12S</i> , <i>Rag1</i>	Zemlemerova và cộng sự, 2016	Chạm Chu, Tuyên Quang

STT	Mã PTN	Mã thực địa	Kết quả BLAST	% tương đồng	Đoạn gen khuếch đại	Trình tự tham khảo	Địa điểm
20	Ch7	NTS.2019.04.56	<i>Euroscaptor cf. orlovi</i>	?	cyt b, 12S, Rag1	Zemlemerova và cộng sự, 2016	Chạm Chu, Tuyên Quang
21	Ch8	NTS.2019.04.57	<i>Euroscaptor cf. orlovi</i>	?	cyt b, 12S, Rag1	Zemlemerova và cộng sự, 2016	Chạm Chu, Tuyên Quang
22	Hp2	BM 2019.05.25	<i>Hipposideros armiger</i>	?	cyt b	JX849164 Lin và cộng sự, 2014	Bắc Mê, Hà Giang
23	Ri9	BM.2019.05.07	<i>Hipposideros poutensis</i>	99,29%	cyt b	DQ888672 (Li và cộng sự, 2007)	Bac Me, Ha Giang
24	My3	NTS.2019.04.37	<i>Myotis chinensis</i>	98,12%	cyt b	JX465368 (Guo và cộng sự, 2013)	Chạm Chu, Tuyên Quang
25	Ri10	NTS.2018.12	<i>Hipposideros poutensis</i>	99,28%	cyt b	JN247027 (Thong và cộng sự, 2012)	Chạm Chu, Tuyên Quang
26	Ri11	NTS.2018.13	<i>Hipposideros poutensis</i>	98,82%	cyt b	JN247027 (Thong và cộng sự, 2012)	Chạm Chu, Tuyên Quang
27	Ri12	C.CHU.18.10	<i>Rhinolophus cf. affinis</i>	98,29%	cyt b	MK976912 (Mao và cộng sự, 2019)	Chạm Chu, Tuyên Quang
28	Ri13	NTS.2019.10.32	<i>Rhinolophus pusillus</i>	99,06%	cyt b	KR346915 Shi và cộng sự, 2016	Chạm Chu, Tuyên Quang
29	Ch14	NTS.2020.43	<i>Euroscaptor longirostris</i>	99, 82%	cyt b, 12S, Rag1	AB823114 Shinohara và Suzuki (2014)	Phía Oắc – Phía đén, Cao Bằng
30	Tb6	IEBR-M-7624	<i>Tupaia sp.</i>	?	cyt b, COI, 12S		Bắc Mê, Hà Giang
31	Tb1	IEBR-M-7901	<i>Tupaia sp.</i>	?	cyt b, COI, 12S		Cát Bà, Hải Phòng
32	Tb18	IEBR-M-8098	<i>Tupaia sp.</i>	?	cyt b, COI, 12S		Cát Bà, Hải Phòng
33	Tb15	IEBR-M-7935	<i>Tupaia sp.</i>	?	cyt b, COI, 12S		Cát Bà, Hải Phòng
34	Tb7	IEBR-M-7987	<i>Tupaia sp.</i>	?	cyt b, COI, 12S		Hữu Liên, Lạng Sơn
35	Tb14	IEBR-M-7977	<i>Tupaia sp.</i>	?	cyt b, COI, 12S		Hữu Liên, Lạng Sơn

Dúi mốc lớn (*Rhizomys pruinosus*)



Hình 3.12. Dúi mốc lớn *Rhizomys pruinosus* (Blyth, 1851)

Dúi mốc lớn là loài phổ biến và phổ biến ở Việt Nam [42]. Môi trường sống ưa thích của loài này là rừng tre xen lẫn cây bụi và núi thấp với cỏ [101]. Loài này sống trong hệ thống hầm tự đào với phạm vi hoạt động hẹp trong khu phân bố ở những khu vực có nguồn thức ăn thích hợp. Qua 8 chuyến khảo sát tại khu vực Đông Bắc, chỉ có một mẫu vật được thu thập từ những thợ săn địa phương ở KBTTN Chạm Chu. Các số đo hình thái ngoài của mẫu vật này như sau: Wt = 1300 g, HB = 320 mm, TL = 140 mm, E = 22,82 mm, HF = 57,54 mm (Không tính chiều dài móng: 52,16). So với những mẫu vật khác được mô tả trong công bố của Francis, 2019 (TL: 100-120 mm), chiều dài đuôi của mẫu vật này dài hơn đáng kể [42]. Ngoài ra, mẫu vật này có bộ lông màu xám - nâu bao phủ khắp đầu và thân với nhiều lông dài bảo vệ, và đặc biệt hơn là có đốm trắng trên trán (từ đỉnh mũi đến trán) và phần lông trên má nhạt hơn (Hình 3.12). Do đó, mẫu được phân tích bằng sinh học phân tử để định loại bằng đoạn gen *cyt b* [68]. Kết quả phân tích trình tự DNA cho thấy đoạn nucleotit thu được tương đồng đến 99,29% với trình tự của mẫu Dúi mốc lớn *Rhizomys pruinosus* có số đăng ký ở Ngân hàng gen là KY754146. Có thể thấy, đối với các loài phân bố rộng, nhưng phạm vi sống hẹp,

thường xảy ra các thay đổi kiểu hình ở các khu vực địa lý khác nhau. Tuy nhiên, sự phân tách về mặt di truyền là khá thấp.

Đoi lá đông bắc (*Aselliscus dongbacanus*)



Hình 3.13. Đoi lá đông bắc (Vương Tân Tú và cộng sự, 2015)

Aselliscus dongbacanus Tu, Csorba, Görföl, Arai, Son, Thanh, Hasanin, 2015

Loài này mới được mô tả vào năm 2015 bởi Vương Tân Tú và cộng sự [171] (Hình 3.13). So sánh với các loài khác trong giống *Aselliscus*, Răng nanh trên và dưới của *A. dongbacanus* dài hơn và chắc chắn hơn so với răng nanh của các loài trong giống *Aselliscus*. Tuy nhiên để đo chính xác chiều dài răng là rất khó do giống đoi này có kích thước quá nhỏ. Các phân tích sinh học phân tử đã cho kết quả BLAST trên ngân hàng gen NCBI là loài *A. dongbacanus* với độ tương đồng là 99,26%.

Nhóm *Niviventer* - *Chiromyscus*

Chiromyscus thomasi là loài mới được công bố bởi Balakirev và cộng sự năm 2014 [11]. Loài này được ghi nhận phân bố tại Sơn La, Kon Tum, Nghệ An

Việt Nam; Xiêng Khouang và Luang Prabang Bắc Lào. Loài này được dự kiến có vùng phân bố rộng hơn tại miền Trung Việt Nam, Đông Bắc và Trung Lào, Tây Nam Trung Quốc và Đông Bắc Thái Lan.

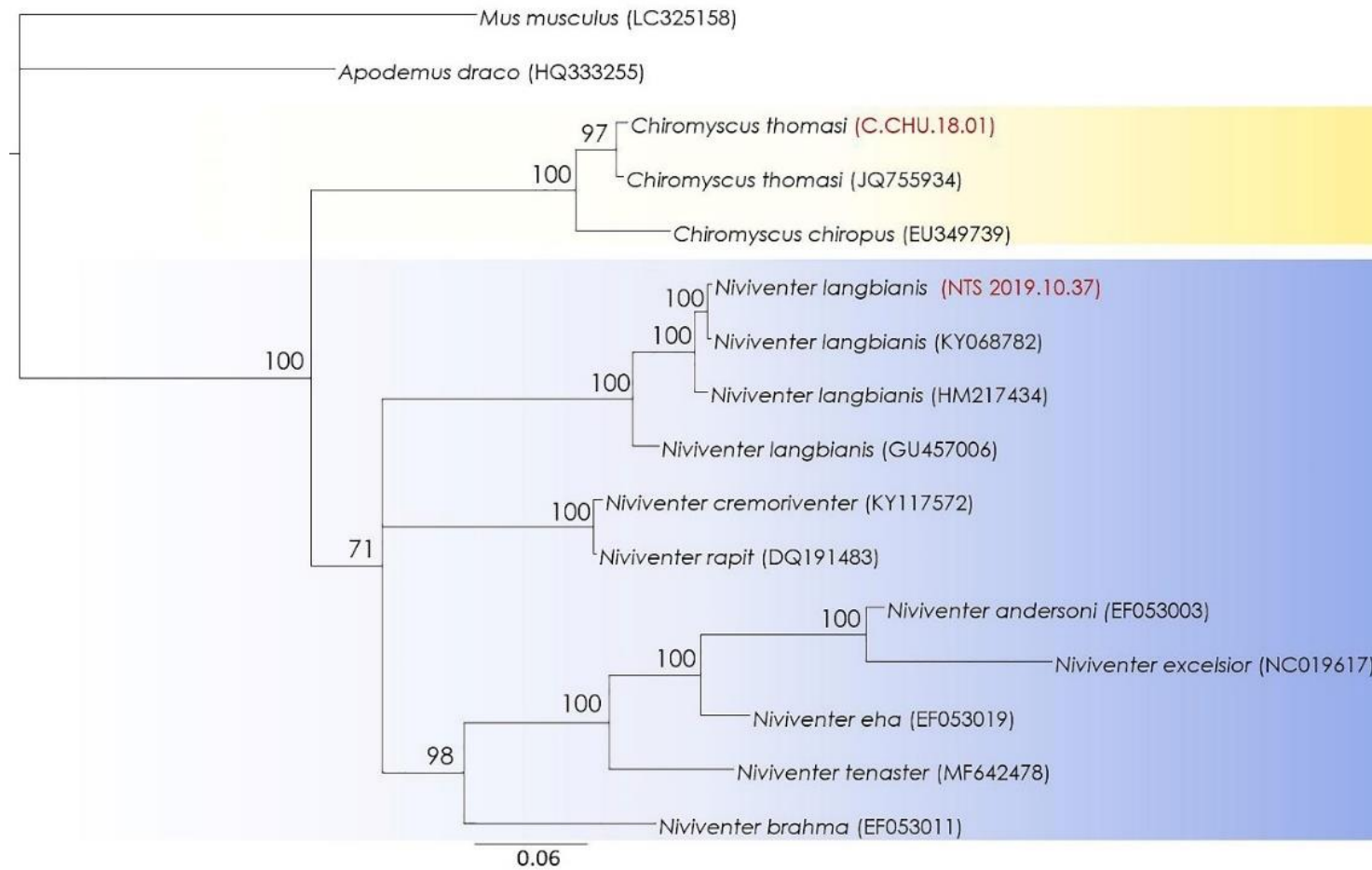
Chuột thomas (*Chiromyscus thomasi*)

Mẫu vật thu tại Chạm Chu Tuyên Quang giống 99,35% với trình tự JQ755933, là mẫu holotype của loài *Chiromyscus thomasi* ở Sơn La, Việt Nam [11] (Hình 3.14). Việc ghi nhận vùng phân bố của loài này ở vùng Đông Bắc Việt Nam cho thấy sông Hồng không phải ranh giới cho sự phát tán của loài trong quá trình tiến hóa và minh chứng cho dự kiến vùng phân bố của Balakirev và cộng sự năm 2014.



Hình 3.14. Mẫu *Chiromyscus thomasi* thu tại KBTTN Chạm Chu, Tuyên Quang

Niviventer - *Chiromyscus* là những giống phức tạp có sự chồng lấn trong phân loại rất được các nhà khoa học quan tâm. Nghiên cứu của Balakirev và cộng sự, 2014 đề xuất xếp *Niviventer langbianis* vào chi *Chiromyscus* dựa trên dữ liệu sinh học phân tử bởi giá trị bootstraps của nút phân nhánh trong cây ML dựa trên tập dữ liệu *cyt b* + *COI* và cây quan hệ di truyền BC dựa trên dữ liệu *cyt b* (Hình 3.15). Hình thái cây cho thấy hai giống *Niviventer* và *Chiromyscus* tạo thành hai nhánh phân loại riêng biệt (Hình 3.15).



Hình 3.15. Cây quan hệ di truyền nhóm *Niviventer* – *Chiromyscus*. nhánh vàng: *Chiromyscus*; nhánh tím: *Niviventer*

3.2. Ứng dụng chỉ thị SHPT trong nghiên cứu di truyền quần thể loài Thằn lằn cá sấu

3.2.1. Quan hệ di truyền giữa quần thể Thằn lằn cá sấu Việt Nam và Trung Quốc

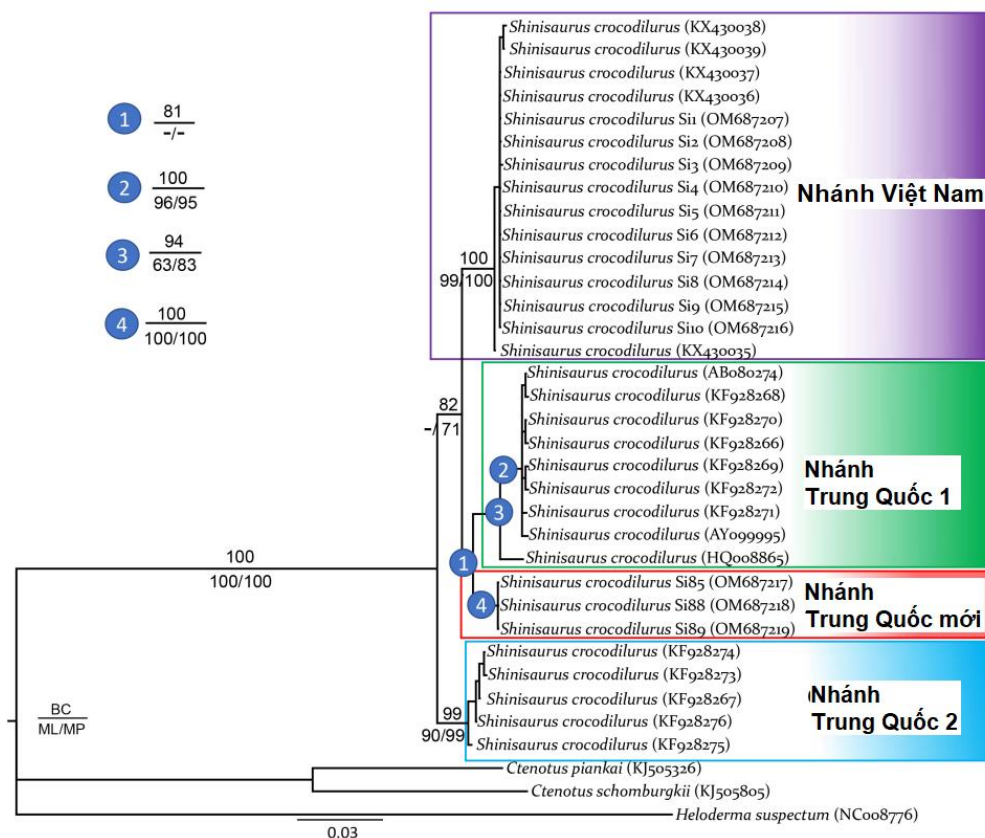
Phân tích phân loại học được thực hiện với các mẫu tại các Khu bảo tồn Tây Yên Tử (thuộc hai tỉnh Quảng Ninh và Bắc Giang), Đồng Sơn Kỳ Thượng (Quảng Ninh); huyện Hải Hà, Quảng Ninh và 3 mẫu được phát hiện trong buôn bán tại vườn thú tại CHLB Đức. Các trình tự này được kết hợp với các trình tự trên Genbank để xây dựng cây phát sinh nhằm phân nhóm dữ liệu và xác định nguồn gốc.

Ma trận dữ liệu cuối cùng bao gồm 1368 nucleotide. Trong đó, 290 điểm đột biến đa hình có sự khác biệt giữa các taxa. Phân tích MP tạo ra 96 cây có chiều dài cây ngắn nhất với 1404 bước (CI = 0,88, RI = 0,90). Cả hai lần chạy trong phân tích Bayes đều đạt đến độ ổn định sau 40.000 thế hệ.

Như vậy thông qua phân tích phát sinh loài cho thấy ít nhất bốn nhóm đơn ngành với một nhóm từ Việt Nam và ba nhóm từ Trung Quốc (Hình 3.16). Trong đó nhánh mới thứ ba của Trung Quốc được phát hiện qua việc sàng lọc di truyền các cá thể bị nuôi nhốt trong các vườn thú châu Âu, cho thấy rằng các phân tích trước đó có thể đã bỏ sót nhánh này do thiếu mẫu.

Không giống như kết quả được công bố trong nghiên cứu van Schingen và cộng sự (2016) [182], ba nhánh, ngoại trừ Khu vực Trung Quốc 1, đã có chỉ số nhánh cao từ tất cả các phân tích. Nhánh Trung Quốc 1 chỉ được chứng thực bằng phân tích Bayes (Nút 3).

Tuy nhiên, mẫu có số hiệu GenBank HQ008865 được cả ba phân tích đưa vào nhánh Trung Quốc 1 với chỉ số hỗ trợ cao. Mẫu này được cho là nằm trong nhánh mới của Trung Quốc (nuôi nhốt tại Reherp) (Nhánh trung Quốc mới) với chỉ số gốc nhánh cao khi chỉ chạy phân tích với đoạn gen ngắn sử dụng để xác định nguồn gốc (Hình 3.16). Tuy nhiên khi thực hiện phân tích với đoạn gen lớn hơn cho nghiên cứu phát sinh loài thì mẫu này đã xuất hiện trong nhánh Trung Quốc 1 tương tự với phân tích của van Schigen 2016 [183] (Hình 3.16).



Hình 3.16. Cây quan hệ di truyền nhóm Thần lằn cá sấu BC với các giá trị hỗ trợ cao cho các nhánh trong nghiên cứu. Trong đó, chỉ số nhánh ở dòng trên là xác suất hậu nghiệm trong BC, hai chỉ số dưới là bootstrap UBP và MP.

Sự khác biệt di truyền giữa các trình tự lấy từ mẫu Việt Nam và các mẫu có nguồn gốc từ Trung Quốc là khoảng 2,2-3,4%. Hai nhánh Trung Quốc 1 và 2 có khoảng cách di truyền từ 0,3-3,7. Nhánh Trung Quốc mới có khoảng cách di truyền so với 2 nhánh Trung Quốc còn lại từ 2,0 đến 3,1% và so với Việt Nam là từ 2,2 – 2,5% (Bảng 3.9).

Bảng 3.9. Khoảng cách di truyền (p - value) giữa các nhánh trong cây phát sinh với nhóm Thần lằn cá sấu

	Nhánh Trung Quốc 1	Nhánh Trung Quốc 2	Nhánh Trung Quốc mới	Nhánh Việt Nam
Nhánh Trung Quốc 1	(1,7)			
Nhánh Trung Quốc 2	0,3-3,7	(0,6)		

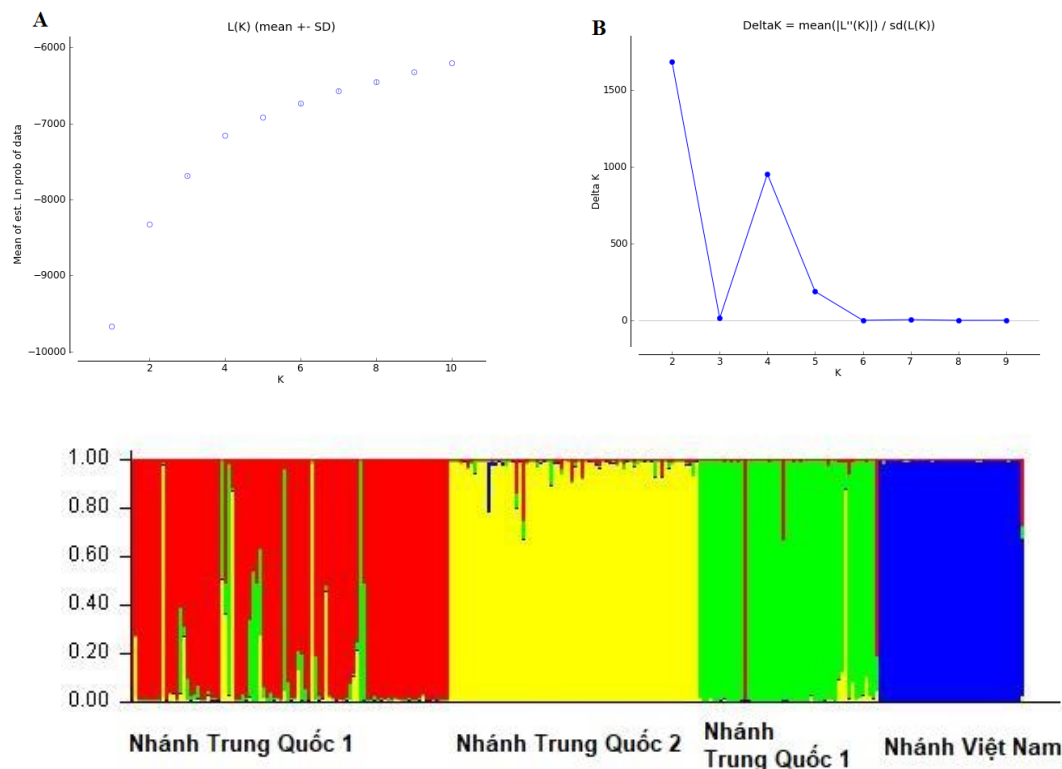
2

Nhánh Trung Quốc mới	2,0-2,6	2,8-3,1	0	
Nhánh Việt Nam	2,6-3,4	2,8-3,2	2,2-2,5	(0,3)

Như vậy, dựa vào các kết quả thu được, quần thể Thần lằn cá sấu tại Việt Nam tách biệt hoàn toàn với quần thể Trung Quốc về mặt di truyền. Điều này củng cố thêm kết luận phân tách quần thể Việt Nam và Trung Quốc của van Schigen và cộng sự (2016) [182].

3.2.2. Đa dạng di truyền quần thể, giao phối cận huyết và đánh giá nút cổ chai của quần thể Thần lằn cá sấu tại Việt Nam

Kết quả phân nhóm bằng phần mềm STRUCTURE được sử dụng để lựa chọn giá trị K (số lượng nhóm phù hợp) tốt nhất được thể hiện ở Hình 3.17. Các mẫu thuộc nhánh mới không được thêm vào phân tích này do số lượng mẫu ít chưa đủ ý nghĩa thống kê.



Hình 3.17. Xác định cấu trúc quần thể Thần lằn cá sấu dựa trên phần mềm STRUCTURE v2.3.4

A: Đồ thị trung bình giá trị $L(K)(\pm SD)$ với 5 lần chạy, giá trị K từ 1 đến 10

B: Đồ thị $\Delta K = m([L''(K)]/s[L(K)])$

C: Đồ thị phân nhóm toàn bộ dữ liệu với kí hiệu các nhóm như sau (Đồ thị chi tiết ở Phụ lục I):

Group 1: CSC, DCC, DSC, GP, GPY, YSC

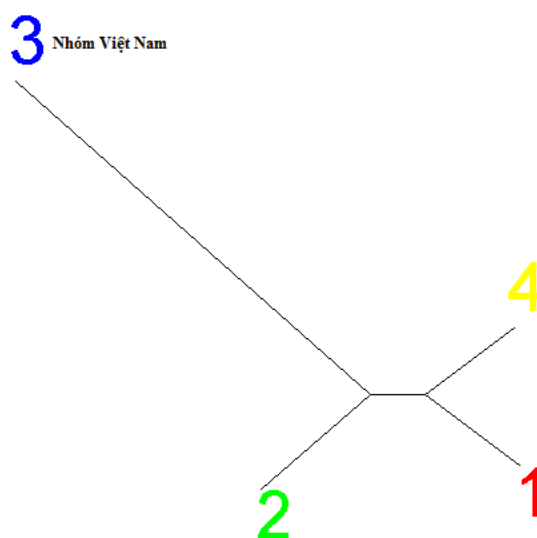
Group 2: LHD, LZD

Group 3: MBC, SK, CSK, DBT, DYSY

Group 4: TYT, DK, HH

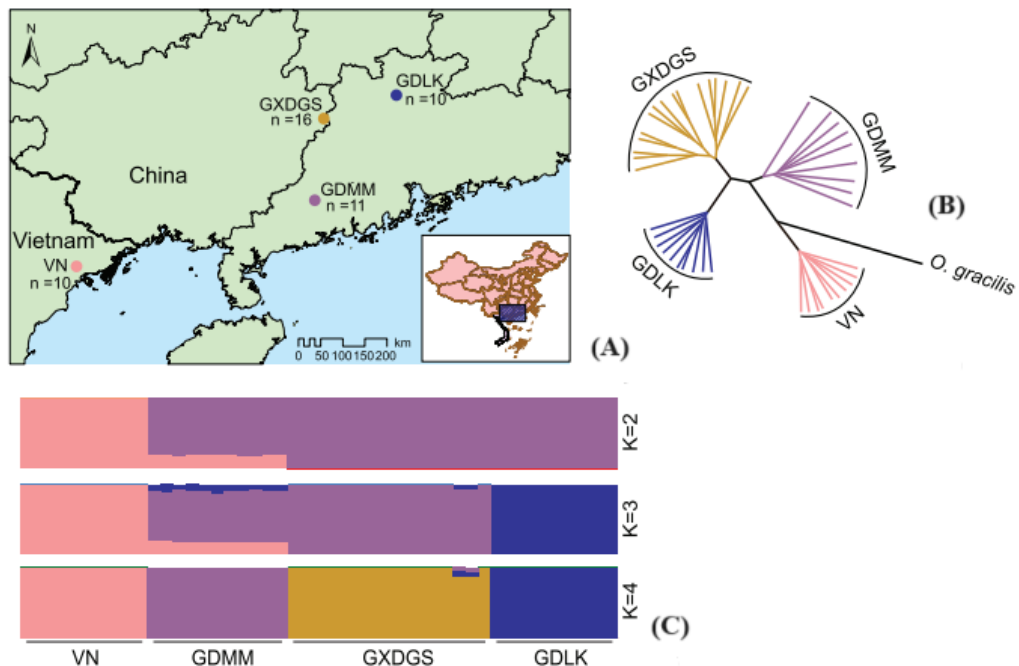
Đối với phân tích để chọn giá trị K trên phần mềm STRUCTURE HAVERTER online, cho giá trị K tốt nhất tại $K = 4$ bởi nghiên cứu phân nhóm thực hiện với các mẫu thu được từ những vùng phân bố khác nhau ở Trung Quốc của Huang và cộng sự (2014) [66] cho thấy các quần thể này đã có sự phân tách về di truyền thành 3 nhóm với độ tin cậy cao.

Trong khi đó, không có sự phân nhóm về di truyền trong các mẫu thu từ quần thể tại Quảng Ninh và Bắc Giang. Nhóm cá thể Việt Nam không có sự phân tách thành các quần thể riêng biệt cũng là minh chứng ủng hộ kết quả của nghiên cứu phát sinh chủng loại trên nhóm gen ty thể (Hình 3.17). Nhóm Trung Quốc 1 trên cây quan hệ di truyền (Hình 3.18) được phân tách thành hai quần thể (màu đỏ và xanh lá). Kết quả này tương ứng với phân tích của nhóm Huang và cộng sự (2014) [66].



Hình 3.18. Cây phân nhánh các quần thể Thần lằn cá sấu dựa trên chỉ thị microsatellite

Phân tích khoảng cách di truyền trên phần mềm STRUCTURE v2.3.4 cho thấy rõ sự tách biệt của nhóm cá thể Việt Nam và Trung Quốc (Hình 3.17).



Hình 3.19. Kết quả phân tích hệ gen so sánh quần thể Việt Nam và Trung Quốc [192]. (A) Bản đồ hiển thị các điểm lấy mẫu của bốn quần thể hoang dã (B) Mối quan hệ phát sinh loài giữa các cá thể (C) Sự phân tách thành các quần thể Việt Nam và Trung Quốc bằng dữ liệu hệ gen trong đó

VN: Việt Nam;

GDMM (các mẫu trong nhánh Trung Quốc 2): LHD (Khu bảo tồn thiên nhiên Luhuding Maoming, Quảng Đông), LZD (Khu bảo tồn thiên nhiên Linzhouding, Maoming, Quảng Đông);

GXDGS (các mẫu trong nhánh Trung Quốc 1): DYSY (Quần thể nuôi nhốt ở Jinxiu, Quảng Tây), DCC (Dacaichong, Hezhou, Quảng Tây), CSC (Chishuichong, Hezhou, Quảng Tây), GP (Quần thể hoang dã ở Guiping, Quảng Tây), GPY (Quần thể nuôi nhốt ở Guiping, Quảng Tây), DSC (Deshengchong, Hezhou, Quảng Tây), YSC (Yusanchong, Hezhou, Quảng Tây) ;

GDLK (các mẫu trong nhánh Trung Quốc 1): MBC (Luokeng, Quảng Đông), CSK (Chishuikeng, Luokeng, Quảng Đông), DBT (Dabeitou, Luokeng, Quảng Đông), SK (Shenkeng, Luokeng, Shenkeng, Luokeng,).

Như vậy, phân tích microsatellite cho thấy sự khác biệt rõ ràng giữa hai nhóm cá thể Việt Nam và Trung Quốc. So sánh kết quả này phân tích với phân tích dựa trên hệ gen của Xie và cộng sự (2022) [191] cũng cho kết quả tương tự (nghiên cứu này không bao gồm mẫu ở nhánh Trung Quốc mới) (Hình 3.19). Theo đó, quần thể Trung Quốc tách thành 3 nhóm quần thể nhỏ và quần thể Việt Nam không chia nhóm. Do đó trong phân tích phân nhóm, chỉ thị microsatellite thể hiện ưu điểm do chi phí thực hiện thấp hơn và thời gian ngắn hơn và cũng như hiệu quả hơn so với phân tích hệ gen.

Một vài ý kiến cho rằng việc kết hợp dữ liệu từ hai nghiên cứu microsatellite độc lập sẽ làm ảnh hưởng đến kết quả nghiên cứu. Tuy nhiên trong nghiên cứu này, các mẫu có nguồn gốc Trung Quốc cũng được đưa vào phân tích và kết hợp với dữ liệu trong nghiên cứu của Huang và cộng sự (2014). Các mẫu này có xác suất nằm trong nhóm Trung Quốc cao. Do đó, việc kết hợp dữ liệu trong các nghiên cứu độc lập hoàn toàn khả thi trong điều kiện khó khăn trong các thủ tục xuất mẫu và cũng tiết kiệm các chi phí phân tích.

Bảng 3.10. Kết quả phân tích hiện tượng thất cổ chai với các quần thể Thần lằn cá sáu

Mô hình đột biến	Kiểm tra đối chứng	Kiểm tra khác biệt chuẩn	Kiểm tra đối chứng Wilcoxon
IAM	P: 0,05738	T2: 1,342 P: 0,08988	GTK: 0,97559 đôi: 0,06445 P2: 0,12891
TPM (70% SMM)	P: 0,45878	T2: -0,065 P: 0,47471*	GTK: 0,84961 đôi: 0,17969 P2: 0,35938
SMM	P: 0,00031	T2: -2,703 P: 0,00344*	GTK: 0,00098 đôi: 1,0 P2: 0,00195

Kết quả phân tích sử dụng phần mềm BOTTLENECK 1.2.02 cho thấy trong 3 mô hình sử dụng có 2 mô hình, Mô hình alen vô hạn và Mô hình hai pha, không phát hiện thấy hiện tượng thắt cổ chai ($P > 0.05$). Cả 3 phương pháp phân tích xác suất thống kê, kiểm tra đối chứng, kiểm tra khác biệt chuẩn, và kiểm tra đối chứng Wilcoxon, đều cho ra kết quả tương tự. Tuy nhiên, Mô hình đột biến từng bước lại cho thấy quần thể này có hiện tượng nghẽn cổ chai ($P < 0.05$) ở cả 3 phương pháp phân tích thống kê (4) (Bảng 3.10). Vì Mô hình đột biến từng bước phù hợp nhất với số liệu microsatellite, có thể kết luận quần thể Thằn lằn cá sấu ở Việt Nam có hiện tượng thắt cổ chai hay suy giảm đáng kể lượng cá thể sinh sản. Hiện tượng này có thể gây ra do tình trạng săn bắt quá mức các cá thể trong tự nhiên trong những năm gần đây.

Kết quả phân tích bằng phần mềm Arlequin được thể hiện ở Bảng 3.11.

Bảng 3.11. Đặc điểm và mức độ khác biệt của các cá thể trong mỗi khu vực nghiên cứu

Khu vực	Kí hiệu	Lượng mẫu	H ₀	H _e	F _{IS}	P-value
Jinxiu, Quảng Tây (nuôi nhốt)	DYSY	12	0,61	0,63	0,378	0,364
Dacaichong, Hạ Châu, Quảng Tây	DCC	20	0,35	0,61	0,378	0,000
Chishuichong, Hạ Châu, Quảng Tây	CSC	14	0,3	0,52	0,439	0,000
Deshengchong, Hạ Châu, Quảng Tây	DSC	10	0,43	0,7	0,389	0,000
Yusanchong, Hạ Châu, Quảng Tây	YSC	24	0,32	0,57	0,443	0,000
Quế Bình, tỉnh Quảng Tây	GP	9	0,47	0,7	0,34	0,000
Quế Bình, tỉnh Quảng Tây (nuôi nhốt)	GPY	15	0,33	0,67	0,515	0,000
Miaobei chong, Luokeng,	MBC	14	0,35	0,66	0,486	0,000

Khu vực	Kí hiệu	Lượng mẫu	H ₀	H _e	F _{IS}	P-value
Quảng Đông						
Chishuikeng, Luokeng,	CSK	7	0,5	0,63	0,217	0,025
Quảng Đông						
Dabeitou, Luokeng, Quảng	DBT	12	0,4	0,61	0,359	0,000
Đông						
Shenkeng, Luokeng, Quảng	SK	7	0,52	0,57	0,209	0,030
Đông						
Khu bảo tồn thiên nhiên	LZD	40	0,44	0,72	0,389	0,000
Linzhouding, Maoming,						
Quảng Đông						
Khu bảo tồn thiên nhiên	LHD	32	0,53	0,7	0,222	0,000
Luhuding Maoming, Quảng						
Đông						
Khu vực núi Tây Yên Tử,	TYT	26	0,37	0,6	0,395	0,000
Quảng Ninh, Bắc Giang						
Khu bảo tồn thiên nhiên	DK	5	0,36	0,55	0,382	0,066
Đồng Sơn-Kỳ Thượng,						
Quảng Ninh						
Hải Hà, Quảng Ninh	HH	4	0,41	0,55	0,382	0,004

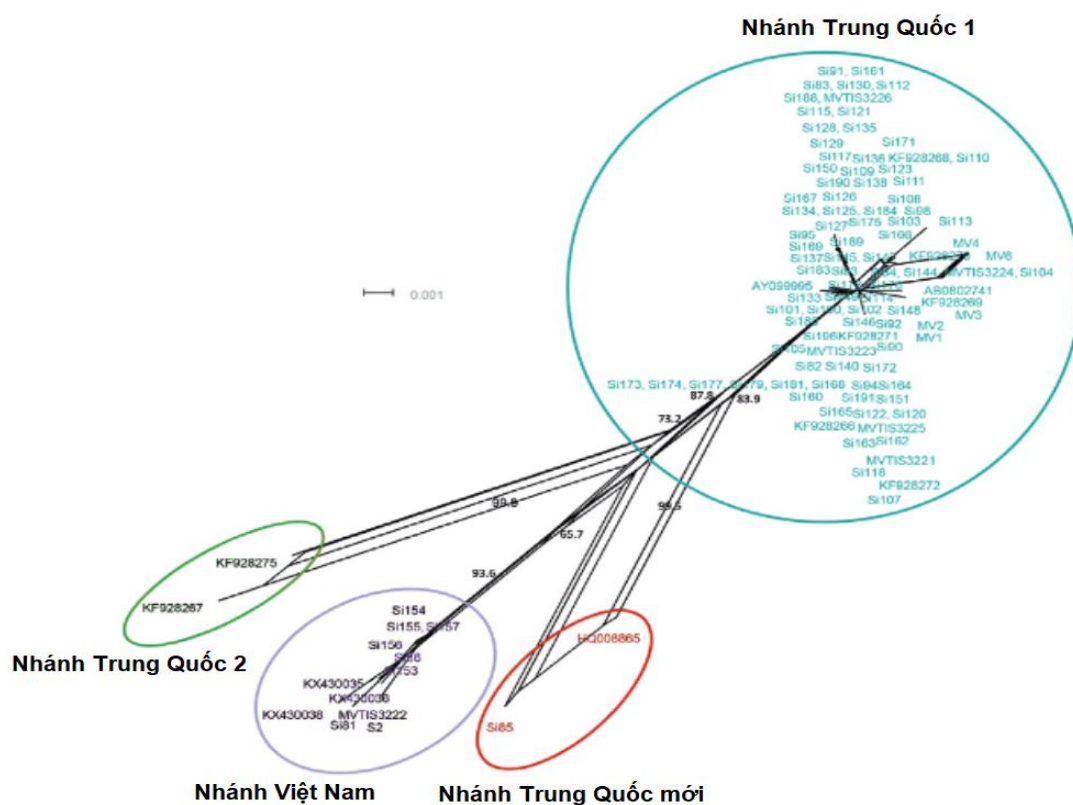
Từ bảng 3.12 có thể thấy mức độ khác biệt của các cá thể trong mỗi khu vực khác nhau (các quần thể phụ) là khác nhau, giá trị H_E từ 0,52 đến 0,72. Hệ số nội phối F_{IS} (mô tả mức độ khác biệt của các cá thể trong mỗi khu vực nghiên cứu) là 0,35 và có giá trị từ 0,209 đến 0,486. Tuy nhiên sự khác biệt tại hai khu vực Đồng Sơn Kỳ Thượng (DK) và Jinxiu, Quảng Tây (DYSY) không có ý nghĩa bởi p>0,05.

Giá trị F_{IS} trong mỗi khu vực nghiên cứu đều lớn hơn 0 và thậm chí có khu vực giá trị này khá cao (0,48) chứng tỏ các quần thể ngoài tự nhiên lẫn nuôi nhốt đều chịu ảnh hưởng nhiều của nội phối (giao phối cận huyết) do số lượng và mật độ cá thể thấp. Ba khu vực tại Việt Nam có chỉ số này tương đối cao trong khoảng 3,82

– 3,95. Do vậy cần phải có biện pháp thích hợp để ngăn chặn tình trạng nội phối và những tác động xấu của nó.

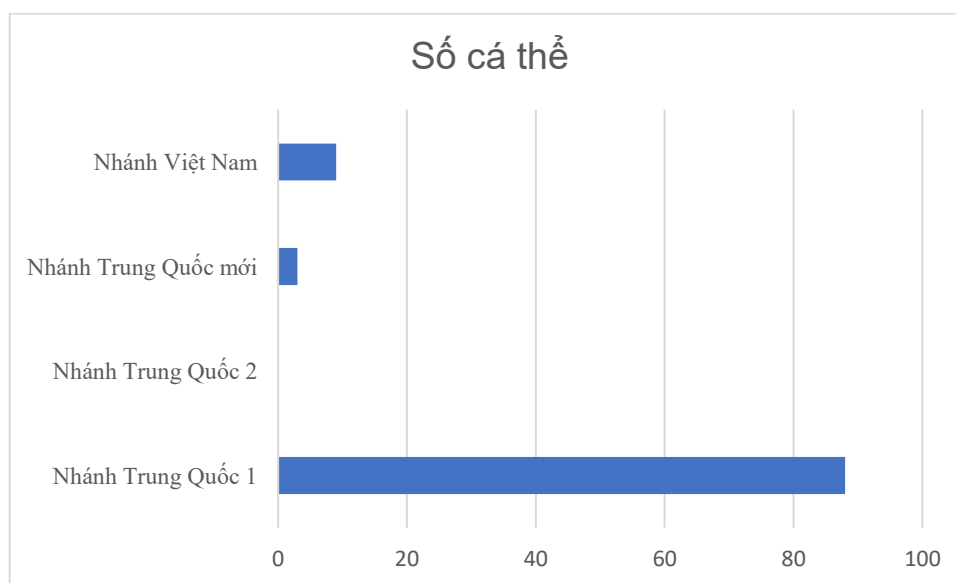
3.2.3. Xác định nguồn gốc mẫu *Thần lằn cá sấu chưa rõ nguồn gốc*

103/123 mẫu thành công trong việc khuếch đại đoạn gen ty thể, trong đó, mẫu có số hiệu GenBank HQ008865 được cả ba phân tích đưa vào nhánh Trung Quốc 1 với chỉ số hỗ trợ cao. Mẫu này được cho là nằm trong nhánh mới của Trung Quốc (nuôi nhốt tại Reherp) với chỉ số gốc nhánh cao khi chỉ chạy phân tích với đoạn gen ngắn sử dụng để xác định nguồn gốc (Hình 3.20). Tuy nhiên khi thực hiện phân tích với đoạn gen lớn hơn cho nghiên cứu phát sinh loài thì mẫu này nằm trong nhánh Trung Quốc 1 tương tự với phân tích của van Schigen 2016 [183] (Hình 3.16).



Hình 3.20. Kết quả chạy cây bằng phần mềm SplitTree với dữ liệu ngắn

Trong các mẫu cần xác định nguồn gốc, 91 mẫu có nguồn gốc từ Trung Quốc, trong đó có 3 mẫu đến từ nhánh mới (Si85, 88, 89) (Hình 3.21). Hai mươi mẫu chưa thể khuếch đại và xác định chính xác nguồn gốc bao gồm: Si 87, Si 96 (Reherp Rotterdam), Si 97, Si 99 (Leipzig Zoo), Si 106, Si 116 (Wilhelma), Si 119 (Blijdorp Rotterdam), Si 124 (Blijdorp Rotterdam), Si 139 (Sở thú Antwerp), Si 152, Si 158, Si 159 (Private 6), Si 170 (Private 3), Si 182, Si 185, Si 186, Si 187 (Private 4), Si 192 (1), Si 193 (1) (Aquazoo), Si 194 (1) (Haus des Meeres Wien). Chi tiết kết quả xác định nguồn gốc các mẫu được thể hiện ở Hình 3.21, Phụ lục 2. Kết quả cho thấy hầu hết các mẫu hiện đang nuôi nhốt ở châu Âu chủ yếu thuộc nhóm Trung Quốc 1 với 88 mẫu, 9 mẫu thuộc nhóm Việt Nam, nhóm mới có 3 mẫu và không có mẫu nào thuộc nhánh Trung Quốc 2. Như vậy, nhóm Trung Quốc 1 đã bị khai thác trong một thời gian dài để buôn bán sang châu Âu.



Hình 3.21. Số cá thể trong mỗi nhánh phân loại tại các vườn thú tại Đức

3.3. Ứng dụng chỉ thị sinh học phân tử trong nghiên cứu quần thể Voi châu á tại Vườn quốc gia Yok Đôn

3.3.1. Định danh các cá thể voi nhà và voi hoang dã trong khu vực nghiên cứu từ mẫu lông và phân

Đoạn *D-loop* với chiều dài 249 bp: 90/108 mẫu đã được giải trình tự thành công, bao gồm 33/35 lông hoặc mô và 57/73 mẫu phân. Kết quả BLAST cho thấy

các mẫu thu được tương đồng 99.50 – 100% với các trình tự của Voi châu á có trên GenBank và xác nhận rằng ADN thu được từ các mẫu là xác thực và có nguồn gốc từ loài mục tiêu (Bảng 3.12). Tuy nhiên, dữ liệu ty thể không thể được sử dụng để ước tính số lượng cá thể có trong phân tích vì các trình tự không có đủ đột biến đa hình để phân biệt giữa các cá thể khác nhau.

Bảng 3.12. Kết quả BLAST của các trình tự Dloop với các mẫu phân, lông và mô Voi

STT	Tên mẫu	% Tương đồng	Trình tự tham khảo	Tên loài
1	Em38_Dloop	99,50%	AJ428946	<i>Elephas maximus</i>
2	Em92_Dloop	99,50%	JQ287724	<i>Elephas maximus</i>
3	Em103_Dloop	99,50%	KX882121	<i>Elephas maximus</i>
4	Em90_Dloop	100,00%	KJ187792	<i>Elephas maximus</i>
5	Em93_Dloop	100,00%	KX882128	<i>Elephas maximus</i>
6	Em94_Dloop	100,00%	KX882128	<i>Elephas maximus</i>
7	Em41_Dloop	100,00%	KJ187792	<i>Elephas maximus</i>
8	Em50_Dloop	100,00%	KJ187792	<i>Elephas maximus</i>
9	Em40_Dloop	100,00%	KJ187792	<i>Elephas maximus</i>
10	Em42_Dloop	100,00%	KJ187792	<i>Elephas maximus</i>
11	Em45_Dloop	100,00%	KJ187792	<i>Elephas maximus</i>
12	Em49_Dloop	100,00%	KJ187792	<i>Elephas maximus</i>
13	Em55_Dloop	100,00%	KJ187792	<i>Elephas maximus</i>
14	Em67_Dloop	100,00%	KJ187792	<i>Elephas maximus</i>
15	Em68_Dloop	100,00%	KJ187792	<i>Elephas maximus</i>
16	Em69_Dloop	100,00%	KJ187792	<i>Elephas maximus</i>
17	Em71_Dloop	100,00%	KJ187792	<i>Elephas maximus</i>
18	Em73_Dloop	100,00%	KJ187792	<i>Elephas maximus</i>
19	Em74_Dloop	100,00%	KJ187792	<i>Elephas maximus</i>
20	Em75_Dloop	100,00%	KJ187792	<i>Elephas maximus</i>

STT	Tên mẫu	% Tương đồng	Trình tự tham khảo	Tên loài
21	Em77_Dloop	100,00%	KJ187792	<i>Elephas maximus</i>
22	Em79_Dloop	100,00%	KJ187792	<i>Elephas maximus</i>
23	Em83_Dloop	100,00%	KJ187792	<i>Elephas maximus</i>
24	Em86_Dloop	100,00%	KJ187792	<i>Elephas maximus</i>
25	Em137_Dloop	100,00%	KJ187792	<i>Elephas maximus</i>
26	Em138_Dloop	100,00%	KJ187792	<i>Elephas maximus</i>
27	Em139_Dloop	99,60%	KX882121	<i>Elephas maximus</i>
28	Em140_Dloop	100,00%	KJ187792	<i>Elephas maximus</i>
29	Em141_Dloop	100,00%	KJ187792	<i>Elephas maximus</i>
30	Em62_Dloop	100,00%	KJ187792	<i>Elephas maximus</i>
31	Em95_Dloop	100,00%	KX882124	<i>Elephas maximus</i>
32	Em97_Dloop	100,00%	KX882124	<i>Elephas maximus</i>
33	Em98_Dloop	100,00%	KX882124	<i>Elephas maximus</i>
34	Em99_Dloop	100,00%	KX882124	<i>Elephas maximus</i>
35	Em100_Dloop	100,00%	KX882124	<i>Elephas maximus</i>
36	Em101_Dloop	100,00%	KX882124	<i>Elephas maximus</i>
37	Em104_Dloop	100,00%	KX882124	<i>Elephas maximus</i>
38	Em105_Dloop	100,00%	KX882124	<i>Elephas maximus</i>
39	Em91_Dloop	100,00%	KX882124	<i>Elephas maximus</i>
40	Em39_Dloop	100,00%	KJ187777	<i>Elephas maximus</i>
41	Em56_Dloop	100,00%	KJ187777	<i>Elephas maximus</i>
42	Em66_Dloop	100,00%	KJ187782	<i>Elephas maximus</i>
43	Em43_Dloop	100,00%	KJ187782	<i>Elephas maximus</i>
44	Em44_Dloop	100,00%	KX882119	<i>Elephas maximus</i>
45	Em48_Dloop	100,00%	KJ187782	<i>Elephas maximus</i>
46	Em131_Dloop	99,60%	KX882121	<i>Elephas maximus</i>
47	Em132_Dloop	99,60%	KX882121	<i>Elephas maximus</i>

STT	Tên mẫu	% Tương đồng	Trình tự tham khảo	Tên loài
48	Em133_Dloop	99,60%	KX882121	<i>Elephas maximus</i>
49	Em47_Dloop	100,00%	KX882121	<i>Elephas maximus</i>
50	Em51_Dloop	100,00%	KX882121	<i>Elephas maximus</i>
51	Em65_Dloop	100,00%	KX882121	<i>Elephas maximus</i>
52	Em70_Dloop	100,00%	KX882121	<i>Elephas maximus</i>
53	Em52_Dloop	100,00%	KX882115	<i>Elephas maximus</i>
54	Em61_Dloop	100,00%	KX882115	<i>Elephas maximus</i>
55	Em64_Dloop	100,00%	KX882115	<i>Elephas maximus</i>
56	Em72_Dloop	100,00%	KX882115	<i>Elephas maximus</i>
57	Em78_Dloop	100,00%	KX882115	<i>Elephas maximus</i>
58	Em80_Dloop	100,00%	KX882115	<i>Elephas maximus</i>
59	Em81_Dloop	100,00%	KX882115	<i>Elephas maximus</i>
60	Em82_Dloop	100,00%	KX882115	<i>Elephas maximus</i>
61	Em127_Dloop	100,00%	KX882115	<i>Elephas maximus</i>
62	Em130_Dloop	100,00%	KX882115	<i>Elephas maximus</i>
63	Em144_Dloop	100,00%	KX882115	<i>Elephas maximus</i>
64	Em46_Dloop	100,00%	KX882119	<i>Elephas maximus</i>
65	Em57_Dloop	100,00%	KX882119	<i>Elephas maximus</i>
66	Em58_Dloop	100,00%	KX882119	<i>Elephas maximus</i>
67	Em59_Dloop	100,00%	KX882119	<i>Elephas maximus</i>
68	Em60_Dloop	100,00%	KX882119	<i>Elephas maximus</i>
69	Em63_Dloop	100,00%	KX882119	<i>Elephas maximus</i>
70	Em76_Dloop	100,00%	KX882119	<i>Elephas maximus</i>
71	Em84_Dloop	100,00%	KX882119	<i>Elephas maximus</i>
72	Em85_Dloop	100,00%	KX882119	<i>Elephas maximus</i>
73	Em106_Dloop	100,00%	KX882119	<i>Elephas maximus</i>
74	Em107_Dloop	100,00%	KX882119	<i>Elephas maximus</i>

STT	Tên mẫu	% Tương đồng	Trình tự tham khảo	Tên loài
75	Em108_Dloop	100,00%	KX882119	<i>Elephas maximus</i>
76	Em109_Dloop	100,00%	KX882119	<i>Elephas maximus</i>
77	Em112_Dloop	100,00%	KX882119	<i>Elephas maximus</i>
78	Em113_Dloop	100,00%	KX882119	<i>Elephas maximus</i>
79	Em114_Dloop	100,00%	KX882119	<i>Elephas maximus</i>
80	Em117_Dloop	100,00%	KX882119	<i>Elephas maximus</i>
81	Em118_Dloop	100,00%	KX882119	<i>Elephas maximus</i>
82	Em119_Dloop	100,00%	KX882119	<i>Elephas maximus</i>
83	Em120_Dloop	100,00%	KX882119	<i>Elephas maximus</i>
84	Em121_Dloop	100,00%	KX882119	<i>Elephas maximus</i>
85	Em122_Dloop	100,00%	KX882119	<i>Elephas maximus</i>
86	Em123_Dloop	100,00%	KX882119	<i>Elephas maximus</i>
87	Em124_Dloop	100,00%	KX882119	<i>Elephas maximus</i>
88	Em126_Dloop	100,00%	KX882119	<i>Elephas maximus</i>
89	Em128_Dloop	100,00%	KX882119	<i>Elephas maximus</i>
90	Em134_Dloop	100,00%	KX882119	<i>Elephas maximus</i>
91	Em135_Dloop	100,00%	KX882119	<i>Elephas maximus</i>

Ghi chú: Trình tự tham khảo là số truy cập các trình tự tham chiếu trên ngân hàng gen NCBI

3.3.2. Xác định voi nhà và voi hoang dã từ mẫu phân

Tổng cộng, 27/35 mẫu lông hoặc mô và 33/73 mẫu phân đã được khuếch đại thành công với một số locus microsatellite (Bảng 3.13). Tỷ lệ thành công nói chung thấp hơn so với tỷ lệ giải trình tự ty thể. Điều này là do ADN ty thể có trong tế bào có nhiều bản sao hơn và thường tồn tại lâu hơn so với ADN trong nhân tế bào khi mẫu để ngoài điều kiện tự nhiên. Trong số 11 locus microsatellite khuếch đại, chỉ có 8 locus hoạt động tốt đối với các mẫu tốt vì ba locus Emu07, FH 60 và Emu17 không khuếch đại thành công.

Bảng 3.13. Kiểu gen 8 locus microsatellite các mẫu Voi châu á trong nghiên cứu này

	Emu04		FH48		Emu03		Emu12		Emu 10		Emu 14		Emu 15		LafM S03	
Em39	100	104	158	158	136	142	144	144	91	91	139	139	153	153	142	152
Em41	100	104	158	158	136	142	144	144	91	101	131	141	151	151	140	156
Em45	100	104	158	158	136	142	144	144	91	97	131	131	151	153	140	146
Em46	104	104	168	170	136	142	142	144	97	101			141	151	142	152
Em47	104	104	156	158	136	140	142	144	91	97			151	153	142	150
Em48	102	102	156	158	136	136	144	144	91	97			147	151	142	150
Em49	100	104	156	158	134	136	142	142	93	97			145	149	140	142
Em50	104	104	158	158	136	142	142	142	91	91			151	151	140	152
Em52	100	104	158	158	136	136	144	144	91	91			151	151	140	156
Em55	104	104	158	170	136	136	144	144	91	99			151	151	140	142
Em56	100	100	158	158	136	136	144	144	91	101			151	153	142	146
Em57	100	104	158	158	136	136	142	144	91	97			151	151	152	156
Em58	104	104	156	158	136	140	142	142	91	103			151	151	140	140
Em59	104	104	156	158	140	142	142	144	91	91			151	153	140	142
Em60	100	104	144	158	136	136	142	142	91	99			151	151	142	152
Em61	100	104	146	158	136	142	144	144	91	103			145	151	140	156
Em62							142	154	91	93			149	151	152	156

	Emu04		FH48		Emu03		Emu12		Emu 10		Emu 14		Emu 15		LafM S03	
Em63							142	142	97	99			151	153	140	146
Em64							144	144	91	91			149	151	140	142
Em65	102	104	158	158	136	142	160	160	87	99			141	141	140	150
Em66	100	104	158	158			150	160	93	101			141	151	140	150
Em67	102	104	156	158	136	142	150	156	89	91			151	153		
Em68	104	104	158	158	136	142	154	160	91	91			151	151	140	146
Em69	102	104	156	158	142	142	154	160	91	103			145	153	146	152
Em70	100	104	158	158	140	140	156	160	91	101			153	153	150	152
Em71	104	104	158	158	136	136	156	160	91	97			145	151	140	150
Em72	104	104	158	162	142	142	160	160	91	99			147	151	138	140
Em73	104	104			136	140	154	154			149	149			152	152
Em74	104	104			136	140	150	154					145	147	142	142
Em75	104	104			136	140	154	154								
Em76	104	104			136	140	142	142	91	91						
Em77	104	104	158	158	136	140	142	142					145	147	142	150
Em78							142	142								
Em79	104	104			136	140	148	154	91	91	149	149	147	147		
Em80	104	104			136	140	142	142	103	103			147	151	140	142

	Emu04		FH48		Emu03		Emu12		Emu 10		Emu 14		Emu 15		LafM S03	
Em81							142	142							140	140
Em82	104	104			136	142	142	142								
Em83					142	142	142	142	91	91	149	149	145	145	142	150
Em84							142	142								
Em85	100	104	158	158	136	136	142	144	97	97			151	153		
Em86	100	100	156	156	136	136	142	144								
Em90	102	104	158	160	140	140	142	142			131	131	149	151	140	140
Em93													145	147		
Em94													147	151		
Em97																
Em98													151	151		
Em101													151	153		
Em102																
Em103																
Em105													147	147		
Em106													149	151		
Em107											149	149	149	151	152	152
Em108											149	149	147	149	152	152

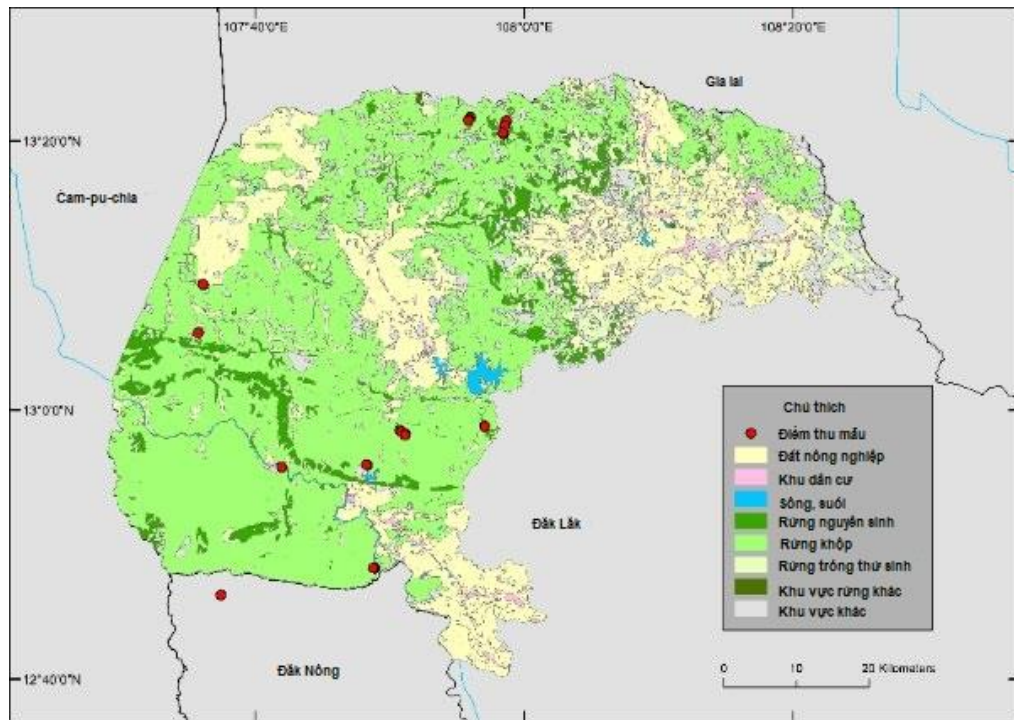
	Emu04		FH48		Emu03		Emu12		Emu 10		Emu 14		Emu 15		LafM S03	
Em109											149	149	147	151	152	152
Em112											149	149	149	151	152	152
Em113											149	149	149	151	152	152
Em114											149	149	151	151	152	152
Em117											143	149	145	149	152	152
Em118									91	91	149	149	147	151	152	152
Em119									93	93	149	149	149	151	152	152
Em120									93	93	149	149	149	151	152	152
Em121									93	93	149	149	147	151	152	152

Kết quả phân tích microsatellite cho thấy tập dữ liệu đủ để phân biệt giữa các cá thể, nhưng dữ liệu có nhiều điểm dữ liệu bị thiếu do chất lượng mẫu kém. Dựa trên dữ liệu về kiểu gen, có thể đưa ra một số kết luận như sau:

- Không có cá thể voi nhà nào hiện diện trong khu vực chuyển vùng của voi hoang dã.

- Có ít nhất 28 cá thể voi rừng trong khu vực nghiên cứu do kiểu gen của mẫu Em109 giống với kiểu gen của mẫu Em118. Tương tự, kiểu gen của các mẫu Em107, Em112, Em113, Em119, Em120 là như nhau. Tuy nhiên, vì các mẫu này đã bị phân hủy và chỉ có một số locus microsatellite được thu thập thành công, nên cần có thêm dữ liệu để xác nhận sự tính chính xác. Khi xác định trên bản đồ, các mẫu này nằm rải rác trong Vườn quốc gia là các địa điểm có nguồn thức ăn như ruộng lúa, vườn điều, vườn mía, vườn sắn, và nơi nghỉ như rừng thường xanh, rừng tre, vườn cao su, rừng khộp. Do bộ dữ liệu chưa đủ lớn nên chưa thể xác định tuyến di chuyển của voi trong khu vực nghiên cứu (Hình 3.22). Nguyên nhân là trong thời gian khảo sát lượng voi về trong khu vực nghiên cứu giảm đột ngột. Do đó, lượng mẫu phân thu thập được rất ít. Mặc dù mục đích của nhóm nghiên cứu là thu các mẫu có chất lượng mẫu tốt với tuổi phân ước tính dưới 3 ngày, nhưng điều kiện thực tế chỉ cho phép thu được 73 mẫu phân. Số lượng mẫu này ít hơn rất nhiều so với kỳ vọng ban đầu được khuyến cáo theo WWF Cam – pu – chia là khoảng 300 mẫu cho số lượng cá thể thực tế ước tính.

Các nghiên cứu trong tương lai cần mở rộng khu vực khu mẫu và khảo sát. Trong thời gian nghiên cứu đã ghi nhận thông tin sự có mặt của voi ở khu vực tỉnh Gia Lai (phía Bắc VQG Yok Đôn) nên đây có thể là khu vực tiềm năng để thu mẫu trong các nghiên cứu tiếp theo.

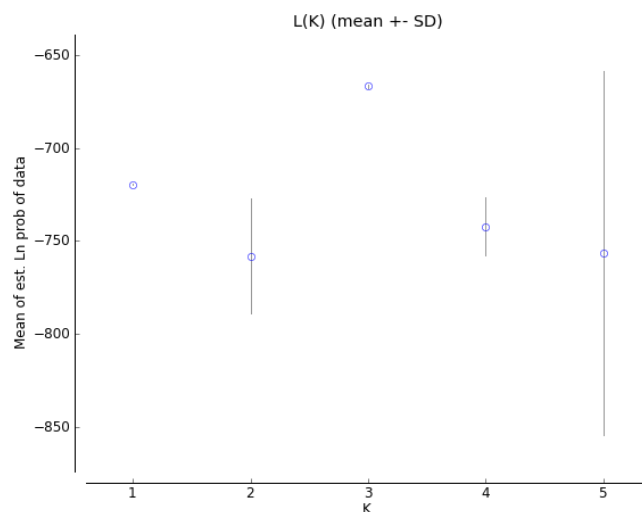


Hình 3.22. Bản đồ phân bố các mẫu phân Voi châu á phân tích thành công microsatellite

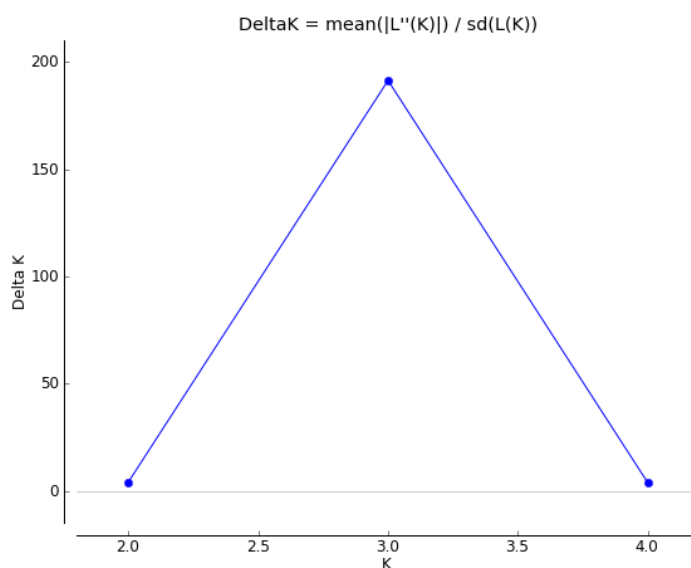
3.3.3. Đánh giá đa dạng di truyền, giao phối cận huyết trong các quần thể voi tại khu vực VQG Yok Đôn

Kết quả phân nhóm bằng phần mềm STRUCTURE v2.3.4 được tổng hợp bằng phần Structure Harvester (Hình 3.23)

A



B



Hình 3.23. Xác định cấu trúc quần thể Voi châu á tại VQG Yok Đôn dựa trên phần mềm STRUCTURE v2.3.4

A: Đồ thị trung bình giá trị $L(K)(\pm SD)$ với 5 lần chạy, giá trị K từ 1 đến 5

B: Đồ thị $\Delta K = m([L''(K)]) / s[L(K)]$.

Đối với phân tích để chọn giá trị K trên phần mềm STRUCTURE HVERTER online, để chọn giá trị K cần phải dựa vào giá trị ΔK . Thông thường là lấy tại K mà ΔK lớn nhất. Dựa vào đồ thị B (Hình 3.23) có hai điểm giá trị ΔK cao nhất là K=3. Tuy nhiên để kết quả phân tích chính xác, giá trị K=1 được lựa chọn bởi những nguyên nhân sau:

Nguyên nhân giá trị tại 1 là cao nhất bởi vì mặc dù cả 2 giá trị K=1 và K=3 có giá trị chênh lệch biến thiên ln thấp, tuy nhiên bộ dữ liệu đầu vào thiếu nhiều do chất lượng mẫu kém (Hình 3.23) nên việc chia nhóm dữ liệu thành 3 không đáng tin cậy.

Nghiên cứu về sự biến đổi trên đoạn gen *Dloop* cho thấy *Dloop* là đoạn gen điều hòa, tốc độ biến đổi nhanh nhưng các mẫu thu được gần như không khác nhau về đoạn gen này.

Do vậy không có sự phân nhóm trong bộ dữ liệu thu được.

Dựa trên kết quả phân nhóm trên, bộ dữ liệu được chia ra các nhóm và phân tích phương sai phân tử (AMOVA). Kết quả phân tích được thể hiện ở Bảng 3.14.

Bảng 3.14. Phân tích phương sai phân tử (AMOVA) với dữ liệu quần thể voi tại Yok Đôn

Mức độ khác biệt	Tổng bình phương	Phương sai	Phần trăm khác biệt
Giữa các quần thể	10,292	0,36581	13,33457
Giữa các cá thể trong các quần thể	88,232	0,37346	13,61327
Bên trong các cá thể	70,500	2,00408	73,05217
Tổng	169,024	2,74335	

Phân tích phương sai phân tử (AMOVA) cho sự khác biệt không đáng kể giữa các quần thể và các cá thể trong các quần thể lần lượt là 13,33 và 13,61. Sự khác biệt trong các cá thể khá lớn là 73,05.

Bảng 3.15. Kết quả phân tích dữ liệu kiểu gen với quần thể Voi châu á tại Yok Đôn

Giá trị thống kê F	Trung bình giá trị thống kê F trên toàn bộ các locus	P-value
FIS	0,15708	0,00000
FST	0,13335	0,00196
FIT	0,26948	0,00000

Từ Bảng 3.15 có thể thấy các giá trị thống kê F đều lớn hơn 0 chứng tỏ vẫn tồn tại sự giao phối gần trong quần thể, tuy nhiên chưa quá lớn. Sự khác biệt là có ý nghĩa bởi P-value đều nhỏ hơn 0,05.

3.4. Kiến nghị cho công tác bảo tồn cho các loài động vật hoang dã

3.4.1. Bảo tồn khu hệ thú nhỏ tại khu vực núi đá vôi Đông Bắc

Đánh giá tình trạng bảo tồn

Hầu hết các loài trong danh mục các loài thu thập được đều nằm trong danh mục chưa bị đe dọa theo Danh lục đỏ IUCN và không có loài nào trong Sách Đỏ

Việt Nam 2007. Theo đó chỉ có loài Dơi nếp mũi xinh (EN - nguy cấp), Dơi gập cánh dài (*Miniopterus fuliginosus*) (VU - sắp nguy cấp) nằm trong danh mục nguy cấp theo IUCN. Danh sách các loài nguy cấp, quý, hiếm được ưu tiên bảo vệ theo Nghị định 64/2019/NĐ-CP là danh sách cập nhật nhất hiện nay cũng không có loài thú nhỏ nào được quan tâm. Trong khuôn khổ luận án, số lượng mẫu vật được thu rất ít mặc dù nỗ lực khảo sát lớn đã một phần phản ánh hiện trạng nguy cấp các loài thú nhỏ trong khu vực nghiên cứu. Do vậy cần thực hiện thêm nghiên cứu để xác định hiện trạng các loài thú nhỏ và xác định các loài thú ưu tiên cho bảo tồn và đề xuất bổ sung vào Danh mục Nghị định 64. Một số loài quý hiếm hoặc nguy cấp có thể ưu tiên nghiên cứu như Dơi nếp mũi xinh (*Hipposideros gentilis*), Chuột núi đá đông bắc (*Tokinomys daovantieni*). Dơi tai nam á (*Myotis chinensis*), Chuột núi đá đông bắc mặc dù không thu được mẫu trong các khu vực thực hiện khảo sát, nhưng các loài này hiện chỉ ghi nhận phân bố tại KBTTN Hữu Liên, Lạng Sơn [104]. Mặc dù có sinh cảnh sống tương tự nhau nhưng các chuyến khảo sát trong luận án không ghi nhận thêm sự xuất hiện của loài. Do đó cần ưu tiên bảo vệ quần thể loài tại KBTTN Hữu Liên.

Bảo tồn nguyên vị

Trong quá trình khảo sát thực địa chúng tôi đã gặp một số các mối đe dọa đến sinh cảnh sống của khu hệ thú nhỏ ở vùng Đông Bắc như: Chặt phá rừng trồng cam và làm nương rẫy tại KBTTN Chạm Chu; làm nương rẫy, khai thác đá, làm đường giao thông tại KBTTN Bắc Mê, KBTTN Nam Xuân Lạc, VQG Phia Oắc – Phia Đén. Bên cạnh đó còn có mối đe dọa trực tiếp đến quần thể của loài như săn bắt các loài dơi, sóc, chuột, dúi làm thực phẩm hoặc săn bắt một số loài như dúi mốc lớn, sóc bụng đỏ, sóc bụng xám, dúi mốc lớn... để buôn bán.

Do vậy cần bảo vệ tốt các diện tích rừng tự nhiên hiện có và đảm bảo khả năng phục hồi cho các khoảnh rừng tái sinh vì các dạng sinh cảnh này là nơi cư ngụ của nhiều loài thú nhỏ. Nhóm giải pháp bảo vệ rừng bao gồm:

Các lực lượng kiểm lâm, quản lý rừng cần tăng cường giám sát, tuần tra, đặc biệt chú trọng những khu vực thuộc phân khu bảo vệ nghiêm ngặt. Chú ý các hoạt

động phòng chống cháy rừng vào mùa khô. Phối hợp với các lực lượng chức năng địa phương xử lý các vụ vi phạm về khai thác lâm sản trái phép và xâm lấn đất rừng.

Các cấp chính quyền cần hỗ trợ các phương tiện, nâng cao năng lực cho kiểm lâm như: nhân lực, xây dựng hệ thống bản đồ xác định rõ địa bàn quản lý và các tuyến tuần tra. Bên cạnh đó cần thiết thực hiện các khóa tập huấn để tăng cường năng lực cho nhân viên của Hạt Kiểm lâm và các trạm về các quy định luật pháp, kỹ năng sử dụng trang thiết bị, kỹ năng giám sát loài (ví dụ: sử dụng GPS, phần mềm cơ sở dữ liệu và hệ thống thông tin địa lý GIS).

Tăng cường hơn nữa công tác trồng và phục hồi rừng ở phân khu phục hồi sinh thái và vùng giáp ranh như giữa các mảng rừng, đồng thời kiểm soát cháy rừng, đặc biệt là khu vực rừng gần nương rẫy.

Cần thay đổi phương thức canh tác, khuyến khích nhân dân vùng đệm trồng rừng bằng các loại cây gỗ bản địa, trồng cây công nghiệp hoặc cây ăn quả có giá trị kinh tế vừa tạo nguồn cung cấp củi, gỗ đồng thời tăng thu nhập, giảm phụ thuộc vào tài nguyên rừng.

Cần kiểm soát săn bắt ở khu vực bảo vệ nghiêm ngặt, đặc biệt xử lý nghiêm các vi phạm có liên quan đến săn bắt trái phép và buôn bán động vật hoang dã.

Hơn nữa, việc tuyên truyền nâng cao nhận thức cho người dân về hiểu biết pháp luật, chính sách của nhà nước, các giá trị và dịch vụ hệ sinh thái lâu dài và khác nhau của rừng tự nhiên (điều hòa khí hậu, duy trì nguồn nước, điều tiết lũ lụt). Vận động các tổ chức xã hội tại bản, hình thành các đội tự quản tham gia quản lý bảo vệ rừng. Xây dựng và giám sát các quy ước của bản, đội có liên quan đến quản lý và bảo vệ rừng. Các phương thức tuyên truyền như truyền hình, phát thanh công cộng, tờ rơi, áp phích, lịch bảo tồn nên được áp dụng thường xuyên ở các khu vực dân bản xung quanh KBTTN.

Bảo tồn chuyển vị

Nghiên cứu các đặc điểm sinh thái học, mô hình nhân nuôi sinh sản phục vụ bảo tồn với các loài có khả năng suy giảm mạnh như Dơi tai nam á, Chuột núi đá đông bắc.

Các chương trình nhân nuôi sinh sản trong tương lai cần tách biệt các loài trong các nhóm quần thể có vị trí phân loại khác nhau trên cây phát sinh trong luận án như nhóm *Tupaia*, *Euroscaptor*. Phân tích định loại bằng phương pháp sinh học phân tử cần được thực hiện trước khi phân nhóm để gây nuôi sinh sản bởi chỉ sử dụng hình thái ngoài khó phân biệt giữa các nhóm thú nhỏ này.

3.4.2. Bảo tồn quần thể Thần lằn cá sấu tại Việt Nam

Kiến nghị nâng hạng bảo tồn

Dựa trên đoạn gen dài hơn, 4 nhánh phân loại của Thần lằn cá sấu *Shinisaurus crocodilurus* (trong đó có 1 nhánh từ Việt Nam) được chứng minh dựa trên phân tích đoạn gen ty thể. Thêm vào đó, về mặt sinh cảnh sống, nhóm cá thể Việt Nam chỉ được phát hiện tại vùng núi đất khác với quần thể Trung Quốc chỉ được phát hiện ở các khu vực núi đá vôi. Do đó quần thể Việt Nam có đặc trưng riêng về di truyền và sinh cảnh sống so với quần thể Trung Quốc. Hiện nay, mặc dù loài đang được bảo vệ ở mức cao nhất là IB theo Nghị định 84/2021/NĐ-CP, nằm trong Phụ lục II công ước CITES và EN (nguy cấp) theo IUCN, theo đánh giá của van Schigen (2016) [182] thì số lượng cá thể tại Việt Nam chỉ còn dưới 150 cá thể trưởng thành, ít hơn rất nhiều so với quần thể Trung Quốc ước tính còn 950 cá thể trưởng thành [65]. Số lượng cá thể ở Việt Nam còn có thể tiếp tục suy giảm vì nghiên cứu của Ngô và cộng sự vào năm 2021 cho thấy số lượng cá thể trưởng thành ở Việt Nam chỉ còn dưới 100. Ngoài ra, quần thể ở Việt Nam và Trung Quốc đều ghi nhận tình trạng nút cổ chai do số lượng bị suy giảm quá mạnh trong một thời gian ngắn do săn bắt phục vụ buôn bán trái phép. Vì vậy, cần nâng cấp tình trạng bảo tồn của loài này lên mức Cực kỳ nguy cấp (CR).

Bảo tồn nguyên vị

Các mẫu Thần lằn cá sấu tại các vườn thú châu Âu đã được xác định nguồn gốc và sẽ là nguồn tái thả quan trọng cho các khu vực phân bố ngoài tự nhiên khi điều kiện cho phép.

Các kết quả thu được cho thấy nhóm quần thể Thần lằn cá sấu tại Việt Nam có đa dạng di truyền thấp, có hiện tượng giao phối cận huyết và khảng định sự khác

biệt về mặt di truyền giữa các nhóm quần thể và có sự suy giảm số lượng đột ngột do bị khai thác quá mức. Vì vậy, cần có những biện pháp tăng cường tuần tra nhằm phát hiện các vi phạm tại vùng phân bố quan trọng của loài.

Mất, suy giảm và phân mảnh sinh cảnh sống cũng là mối quan tâm để bảo tồn loài này. Tại Việt Nam, ba khu vực ghi nhận quần thể hiện nay là KBTTN Đồng Sơn – Kỳ Thượng, KBTTN Tây Yên Tử và vùng rừng thuộc huyện Hải Hà (Quảng Ninh). Ngoài các biện pháp bảo tồn môi trường sống, giảm thiểu tác động từ các hoạt động phát triển, nâng cao nhận thức, tăng cường tuần tra khảo sát thì các biện pháp liên kết ba khu phân bố, giữ cho sinh cảnh sống liên tục và bền vững sẽ hỗ trợ trong việc tăng khả năng trao đổi nguồn gen giữa các vùng, giảm hiện tượng giao phối cận huyết. Vì vùng rừng thuộc huyện Hải Hà cũng chưa được thuộc sự quản lý nào liên quan đến bảo tồn nên cần quy hoạch để bảo vệ quần thể tại đây.

Bảo tồn chuyển vị

Do giữa quần thể Việt Nam và Trung Quốc có sự khác biệt về mặt di truyền nên quá trình nuôi nhốt hay các chương trình nhân nuôi sinh sản cần tách biệt các nhóm cá thể của từng nhánh trong cây quan hệ di truyền để tránh lai tạo giữa các nhóm cá thể.

Thông tin nguồn gốc phân bố của các cá thể nuôi nhốt tại các vườn thú châu Âu là nguồn hữu ích để xây dựng kế hoạch nuôi tại đây.

3.4.3. Kiến nghị bảo quần thể Voi châu Á tại Yok Đôn

Hiện nay, loài đang được bảo vệ ở mức cao nhất là IB theo Nghị định 84/2021/NĐ-CP, nằm trong Phụ lục I công ước CITES và EN (nguy cấp) theo Danh lục Đỏ IUCN. Các biện pháp bảo tồn loài khó có thể thực hiện ngay do loài có khu vực sống lớn giữa hai quốc gia và sự mất và suy thoái các sinh cảnh sống phù hợp cho cung cấp thức ăn và nước vào mùa khô. Nghiên cứu đề xuất một số kiến nghị cho bảo tồn dựa trên các kết quả nghiên cứu sinh học phân tử như sau:

Bảo tồn nguyên vị

Dựa theo kết quả định danh mẫu phân voi, nghiên cứu xác định sự có mặt của loài Voi châu Á ở cả trong và ngoài VQG Yok Đôn, ghi nhận được 28 cá thể

voi tự nhiên trong thời gian nghiên cứu nằm rải rác trong cả trong và ngoài VQG Yok Đôn. Nghiên cứu cũng ghi nhận sự giảm đột ngột voi di chuyển sang phía Việt Nam trong mùa khô năm 2020-2021 bởi các dấu vết xuất hiện ít hơn (dấu chân, phân, quan sát trực tiếp). Sự phát triển 12 thủy điện ở thượng nguồn sông Sêrêpôk (cả ở Việt Nam và Campuchia) khiến cho khu vực hạ lưu khô hạn nhiều vào mùa khô. Vì thế nguyên nhân của hiện tượng voi về VQG Yok Đôn có thể do sự mất dần các sinh cảnh cung cấp thức ăn trên đường di chuyển của đàn voi khiến chúng phải mở rộng hướng di chuyển sang các khu vực khác. Hướng di chuyển mới của đàn voi cần được điều tra để có phương án bảo tồn kịp thời tránh các xung đột giữa voi và con người. Do các địa điểm thu thập được mẫu phân chủ yếu gần các khu vực có nguồn nước và thức ăn nên các biện pháp duy trì sinh cảnh sống của loài trong khu vực vườn quốc gia là cần thiết và tập trung vào các khu vực này trong thời gian mùa khô.

Bảo tồn chuyển vị

Nghiên cứu xác định các cá thể voi nhà quanh khu vực Vườn quốc gia Yok Đôn là Voi châu á và có sự giao phối cận huyết do đa dạng di truyền thấp trong nhóm voi nhà. Cần xây dựng kế hoạch vận động, chương trình tái thả cho các cá thể voi nhà. Bên cạnh đó, cần xây dựng kế hoạch di chuyển các quần thể voi nhỏ chỉ còn một vài cá thể sang quần thể voi lớn hơn để tăng đa dạng di truyền và tránh sự tuyệt chủng của các quần thể voi nhỏ.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

1. Việc áp dụng các thị thị sinh học phân tử trong nghiên cứu đã đưa ra các kết quả như sau:

- Đối với khu hệ thú nhỏ vùng núi Đông Bắc:

+ Lập được danh mục cập nhật các loài thú nhỏ vùng Đông Bắc, trong đó ghi nhận 64 loài ở các khu vực nghiên cứu, phát hiện phân bố mới của 01 loài.

+ Xác nhận 2 taxon mới khác biệt với các loài hiện có tại Việt Nam và trên thế giới.

+ Hỗ trợ định loại chính xác 16 loài đồng hình.

- Đối với quần thể Thằn lằn cá sấu tại Việt Nam:

+ Xác định sự tách biệt về mặt di truyền giữa hai nhóm Việt Nam và Trung Quốc.

+ Phát hiện ra một nhánh di truyền chưa rõ khu vực phân bố có quan hệ gần gũi với nhóm cá thể Trung Quốc.

+ Kết quả nghiên cứu phản ánh mức độ đa dạng di truyền thấp, có hiện tượng giao phối cận huyết và hiện tượng nút cổ chai đối với nhóm quần thể tại Việt Nam.

+ Nghiên cứu cũng hỗ trợ xác định nguồn gốc của các cá thể nuôi nhốt tại CHLB Đức phục vụ công tác bảo tồn chuyên vị.

- Đối với quần thể Voi châu á tại VQG Yok Đôn:

+ Đã định danh các cá thể voi nhà trong khu vực VQG đều là Voi châu á (*Elephas maximus*).

+ Nghiên cứu xác định không có cá thể voi nhà vào khu vực hoạt động của voi tự nhiên trong thời gian nghiên cứu.

+ Nghiên cứu xác định có ít nhất 28 cá thể voi tự nhiên trong khu vực VQG Yok Đôn.

+ Trong nhóm các cá thể voi nhà, có khả năng giao phối cận huyết do đa dạng di truyền thấp. Do đó, đây cũng là một nguồn tái thả phù hợp cho các dự án bảo tồn voi tại khu vực.

2. Dựa trên kết quả ứng dụng chỉ thị sinh học phân tử luận án đã đưa ra kiến nghị bảo tồn.

- Đối với khu hệ thú nhỏ vùng núi Đông Bắc:

+ Cần đánh giá hiện trạng bảo tồn các nhóm loài thú nhỏ; ưu tiên nghiên cứu vào bảo vệ một số loài như Dơi nếp mũi xinh (*Hipposideros gentilis*), Chuột núi đá đông bắc (*Tokinomys daovantieni*), Dơi tai nam á (*Myotis chinensis*).

+ Cần bảo vệ sinh cảnh sống tự nhiên của các loài thú nhỏ. Đối với các loài nguy cấp cần nghiên cứu các phương pháp nhân nuôi để kịp thời thực hiện.

+ Cần tiếp tục nghiên cứu để làm rõ vị trí phân loại của hai nhóm *Tupaia* sp. và *Eurosaptor* sp.

- Quần thể Thần lằn cá sấu tại Việt Nam:

+ Nghiên cứu đã đề nghị nâng hạng bảo tồn với quần thể Thần lằn cá sấu.

+ Đề xuất bảo vệ sinh cảnh và liên kết các khu vực phân bố loài để giảm thiểu giao phối cận huyết trong những nhóm cá thể nhỏ.

+ Khuyến cáo nuôi riêng biệt các cá thể sau khi xác định nguồn gốc.

- Quần thể Voi châu á tại VQG Yok Đôn:

+ Đề xuất xác định hướng di chuyển của đàn voi vào mùa khô để có các biện pháp tăng cường bảo vệ các điểm thức ăn và hạn chế xung đột với người dân.

+ Nghiên cứu kiến nghị nên có các chương trình vận động tái thả đàn voi nhà vào môi trường tự nhiên nhằm tăng đa dạng di truyền trong quần thể.

Kiến nghị

Ưu tiên sử dụng chỉ thị sinh học phân tử trong nghiên cứu và bảo tồn:

(1) Hỗ trợ định danh và xác định vị trí phân loại của các nhóm quần thể nguy cấp quý hiếm để ưu tiên bảo tồn.

(2) Mở rộng nghiên cứu quần thể để đánh giá chính xác mức độ đa dạng di truyền ở mức quần thể, tỷ lệ giới tính, giao phối cận huyết, nút cổ chai

(3) Tiến hành các nghiên cứu về ADN môi trường, thu mẫu gián tiếp để xác định vùng phân bố và đa dạng di truyền trong các nhóm khó bắt gặp, thu mẫu trực tiếp

(4) Nghiên cứu hệ gen các loài động vật hoang dã để làm cơ sở dữ liệu cho các nghiên cứu bảo tồn trong tương lai

DANH MỤC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. **Nguyen, T.T.**, N.T. Ly, T.D. Vu, T.H. Bui, D.D. Nguyen, A.V. Abramov, S.V. Krusko, D.M. Le, & T.S. Nguyen "The first studies of small mammals of the Cham Chu and Bac Me Nature Reserves, north-eastern Vietnam", *Russian Journal of Theriology* 19(2), pp. 193-209.
2. Ngo, H.T., **T.T. Nguyen**, M.D. Le, M. van Schingen, Q. Nguyen, A. Rauhaus, M. Vences, & T. Ziegler (2020), "Genetic screening of captive crocodile lizards (*Shinisaurus crocodilurus*) in Europe", *Der Zoologische Garten*. 88, pp. 17-30.
3. **Nguyen, T.T.**, H.T. Ngo, Q.Q. Ha, T.Q. Nguyen, T.Q. Le, S.H. Nguyen, T. Ziegler, M. van Schingen-Khan, & M.D. Le (2022), "Molecular phylogenetic analyses and ecological niche modeling provide new insights into threats to the endangered Crocodile Lizard (*Shinisaurus crocodilurus*)", *Frontiers of Biogeography*. 14(1).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tiếng Việt

1. Bùi Thị Phương Thanh, Ngô Thị Hạnh, Nguyễn Quảng Trường, Lê Đức Minh (2022), "Chuẩn hóa phương pháp phân tích DNA từ vảy và lông tê tê phục vụ giám định tên loài ở Việt Nam", *Tạp chí các khoa học trái đất và môi trường, ĐHQG Hà Nội*. 38(1), tr.22-30 .
2. Chính phủ nước CHXHCN Việt Nam (2019), *Nghị định số 06/2019/NĐ-CP ngày 22 tháng 1 năm 2019 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*.
3. Chính phủ nước CHXHCN Việt Nam (2019), *Nghị định số 64/2019/NĐ-CP ngày 16 tháng 7 năm 2019 sửa đổi điều 7 nghị định số 160/2013/NĐ-CP ngày 12 tháng 11 năm 2013 của chính phủ về tiêu chí xác định và chế độ quản lý loài thuộc danh mục loài nguy cấp, quý, hiếm được ưu tiên bảo vệ*.
4. Đặng Huy Huỳnh, Đinh Văn Hùng, Nguyễn Hữu Thắng (2013) "Đa dạng động vật rừng (thú, chim, bò sát, ếch nhái) tỉnh Cao Bằng", *Kỷ yếu Hội nghị khoa học toàn quốc về Sinh thái và Tài nguyên sinh vật lần thứ 6*, tr. 607-613.
5. Nguyễn Thị Thắm, Ngô Thị Hạnh, Nguyễn Quảng Trường, Thomas Ziegler, Mona van Schingen, Nguyễn Thị Hồng Vân, Lê Đức Minh (2017), "Sử dụng chỉ thị Microsatellite trong nghiên cứu quần thể loài Thần lằn cá sấu (*Shinisaurus crocodilurus* Ahl, 1930) tại Việt Nam", *Tạp chí các khoa học trái đất và môi trường, ĐHQG Hà Nội*. tr. 33(1S).
6. Nguyễn Trường Sơn. Nguyễn Xuân Đăng, Đặng Ngọc Cẩn (2011), "Đa dạng khu hệ thú (Mammalia) vùng Đông Bắc Việt Nam", *Kỷ yếu Hội nghị khoa học toàn quốc về Sinh thái và Tài nguyên sinh vật lần thứ 4*, tr. 865-871.

Tài liệu tiếng Anh

7. Abdelkrim, J., B.C. Robertson, J.-A.L. Stanton, & N.J. Gemmell (2009), "Fast, cost-effective development of species-specific microsatellite markers by genomic sequencing", *BioTechniques*. 46(3), pp. 185-192.
8. Adler, F.L. (1956), "Antibody formation after injection of heterologous immune globulin", *The Journal of Immunology*. 76(3), pp. 217-227.
9. Allendorf, F.W., P.A. Hohenlohe, & G. Luikart (2010), "Genomics and the future of conservation genetics", *Nature reviews genetics*. 11(10), pp. 697-709.
10. Amato, G., M.G. Egan, & A. Rabinowitz (1999), "A new species of muntjac, *Muntiacus putaoensis* (Artiodactyla: Cervidae) from northern Myanmar", *Animal Conservation*. 2(1), pp. 1-7.
11. Balakirev, A.E., A.V. Abramov, & V.V. Rozhnov (2014), "Phylogenetic relationships in the *Niviventer-Chiromyscus* complex (Rodentia, Muridae) inferred from molecular data, with description of a new species", *ZooKeys*, 451), pp. 109.
12. Bannikova, A., A. Abramov, A. Borisenko, V. Lebedev, & V. Rozhnov (2011), "Mitochondrial diversity of the white-toothed shrews (Mammalia, Eulipotyphla, Crocidura) in Vietnam", *Zootaxa*. 2812(1), pp. 1-20.
13. Bauer, A.M., *Familia Gekkonidae (Reptilia, Sauria). Part I: Australia and Oceania*. 2011: Walter de Gruyter.
14. Bei, R., J. Chen, H. Liu, J. Huang, H. Yu, & Z. Wu (2012), "Isolation and characterization of 12 microsatellite loci in the Chinese crocodile lizard (*Shinisaurus crocodilurus*)", *Conservation Genetics Resources*. 4(3), pp. 743-745.
15. Beja-Pereira, A., R. Oliveira, P.C. Alves, M.K. Schwartz, & G. Luikart (2009), "Advancing ecological understandings through technological transformations in noninvasive genetics", *Molecular ecology resources*. 9(5), pp. 1279-1301.

16. Bernardes, M., M.D. Le, T.Q. Nguyen, C.T. Pham, A. Van Pham, T.T. Nguyen, D. Rödder, M. Bonkowski, & T. Ziegler (2020), "Integrative taxonomy reveals three new taxa within the *Tylototriton asperrimus* complex (Caudata, Salamandridae) from Vietnam", *ZooKeys*. 935(121).
17. Berto, A., P. Anh, J. Carrique-Mas, P. Simmonds, N. Van Cuong, N. Tue, N. Van Dung, M. Woolhouse, I. Smith, & G. Marsh (2018), "Detection of potentially novel paramyxovirus and coronavirus viral RNA in bats and rats in the Mekong Delta region of southern Viet Nam", *Zoonoses and public health*. 65(1), pp. 30-42.
18. Bibi, F. (2013), "A multi-calibrated mitochondrial phylogeny of extant Bovidae (Artiodactyla, Ruminantia) and the importance of the fossil record to systematics", *BMC evolutionary biology*. 13(1-15).
19. Brandies, P.A., B.R. Wright, C.J. Hogg, C.E. Grueber, & K. Belov (2021), "Characterization of reproductive gene diversity in the endangered Tasmanian devil", *Molecular Ecology Resources*. 21(3), pp. 721-732.
20. Callaway, E. (2012), "A bloody boon for conservation", *Nature*. 484(7395), pp. 424.
21. Cano, R.J., H.N. Poinar, N.J. Pieniazek, A. Acra, & G.O. Poinar (1993), "Amplification and sequencing of DNA from a 120–135-million-year-old weevil", *Nature*. 363(6429), pp. 536-538.
22. CITES, M. & N. KENYA (2006), "Monitoring the illegal killing of elephants",
23. Clements, R., N.S. Sodhi, M. Schilthuizen, & P.K. Ng (2006), "Limestone karsts of Southeast Asia: imperiled arks of biodiversity", *Bioscience*. 56(9), pp. 733-742.
24. Comstock, K.E., S.K. Wasser, & E.A. Ostrander (2000), "Polymorphic microsatellite DNA loci identified in the African elephant (*Loxodonta africana*)", *Molecular ecology*. 9(7), pp. 1004-1006.

25. Corbet, G.B. & J.E. Hill, *The mammals of the Indomalayan region: a systematic review*. Vol. 488. 1992: Oxford University Press Oxford.
26. Costa, V., S. Rosenbom, R. Monteiro, S.M. O'Rourke, & A. Beja-Pereira (2017), "Improving DNA quality extracted from fecal samples—a method to improve DNA yield", *European journal of wildlife research*. 63(1), pp. 1-7.
27. Csorba, G., P. Ujhelyi, & N. Thomas, *Horseshoe bats of the world:(Chiroptera: Rhinolophidae)*. 2003: Alana books.
28. Daniels, J.C., C.G. Storer, G.M. Hill, A. Markee, C. Couch, & K.A. Rossetti (2022), "Deploying Community Scientists to Conduct Nondestructive Genetic Sampling of Rare Butterfly Populations", *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, 188), pp. e63416.
29. Davey, J.W., P.A. Hohenlohe, P.D. Etter, J.Q. Boone, J.M. Catchen, & M.L. Blaxter (2011), "Genome-wide genetic marker discovery and genotyping using next-generation sequencing", *Nature Reviews Genetics*. 12(7), pp. 499-510.
30. Dawnay, N., R. Ogden, R. McEwing, G.R. Carvalho, & R.S. Thorpe (2007), "Validation of the barcoding gene COI for use in forensic genetic species identification", *Forensic science international*. 173(1), pp. 1-6.
31. Earl, D.A. & B.M. VonHoldt (2012), "STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method", *Conservation genetics resources*. 4(2), pp. 359-361.
32. Eaton, M.J., G.L. Meyers, S.-O. Kolokotronis, M.S. Leslie, A.P. Martin, & G. Amato (2010), "Barcoding bushmeat: molecular identification of Central African and South American harvested vertebrates", *Conservation Genetics*. 11(4), pp. 1389-1404.
33. Ekblom, R. & J. Galindo (2011), "Applications of next generation sequencing in molecular ecology of non-model organisms", *Heredity*. 107(1), pp. 1-15.

34. Endo, H., N. Nadee, A. Suyanto, Y. Kawamoto, T. Nishida, & J. Yamada (1999), "Geographical Variation of the Skull Morphology of the Common Tree Shrew", *Journal of Veterinary Medical Science*. 61(9), pp. 1027-1031.
35. Endo, H., I. Nishiumi, Y. Hayashi, A.B.M. Rashdi, N. Nadee, J. Nabhitabhata, Y. Kawamoto, J. Kimura, T. Nishida, & J. Yamada (2000), "Multivariate analysis in skull osteometry of the common tree shrew from both sides of the Isthmus of Kra in southern Thailand", *Journal of Veterinary Medical Science*. 62(4), pp. 375-378.
36. Endo, H., T.S. Nguyen, D.D. Nguyen, M. Sasaki, J. Kimura, T. Oshida, M. Yago, N.T. Ly, T.T. Nguyen, & M. Motokawa (2021), "Zoogeographical barriers causing discontinuous osteometrical variations in the northern treeshrew skulls", *Journal of Veterinary Medical Science*. 83(10), pp. 1534-1544.
37. Evanno, G., S. Regnaut, & J. Goudet (2005), "Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study", *Molecular ecology*. 14(8), pp. 2611-2620.
38. Excoffier, L. & H. Lischer (2006), "An integrated software package for population genetics data analysis", *Computational and Molecular Population Genetics Lab (CMPG), Institute of Zoology, University of Berne, Switzerland*,
39. Fitzsimmons, N.N., J.C. Buchan, P.V. Lam, G. Polet, T.T. Hung, N.Q. Thang, & J. Gratten (2002), "Identification of purebred *Crocodylus siamensis* for reintroduction in Vietnam", *Journal of Experimental Zoology*. 294(4), pp. 373-381.
40. Fong, J.J. & T.-H. Chen (2010), "DNA evidence for the hybridization of wild turtles in Taiwan: possible genetic pollution from trade animals", *Conservation Genetics*. 11(2061-2066).
41. Francis, C.M., *A photographic guide to mammals of Thailand & South-East Asia*. 2001: Asia Books.

42. Francis, C.M., *A guide to the mammals of Southeast Asia*. 2019: Princeton and Oxford: Princeton University Press. 392.
43. Furey, N.M., V.D. Thong, P.J. Bates, & G. Csorba (2009), "Description of a new species belonging to the *Murina'suilla*-group'(Chiroptera: Vespertilionidae: Murininae) from north Vietnam", *Acta Chiropterologica*. 11(2), pp. 225-236.
44. Gatesy, J. & P. Arctander (2000), "Hidden morphological support for the phylogenetic placement of *Pseudoryx nghetinhensis* with bovine bovids: a combined analysis of gross anatomical evidence and DNA sequences from five genes", *Systematic Biology*. 49(3), pp. 515-538.
45. Geller, J., C. Meyer, M. Parker, & H. Hawk (2013), "Redesign of PCR primers for mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I for marine invertebrates and application in all-taxa biotic surveys", *Molecular ecology resources*. 13(5), pp. 851-861.
46. Gray, T.N., T. Vidya, S. Potdar, D. Bharti, & P. Sovanna (2014), "Population size estimation of an Asian elephant population in eastern Cambodia through non-invasive mark-recapture sampling", *Conservation genetics*. 15(4), pp. 803-810.
47. Grismer, L.L., P.L. Wood Jr, E.S. Quah, M.K. Thura, R.E. Espinoza, M.S. Grismer, M.L. Murdoch, & A. Lin (2018), "A new species of Crocodile Newt *Tylototriton* (Caudata: Salamandridae) from Shan State, Myanmar (Burma)", *Zootaxa*. 4500(4), pp. 553-573.
48. Grismer, L.L., P.L. Wood, N.A. Poyarkov, M.D. Le, F. Kraus, I. Agarwal, P.M. Oliver, S.N. Nguyen, T.Q. Nguyen, & S. Karunarathna (2021), "Phylogenetic partitioning of the third-largest vertebrate genus in the world, *Cyrtodactylus* Gray, 1827 (Reptilia; Squamata; Gekkonidae) and its relevance to taxonomy and conservation", *Vertebrate Zoology*. 71(101-154).
49. Groves, C.P. (2007), "Speciation and biogeography of Vietnam's primates", *Vietnamese Journal of Primatology*. 1(1), pp. 27-40.

50. Giao, P.M., D. Tuoc, V. Dung, E. Wikramanayake, G. Amato, P. Arctander, & J. MacKinnon (1998), "Description of *Muntiacus truongsongensis*, a new species of muntjac (Artiodactyla: Muntiacidae) from central Vietnam, and implications for conservation", *Animal Conservation*. 1(1), pp. 61-68.
51. Gibbs, R.A. (2020), "The human genome project changed everything", *Nature Reviews Genetics*. 21(10), pp. 575-576.
52. Gilbert, M.T.P., L.P. Tomsho, S. Rendulic, M. Packard, D.I. Drautz, A. Sher, A. Tikhonov, L. Dalén, T. Kuznetsova, & P. Kosintsev (2007), "Whole-genome shotgun sequencing of mitochondria from ancient hair shafts", *science*. 317(5846), pp. 1927-1930.
53. Hammer, O. (2001), "PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis", *Palaeontol electron*. 4(9).
54. Hartl, D.L., A.G. Clark, & A.G. Clark, *Principles of population genetics*. Vol. 116. 1997: Sinauer associates Sunderland.
55. Hassanin, A. & E.J. Douzery (1999), "Evolutionary affinities of the enigmatic saola (*Pseudoryx nghetinhensis*) in the context of the molecular phylogeny of Bovidae", *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*. 266(1422), pp. 893-900.
56. Hassanin, A., J. An, A. Ropiquet, T.T. Nguyen, & A. Couloux (2013), "Combining multiple autosomal introns for studying shallow phylogeny and taxonomy of Laurasiatherian mammals: Application to the tribe Bovini (Cetartiodactyla, Bovidae)", *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 66(3), pp. 766-775.
57. He, K., Y.-J. Li, M.C. Brandley, L.-K. Lin, Y.-X. Wang, Y.-P. Zhang, & X.-L. Jiang (2010), "A multi-locus phylogeny of Nectogalini shrews and influences of the paleoclimate on speciation and evolution", *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 56(2), pp. 734-746.
58. Hebert, P.D., S. Ratnasingham, & J.R. De Waard (2003), "Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related

- species", *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*. 270(suppl_1), pp. S96-S99.
59. Hedges, S., M.J. Tyson, A.F. Sitompul, M.F. Kinnaird, & D. Gunaryadi (2005), "Distribution, status, and conservation needs of Asian elephants (*Elephas maximus*) in Lampung Province, Sumatra, Indonesia", *Biological conservation*. 124(1), pp. 35-48.
 60. Hedges, S., M.J. Tyson, A.F. Sitompul, & H. Hammatt (2006), "Why inter-country loans will not help sumatra's elephants", *Zoo Biology: Published in affiliation with the American Zoo and Aquarium Association*. 25(3), pp. 235-246.
 61. Hedges, S., *Monitoring elephant populations and assessing threats*. 2012, Universities Press (India) Pvt. Ltd., Hyderabad, India.
 62. Hendrichsen, D. (2001), "Recent records of bats (Mammalia: Chiroptera) from Vietnam with six new species new to the country", *Myotis*. 39(35-122).
 63. Hillis, D.M. & J.J. Bull (1993), "An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis", *Systematic biology*. 42(2), pp. 182-192.
 64. Hoang, H., T.E. McCormack, & B. Tapley "Big-headed turtle, *Platysternon megacephalum*",
 65. Huang, C., H. Yu, Z. Wu, Y. Li, F. Wei, & M. Gong (2008), "Population and conservation strategies for the Chinese crocodile lizard (*Shinisaurus crocodilurus*) in China", *Animal Biodiversity and Conservation*. 31(2), pp. 63-70.
 66. Huang, H., H. Wang, L. Li, Z. Wu, & J. Chen (2014), "Genetic diversity and population demography of the Chinese crocodile lizard (*Shinisaurus crocodilurus*) in China", *PLoS One*. 9(3), pp. e91570.
 67. Huong, N.Q., N.T.T. Nga, N.V. Long, B.D. Luu, A. Latinne, M. Pruvot, N.T. Phuong, L.T.V. Quang, V.V. Hung, & N.T. Lan (2020), "Coronavirus testing

- indicates transmission risk increases along wildlife supply chains for human consumption in Viet Nam, 2013-2014", *PLoS one*. 15(8), pp. e0237129.
68. Irwin, D.M., T.D. Kocher, & A.C. Wilson (1991), "Evolution of the cytochrome b gene of mammals", *Journal of molecular evolution*. 32(2), pp. 128-144.
 69. James, J., U. Ramakrishnan, & A. Datta (2008), "Molecular evidence for the occurrence of the leaf deer *Muntiacus putaoensis* in Arunachal Pradesh, north-east India", *Conservation Genetics*. 9(927-931).
 70. Janczewski, D.N., N. Yuhki, D.A. Gilbert, G.T. Jefferson, & S.J. O'Brien (1992), "Molecular phylogenetic inference from saber-toothed cat fossils of Rancho La Brea", *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 89(20), pp. 9769-9773.
 71. Jarvis, E.D., S. Mirarab, A.J. Aberer, B. Li, P. Houde, C. Li, S.Y. Ho, B.C. Faircloth, B. Nabholz, & J.T. Howard (2014), "Whole-genome analyses resolve early branches in the tree of life of modern birds", *Science*. 346(6215), pp. 1320-1331.
 72. Jenkins, P.D., A.V. Abramov, & V. Rozhnov (2007), "Description Of Two New Species Of White-Toothed Shrews Belonging To The Genus *Crocidura* (Soricomorpha: Soricidae)", *Zootaxa*. 1589(57-68).
 73. Jenkins, P.D., D.P. Lunde, & C.B. Moncrieff (2009), "Descriptions of new species of *Crocidura* (Soricomorpha: Soricidae) from mainland Southeast Asia, with synopses of previously described species and remarks on biogeography", *Bulletin of the American Museum of Natural History*. 2009(331), pp. 356-405.
 74. Jenkins, P.D., A.V. Abramov, A.A. Bannikova, & V.V. Rozhnov (2013), "Bones and genes: resolution problems in three Vietnamese species of *Crocidura* (Mammalia, Soricomorpha, Soricidae) and the description of an additional new species", *ZooKeys*, 313), pp. 61.

75. Jones, K.L., T.C. Glenn, R.C. Lacy, J.R. Pierce, N. Unruh, C.M. Mirande, & F. Chavez-Ramirez (2002), "Refining the whooping crane studbook by incorporating microsatellite DNA and leg-banding analyses", *Conservation Biology*. 16(3), pp. 789-799.
76. Kanto, N., M. Masafumi, & N.T. Thien (2013), "A New Species of *Tylotriton* from Northern Vietnam (Amphibia: Urodela: Salamandridae)",
77. Kawada, S.-i. (2005), "The historical notes and taxonomic problems of East Asian moles, *Euroscaptor*, *Parascaptor* and *Scaptochirus*, of continental Asia (Insectivora, Talpidae)", *Mammal Study*. 30(Supplement), pp. S5-S11.
78. Kawada, S.-i., M. Yasuda, A. Shinohara, & B.L. Lim (2008), "Redescription of the Malaysian mole as to be a true species, *Euroscaptor malayana* (Insectivora, Talpidae)", *Mammal Study*. 30(109).
79. Kawada, S.-i., N.T. Son, & D.N. Can (2009), "Moles (Insectivora, Talpidae, Talpinae) of Vietnam", *Bulletin of the National Museum of Nature and Science*. 35(2), pp. 89-101.
80. Kawada, S.-i., N.T. Son, & D.N. Can (2012), "A new species of mole of the genus *Euroscaptor* (Soricomorpha, Talpidae) from northern Vietnam", *Journal of Mammalogy*. 93(3), pp. 839-850.
81. Kawada, S.i., A. Shinohara, S. Kobayashi, M. Harada, S.i. Oda, & L.K. Lin (2007), "Revision of the mole genus *Mogera* (Mammalia: Lipotyphla: Talpidae) from Taiwan", *Systematics and Biodiversity*. 5(2), pp. 223-240.
82. Kearse, M., R. Moir, A. Wilson, S. Stones-Havas, M. Cheung, S. Sturrock, S. Buxton, A. Cooper, S. Markowitz, & C. Duran (2012), "Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data", *Bioinformatics*. 28(12), pp. 1647-1649.
83. Kocher, T.D., W.K. Thomas, A. Meyer, S.V. Edwards, S. Pääbo, F.X. Villablanca, & A.C. Wilson (1989), "Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers", *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 86(16), pp. 6196-6200.

84. Kongrit, C., C. Siripunkaw, W. Brockelman, V. Akkarapatumwong, T. Wright, & L. Eggert (2008), "Isolation and characterization of dinucleotide microsatellite loci in the Asian elephant (*Elephas maximus*)", *Molecular ecology resources*. 8(1), pp. 175-177.
85. Krusko, S.V., M.V. Kalyakin, & A.V. Abramov (2006), "First record of *Harpiola* (Chiroptera, Vespertilionidae) from Vietnam", *Russian Journal of Theriology. Русский териологический журнал*. 5(1), pp. 13-16.
86. Krusko, S.V. (2013), "Bats of Vietnam", *Checklist and an Identification Manual. Joint Russian-Vietnamese Sciences and Technological Tropical Centre and Zoological Museum of Moscow MV Lomonosov State University*, 299pp,
87. Kuderna, L.F., H. Gao, M.C. Janiak, M. Kuhlwilm, J.D. Orkin, T. Bataillon, S. Manu, A. Valenzuela, J. Bergman, M. Rousselle, S.F. E, L. Agueda, J. Blanc, M. Gut, D. de Vries, I. Goodhead, R.A. Harris, M. Raveendran, A. Jensen, I.S. Chuma, J. Horvath, C. Hvilsom, D. Juan, P. Frandsen, J.G. Schraiber, M. de, F R, F. Bertuol, H. Byrne, I. Sampaio, I. Farias, A. do, J V, M. Messias, M.N.F. da Silva, M. Trivedi, R. Rossi, T. Hrbek, N. Andriaholinirina, C.J. Rabarivola, A. Zaramody, C.J. Jolly, J. Phillips-Conroy, G. Wilkerson, C. Abee, J.H. Simmons, E. Fernandez-Duque, S. Kanthaswamy, F. Shiferaw, D. Wu, L. Zhou, Y. Shao, G. Zhang, J.D. Keyyu, S. Knauf, M. Le, E. Lizano, S. Merker, A. Navarro, T. Batallion, T. Nadler, C.C. Khor, J. Lee, P. Tan, W.K. Lim, A.C. Kitchener, D. Zinner, I. Gut, A. Melin, K. Guschanski, M.H. Schierup, R.M.D. Beck, G. Umapathy, C. Roos, J.P. Boubli, J. Rogers, K. Farh, & T. Marques-Bonet (2023), "A global catalog of whole-genome diversity from 233 primate species", *Science*. 380(6648), pp. 906-913.
88. Kundu, S., T. Mukherjee, A.R. Kim, S.-R. Lee, A. Mukherjee, W.-K. Jung, & H.-W. Kim (2022), "Mitochondrial DNA and Distribution Modelling Evidenced the Lost Genetic Diversity and Wild-Residence of Star Tortoise,

- Geochelone elegans (Testudines: Testudinidae) in India", *Animals*. 13(1), pp. 150.
89. Lahaye, R., M. Van der Bank, D. Bogarin, J. Warner, F. Pupulin, G. Gigot, O. Maurin, S. Duthoit, T.G. Barraclough, & V. Savolainen (2008), "DNA barcoding the floras of biodiversity hotspots", *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 105(8), pp. 2923-2928.
 90. Laking, A.E., H.N. Ngo, F. Pasmans, A. Martel, & T.T. Nguyen (2017), "Batrachochytrium salamandrivorans is the predominant chytrid fungus in Vietnamese salamanders", *Scientific reports*. 7(1), pp. 1-5.
 91. Le, M., H.T. Duong, L.D. Dinh, T.Q. Nguyen, P.C. Pritchard, & T. McCormack (2014), "A phylogeny of softshell turtles (Testudines: Trionychidae) with reference to the taxonomic status of the critically endangered, giant softshell turtle, Rafetus swinhoei", *Organisms Diversity & Evolution*. 14(3), pp. 279-293.
 92. Le, M., T.V. Nguyen, H.T. Duong, H.M. Nguyen, L.D. Dinh, T. Do, H.D. Nguyen, & G. Amato (2014), "Discovery of the Roosevelt's barking deer (Muntiacus rooseveltorum) in Vietnam", *Conservation genetics*. 15(993-999).
 93. Le, M.D., T.E. McCormack, H. Van Hoang, H.T. Duong, T.Q. Nguyen, T. Ziegler, H.D. Nguyen, & H.T. Ngo (2020), "Threats from wildlife trade: The importance of genetic data in safeguarding the endangered Four-eyed Turtle (Sacalia quadriocellata)", *Nature Conservation*. 41(91-111).
 94. Le, Q.K. & T. Ziegler (2003), "First record of the Chinese crocodile lizard from outside of China: Report on a population of Shinisaurus crocodilurus Ahl, 1930 from north-eastern Vietnam", *HAMADRYAD-MADRAS*. 27(193-199).
 95. Leimgruber, P., J. Gagnon, C. Wemmer, D. Kelly, M.A. Songer, & E. Selig. *Fragmentation of Asia's remaining wildlands: implications for Asian elephant conservation*. in *Animal conservation forum*. 2003. Cambridge University Press.

96. Lippold, L. & V.N. Thanh (1995), "Douc langur variety in the central highlands of Vietnam", *Asian Primates*. 5(1-2), pp. 6-8.
97. Literman, R., D. Badenhorst, & N. Valenzuela (2014), "q PCR-based molecular sexing by copy number variation in r RNA genes and its utility for sex identification in soft-shell turtles", *Methods in Ecology and Evolution*. 5(9), pp. 872-880.
98. Literman, R., S. Radhakrishnan, J. Tamplin, R. Burke, C. Dresser, & N. Valenzuela (2017), "Development of sexing primers in *Glyptemys insculpta* and *Apalone spinifera* turtles uncovers an XX/XY sex-determining system in the critically-endangered bog turtle *Glyptemys muhlenbergii*", *Conservation Genetics Resources*. 9(651-658).
99. Lu, L., D. Ge, D. Chesters, S.Y. Ho, Y. Ma, G. Li, Z. Wen, Y. Wu, J. Wang, & L. Xia (2015), "Molecular phylogeny and the underestimated species diversity of the endemic white-bellied rat (Rodentia: Muridae: Niviventer) in Southeast Asia and China", *Zoologica Scripta*. 44(5), pp. 475-494.
100. Luikart, G. & P.R. England (1999), "Statistical analysis of microsatellite DNA data", *Trends in Ecology & Evolution*. 14(7), pp. 253-256.
101. Lunde, D. & T. Nguyen (2001), "An identification guide to the rodents of Vietnam. American Museum of Natural History", *Center for Biodiversity and Conservation*. Copyright. 80(
102. Lunde, D.P., G.G. Musser, & N.T. Son (2003), "A survey of small mammals from Mt. Tay Con Linh II, Vietnam, with the description of a new species of *Chodsigoa* (Insectivora: Soricidae)", *Mammal Study*. 28(1), pp. 31-46.
103. Lunde, D.P., G.G. Musser, & T. Ziegler (2004), "Description of a new species of *Crocidura* (Soricomorpha: Soricidae, Crocidurinae) from Ke go nature reserve, Vietnam", *Mammal Study*. 29(1), pp. 27-36.
104. Lunde, D.P., N.T. Son, & G.G. Musser (2007), "A survey of small mammals from Huu Lien Nature Reserve, Lang Son Province, Vietnam", *Mammal Study*. 32(4), pp. 155-168.

105. Ly, C.T. (2011), "Current status of Asian elephants in Vietnam", *Gajah*. 35(104-109).
106. Ma, C.-Y., H. Trinh-Dinh, V.-T. Nguyen, T.-D. Le, V.-D. Le, H.-O. Le, J. Yang, Z.-J. Zhang, & P.-F. Fan (2020), "Transboundary conservation of the last remaining population of the cao vit gibbon *Nomascus nasutus*", *Oryx*. 54(6), pp. 776-783.
107. Malausa, T., A. Gilles, E. Megléczy, H. Blanquart, S. Duthoy, C. Costedoat, V. Dubut, N. Pech, P. CASTAGNONE-SERENO, & C. Delye (2011), "High-throughput microsatellite isolation through 454 GS-FLX Titanium pyrosequencing of enriched DNA libraries", *Molecular Ecology Resources*. 11(4), pp. 638-644.
108. Martins, R.F., J. Fickel, M. Le, T. Van Nguyen, H.M. Nguyen, R. Timmins, H.M. Gan, J.J. Rovie-Ryan, D. Lenz, & D.W. Förster (2017), "Phylogeography of red muntjacs reveals three distinct mitochondrial lineages", *BMC evolutionary biology*. 17(1-12).
109. McLEOD, D.S., S. Kurlbaum, & N. Hoang (2015), "More of the same: a diminutive new species of the *Limnonectes kuhlii* complex from northern Vietnam (Anura: Dicroglossidae)", *Zootaxa*. 3947(2), pp. 201-214.
110. Menon, V. & S.K. Tiwari (2019), "Population status of Asian elephants *Elephas maximus* and key threats", *International Zoo Yearbook*. 53(1), pp. 17-30.
111. Mindell, D.P., C.W. Dick, & R.J. Baker (1991), "Phylogenetic relationships among megabats, microbats, and primates", *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 88(22), pp. 10322-10326.
112. Morin, P. (1992), "Noninvasive genotyping for vertebrate conservation", *Molecular Genetics Approaches to Conservation*,
113. Morin, P.A., K.K. Martien, & B.L. Taylor (2009), "Assessing statistical power of SNPs for population structure and conservation studies", *Molecular Ecology Resources*. 9(1), pp. 66-73.

114. Murray, S.W., P. Campbell, T. Kingston, A. Zubaid, C.M. Francis, & T.H. Kunz (2012), "Molecular phylogeny of hipposiderid bats from Southeast Asia and evidence of cryptic diversity", *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 62(2), pp. 597-611.
115. Musser, G.G., A.L. Smith, M.F. Robinson, & D.P. Lunde (2005), "Description of a new genus and species of rodent (Murinae, Muridae, Rodentia) from the Khammouan Limestone National Biodiversity Conservation Area in Lao PDR", *American Museum Novitates*. 2005(3497), pp. 1-31.
116. Nature, I.U.f.C.o. & N. Resources (2020), "The IUCN Red List of Threatened Species Version 2020-3", *The IUCN Red List of Threatened Species*,
117. Nyakaana, S. & P. Arctander (1998), "Isolation and characterization of microsatellite loci in the African elephant, *Loxodonta africana*", *Molecular Ecology*. 7(10), pp. 1436-1437.
118. Ngo, H.T., Q.H. Do, V.Q. Luu, L.L. Grismer, T. Ziegler, T.Q. Nguyen, & M.D. Le (2022), "How many more species are out there? Current taxonomy substantially underestimates the diversity of bent-toed geckos (Gekkonidae, *Cyrtodactylus*) in Laos and Vietnam", *ZooKeys*, 1097), pp.
119. Ngo, H.T., T.E. McCormack, H.V. Hoang, T.T. Nguyen, B. Tapley, M.H. Le, D.T. Le, T.T. Nguyen, H.L.T. Trinh, & T. Ziegler (2023), "Genetic Diversity of the Critically Endangered Big-Headed Turtle (*Platysternon megacephalum*) Based on Wild and Traded Samples: Implications for Conservation", *Diversity*. 15(9), pp. 958.
120. Nguyen, L.-T., H.A. Schmidt, A. Von Haeseler, & B.Q. Minh (2015), "IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies", *Molecular biology and evolution*. 32(1), pp. 268-274.
121. Nguyen, S.T., T. Oshida, P.H. Dang, H.T. Bui, & M. Motokawa (2018), "A new species of squirrel (Sciuridae: *Callosciurus*) from an isolated island off

- the Indochina Peninsula in southern Vietnam", *Journal of Mammalogy*. 99(4), pp. 813-825.
122. Nguyen, T., T. Ziegler, A. Rauhaus, T. Nguyen, D. Tran, S. Wayakone, V. Luu, M. Vences, & M. Le (2018), "Genetic screening of Siamese crocodiles (*Crocodylus siamensis*) in Laos and Vietnam: identifying purebred individuals for conservation and release programs", *Crocodile Specialist Group Newsl.* 37(8-14).
 123. Nguyen, T.Q., P. Kingsada, H. Roesler, M. Auer, & T. Ziegler (2010), "A new species of *Cyrtodactylus* (Squamata: Gekkonidae) from northern Laos", *Zootaxa*. 2652(1), pp. 1-16.
 124. Nguyen, T.Q., M.D. Le, A. Pham, H.N. Ngo, C. Hoang, C. Pham, & T. Ziegler (2015), "Two new species of *Cyrtodactylus* (Squamata: Gekkonidae) from the karst forest of Hoa Binh Province, Vietnam", *Zootaxa*. 3985(3), pp. 375-390.
 125. Nguyen, T.S., T. Görföl, C.M. Francis, M. Motokawa, P. Estók, H. Endo, V.D. Thong, N.X. Dang, T. Oshida, & G. Csorba (2013), "Description of a new species of *Myotis* (Vespertilionidae) from Vietnam", *Acta Chiropterologica*. 15(2), pp. 473-483.
 126. Nguyen, T.S., G. Csorba, V.T. Tu, V.D. Thong, Y. Wu, M. Harada, T. Oshida, H. Endo, & M. Motokawa (2015), "A new species of the genus *Murina* (Chiroptera: Vespertilionidae) from the Central Highlands of Vietnam with a review of the subfamily Murinae in Vietnam", *Acta Chiropterologica*. 17(2), pp. 201-232.
 127. Nguyen, T.S., M. Motokawa, T. Oshida, V.D. Thong, G. Csorba, & H. Endo (2015), "Multivariate analysis of the skull size and shape in tube-nosed bats of the genus *Murina* (Chiroptera: Vespertilionidae) from Vietnam", *Mammal Study*. 40(2), pp. 79-94.

128. Nguyen, T.T., T. Van Nguyen, T. Ziegler, F. Pasmans, & A. Martel (2017), "Trade in wild anurans vectors the urodelan pathogen *Batrachochytrium salamandrivorans* into Europe", *Amphibia-Reptilia*. 38(4), pp. 554-556.
129. Nguyen, T.V., A. Tilker, A. Nguyen, L. Hörig, J. Axtner, A. Schmidt, M. Le, A.H. Nguyen, B.M. Rawson, & A. Wilting (2021), "Using terrestrial leeches to assess the genetic diversity of an elusive species: The Annamite striped rabbit *Nesolagus timminsi*", *Environmental DNA*. 3(4), pp. 780-791.
130. Oyler-McCance, S. & P. Leberg (2012), "Conservation genetics and molecular ecology in wildlife management", *The wildlife techniques manual: research*. 1(526-546).
131. Paxinos, E., C. McIntosh, K. Ralls, & R. Fleischer (1997), "A noninvasive method for distinguishing among canid species: amplification and enzyme restriction of DNA from dung", *Molecular ecology*. 6(5), pp. 483-486.
132. Pertoldi, C., J.M. Wójcik, M. Tokarska, A. Kawalko, T.N. Kristensen, V. Loeschcke, V.R. Gregersen, D. Coltman, G.A. Wilson, & E. Randi (2010), "Genome variability in European and American bison detected using the BovineSNP50 BeadChip", *Conservation Genetics*. 11(2), pp. 627-634.
133. Petit, E. & N. Valiere (2006), "Estimating population size with noninvasive capture-mark-recapture data", *Conservation Biology*. 20(4), pp. 1062-1073.
134. Pilliod, D.S., C.S. Goldberg, R.S. Arkle, & L.P. Waits (2014), "Factors influencing detection of eDNA from a stream-dwelling amphibian", *Molecular Ecology Resources*. 14(1), pp. 109-116.
135. Posada, D. & K.A. Crandall (1998), "MODELTEST: testing the model of DNA substitution", *Bioinformatics (Oxford, England)*. 14(9), pp. 817-818.
136. Pozarowski, K., J. Ivy, & H.W. Herrmann (2013), "Using rattlesnake microsatellites to determine paternity in captive bushmasters (*Lachesis muta*)", *Zoo Biology*. 32(4), pp. 454-456.
137. Pritchard, J.K., M. Stephens, & P. Donnelly (2000), "Inference of population structure using multilocus genotype data", *Genetics*. 155(2), pp. 945-959.

138. Pham, C.T., Do D.T., Le M., Ngo H.T., Nguyen L.T., Ziegler T., & N. T.Q (2018), "A new species of *Limnonectes* (Amphibia: Anura: Dicroglossidae) from Vietnam", *Zootaxa*. 4508(1), pp. 115-130.
139. Phimmachak, S., A. Aowphol, & B.L. Stuart (2015), "Morphological and molecular variation in *Tylototriton* (Caudata: Salamandridae) in Laos, with description of a new species", *Zootaxa*. 4006(2), pp. 285-310.
140. Rabb, G.B. & R. Snedigar (1960), "Observations on breeding and development of the Surinam toad, *Pipa pipa*", *Copeia*. 1960(1), pp. 40-44.
141. Rawson, B. & C. Roos "A new primate species record for Cambodia: *Pygathrix*", *Cambodian Journal of Natural History*, 7.
142. Rees, H.C., B.C. Maddison, D.J. Middleditch, J.R. Patmore, & K.C. Gough (2014), "The detection of aquatic animal species using environmental DNA—a review of eDNA as a survey tool in ecology", *Journal of applied ecology*. 51(5), pp. 1450-1459.
143. Roberts, T.E., E.J. Sargis, & L.E. Olson (2009), "Networks, trees, and treeshrews: assessing support and identifying conflict with multiple loci and a problematic root", *Systematic Biology*. 58(2), pp. 257-270.
144. Roberts, T.E., H.C. Lanier, E.J. Sargis, & L.E. Olson (2011), "Molecular phylogeny of treeshrews (Mammalia: Scandentia) and the timescale of diversification in Southeast Asia", *Molecular phylogenetics and evolution*. 60(3), pp. 358-372.
145. Ronquist, F., M. Teslenko, P. Van Der Mark, D.L. Ayres, A. Darling, S. Höhna, B. Larget, L. Liu, M.A. Suchard, & J.P. Huelsenbeck (2012), "MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space", *Systematic biology*. 61(3), pp. 539-542.
146. Roos, C., V.N. Thanh, L. Walter, & T. Nadler (2007), "Molecular systematics of Indochinese primates", *Vietnamese Journal of Primatology*. 1(1), pp. 41-53.

147. Rovatsos, M., P. Prashag, U. Fritz, & L. Kratochvíl (2017), "Stable Cretaceous sex chromosomes enable molecular sexing in softshell turtles (Testudines: Trionychidae)", *Scientific reports*. 7(1), pp. 42150.
148. Sanamxay, D., B. Douangboubpha, S. Bumrungsri, S. Xayavong, V. Xayaphet, C. Satasook, & P. Bates (2013), "Rediscovery of *Biswamoyopterus* (Mammalia: Rodentia: Sciuridae: Pteromyini) in Asia, with the description of a new species from Lao PDR", *Zootaxa*. 3686(4), pp. 471-481.
149. Sato, J.J., T. Hosoda, M. Wolsan, & H. Suzuki (2004), "Molecular phylogeny of arctoids (Mammalia: Carnivora) with emphasis on phylogenetic and taxonomic positions of the ferret-badgers and skunks", *Zoological Science*. 21(1), pp. 111-118.
150. Savolainen, V., R.S. Cowan, A.P. Vogler, G.K. Roderick, & R. Lane (2005), "Towards writing the encyclopaedia of life: an introduction to DNA barcoding", *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 360(1462), pp. 1805-1811.
151. Schmaltz, G., C.M. Somers, P. Sharma, & J.S. Quinn (2006), "Non-destructive sampling of maternal DNA from the external shell of bird eggs", *Conservation Genetics*. 7(543-549).
152. Schmidt, M. & N. Schilling (2007), "Fiber type distribution in the shoulder muscles of the tree shrew, the cotton-top tamarin, and the squirrel monkey related to shoulder movements and forelimb loading", *Journal of human evolution*. 52(4), pp. 401-419.
153. Schnell, I.B., P.F. Thomsen, N. Wilkinson, M. Rasmussen, L.R. Jensen, E. Willerslev, M.F. Bertelsen, & M.T.P. Gilbert (2012), "Screening mammal biodiversity using DNA from leeches", *Current biology*. 22(8), pp. R262-R263.
154. Shinohara, A., H. Suzuki, K. Tsuchiya, Y.-P. Zhang, J. Luo, X.-L. Jiang, Y.-X. Wang, & K.L. Campbell (2004), "Evolution and biogeography of talpid

- moles from continental East Asia and the Japanese Islands inferred from mitochondrial and nuclear gene sequences", *Zoological science*. 21(12), pp. 1177-1185.
155. Shinohara, A., S.-i. Kawada, N.T. Son, C. Koshimoto, H. Endo, D.N. Can, & H. Suzuki (2014), "Molecular phylogeny of east and southeast Asian fossorial moles (Lipotyphla, Talpidae)", *Journal of Mammalogy*. 95(3), pp. 455-466.
 156. Shinohara, A., S.-i. Kawada, N.T. Son, D.N. Can, S.H. Sakamoto, & C. Koshimoto (2015), "Molecular phylogenetic relationships and intra-species diversities of three Euroscaptor spp.(Talpidae: Lipotyphla: Mammalia) from Vietnam", *Raffles Bulletin of Zoology*. 63(
 157. Sterling, E., M. Hurley, & M.L. Duc (2006), "Vietnam: A Natural History. New Haven and London: Yale University Press",
 158. Sterling, E.J. & M.M. Hurley (2005), "Conserving biodiversity in Vietnam: Applying biogeography to conservation research", *Proceedings-California Academy of Sciences*. 56(98).
 159. Storz, J.F., S.J. Sabatino, F.G. Hoffmann, E.J. Gering, H. Moriyama, N. Ferrand, B. Monteiro, & M.W. Nachman (2007), "The molecular basis of high-altitude adaptation in deer mice", *PLoS genetics*. 3(3), pp. e45.
 160. Storz, J.F., A.M. Runck, S.J. Sabatino, J.K. Kelly, N. Ferrand, H. Moriyama, R.E. Weber, & A. Fago (2009), "Evolutionary and functional insights into the mechanism underlying high-altitude adaptation of deer mouse hemoglobin", *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 106(34), pp. 14450-14455.
 161. Stuart, B.L. & J.F. Parham (2007), "Recent hybrid origin of three rare Chinese turtles", *Conservation Genetics*. 8(169-175).
 162. Sukumar, R., *The Asian elephant: ecology and management*. 1992: Cambridge University Press.

163. Sukumar, R., *The living elephants: evolutionary ecology, behaviour, and conservation*. 2003: Oxford University Press.
164. Sukumar, R. (2006), "A brief review of the status, distribution and biology of wild Asian elephants *Elephas maximus*", *International Zoo Yearbook*. 40(1), pp. 1-8.
165. Sun, Y., Y. Chen, J.J. Díaz-Sacco, & K. Shi (2021), "Assessing population structure and body condition to inform conservation strategies for a small isolated Asian elephant (*Elephas maximus*) population in southwest China", *PloS one*. 16(3), pp. e0248210.
166. Swofford, D.L. (1993), "PAUP: phylogenetic analysis using parsimony", *Mac Version 3. 1. 1.(Computer program and manual)*.
167. Taberlet, P. & L.P. Waits (1998), "Non-invasive genetic sampling", *Trends in ecology & evolution*. 1(13), pp. 26-27.
168. Taliaferro, W.H. & D.W. Talmage (1956), "Antibodies in the rabbit with different rates of metabolic decay", *The Journal of Infectious Diseases*. 99(1), pp. 21-33.
169. Teeling, E.C., M. Scally, D.J. Kao, M.L. Romagnoli, M.S. Springer, & M.J. Stanhope (2000), "Molecular evidence regarding the origin of echolocation and flight in bats", *Nature*. 403(6766), pp. 188-192.
170. Todesco, M., M.A. Pascual, G.L. Owens, K.L. Ostevik, B.T. Moyers, S. Hübner, S.M. Heredia, M.A. Hahn, C. Caseys, & D.G. Bock (2016), "Hybridization and extinction", *Evolutionary applications*. 9(7), pp. 892-908.
171. Tu, V.T., G. Csorba, T. Görföl, S. Arai, N.T. Son, H.T. Thanh, & A. Hasanin (2015), "Description of a new species of the genus *Aselliscus* (Chiroptera, Hipposideridae) from Vietnam", *Acta Chiropterologica*. 17(2), pp. 233-254.
172. Thomas, H. (1994), "Anatomie crânienne et relations phylogénétiques du nouveau bovidé (*Pseudoryx nghetinhensis*) découvert dans la cordillère annamitique au Vietnam", *Mammalia*. 58(3), pp. 453-482.

173. Thompson, J.D., T.J. Gibson, F. Plewniak, F. Jeanmougin, & D.G. Higgins (1997), "The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools", *Nucleic acids research*. 25(24), pp. 4876-4882.
174. Thomsen, P.F., J. Kielgast, L.L. Iversen, C. Wiuf, M. Rasmussen, M.T.P. Gilbert, L. Orlando, & E. Willerslev (2012), "Monitoring endangered freshwater biodiversity using environmental DNA", *Molecular ecology*. 21(11), pp. 2565-2573.
175. Thorington Jr, R.W., J.L. Koprowski, M.A. Steele, & J.F. Whatton, *Squirrels of the world*. 2012: JHU Press.
176. Uetz, P., P. Freed, & J. Hošek (2017), "2016The reptile databasehttp", *reptile-database. reptarium. cz/7 August*,
177. Valenzuela, N. & D.C. Adams (2011), "Chromosome number and sex determination coevolve in turtles", *Evolution*. 65(6), pp. 1808-1813.
178. Van Dung, V., P.M. Giao, N.N. Chinh, D. Tuoc, P. Arctander, & J. MacKinnon (1993), "A new species of living bovid from Vietnam", *Nature*. 363(6428), pp. 443-445.
179. van, S., S.U. M., C.T. Pham, T.Q. Nguyen, & T. Ziegler (2015), "Last chance to see? a review of the threats to and use of the crocodile lizard", *TRAFFIC Bulletin*. 27(1), pp. 19.
180. van Schingen, M., M. Bernardes, V. Hecht, M. Bonkowski, & T. Ziegler (2014), "Current status of the Crocodile Lizard *Shinisaurus crocodilurus* Ahl, 1930 in Vietnam with implications for conservation measures", *Rev. Suisse Zool*. 121(3), pp. 425-440.
181. van Schingen, M., M. Bernardes, M. Bonkowski, & T. Ziegler (2015), "First ecological assessment of the endangered Crocodile Lizard, *Shinisaurus crocodilurus*, Ahl, 1930 in Vietnam: Microhabitat characterization and habitat selection", *Herpetol. Conserv. Biol*. 10(3), pp. 948-959.

182. van Schingen, M., T. Ziegler, M. Boner, B. Streit, T.Q. Nguyen, V. Crook, & S. Ziegler (2016), "Can isotope markers differentiate between wild and captive reptile populations? A case study based on crocodile lizards (*Shinisaurus crocodilurus*) from Vietnam", *Global Ecology and Conservation*. 6(232-241).
183. van Schingen, M., M.D. Le, H.T. Ngo, C.T. Pham, Q.Q. Ha, T.Q. Nguyen, & T. Ziegler (2016), "Is there more than one crocodile lizard? An integrative taxonomic approach reveals Vietnamese and Chinese *Shinisaurus crocodilurus* represent separate conservation and taxonomic units", *Der Zoologische Garten*. 85(5), pp. 240-260.
184. van Schingen, M., Q.Q. Ha, T.Q. Le, T.Q. Nguyen, M. Bonkowski, & T. Ziegler (2020), "Discovery of a new crocodile lizard population in Vietnam: Population trends, future prognoses and identification of key habitats for conservation", *Revue suisse de Zoologie*. 123(2), pp. 241-251.
185. Volleth, M., N.T. Son, Y. Li, W. Yu, L.-K. Lin, S. Arai, V. Trifonov, T. Liehr, & M. Harada (2017), "Comparative chromosomal studies in *Rhinolophus formosae* and *R. luctus* from China and Vietnam: Elevation of *R. l. lanosus* to species rank", *Acta Chiropterologica*. 19(1), pp. 41-50.
186. Von den Driesch, A., *A guide to the measurement of animal bones from archaeological sites*. Vol. 1. 1976: Peabody museum press.
187. Vu, D. & H. Tran (2005), "Results of the first detailed survey on bats at Bach Ma National Park", *Journal of Biology*. 27(2), pp. 39-45.
188. Watson, J.D. (1990), "The human genome project: past, present, and future", *Science*. 248(4951), pp. 44-49.
189. Williams, C., S.K. Tiwari, V.R. Goswami, S. de Silva, A. Kumar, N. Baskaran, K. Yoganand, & V. & Menon (2020), "Elephas maximus. The IUCN Red List of Threatened Species 2020: e.T7140A45818198.", <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-3.RLTS.T7140A45818198.en>,

190. Wilson, D.E. & D.M. Reeder, *Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference*. Vol. 1. 2005: JHU press.
191. Wilting, A., T.V. Nguyen, J. Axtner, A. Nguyen, A. Schmidt, M. Le, A.H. Nguyen, B.M. Rawson, A. Tilker, & J. Fickel (2022), "Creating genetic reference datasets: Indirect sampling of target species using terrestrial leeches as sample "collectors"", *Environmental DNA*. 4(2), pp. 311-325.
192. Xie, H.-X., X.-X. Liang, Z.-Q. Chen, W.-M. Li, C.-R. Mi, M. Li, Z.-J. Wu, X.-M. Zhou, & W.-G. Du (2022), "Ancient demographics determine the effectiveness of genetic purging in endangered lizards", *Molecular biology and evolution*. 39(1), pp. msab359.
193. Yu, Z. & M. Morrison (2004), "Improved extraction of PCR-quality community DNA from digesta and fecal samples", *Biotechniques*. 36(5), pp. 808-812.
194. Zemlemerova, E., A. Bannikova, A. Abramov, V. Lebedev, & V. Rozhnov. *New data on molecular phylogeny of the East Asian moles*. in *Doklady Biological Sciences*. 2013. Springer Nature BV.
195. Zemlemerova, E., A. Bannikova, V. Lebedev, V. Rozhnov, & A. Abramov (2016), "Secrets of the underground Vietnam: an underestimated species diversity of Asian moles (Lipotyphla: Talpidae: Euroscaptor)", *Труды Зоологического института РАН*. 320(2), pp. 193-220.
196. Zhang, B., K. He, T. Wan, P. Chen, G. Sun, S. Liu, T.S. Nguyen, L. Lin, & X. Jiang (2016), "Multi-locus phylogeny using topotype specimens sheds light on the systematics of Niviventer (Rodentia, Muridae) in China", *BMC Evolutionary Biology*. 16(1), pp. 1-12.
197. Ziegler, T., L.K. Quyet, V.N. Thanh, R. Hendrix, & W. Boehme (2008), "A comparative study of crocodile lizards (*Shinisaurus crocodilurus* Ahl, 1930) from Vietnam and China", *Raffles Bulletin of Zoology*. 56(1), pp. 181-187.
198. Ziegler, T. & Z.J. Wu (2018), "A new species of *Limnonectes* (Amphibia: Anura: Dicroglossidae) from Vietnam", *Zootaxa*. 4508(1), pp. 115-130.

199. Ziegler, T., M. Van Schingen, A. Rauhaus, P. Dang, D. Pham, C. Pham, & T. Nguyen (2019), "New insights into the habitat use and husbandry of crocodile lizards (Reptilia: Shinisauridae) including the conception of new facilities for Vietnamese crocodile lizards *Shinisaurus crocodilurus vietnamensis* in Vietnam and Germany", *International Zoo Yearbook*. 53(1), pp. 250-269.

PHỤ LỤC

Phụ lục 1. Số đo hình thái ngoài các mẫu thú nhỏ thu thập được tại các khu vực nghiên cứu thuộc vùng núi Đông Bắc

ST T	Mã thực địa	Địa điểm	Giới tính	Tên khoa học	BW(g)	HB (mm)	Đuôi (mm)	HFL không móng	HFL I	Ear L	F	FA	TIB	BRT
1	NTS 2019.10.38	Hà Giang (Lùng Càng)	M	<i>Niviventer fulvescens</i>	40,00	93	161	24,64	27,55	17,54				
2	NTS 2019.04.07	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	4,70	46,89	24,77			11,27		41,72	19,26	
3	NTS 2019.04.08	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	5,10	49,69	35,43			8,45		42,40	19,98	
4	NTS 2019.04.09	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	5,50	47,40	37,54			11,24		42,52	19,90	
5	NTS 2019.04.10	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	5,20	49,99	37,03			10,32		43,47	19,55	
6	NTS 2019.04.11	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	5,60	46,35	28,46			12,39		42,73	18,51	
7	NTS 2019.04.12	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	5,20	49,87	38,87			11,43		41,63	18,73	
8	NTS 2019.04.13	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	5,40	46,38	36,25			11,44		42,81	18,97	
9	NTS 2019.04.14	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	5,50	48,62	39,23			11,34		41,75	18,28	
10	NTS 2019.04.15	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	5,20	49,04	37,79			10,23		42,19	18,94	
11	NTS 2019.04.16	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	5,00	47,28	35,64			10,48		42,44	18,65	
12	NTS 2019.04.18	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	4,50	47,10	36,46			10,26		41,82	18,88	
13	NTS 2019.04.19	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	5,20	47,99	32,30			10,19		41,18	18,70	
14	NTS 2019.04.20	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	5,60	50,42	41,82			12,61		41,69	18,75	

ST T	Mã thực địa	Địa điểm	Giới tính	Tên khoa học	BW(g)	HB (mm)	Đuôi (mm)	HFL không móng	HFL I	Ear L	F	FA	TIB	BRT
15	NTS 2019.04.21	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	4,90	47,53	33,93			10,64		41,39	18,44	
16	NTS 2019.04.22	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	5,00	48,61	38,48			10,44		41,52	18,77	
17	NTS 2019.04.23	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	4,90	48,09	37,37			10,10		42,79	18,28	
18	NTS 2019.04.24	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	4,70	47,74	35,26			10,42		41,31	19,72	
19	NTS 2019.04.25	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	4,60	48,78	33,97			9,49		41,66	17,98	
20	NTS 2019.04.26	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	4,70	49,94	32,53			12,02		41,78	18,11	
21	NTS 2019.04.27	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	4,90	47,39	35,52			10,03		41,96	18,53	
22	NTS 2019.10.02	Hà Giang (Lùng Càng)	M	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	4,90	45,05	37,2			10,4		42,37	16,07	
23	NTS 2019.10.03	Hà Giang (Lùng Càng)	M	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	4,80	44,7	34,7			10,42		43,08	20,13	
24	NTS 2019.10.04	Hà Giang (Lùng Càng)	M	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	4,70	40,31	35,87			9,75		43,35	19,51	
25	NTS 2019.10.05	Hà Giang (Lùng Càng)	M	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	4,30	43,22	34,22			9,73		40	18,14	
26	NTS 2019.10.06	Hà Giang (Lùng Càng)	F	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	4,90	43,84	35,16			11,95		40,91	18,99	
27	NTS 2019.10.07	Hà Giang (Lùng Càng)	F	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	4,80	44,02	x			11,7		43,84	19,57	
28	NTS 2019.10.08	Hà Giang (Lùng Càng)	M	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	4,60	3,91	37,4			11,39		42,47	18,86	
29	NTS 2019.10.09	Hà Giang (Lùng Càng)	F	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	5,00	46,52	38,41			10,1		44,17	19,93	
30	NTS 2019.10.10	Hà Giang (Lùng Càng)	M	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	4,70	46,09	33,39			11,53		42,53	19,62	

ST T	Mã thực địa	Địa điểm	Giới tính	Tên khoa học	BW(g)	HB (mm)	Đuôi (mm)	HFL không móng	HFL I	Ear L	F	FA	TIB	BRT
31	NTS 2019.10.11	Hà Giang (Lùng Càng)	M	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	4,90	45,9	38,66			10,77		41,87	19,31	
32	NTS 2019.10.12	Hà Giang (Lùng Càng)	M	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	5,20	46,95	36,9			11,87		42,19	19,53	
33	NTS 2019.10.13	Hà Giang (Lùng Càng)	F	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	4,60	43,29	36,54			10,81		41,26	19,81	
34	NTS 2019.10.15	Hà Giang (Lùng Càng)	F	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	4,80	42,33	35,31			12,37		41,69	19,62	
35	NTS 2019.10.17	Hà Giang (Lùng Càng)	F	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	5,00	41,59	35,57			13,83		43,21	19,25	
36	NTS 2019.10.21	Hà Giang (Lùng Càng)	F	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	4,70	42,05	33,94			13,04		42,5	20,57	
37	NTS 2019.10.22	Hà Giang (Lùng Càng)	M	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	4,10	41,69	35,54			11,74		42,48	19,15	
38	NTS 2019.10.23	Hà Giang (Lùng Càng)	F	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	4,80	42,2	36,41			12,87		43,87	19,14	
39	NTS 2019.10.26	Hà Giang (Lùng Càng)	M	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	4,10	40,48	32,17			11,91		42,52	18,84	
40	NTS 2019.10.28	Hà Giang (Lùng Càng)	F	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	4,10	40,26	34,35			11,08		42,63	19	
41	NTS 2019.10.33	Hà Giang (Lùng Càng)	M	<i>Aselliscus dongbacanus</i>	4,20	42,91	36,94			13,46		43,16	19,59	
42	BM 2019.05.14	Hà Giang (Bắc Mê)	F (Ad)	<i>Belomys pearsoni</i>	200,0 0	185	165	27,75	34,73	20,99				
43	BM 2019.05.23	Hà Giang (Bắc Mê)	M (juv)	<i>Berylmys bowersi</i>	100,0 0	155	188	43,11	46,18	28,62				
44	C.CHU.18.2 3	Tuyên Quang, Chạm Chu (Phù Lưu, Hàm Yên)	M (sắp trưởng thành)	<i>Callosciurus erythraeus</i>		240,0 0	240,0 0	50,00		22,00				
45	C.CHU.18.2 4	Tuyên Quang, Chạm Chu (Phù Lưu, Hàm Yên)	M (sắp trưởng thành)	<i>Callosciurus erythraeus</i>		230,0 0	230,0 0	50,05		23,00				

ST T	Mã thực địa	Địa điểm	Giới tính	Tên khoa học	BW(g)	HB (mm)	Đuôi (mm)	HFL không móng	HFL I	Ear L	F	FA	TIB	BRT
46	BM 2019.05.03	Hà Giang (Bắc Mê)	M (juv)	<i>Callosciurus erythraeus</i>	98,00	150	170	45,4	47,24	18,07				
47	BM 2019.05.05	Hà Giang (Bắc Mê)	F (mang thai)	<i>Callosciurus erythraeus</i>	240,00	182	215	44,55	54,28	19,61				
48	NTS 2019.10.20	Hà Giang (Lũng Càng)	M	<i>Callosciurus erythraeus</i>	300,00	220	235	49,52	52,42	25,81				
49	BM 2019.05.04	Hà Giang (Bắc Mê)	F (mang thai)	<i>Callosciurus inornatus</i>	300,00	203	210	40,31	46,19	17,18				
50	NTS 2019.10.45	Hà Giang (Lũng Càng)	F (juv)	<i>Callosciurus inornatus</i>	220,00	198	21,2	35,87	41,51	19,24				
51	BM 2019.05.15	Hà Giang (Bắc Mê)	M	<i>Callosciurus erythraeus</i>	340,00	209	209	47,44	53,71	24,58				
52	BM 2019.05.48	Hà Giang (Bắc Mê)		<i>Con non của 19</i>										
53	NTS 2019.04.40	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Crocidura tanakae</i>	10,20	77,65	53,80	13.83 / 13.31		7,49	8.04 / 7.81			26,81
54	BM 2019.05.46	Hà Giang (Bắc Mê)	F	<i>Crocidura tanakae</i>	5,00	51,58	51,58	13,65	15,39	33,99				
55	NTS 2019.10.01	Hà Giang (Lũng Càng)	F	<i>Crocidura tanakae</i>	8,70	77,87	51,86	13,77	14,16	10,18				
56	C.CHU.18.1 1	Tuyên Quang, Chạm Chu (Phù Lưu, Hàm Yên)	F	<i>Cynopterus sphinx</i>	42,00	89,71	14,79			21,24		71,06	71,06	
57	C.CHU.18.1 2	Tuyên Quang, Chạm Chu (Phù Lưu, Hàm Yên)	M	<i>Cynopterus sphinx</i>	53,00	98,93	15,45			21,80		70,92	70,92	
58	C.CHU.18.1 3	Tuyên Quang, Chạm Chu (Phù Lưu, Hàm Yên)	M	<i>Cynopterus sphinx</i>	46,00	88,36	16,49			20,45		68,42	68,42	
59	C.CHU.18.1 5	Tuyên Quang, Chạm Chu (Phù Lưu, Hàm Yên)	M	<i>Cynopterus sphinx</i>	50,00	93,59	12,86			21,44		69,92	14,35	
60	C.CHU.18.1	Tuyên Quang, Chạm Chu	M	<i>Cynopterus sphinx</i>	46,00	95,80	14,35			19,95		68,00	14,12	

ST T	Mã thực địa	Địa điểm	Giới tính	Tên khoa học	BW(g)	HB (mm)	Đuôi (mm)	HFL không móng	HFL I	Ear L	F	FA	TIB	BRT
	6	(Phù Lưu, Hàm Yên)												
61	C.CHU.18.17	Tuyên Quang, Chạm Chu (Phù Lưu, Hàm Yên)	F	<i>Cynopterus sphinx</i>	56,00	97,00	12,32			20,73		72,00	14,62	
62	C.CHU.18.18	Tuyên Quang, Chạm Chu (Phù Lưu, Hàm Yên)	F	<i>Cynopterus sphinx</i>	36,00	89,41	16,00			18,65		67,47	15,37	
63	C.CHU.18.19	Tuyên Quang, Chạm Chu (Phù Lưu, Hàm Yên)	M	<i>Cynopterus sphinx</i>	53,00	94,17	11,89			21,76		73,33	13,86	
64	C.CHU.18.20	Tuyên Quang, Chạm Chu (Phù Lưu, Hàm Yên)	M	<i>Cynopterus sphinx</i>	50,00	97,28	13,59			18,99		70,94	14,85	
65	C.CHU.18.27	Tuyên Quang, Chạm Chu (Phù Lưu, Hàm Yên)	M	<i>Cynopterus sphinx</i>	41,00	90,70	8,90			19,36		70,78	13,35	
66	C.CHU.18.28	Tuyên Quang, Chạm Chu (Phù Lưu, Hàm Yên)	M	<i>Cynopterus sphinx</i>	42,00	94,90	10,10			19,47		71,46	15,94	
67	NTS 2019.04.39	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Cynopterus sphinx</i>	49,40	98,92	15,17			20,17		69,05	26,55	
68	NTS 2019.10.29	Hà Giang (Lùng Càng)	M	<i>Cynopterus sphinx</i>	40,00	84,15	12,5			25,16		71,79	27,59	
69	NTS 2019.10.30	Hà Giang (Lùng Càng)	F (nuôi con)	<i>Cynopterus sphinx</i>	48,60	88,11	16,07			22,37		75,5	28,54	
70	NTS 2019.10.31	Hà Giang (Lùng Càng)	F	<i>Cynopterus sphinx</i>	43,00	84,75	12,7			23,33		71,88	28,04	
71	NTS 2019.10.43	Hà Giang (Lùng Càng)	F	<i>Cynopterus sphinx</i>	44,00	92,34	17,49			22,46		74,03	28,52	
72	C.CHU.18.26	Tuyên Quang, Chạm Chu (Phù Lưu, Hàm Yên)	M	<i>Chiropodomys gliroides</i>	23,00	95,00	100,00	24,14		15,62				
73	C.CHU.18.22	Tuyên Quang, Chạm Chu (Phù Lưu, Hàm Yên)	F	<i>Euroscaptor</i>	56,00	127,00	14,50	14,00						
74	NTS 2019.04.56	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Euroscaptor</i>	53,50	123,80	19,28 /12,68			x		18,92 /15,41		
75	NTS 2019.04.57	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	F	<i>Euroscaptor</i>	45,60	137,62	16,68 /11,8			x		18,85 /15,0		

ST T	Mã thực địa	Địa điểm	Giới tính	Tên khoa học	BW(g)	HB (mm)	Đuôi (mm)	HFL không móng	HFL I	Ear L	F	FA	TIB	BRT
							4				3			
76	NTS 2019.04.38	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Euroscaptor sp.</i>	64,50	132,84	11.76 /20.12	16.93 / 13.43		x	20.54 /16.63			
77	NTS 2019.04.48	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	Juve.	<i>Euroscaptor sp.</i>	12,60	98,28	18.02 /12.66	17.36 / 14.28		x	16.03 /15.52			
78	NTS 2019.04.50	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Euroscaptor sp.</i>	59,50	132,49	17.78 /10.64	18.42 / 15.28		x	20.07 /15.84			
79	NTS 2019.10.36	Hà Giang (Lùng Càng)	F	<i>Euroscaptor sp.</i>	50,00	120,71	8.93 +10.90	13,01	16,07	0				17.30 *14.87
80	NTS 2019.04.35	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Hipposideros armiger</i>	35,00	97,65	61,41			33,56		93,38	43,26	
81	NTS 2019.04.36	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Hipposideros armiger</i>	60,00	101,87	60,70			31,40		96,58	43,60	
82	BM 2019.05.25	Hà Giang (Bắc Mê)	F	<i>Hipposideros armiger</i>	40,00		49,87			31,69		88,39	37,31	
83	BM 2019.05.26	Hà Giang (Bắc Mê)	F	<i>Hipposideros armiger</i>	60,00	90,75	61,54			32,67		93,18	40,74	
84	BM 2019.05.27	Hà Giang (Bắc Mê)	M	<i>Hipposideros armiger</i>	48,00	74,91	56,54			30,6		86,57	39,98	
85	BM 2019.05.32	Hà Giang (Bắc Mê)	F	<i>Hipposideros armiger</i>	58,00	85,15	51,36			51,36		90,34	38,82	
86	BM 2019.05.34	Hà Giang (Bắc Mê)	F	<i>Hipposideros armiger</i>	45,00	77,56	58,33			58,33		91,61	38,46	
87	BM 2019.05.35	Hà Giang (Bắc Mê)	M	<i>Hipposideros armiger</i>	62,00	92,15	55,69			55,69		92,75	41,44	
88	BM 2019.05.36	Hà Giang (Bắc Mê)	F	<i>Hipposideros armiger</i>	54,00	77,98	50,16			50,16		91,4	39,73	

ST T	Mã thực địa	Địa điểm	Giới tính	Tên khoa học	BW(g)	HB (mm)	Đuôi (mm)	HFL không móng	HFL I	Ear L	F	FA	TIB	BRT
89	BM 2019.05.37	Hà Giang (Bắc Mê)	F	<i>Hipposideros armiger</i>	58,00	86,89	48,98			48,98		91,39	40,36	
90	BM 2019.05.39	Hà Giang (Bắc Mê)	F	<i>Hipposideros armiger</i>	58,00	89,77	64,01			32,74		94,5	42,35	
91	BM 2019.05.42	Hà Giang (Bắc Mê)	M	<i>Hipposideros armiger</i>	54,00	86,53	57,84			33,43		90,81	42,17	
92	BM 2019.05.44	Hà Giang (Bắc Mê)	F	<i>Hipposideros armiger</i>	61,00	89,23	53,76			32,22		91,41	40,91	
93	BM 2019.05.47	Hà Giang (Bắc Mê)	F	<i>Hipposideros armiger</i>	61,00	91,44	56,95			34,79		93,83	41,57	
94	NTS 2019.04.01	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Hipposideros poutensis</i>		72,03	40,28			22,27		56,75	24,15	
95	NTS 2019.04.03	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Hipposideros poutensis</i>	16,20	74,08	25,99			23,35		57,91	23,93	
96	NTS 2019.04.04	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Hipposideros poutensis</i>	15,40	72,15	35,81			21,52		55,10	23,33	
97	NTS 2019.04.05	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	F	<i>Hipposideros poutensis</i>	20,00	72,91	35,77			24,10		60,37	26,24	
98	NTS 2019.04.06	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	F	<i>Hipposideros poutensis</i>	21,20	75,33	38,82			23,52		61,50	24,87	
99	NTS 2019.04.17	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	F	<i>Hipposideros poutensis</i>	19,20	71,13	39,77			24,27		58,36	24,52	
100	NTS 2019.04.28	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Hipposideros poutensis</i>	17,00	70,56	38,36			23,99		59,70	24,85	
101	NTS 2019.04.29	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Hipposideros poutensis</i>	18,00	63,87	38,06			21,11		58,86	25,69	
102	NTS 2019.04.30	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Hipposideros poutensis</i>	17,20	73,37	34,27			23,39		58,85	25,68	
103	NTS 2019.04.34	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Hipposideros poutensis</i>	17,60	68,20	37,13			22,49		59,03	25,72	
104	NTS 2019.04.43	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	F	<i>Hipposideros poutensis</i>	17,40	66,09	36,34			23,79		57,50	23,17	

ST T	Mã thực địa	Địa điểm	Giới tính	Tên khoa học	BW(g)	HB (mm)	Đuôi (mm)	HFL khôn g món g	HFL I	Ear L	F	FA	TIB	BRT
105	NTS 2019.04.44	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	F	<i>Hipposideros poutensis</i>	19,80	71,62	36,94			21,45		57,62	24,17	
106	NTS 2019.04.51	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	F	<i>Hipposideros poutensis</i>	24,00	80,86	42,00			23,27		60,87	25,03	
107	NTS 2019.04.52	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	F	<i>Hipposideros poutensis</i>	24,20	72,00	39,57			22,39		56,81	23,07	
108	NTS 2019.04.53	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	F	<i>Hipposideros poutensis</i>	22,20	75,83	37,18			22,08		59,83	23,25	
109	NTS 2019.04.54	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	Embryo	<i>Hipposideros poutensis</i>										
110	NTS 2019.04.55	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	Embryo	<i>Hipposideros poutensis</i>										
111	BM 2019.05.07	Hà Giang (Bắc Mê)	F (mang thai)	<i>Hipposideros poutensis</i>	30,00	72	41,51			22,63		59,4	24,58	
112	BM 2019.05.08	Hà Giang (Bắc Mê)	F (mang thai)	<i>Hipposideros poutensis</i>	26,00	70	35,88			23,58		58,27	23,71	
113	BM 2019.05.10	Hà Giang (Bắc Mê)	F	<i>Hipposideros poutensis</i>	21,00	69	38,3			22,29		58,4	24,91	
114	BM 2019.05.16	Hà Giang (Bắc Mê)	F (mang thai)	<i>Hipposideros poutensis</i>	28,00	68,25	30,83			18,9		59,35	24,12	
115	BM 2019.05.21	Hà Giang (Bắc Mê)	F	<i>Hipposideros poutensis</i>	19,00	59,8	29,13			21,18		59,51	24,56	
116	BM 2019.05.24	Hà Giang (Bắc Mê)	F	<i>Hipposideros poutensis</i>	23,00	64,83	40,5			20,35		58,94	24,21	
117	BM 2019.05.28	Hà Giang (Bắc Mê)	M	<i>Hipposideros poutensis</i>	20,00	65,29	32,42			32,42		56,94	24,16	
118	BM 2019.05.29	Hà Giang (Bắc Mê)	M	<i>Hipposideros poutensis</i>	19,00	62,87	33,59			33,59		57,33	22,91	
119	BM	Hà Giang (Bắc Mê)	F	<i>Hipposideros poutensis</i>	19,00	52,74	36,27			36,27		57,44	23,51	

ST T	Mã thực địa	Địa điểm	Giới tính	Tên khoa học	BW(g)	HB (mm)	Đuôi (mm)	HFL không móng	HFL I	Ear L	F	FA	TIB	BRT
	2019.05.30													
120	BM 2019.05.31	Hà Giang (Bắc Mê)	F	<i>Hipposideros poutensis</i>	20,00	63,79	34,22			34,22		58,49	24,61	
121	BM 2019.05.33	Hà Giang (Bắc Mê)	M	<i>Hipposideros poutensis</i>	22,00	57,75	37,34			37,34		61,05	25,06	
122	BM 2019.05.38	Hà Giang (Bắc Mê)	M	<i>Hipposideros poutensis</i>	20,00	70,44	33,28			24,14		59,25	24,76	
123	BM 2019.05.40	Hà Giang (Bắc Mê)	F	<i>Hipposideros poutensis</i>	21,00	56,86	38,95			24,13		60,17	23,48	
124	BM 2019.05.41	Hà Giang (Bắc Mê)	F	<i>Hipposideros poutensis</i>	23,00	66,55	35,82			20,58		57,22	23,52	
125	BM 2019.05.43	Hà Giang (Bắc Mê)	F	<i>Hipposideros poutensis</i>	21,00	64,19	38,6			22,73		58,77	25,95	
126	BM 2019.05.45	Hà Giang (Bắc Mê)	F	<i>Hipposideros poutensis</i>	22,00	62,15	33,81			24,41		56,97	24,93	
127	NTS 2019.10.14	Hà Giang (Lùng Càng)	M	<i>Hipposideros poutensis</i>	18,40	63,31	34,33			22,84		59,64	25,21	
128	NTS 2019.10.18	Hà Giang (Lùng Càng)	M	<i>Hipposideros poutensis</i>	16,80	63,03	39,11			21,98		58,95	24,9	
129	NTS 2019.10.25	Hà Giang (Lùng Càng)	F	<i>Hipposideros poutensis</i>	16,00	55,29	33,22			22,1		55,94	23,83	
130	NTS 2019.10.34	Hà Giang (Lùng Càng)	F	<i>Hipposideros poutensis</i>	15,60	52,87	36,92			23,71		58,49	24,19	
131	BM 2019.05.18	Hà Giang (Bắc Mê)	M	<i>Hipposideros gentilis</i>	7,00	45,71	30,67			20,58		39,2	18,08	
132	BM 2019.05.19	Hà Giang (Bắc Mê)	F	<i>Hipposideros gentilis</i>	7,00	50,23	30,08			21,75		42,17	18,32	
133	C.CHU.18.2 5	Tuyên Quang, Chạm Chu (Phù Lưu, Hàm Yên)	M	<i>Leopoldamys edwardsi</i>		195,00	255,00	44,00		29,00				
134	C.CHU.18.0 3	Tuyên Quang, Chạm Chu (Phù Lưu, Hàm Yên)	M	<i>Macroglossus sobrinus</i>	27,50	83,46	-			15,44		47,35	47,35	

ST T	Mã thực địa	Địa điểm	Giới tính	Tên khoa học	BW(g)	HB (mm)	Đuôi (mm)	HFL không móng	HFL I	Ear L	F	FA	TIB	BRT
135	NTS 2019.04.47	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Macroglossus sobrinus</i>	24,00	79,49	x			16,15		49,22	20,20	
136	C.CHU.18.3 0	Tuyên Quang, Chạm Chu (Phù Lưu, Hàm Yên)	F	<i>Maxomys surifer</i>		170,00	280,00	28,22		19,29				
137	C.CHU.18.0 4	Tuyên Quang, Chạm Chu (Phù Lưu, Hàm Yên)	F	<i>Lyroderma lyra</i>	42,00	96,14	-			39,30		68,80	68,80	
138	C.CHU.18.0 5	Tuyên Quang, Chạm Chu (Phù Lưu, Hàm Yên)	F	<i>Lyroderma lyra</i>	49,00	96,81	-			39,70		69,81	69,81	
139	C.CHU.18.0 6	Tuyên Quang, Chạm Chu (Phù Lưu, Hàm Yên)	F	<i>Lyroderma lyra</i>	52,00	99,82	-			38,65		70,65	70,65	
140	C.CHU.18.0 7	Tuyên Quang, Chạm Chu (Phù Lưu, Hàm Yên)	F	<i>Lyroderma lyra</i>	55,00	97,16	-			40,35		71,76	71,76	
141	NTS 2019.10.40	Hà Giang (Lũng Càng)	F(nuôi con)	<i>Mus pahari</i>	30,00	105,97	77,81	20,19	21,96	16,99				
142	NTS 2019.04.37	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Myotis chinensis</i>	33,20	70,29	70,81			21,56		66,26	30,42	
143	NTS 2019.10.37	Hà Giang (Lũng Càng)	M	<i>Niviventer langbianis</i>	150,00	190	220	29,96	30,54	20,94				
144	NTS 2019.10.39	Hà Giang (Lũng Càng)	M	<i>Niviventer langbianis</i>	70,00	138	x	22,24	25,8	20,38				
145	NTS 2019.10.41	Hà Giang (Lũng Càng)	F	<i>Niviventer langbianis</i>	65,00	140	180	26,3	28,92	27,3				
146	NTS 2019.10.42	Hà Giang (Lũng Càng)	M	<i>Niviventer langbianis</i>	52,00	120	160	25,48	26,55	20,56				
147	C.CHU.18.0 1	Tuyên Quang, Chạm Chu (Phù Lưu, Hàm Yên)	F	<i>Chiromyscus thomasi</i>	125,00	180,00	25,00	27,43		20,80				
148	C.CHU.18.2 9	Tuyên Quang, Chạm Chu (Phù Lưu, Hàm Yên)	M	<i>Niviventer fulvescens</i>		170,00	240,00	32,47		22,59				
149	NTS 2019.04.31	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Niviventer fulvescens</i>	94,00	165,00	164,00	28,18	31,32	21,40	13.93/12.25			
150	C.CHU.18.2	Tuyên Quang, Chạm Chu	M	<i>Niviventer langbianis</i>	72,00	150,0	180,0	31,34		22,51				

ST T	Mã thực địa	Địa điểm	Giới tính	Tên khoa học	BW(g)	HB (mm)	Đuôi (mm)	HFL không móng	HFL I	Ear L	F	FA	TIB	BRT
	1	(Phù Lưu, Hàm Yên)				0	0							
151	BM 2019.05.17	Hà Giang (Bắc Mê)		<i>Phôi của 16</i>										
152	BM 2019.05.01	Hà Giang (Bắc Mê)	M	<i>Rattus andamanensis</i>	145,0 0	164	199	30,26	33,06	24,02				
153	BM 2019.05.02	Hà Giang (Bắc Mê)	M	<i>Rattus andamanensis</i>	71,00	145	177	30,52	31,9	21,51				
154	BM 2019.05.13	Hà Giang (Bắc Mê)	F (juv)	<i>Rattus andamanensis</i>	140,0 0	170	203	30,46	33,19	22,49				
155	C.CHU.18.0 2	Tuyên Quang, Chạm Chu (Phù Lưu, Hàm Yên)	M (juv)	<i>Rattus nitidus</i>	59,00	130,0 0	15,50	29,78		20,50				
156	NTS 2019.04.32	Tuyên Quang, Chạm Chu (Phù Lưu, Hàm Yên)	F	<i>Rattus nitidus</i>	180,0 0	177,0 0	164,0 0	30,13	32,98	21,70	16.79 /15.6 0			
157	NTS 2019.04.33	Tuyên Quang, Chạm Chu (Phù Lưu, Hàm Yên)	M	<i>Rattus nitidus</i>	122,0 0	175,0 0	203,0 0	37,98	42,1	31,11	21.63 /19.9 2			
158	NTS 2019.04.42	Tuyên Quang, Chạm Chu (Phù Lưu, Hàm Yên)	M	<i>Rattus nitidus</i>	82,00	157,0 0	177,0 0	29,96	32,12	21,37				
159	BM 2019.05.09	Hà Giang (Bắc Mê)	F	<i>Rhinolophus cf. affinis</i>	13,00	52	23,69			17,5		45,56	18,48	
160	NTS 2019.10.32	Hà Giang (Lùng Càng)	M	<i>Rhinolophus pusillus</i>	3,60	37,02	21,25			17,51		36,91	15,34	
161	NTS 2019.04.45	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	F	<i>Rhinolophus rex</i>	14,40	64,67	28,19			32,81		54,75	23,34	
162	NTS 2019.04.46	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Rhinolophus rex</i>	11,20	60,28	29,48			33,48		55,36	24,00	
163	NTS 2019.04.49	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	Embryo	<i>Rhinolophus rex</i>										
164	C.CHU.18.0 9	Tuyên Quang, Chạm Chu (Phù Lưu, Hàm Yên)	F	<i>Rhinolophus pearsoni</i>	19,00	69,17	26,00			25,75		53,93	53,93	

ST T	Mã thực địa	Địa điểm	Giới tính	Tên khoa học	BW(g)	HB (mm)	Đuôi (mm)	HFL không móng	HFL I	Ear L	F	FA	TIB	BRT
165	NTS 2019.04.02	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Rhinolophus pearsonii</i>	14,80	64,32	27,22			28,33		54,66	28,37	
166	BM 2019.05.20	Hà Giang (Bắc Mê)	F (lactating)	<i>Rhinolophus pearsonii</i>	20,00	58,52	20,02			22,92		53,82	26,12	
167	NTS 2019.10.16	Hà Giang (Lùng Càng)	F	<i>Rhinolophus pusillus</i>	7,10	42,39	18,26			15,96		45,17	24,14	
168	NTS 2019.10.19	Hà Giang (Lùng Càng)	M	<i>Rhinolophus pusillus</i>	5,50	40,47	20,22			18,48		44,04	21,43	
169	NTS 2019.10.24	Hà Giang (Lùng Càng)	F	<i>Rhinolophus pusillus</i>	6,50	42,82	20,17			17,68		45	22,22	
170	NTS 2019.10.27	Hà Giang (Lùng Càng)	F	<i>Rhinolophus pusillus</i>	6,70	43,29	19,07			18,14		45,27	22,5	
171	NTS 2019.10.35	Hà Giang (Lùng Càng)	M	<i>Rhinolophus pusillus</i>	7,30	44,17	21,28			17,67		44,95	21,9	
172	C.CHU.18.0 8	Tuyên Quang, Chạm Chu (Phù Lưu, Hàm Yên)	M	<i>Rhinolophus thomasi</i>	10,00	55,03	24,53			17,34		48,06	48,06	
173	C.CHU.18.1 0	Tuyên Quang, Chạm Chu (Phù Lưu, Hàm Yên)	M	<i>Rhinolophus cf. affinis</i>	11,00	60,12	27,37			18,78		46,26	46,26	
174	C.CHU.18.1 4	Tuyên Quang, Chạm Chu (Phù Lưu, Hàm Yên)	M	<i>Cynopterus sphinx</i>	39,00	87,04				19,37		67,55	13,64	
175	NTS 2019.10.46	Hà Giang (Lùng Càng)		<i>Tamias maritimus</i>										
176	NTS 2019.10.47	Hà Giang (Lùng Càng)		<i>Tamias maritimus</i>										
177	BM 2019.05.06	Hà Giang (Bắc Mê)	M	<i>Tamias maritimus</i>	51,00	110	90	23,3	23,32	11,9				
178	BM 2019.05.22	Hà Giang (Bắc Mê)	F	<i>Tupaia belangeri</i>	200,00	194	168	40,26	45,21	13,26				
179	NTS 2019.10.48	Hà Giang (Lùng Càng)		<i>Tupaia belangeri</i>										
180	NTS	Tuyên Quang, Chạm Chu	M	<i>Rhizomys pruinosus</i>	1.300	320,0	140,0	57.54		22,82				

ST T	Mã thực địa	Địa điểm	Giới tính	Tên khoa học	BW(g)	HB (mm)	Đuôi (mm)	HFL không món g	HFL I	Ear L	F	FA	TIB	BRT
	2019.04.58	(Yên Thuân, Hàm Yên)			,00	0	0	/ 52.16						
181	BM 2019.05.11	Hà Giang (Bắc Mê)	Embryo											
182	BM 2019.05.12	Hà Giang (Bắc Mê)	Embryo											
183	NTS 2019.10.49	Hà Giang (Lùng Càng)		<i>Euroscaptor sp.</i>										
184	NTS 2020.30	Cao Bằng (VQG Phía Oắc - Phía Đén)	ND	<i>Callosciurus erythraeus</i>										
185	NTS 2020.31	Cao Bằng (VQG Phía Oắc - Phía Đén)	ND	<i>Callosciurus erythraeus</i>										
186	NTS 2020.32	Cao Bằng (VQG Phía Oắc - Phía Đén)	F	<i>Kerivoula hardwickii</i>	5,7	39,27	43,84	8,29	8,77	14,49		34,28	18,95	
187	NTS 2020.33	Cao Bằng (VQG Phía Oắc - Phía Đén)	F	<i>Kerivoula hardwickii</i>	6,5	43,19	42,38	6,06	7,38	15,43		30,19	16,64	
188	NTS 2020.34	Cao Bằng (VQG Phía Oắc - Phía Đén)	M	<i>Berymys bowersi</i>		275	295	50,39	52,62	36,76				
189	NTS 2020.35	Cao Bằng (VQG Phía Oắc - Phía Đén)	M	<i>Rhinolophus pearsonii</i>	16,2	55,4	21,9	11,67	12,85	27,21		56,27	27,67	
190	NTS 2020.36	Cao Bằng (VQG Phía Oắc - Phía Đén)	M	<i>Rhinolophus pearsonii</i>	15,2	56,51	22	10,55	10,82	27,23		54,87	28,64	
191	NTS 2020.37	Cao Bằng (VQG Phía Oắc - Phía Đén)	M	<i>Kerivoula hardwickii</i>	4,9	38,1	40,13	5,91	6,63	12,61		31,38	16,05	
192	NTS 2020.38	Cao Bằng (VQG Phía Oắc - Phía Đén)	F	<i>Rhinolophus sp.</i>	12,6	52,18	24,84	10,09	10,42	17,32		47,72	18,91	
193	NTS 2020.39	Cao Bằng (VQG Phía Oắc - Phía Đén)	F	<i>Niviventer fulvescens</i>	84	150	197	28,96	31,49	22,74				
194	NTS 2020.40	Cao Bằng (VQG Phía Oắc - Phía Đén)	F	<i>Niviventer fulvescens</i>	110	160	209	30,42	32,22	23,66				
195	NTS 2020.41	Cao Bằng (VQG Phía Oắc - Phía Đén)	M	<i>Kerivoula hardwickii</i>	4,4	40,58	40,49	7,64	8,11	12,73		32,12	17,36	

ST T	Mã thực địa	Địa điểm	Giới tính	Tên khoa học	BW(g)	HB (mm)	Đuôi (mm)	HFL không móng	HFL I	Ear L	F	FA	TIB	BRT
196	NTS 2020.42	Cao Bằng (VQG Phía Oắc - Phía Đén)	M	<i>Euroscaptor sp</i>	50	119,01	16,04	16,75	18,07		15.78 x20.55			
197	NTS 2020.43	Cao Bằng (VQG Phía Oắc - Phía Đén)	M	<i>Euroscaptor longirostris</i>	54	120,67	17,79	15,99	18,37		16.14 x19.28			
198	NTS 2020.44	Cao Bằng (VQG Phía Oắc - Phía Đén)	M	<i>Kerivoula hardwickii</i>	4,2	38,8	40,11	7,14	7,59	12,73		32,24	16,84	
199	NTS 2020.164	Bắc Kạn (Nam Xuân Lạc)	M	<i>Rhinolophus pearsonii</i>	10,6	55,12	21,37	9,8	10,5	26,11		53,37	27,09	
200	NTS 2020.165	Bắc Kạn (Nam Xuân Lạc)	F	<i>Hipposideros poutensis</i>	9,9	52,92	33,57	8,09	9,12	21,65		56	22,1	
201	NTS 2020.166	Bắc Kạn (Nam Xuân Lạc)	F	<i>Hipposideros poutensis</i>	16,8	60,2	34,7	8,7	9,5	23,3		59,2	24	
202	NTS 2020.167	Bắc Kạn (Nam Xuân Lạc)	M	<i>Hipposideros poutensis</i>	16,4	55	36,5	9,8	10,9	24		57,2	23,8	
203	NTS 2020.168	Bắc Kạn (Nam Xuân Lạc)	F	<i>Hipposideros poutensis</i>	16,4	62,2	36	8,5	10,5	22,4		56,9	23,9	
204	NTS 2020.169	Bắc Kạn (Nam Xuân Lạc)	F	<i>Hipposideros poutensis</i>	17,6	61,6	35,4	10	11,5	22,6		57	22,9	
205	NTS 2020.170	Bắc Kạn (Nam Xuân Lạc)	M	<i>Hipposideros armiger</i>	38,6	86,8	62,6	14	15,2	35		96,4	43	
206	NTS 2020.171	Bắc Kạn (Nam Xuân Lạc)	M	<i>Hipposideros armiger</i>	44,8	91,6	54,1	12	15,2	32		93,2	41,5	
207	NTS 2020.172	Bắc Kạn (Nam Xuân Lạc)	M	<i>Hipposideros armiger</i>	42	88,8	54,5	13	17,5	33,4		94	42,5	
208	NTS 2020.173	Bắc Kạn (Nam Xuân Lạc)	F	<i>Hipposideros poutensis</i>	12,6	65,3	37,2	9,8	10,2	20,9		59	24,3	
209	NTS 2020.174	Bắc Kạn (Nam Xuân Lạc)	M	<i>Murina cyclotis</i>	6,1	38,5	37,2	5,8	6,1	13,8		29,7	16,8	
210	NTS 2020.175	Bắc Kạn (Nam Xuân Lạc)	M	<i>Hipposideros armiger</i>	43,2	88	66,5	15,8	16,4	34,3		96,4	42,2	

ST T	Mã thực địa	Địa điểm	Giới tính	Tên khoa học	BW(g)	HB (mm)	Đuôi (mm)	HFL khôn g món g	HFL I	Ear L	F	FA	TIB	BRT
211	NTS 2020.176	Bắc Kạn (Nam Xuân Lạc)	F	<i>Rhinolophus pearsonii</i>	14	53,4	24	11	11,2	28,1		52,2	27,3	
212	NTS 2020.177	Bắc Kạn (Nam Xuân Lạc)	M	<i>Hipposideros armiger</i>	56	86,5	61,5	15,7	17,4	35		99,2	44	
213	NTS 2020.178	Bắc Kạn (Nam Xuân Lạc)	M	<i>Hipposideros armiger</i>	50,5	93,6	63	14,3	16,8	33,3		96,2	42,2	
214	NTS 2020.179	Bắc Kạn (Nam Xuân Lạc)	M	<i>Rhinolophus pearsonii</i>	12,2	55,2	22,4	10,3	11,8	28,2		52,8	25,6	
215	NTS 2020.180	Bắc Kạn (Nam Xuân Lạc)	M	<i>Rhinolophus pearsonii</i>	13,8	57,5	23,8	10	12,1	26		55,2	27,7	
216	NTS 2020.181	Bắc Kạn (Nam Xuân Lạc)	M	<i>Rhinolophus pearsonii</i>	14,6	61,5	21	10	11,6	26,3		53,2	27	
217	NTS 2020.182	Bắc Kạn (Nam Xuân Lạc)	F	<i>Rhinolophus</i> sp.	10	49,5	19,5	7,3	8,2	20,3		47,6	16	
218	NTS 2020.183	Bắc Kạn (Nam Xuân Lạc)	M	<i>Rhinolophus pearsonii</i>	15,2	56,1	21,6	10,5	11,5	26,2		53,5	27,5	
219	NTS 2020.184	Bắc Kạn (Nam Xuân Lạc)	ND	<i>Leopoldamys edwardsi</i>		130	155	34	36,7	30,5				
220	NTS 2020.185	Bắc Kạn (Nam Xuân Lạc)	F	<i>Rhinolophus pearsonii</i>	16	57,04	23,26	9,37	10,78	26,85		52,9	26,55	
221	NTS 2020.186	Bắc Kạn (Nam Xuân Lạc)	F	<i>Rhinolophus pearsonii</i>	15	53,85	24,17	9,86	10,08	27,62		56,79	28,63	
222	NTS 2020.187	Bắc Kạn (Nam Xuân Lạc)	ND	<i>Callosciurus erythraeus</i>										
223	NTS 2020.205	Cao Bằng (Phía Oắc - Phía Đén)	F	<i>Rhinolophus</i> sp	12	49,6	24,2	8,1	9,2	20,9		45,7	19,2	
224	NTS 2020.206	Cao Bằng (Phía Oắc - Phía Đén)	F	<i>Rhinolophus</i> sp	12	47,9	28	7,5	8,2	22,1		47,1	29,4	
225	NTS 2020.208	Cao Bằng (Phía Oắc - Phía Đén)	F	<i>Niviventer fulvescens</i>	110	160	235	30	31,7	24,4				
227	NTS 2020.209	Cao Bằng (Phía Oắc - Phía Đén)	M (juv)	<i>Rhizomys pruinosus</i>	x	280	92	43,7	50,6	20,2				

ST T	Mã thực địa	Địa điểm	Giới tính	Tên khoa học	BW(g)	HB (mm)	Đuôi (mm)	HFL khôn g món g	HFL I	Ear L	F	FA	TIB	BRT
226	NTS 2020.210	Cao Bằng (Phia Oắc - Phia Đén)	F	<i>Kerivoula hardwickii</i>	4	37,5	39,2	6,1	7,7	12,7		33,1	17,4	
237	NTS 2019.04.41	Tuyên Quang, Chạm Chu (Yên Thuần, Hàm Yên)	M	<i>Chimarrogale himalayca</i>	40,00	125,2 5	86,13	22.19 /22.0 5		x				

Phụ lục 2. Mã truy cập ngân hàng GenBank NCBI các mẫu Đồi sử dụng để chạy cây trong nghiên cứu này bao gồm số hiệu mẫu vật và địa điểm (xxx xxx là các trình tự chưa được tải lên ngân hàng gen)

Tên loài	Cytb	COI	12S	16S	Số hiệu mẫu vật	Địa điểm
<i>Tupaia glis</i>	-	JF444478	-	-	-	-
<i>Tupaia glis</i>	-	JF459875	-	-	ROM:113061	-
<i>Tupaia glis</i>	-	KY315499	-	-	MZF00986	-
<i>Tupaia glis</i>	-	KY315500	-	-	MZF00894	-
<i>Tupaia glis</i>	AY321644	-	-	-	Tglis5071	-
<i>Tupaia glis</i>	AY321639	-	-	-	Tglis4995	-
<i>Tupaia glis</i>	-	-	AY862174	JF795307	MVZ 192180	Sumatera Utara (Sumatra), Indonesia
<i>Tupaia glis</i>	-	-	AY862175	JF795308	MVZ 192184	Aceh (Sumatra), Indonesia
<i>Tupaia belangeri</i>	NC002521	NC002521	NC002521	NC002521	NC002521	-
<i>Tupaia belangeri</i>	AF217811	AF217811	AF217811	AF217811	AJ421453	-
<i>Tupaia belangeri</i>	AJ421453	AJ421453	AJ421453	AJ421453	AJ421453	-
<i>Tupaia belangeri</i>	JN800722	JN800722	JN800722	JN800722	H1	Côn Minh, Trung Quốc
<i>Tupaia belangeri</i>	JN800723	JN800723	JN800723	JN800723	H1-HD	Côn Minh, Trung Quốc
<i>Tupaia belangeri</i>	JN800724	JN800724	JN800724	JN800724	H5	Côn Minh, Trung Quốc
<i>Tupaia belangeri</i>		JQ601650			-	-

Tên loài	Cytb	COI	12S	16S	Số hiệu mẫu vật	Địa điểm
<i>Tupaia belangeri</i>	-	HM031767	-	-	-	Chengmai, China
<i>Tupaia belangeri</i>	-	HM031768	-	-	-	Chengmai, China
<i>Tupaia belangeri</i>	-	HM031781	-	-	-	Chengmai, China
<i>Tupaia belangeri</i>	-	HM031787	-	-	-	Chengmai, China
<i>Tupaia belangeri</i>	-	HM031788	-	-	-	Chengmai, China
<i>Tupaia belangeri</i>	-	HM031789	-	-	-	Chengmai, China
<i>Tupaia belangeri</i>	EU531755	-	-	-	LG8	Côn Minh, Trung Quốc
<i>Tupaia belangeri</i>	EU531756	-	-	-	LG9	Côn Minh, Trung Quốc
<i>Tupaia belangeri</i>	EU531758	-	-	-	LQ11	Côn Minh, Trung Quốc
<i>Tupaia belangeri</i>	HQ836325	-	-	-	H10_TS208	Côn Minh, Trung Quốc
<i>Tupaia belangeri</i>	HQ836335	-	-	-	H4_N2	Côn Minh, Trung Quốc
<i>Tupaia belangeri</i>	HQ836336	-	-	-	H5_N22	Côn Minh, Trung Quốc
<i>Tupaia belangeri</i>	HQ836337	-	-	-	H5_T84	Côn Minh, Trung Quốc
<i>Tupaia belangeri</i>	DQ986459	-	-	-	A1	-
<i>Tupaia belangeri</i>	AY321637	-	-	-	Tchin5078	-
<i>Tupaia belangeri</i>	KU130879	KU130817	-	-	126.2	-
<i>Tupaia belangeri</i>	KU130880	KU130818	-	-	126.3	-
<i>Tupaia belangeri</i>	-	-	AY862170	JF795297	FMNH 165412	Malaysia, Sabah (Borneo)

Tên loài	Cytb	COI	12S	16S	Số hiệu mẫu vật	Địa điểm
<i>Tupaia belangeri</i>	-	-	AY862171	JF795299	USNM 583857	Mon – Myanmar
<i>Tupaia belangeri</i>	-	-	JF795300	JF795300	UAM 102606	Cam-pu-chia
<i>Tupaia belangeri</i>	-	-	JF795301	JF795301	UAM 102607	Cam-pu-chia
<i>Tupaia belangeri</i>	-	-	JF795303	JF795303	USNM 583793	Bago – Myanmar
<i>Tupaia minor</i>	-	JF444479	-	-	ROM:102255	-
<i>Tupaia minor</i>	-	-	JF795313	JF795313	USNZ 109751	-
<i>Tupaia minor</i>	-	-	JF795314	JF795314	USNZ 109988	
<i>Tupaia tana</i>	MT442045	MT442045	MT442045	MT442045	BOR010	Borneo, Malaysia
<i>Tupaia tana</i>	MT442046	MT442046	MT442046	MT442046	BOR050	Borneo, Malaysia
<i>Tupaia tana</i>	MT442047	MT442047	MT442047	MT442047	BOR016	Borneo, Malaysia
<i>Tupaia tana</i>	MT442048	MT442048	MT442048	MT442048	BOR038	Borneo, Malaysia
<i>Tupaia tana</i>	MT442049	MT442049	MT442049	MT442049	BOR056	Borneo, Malaysia
<i>Tupaia tana</i>	-	-	AY862182	JF795321.	MVZ 192193	Aceh (Sumatra), Indonesia
<i>Tupaia tana</i>	-	-	AY862183	JF795322	JS M11	Malaysia, Sabah (Borneo)
<i>Tupaia splendidula</i>	MT442052	MT442052	MT442052	MT442052	UMMZ174429	Borneo, Malaysia
<i>Tupaia splendidula</i>	-	-	JF795320	JF795320	UMMZ 174428	Indonesia, Kalimantan Barat (Borneo)
<i>Tupaia splendidula</i>	-	-	AY862181	JF795319	UMMZ 174429	Indonesia, Kalimantan Barat

Tên loài	Cytb	COI	12S	16S	Số hiệu mẫu vật	Địa điểm
						(Borneo)
<i>Tupaia salatana</i>	AY321654	-	-	-	Tsal5326	-
<i>Tupaia montana</i>	-	-	JF795315	JF795315	USNM 449964	Malaysia, Sabah (Borneo)
<i>Tupaia palawanensis</i>	-	-	AY862180	JF795317	FMNH 168969	Philippines, Palawan (Palawan)
<i>Tupaia moellendorffi</i>	-	-	JF795312	JF795312	USNM 477838	Philippines Palawan (Culion)
<i>Tupaia javanica</i>	-	-	AY862177	JF795310	FMNH 47118	Indonesia, Jawa Tengah (Java)
<i>Tupaia nicobarica</i>	-	-	AY862179	JF795316	USNM 111753	India, Little Nicobar IslADN
<i>Tupaia gracilis</i>	-	-	AY862176	JF795309	USNZ 109023	Sabah (Borneo), Malaysia
<i>Tupaia dorsalis</i>	-	-	AY862173	JF795305	UMMZ 174427	Indonesia, Kalimantan Barat (Borneo)
<i>Tupaia dorsalis</i>	-	-	JF795306	JF795306	UMMZ 174651	Indonesia, Kalimantan Barat (Borneo)
<i>Tupaia longipes</i>	-	-	AY862178	JF795311	JS M02b	Sabah (Borneo), Malaysia
<i>Tupaia chrysogaster</i>	-	-	JF795304	JF795304	USNM 121577	Sumatera Barat (Pagai Selatan), Indonesia
<i>Tupaia minor</i>	-	JF444477	-	-	ROM:102123	-
<i>Urogale everetti</i>	-	-	AY862184	JF795323	FMNH147781	Philippines, Bukidnon
<i>Dendrogale murina</i>	-	-	JF795295	JF795295	UAM 102608	Cam-pu-chia, Koh Kong

Tên loài	Cytb	COI	12S	16S	Số hiệu mẫu vật	Địa điểm
						(Cardamom Mts.)
<i>Dendrogale murina</i>	-	-	JF795294	JF795294	UAM 103000	Cam-pu-chia, Mondulkiri
<i>Phodopus sungorus</i>	-	NC04283	-	-	-	-
<i>Tupaia</i> sp.	xxx xxx	xxx xxx	-	xxx xxx	NTS.2020.160	VQG Cát Bà, Hải Phòng, Việt Nam
<i>Tupaia</i> sp.	xxx xxx	xxx xxx	-	-	CB4	VQG Cát Bà, Hải Phòng, Việt Nam
<i>Tupaia</i> sp.	-	-	-	xxx xxx	NTS.2021.126	VQG Cát Bà, Hải Phòng, Việt Nam
<i>Tupaia</i> sp.	xxx xxx	xxx xxx	-	xxx xxx	BM.2019.05.22	KBTTN Bắc Mê, Hà Giang, Việt Nam
<i>Tupaia</i> sp.	xxx xxx	xxx xxx	-	xxx xxx	NTS.2020.255	KBTTN Hữu Liên, Lạng Sơn, Việt Nam
<i>Tupaia</i> sp.	xxx xxx	xxx xxx	-	xxx xxx	NTS.2020.256	KBTTN Hữu Liên, Lạng Sơn, Việt Nam

Phụ lục 3. Danh sách mẫu và mã Genbank của các mẫu trực tiếp phân tích và dữ liệu tải về được sử dụng trong nghiên cứu về Thần lằn cá sấu.

STT	Tên loài	Mã số thực địa	Số Genbank	Mã phòng thí nghiệm	Tham khảo/ Địa điểm
1	<i>Ctenotus piankai</i>	-	KJ505326	-	Rabosky và cộng sự (2014)
2	<i>Ctenotus schomburgkii</i>	-	KJ505805	-	Rabosky và cộng sự (2014)
3	<i>Heloderma suspectum</i>	-	AB167711	-	Kumazawa 2007
4	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	-	NC005959	-	Kumazawa 2004
5	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	-	AY099995	-	Slowinski & Lawson (2002)
6	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	-	HQ008865	-	Li và cộng sự (2012)
7	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	-	KF928266	-	Huang và cộng sự (2014)
8	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	-	KF928267	-	Huang và cộng sự (2014)
9	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	-	KF928268	-	Huang và cộng sự (2014)
10	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	-	KF928269	-	Huang và cộng sự (2014)
11	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	-	KF928270	-	Huang và cộng sự (2014)
12	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	-	KF928271	-	Huang và cộng sự (2014)
13	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	-	KF928272	-	Huang và cộng sự (2014)
14	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	-	KF928273	-	Huang và cộng sự (2014)
15	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	-	KF928274	-	Huang và cộng sự (2014)
16	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	-	KF928275	-	Huang và cộng sự (2014)
17	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	-	KF928276	-	Huang và cộng sự (2014)
18	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	KX430035	QN-HH4	Si20	van Schingen và cộng sự (2016)
19	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	KX430036	BG-TYT4	Si52	van Schingen và cộng sự (2016)
20	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	KX430037	BG-TYT8	Si56	van Schingen và cộng sự (2016)
21	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	KX430038	QN-DSKT2	Si22	van Schingen và cộng sự (2016)
22	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	KX430039	QN-DSKT4	Si24	van Schingen và cộng sự (2016)
23	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	OM687207	BG-TYT-MvS48	Si1	KBTTN Tây Yên Tử, Bắc Giang

24	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	OM687208	BG-TYT-MvS50	Si2	KBTTN Tây Yên Tử, Bắc Giang
25	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	OM687209	BG-TYT-MvS54	Si3	Yên Tử, Quảng Ninh
26	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	OM687210	BG-TYT-2014.1	Si4	Sơn Động, Bắc Giang
27	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	OM687211	BG-TYT-2014.2	Si5	Sơn Động, Bắc Giang
28	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	OM687212	BG-TYT-2014.3	Si6	Sơn Động, Bắc Giang
29	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	OM687213	BG-TYT-2014.4	Si7	Sơn Động, Bắc Giang
30	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	OM687214	BG-TYT-2014.5	Si8	Sơn Động, Bắc Giang
31	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	BG-TYT2		Si50	Tây Yên Tử, Bắc Giang
32	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	BG-TYT5		Si53	Tây Yên Tử, Bắc Giang
33	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	BG-TYT6		Si54	Tây Yên Tử, Bắc Giang
34	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	BG-TYT7		Si55	Tây Yên Tử, Bắc Giang
35	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	BG-TYT9		Si57	Tây Yên Tử, Bắc Giang
36	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	BG-TYT10		Si58	Tây Yên Tử, Bắc Giang
37	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	BG-TYT11		Si59	Tây Yên Tử, Bắc Giang
38	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	BG-TYT12		Si60	Tây Yên Tử, Bắc Giang
39	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	BG-TYT13		Si61	Tây Yên Tử, Bắc Giang
40	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	BG-TYT14		Si62	Tây Yên Tử, Bắc Giang
41	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	QN-DSKT-SD1	OM687215	Si9	Sơn Động, Bắc Giang
42	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	QN-DSKT-SD2	OM687216	Si10	Sơn Động, Bắc Giang
43	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	QN-DSKT-SD3	xxx-xxx	Si11	Sơn Động, Bắc Giang
44	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	QN-YT-2014.1	xxx-xxx	Si12	Uông Bí, Quảng Ninh
45	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	QN-YT1	xxx-xxx	Si13	Uông Bí, Quảng Ninh
46	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	QN-YT4	xxx-xxx	Si14	Uông Bí, Quảng Ninh
47	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	QN-YT6	xxx-xxx	Si15	Uông Bí, Quảng Ninh
48	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	QN-YT7	xxx-xxx	Si16	Uông Bí, Quảng Ninh

49	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	QN-HH1	xxx-xxx	Si17	Hải Hà, Quảng Ninh
50	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	QN-HH2	xxx-xxx	Si18	Hải Hà, Quảng Ninh
51	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	QN-HH3	xxx-xxx	Si19	Hải Hà, Quảng Ninh
52	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	DSKT1	xxx-xxx	Si21	Đồng Sơn Kỳ Thượng, Quảng Ninh
53	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	DSKT3	xxx-xxx	Si23	Đồng Sơn Kỳ Thượng, Quảng Ninh
54	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	DSKT5	xxx-xxx	Si25	Đồng Sơn Kỳ Thượng, Quảng Ninh
55	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	YT.J1	xxx-xxx	Si31	Yên Tử, Quảng Ninh
56	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	YT.J2	xxx-xxx	Si32	Yên Tử, Quảng Ninh
57	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	YT.J3	xxx-xxx	Si33	Yên Tử, Quảng Ninh
58	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	YT.J4	xxx-xxx	Si34	Yên Tử, Quảng Ninh
59	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	YT.J5	xxx-xxx	Si35	Yên Tử, Quảng Ninh
60	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	YT.J6	xxx-xxx	Si36	Yên Tử, Quảng Ninh
61	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	YT.J7	xxx-xxx	Si37	Yên Tử, Quảng Ninh
62	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	YT.J8	xxx-xxx	Si38	Yên Tử, Quảng Ninh
63	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	YT.J9	xxx-xxx	Si39	Yên Tử, Quảng Ninh
64	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	YT.J10	xxx-xxx	Si40	Yên Tử, Quảng Ninh
65	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	YT.J11	xxx-xxx	Si41	Yên Tử, Quảng Ninh
66	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	YT.J12	xxx-xxx	Si42	Yên Tử, Quảng Ninh
67	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	YT.J3	xxx-xxx	Si43	Yên Tử, Quảng Ninh
68	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	RH1	OM687217	S85	Reherp Rotterdam
69	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	RH2	OM687218	S88	Reherp Rotterdam
70	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	RH3	OM687219	S89	Reherp Rotterdam
71	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	Buôn bán	xxx-xxx	Si26.2	Nghiên cứu này
72	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	Buôn bán	xxx-xxx	Si27.2	Nghiên cứu này
73	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	Buôn bán	xxx-xxx	Si28.2	Nghiên cứu này
74	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	Buôn bán	xxx-xxx	Si29	Nghiên cứu này
75	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	Buôn bán	xxx-xxx	Si30	Nghiên cứu này

76	<i>Shinisaurus crocodilurus vietnamensis</i>	Duisburg, confiscated	MT507115	Si 81	Vườn thí Duisburger
77	<i>Shinisaurus crocodilurus</i>	Duisburg, confiscated	MT507116	Si 82	Vườn thí Duisburger
78	<i>Shinisaurus sp.</i>	Cologne Zoo, old	MT507117	Si 83	Cologne
79	<i>Shinisaurus sp.</i>	0.0.1	MT507118	Si 84	Tư nhân 1
80	<i>Shinisaurus sp.</i>	RH1	MT507119	Si 85	Reherp Rotterdam
81	<i>Shinisaurus sp.</i>	RH2	MT507120	Si 86	Reherp Rotterdam
82	<i>Shinisaurus sp.</i>	RH3	xxx-xxx	Si 87	Reherp Rotterdam
83	<i>Shinisaurus sp.</i>	MV2	MT507121	Si 90	Reherp Rotterdam
84	<i>Shinisaurus sp.</i>	MV3	MT507122	Si 91	Reherp Rotterdam
85	<i>Shinisaurus sp.</i>	MV4	MT507123	Si 92	Reherp Rotterdam
86	<i>Shinisaurus sp.</i>	MV5	MT507124	Si 93	Reherp Rotterdam
87	<i>Shinisaurus sp.</i>	MV6	MT507125	Si 94	Reherp Rotterdam
88	<i>Shinisaurus sp.</i>	MV7	MT507126	Si 95	Reherp Rotterdam
89	<i>Shinisaurus sp.</i>	MV8	xxx-xxx	Si 96	Reherp Rotterdam
90	<i>Shinisaurus sp.</i>	R01339 0.1	xxx-xxx	Si 97	Vườn thú Leipzig
91	<i>Shinisaurus sp.</i>	R01272 1.0	MT507127	Si 98	Vườn thú Leipzig
92	<i>Shinisaurus sp.</i>	R01338 0.1	xxx-xxx	Si 99	Vườn thú Leipzig
93	<i>Shinisaurus sp.</i>	G01840	MT507128	Si 100	ZSL Luân Đôn
94	<i>Shinisaurus sp.</i>	G01843	MT507129	Si 101	ZSL Luân Đôn
95	<i>Shinisaurus sp.</i>	G01842	MT507130	Si 102	ZSL Luân Đôn
96	<i>Shinisaurus sp.</i>	G01841	MT507131	Si 103	ZSL Luân Đôn
97	<i>Shinisaurus sp.</i>	G01292	MT507132	Si 104	ZSL Luân Đôn
98	<i>Shinisaurus sp.</i>	G01293	MT507133	Si 105	ZSL Luân Đôn
99	<i>Shinisaurus sp.</i>	HdM1	xxx-xxx	Si 106	Haus des Meeres Wien
100	<i>Shinisaurus sp.</i>	HdM2	MT507134	Si 107	Haus des Meeres Wien
101	<i>Shinisaurus sp.</i>	HdM3	MT507135	Si 108	Haus des Meeres Wien
102	<i>Shinisaurus sp.</i>	HdM4	MT507136	Si 109	Haus des Meeres Wien
103	<i>Shinisaurus sp.</i>	HdM5	MT507137	Si 110	Haus des Meeres Wien
104	<i>Shinisaurus sp.</i>	HdM6	MT507138	Si 111	Haus des Meeres Wien
105	<i>Shinisaurus sp.</i>	HdM7	MT507139	Si 112	Haus des Meeres Wien
106	<i>Shinisaurus sp.</i>	HdM8	MT507140	Si 113	Haus des Meeres Wien
107	<i>Shinisaurus sp.</i>	HdM9	MT507141	Si 114	Haus des Meeres Wien
108	<i>Shinisaurus sp.</i>	Buôn bán	MT507142	Si 115	Vivarium Darmstadt
109	<i>Shinisaurus sp.</i>	Buôn bán	xxx-xxx	Si 116	Wilhelma Stuttgart
110	<i>Shinisaurus sp.</i>	0,1	MT507142	Si 117	Wilhelma Stuttgart

111	<i>Shinisaurus sp.</i>	Parijs 1	MT507144	Si 118	Reherp Rotterdam
112	<i>Shinisaurus sp.</i>	ZI5359	xxx-xxx	Si119	Blijdorp Rotterdam
113	<i>Shinisaurus sp.</i>	705531	MT507145	Si 120	Blijdorp Rotterdam
114	<i>Shinisaurus sp.</i>	ZI5348	MT507146	Si 121	Blijdorp Rotterdam
115	<i>Shinisaurus sp.</i>	ZI5349	MT507147	Si 122	Blijdorp Rotterdam
116	<i>Shinisaurus sp.</i>	ZI5359	MT507148	Si 123	Blijdorp Rotterdam
117	<i>Shinisaurus sp.</i>	ZI5350	xxx-xxx	Si 124	Blijdorp Rotterdam
118	<i>Shinisaurus sp.</i>	704405	MT507149	Si 125	Blijdorp Rotterdam
119	<i>Shinisaurus sp.</i>	707183	MT507150	Si 126	Blijdorp Rotterdam
120	<i>Shinisaurus sp.</i>	704408	MT507151	Si 127	Blijdorp Rotterdam
121	<i>Shinisaurus sp.</i>	V1 976000009784260	MT507152	Si 128	Vườn thú Antwerp
122	<i>Shinisaurus sp.</i>	V2 976000009784225	MT507153	Si 129	Vườn thú Antwerp
123	<i>Shinisaurus sp.</i>	V3 976000009784289	MT507154	Si 130	Vườn thú Antwerp
124	<i>Shinisaurus sp.</i>	V4 976000009784282	MT507155	Si 133	Vườn thú Antwerp
125	<i>Shinisaurus sp.</i>	V5 976000009784269	MT507156	Si 134	Vườn thú Antwerp
126	<i>Shinisaurus sp.</i>	V6 976000009784271	MT507157	Si 135	Vườn thú Antwerp
127	<i>Shinisaurus sp.</i>	Quar 1	MT507158	Si 136	Vườn thú Antwerp
128	<i>Shinisaurus sp.</i>	Quar 2	MT507159	Si 137	Vườn thú Antwerp
129	<i>Shinisaurus sp.</i>	Quar 3	MT507160	Si 138	Vườn thú Antwerp
130	<i>Shinisaurus sp.</i>	Quar 4	xxx-xxx	Si 139	Vườn thú Antwerp
131	<i>Shinisaurus sp.</i>	Quar 5	MT507161	Si 140	Vườn thú Antwerp
132	<i>Shinisaurus sp.</i>	Quar B1 Basel	MT507162	Si 144	Vườn thú Antwerp
133	<i>Shinisaurus sp.</i>	Quar B2 Basel	MT507163	Si 145	Vườn thú Antwerp
134	<i>Shinisaurus sp.</i>	Quar B3 Basel	MT507164	Si 146	Vườn thú Antwerp
135	<i>Shinisaurus sp.</i>	Quar B4 Basel	MT507165	Si 147	Vườn thú Antwerp
136	<i>Shinisaurus sp.</i>	Quar B5 Basel	MT507166	Si 148	Vườn thú Antwerp
137	<i>Shinisaurus sp.</i>	Quar B6 Basel	MT507167	Si 149	Vườn thú Antwerp
138	<i>Shinisaurus sp.</i>	Quar B7 Basel	MT507168	Si 150	Vườn thú Antwerp
139	<i>Shinisaurus sp.</i>	Quar B8 Basel	MT507169	Si 151	Vườn thú Antwerp
140	<i>Shinisaurus sp.</i>	1 (skin)		Si 152	Tư nhân 6
141	<i>Shinisaurus sp.</i>	2 (skin)	MT507170	Si 153	Tư nhân 6
142	<i>Shinisaurus sp.</i>	3 (swab)	MT507171	Si 154	Tư nhân 6
143	<i>Shinisaurus sp.</i>	4 (swab)	MT507172	Si 155	Tư nhân 6
144	<i>Shinisaurus sp.</i>	5 (swab)	MT507173	Si 156	Tư nhân 6
145	<i>Shinisaurus sp.</i>	6 (swab)	MT507174	Si 157	Tư nhân 6
146	<i>Shinisaurus sp.</i>	7		Si 158	Tư nhân 6
147	<i>Shinisaurus sp.</i>	8		Si 159	Tư nhân 6
148	<i>Shinisaurus sp.</i>	9,00 C S	MT507175	Si 160	Tư nhân 2
149	<i>Shinisaurus sp.</i>	132481	MT507176	Si 161	Vườn thú Bristol

150	<i>Shinisaurus sp.</i>	132482	MT507177	Si 162	Vườn thú Bristol
151	<i>Shinisaurus sp.</i>	132483	MT507178	Si 163	Vườn thú Bristol
152	<i>Shinisaurus sp.</i>	132484	MT507179	Si 164	Vườn thú Bristol
153	<i>Shinisaurus sp.</i>	132485	MT507180	Si 165	Vườn thú Bristol
154	<i>Shinisaurus sp.</i>	4 ZB 28 1,0	MT507181	Si 166	Tư nhân 3
155	<i>Shinisaurus sp.</i>	6 ZB 22 1,0	MT507182	Si 167	Tư nhân 3
156	<i>Shinisaurus sp.</i>	3 ZB 97 1,0	MT507183	Si 168	Tư nhân 3
157	<i>Shinisaurus sp.</i>	ZB 30 1 1,0	MT507184	Si 169	Tư nhân 3
158	<i>Shinisaurus sp.</i>	2 ZB 99		Si 170	Tư nhân 3
159	<i>Shinisaurus sp.</i>	7 ZB 23 0,1	MT507185	Si 171	Tư nhân 3
160	<i>Shinisaurus sp.</i>	5 ZB 12 0,1	MT507186	Si 172	Tư nhân 3
161	<i>Shinisaurus sp.</i>	211049 local 10, female	MT507187	Si 173	Vườn thú Helsinki
162	<i>Shinisaurus sp.</i>	211050 local 10, male	MT507188	Si 174	Vườn thú Helsinki
163	<i>Shinisaurus sp.</i>	276095610109887	MT507189	Si 175	Tư nhân 4
164	<i>Shinisaurus sp.</i>	276095610147418	MT507190	Si 176	Tư nhân 4
165	<i>Shinisaurus sp.</i>	276095610147610	MT507191	Si 177	Tư nhân 4
166	<i>Shinisaurus sp.</i>	276095610146597	MT507192	Si 178	Tư nhân 4
167	<i>Shinisaurus sp.</i>	276095610147829	MT507193	Si 179	Tư nhân 4
168	<i>Shinisaurus sp.</i>	276095610148119	MT507194	Si 180	Tư nhân 4
169	<i>Shinisaurus sp.</i>	276095610148979	MT507195	Si 181	Tư nhân 4
170	<i>Shinisaurus sp.</i>	276095610149787		Si 182	Tư nhân 4
171	<i>Shinisaurus sp.</i>	276095610150014	MT507196	Si 183	Tư nhân 4
172	<i>Shinisaurus sp.</i>	276095610150253	MT507197	Si 184	Tư nhân 4
173	<i>Shinisaurus sp.</i>	276095610150389		Si 185	Tư nhân 4
174	<i>Shinisaurus sp.</i>	276095610150658		Si 186	Tư nhân 4
175	<i>Shinisaurus sp.</i>	276095610154110		Si 187	Tư nhân 4
176	<i>Shinisaurus sp.</i>	Tier 1 (1), Nr1	MT507198	Si 188 (1)	Vườn thú Aqua
177	<i>Shinisaurus sp.</i>	Tier 2 (13), Nr2	MT507199	Si 189 (1)	Vườn thú Aqua
178	<i>Shinisaurus sp.</i>	Tier 420 (5)	MT507200	Si 190 (1)	Vườn thú Aqua
179	<i>Shinisaurus sp.</i>	Tier 421A (7)	MT507201	Si 191 (1)	Vườn thú Aqua
180	<i>Shinisaurus sp.</i>	Tier 421B (9)		Si 192 (1)	Vườn thú Aqua
181	<i>Shinisaurus sp.</i>	Tier 421C (11)		Si 193 (1)	Vườn thú Aqua
182	<i>Shinisaurus sp.</i>	Tier 450 (3)		Si 194 (1)	Haus des Meeres Wien
183	<i>Shinisaurus sp.</i>	MV3	MT507202	Si 195 (1)	Wilhelma
184	<i>Shinisaurus sp.</i>	MV4	MT507203	Si 196 (1)	Haus des Meeres Wien
185	<i>Shinisaurus sp.</i>	Second screening, dead, ind	MT507204	S2	Reherp Rotterdam
186	<i>Shinisaurus sp.</i>	Second screening, swab, (red)	MT507205	MV1	Cologne
187	<i>Shinisaurus sp.</i>	Second screening, swab, (yellow)	MT507206	MV2	Cologne
188	<i>Shinisaurus sp.</i>	Second screening,	MT507207	MV6	Haus des Meeres

		swab, HdM3			Wien
189	<i>Shinisaurus sp.</i>	CZ TZ 2019 third screening	MT507208	MVTIS3221	Private 5
190	<i>Shinisaurus sp.</i>	CZ TZ 2019 B 3 third screening	MT507209	MVTIS3222	Reherp Rotterdam
191	<i>Shinisaurus sp.</i>	CZ TZ 2019 5001 third screening	MT507210	MVTIS3223	Reherp Rotterdam
192	<i>Shinisaurus sp.</i>	CZ TZ 2019 5002 third screening	MT507211	MVTIS3224	Reherp Rotterdam
193	<i>Shinisaurus sp.</i>	CZ TZ 2019 third screening	MT507212	MVTIS3225	Tư nhân 5
194	<i>Shinisaurus sp.</i>	CZ TZ 2019 third screening	MT507213	MVTIS3226	Tư nhân 5

Phụ lục 4. Kết quả xác định phân bố các mẫu Thần lằn cá sấu nuôi nhốt có nguồn gốc từ buôn bán

Nhánh Trung Quốc 1					Nhánh Trung Quốc 2	Nhánh Trung Quốc mới	Nhánh Việt Nam
MV1	Si 108	Si 133	Si 165	Si 191(1)	-	Si 85	S2
MV2	Si 109	Si 134	Si 166	Si 195		Si 88	Si 81
MV6	Si 110	Si 135	Si 167	Si 196		Si 89	Si 86
Si 82	Si 111	Si 136	Si 168	MVTIS32			Si 153
Si 83	Si 112	Si 137	Si 169	21			Si 154
Si 84	Si 113	Si 138	Si 171	MVTIS32			Si 155
Si 90	Si 114	Si 140	Si 172	23			Si 156
Si 91	Si 115	Si 144	Si 173	MVTIS32			Si 157
Si 92	Si 117	Si 145	Si 174	24			MVTIS3222
Si 93	Si 118	Si 146	Si 175	MVTIS32			
Si 94	Si 120	Si 147	Si 176	25			
Si 95	Si 121	Si 148	Si 177	MVTIS32			
Si 98	Si 122	Si 149	Si 178	26			
Si 100	Si 123	Si 150	Si 179				
Si 101	Si 125	Si 151	Si 180				
Si 102	Si 126	Si 160	Si 183				
Si 103	Si 127	Si 161	Si 184				
Si 104	Si 128	Si 162	Si 188(1)				
Si 105	Si 129	Si 163	Si 189(1)				
Si 107	Si 130	Si 164	Si 190a				

Phụ lục 5. Danh sách mẫu Voi châu á thu tại VQG Yok Đôn và voi nhà

STT	Mã PTN	Mã thực địa	Tên voi	Địa điểm	Ngày thu	Loại mẫu	Chủ sở hữu	UTM - E	UTM-N
1	Em 39	B01	H Túc	Buôn Rếch, Ea Huar, Buôn Đôn	17/12/2019	Lông	CT Thanh Hà-Cái- /1982		
2	Em 40	B02	Khăm Vạt	Thôn 1, Ea Huar, Buôn Đôn	17/12/2019	Lông	Y Ôi Hra-/Đực-/1977		
3	Em 41	LBK027	Bắc Khăm	Buôn Chua Tác, Yang Tao, Lăk	20/12/2019	Lông	Y Thanh Ưông-/Cái- /1974		
4	Em 42	LBO028	Bắc On	Buôn Chua, Yang Tao, Lăk	20/12/2019	Lông	Y Lác Ưông-/Cái- /1982		
5	Em 43	B03	H Khun	Buôn Trí A, Krông Na, Buôn Đôn	24/12/2019	Lông	CT XNK 2.9-/Cái- /1992		
6	Em 44	B04	Khăm On	Buôn Đôn A, Krông Na, Buôn Đôn	24/12/2019	Lông	Y Thuật Knul-/Cái- /1977		
7	Em 45	B05	H Pló	Buôn Ea Mar, Krông Na, Buôn Đôn	24/12/2019	Lông	Y Lanh Niê-/Cái- /1975		
8	Em 46	B06	B Lãng	Buôn Ea Mar, Krông Na, Buôn Đôn	24/12/2019	Lông	Y Lít Ksor-/Đực- /1982		
9	Em 47	B07	Y Ghen	Buôn Ea Mar, Krông Na, Buôn Đôn	25/12/2019	Lông	CT Ánh Dương- /Đực-/1973		
10	Em 48	B08	Dạ Bích	Buôn Ea Mar, Krông Na, Buôn Đôn	25/12/2019	Lông	CT Ánh Dương-/Cái- /1974		
11	Em 49	B09	Gold	Buôn Ea Mar, Krông Na, Buôn Đôn	25/12/2019	Lông	DECC-/Đực-/2015		
12	Em 50	B10	Jun	Buôn Ea Mar, Krông Na, Buôn Đôn	25/12/2019	Lông	DECC-/Đực-/2010		
13	Em 51	B11TN	Thông Ngân	Buôn Zang Lành, Krông Na, Buôn Đôn	27/12/2019	Lông	VQG Yok Don-/Đực -/1995		
14	Em 52	B12BK	Bun Khăm	Buôn Zang Lành, Krông Na, Buôn Đôn	27/12/2019	Lông	VQG Yok Don-/Cái- /1965		
15	Em 53	B13BKo	Bun Kon	Buôn Ea Mar, Krông Na, Buôn Đôn	27/12/2019	Lông	CT Ánh Dương-/Cái- /1983		
16	Em 54	B14HP	H Plú	Buôn Ea Mar, Krông Na, Buôn Đôn	27/12/2019	Lông	CT Ánh Dương-/Cái- /1974		

STT	Mã PTN	Mã thực địa	Tên voi	Địa điểm	Ngày thu	Loại mẫu	Chủ sở hữu	UTM - E	UTM-N
17	Em 55	L029	Mông Sen	Buôn Chua, Yang Tao, Lak	29/12/2019	Lông	Ma Sứ-/Cái-/1987		
18	Em 56	L030	H Tau	Buôn Chua, Yang Tao, Lak	29/12/2019	Lông	Y Nap Triết-/Cái-/1977		
19	Em 57	L031	Y Khăm Sen	Buôn Lê, TT Liên sơn, Lak	29/12/2019	Lông	Y Gah Hmok-/Đực-/1992		
20	Em 58	B015MK	Me Khăm	Buôn Trí A, Krông Na, Buôn Đôn	31/12/2019	Lông	-/Cái-/1983		
21	Em 59	B016KG	Khăm Gụt	Buôn Trí A, Krông Na, Buôn Đôn	31/12/2019	Lông	CTXNK 2.9-/Đực-/1982		
22	Em 60	B017KS	Khăm Sinh	Buôn Trí A, Krông Na, Buôn Đôn	31/12/2019	Lông	-/Đực-/1983		
23	Em 61	B018BN	Bun Nang	Buôn Ea Mar, Krông Na, Buôn Đôn	31/12/2019	Lông	Y So Hra-/Cái-/1983		
24	Em 62	L032	A Na Túc	Buôn Lê, TT Liên sơn, Lak	01/06/2020	Lông	H Um Bing/ Cái		
25	Em 63	B019	H Nol	Buôn Ea Mar, Krông Na, Buôn Đôn	01/06/2020	Lông	CT Ánh Dương/ Cái		
26	Em 64	B020	Y Khun	Buôn Zang Lành, Krông Na, Buôn Đôn	15/1/2020	Lông	VQG Yok Don/ cái		
27	Em 65	B021	Thông Khăm	Buôn Ea Mar, Krông Na, Buôn Đôn	15/1/2020	Lông	TT Bảo Tồn Voi/ Đực		
28	Em 66	B022	Y Door	Buôn Ea Mar, Krông Na, Buôn Đôn	15/1/2020	Lông	CT Ánh Dương/ Đực		
29	Em 67	B023	Ta Nul	Buôn Ea Mar, Krông Na, Buôn Đôn	02/09/2020	Lông	Y Khu/ Cái		
30	Em 68	L033	Y Dook	Dur Kmal, Krông Ana	02/09/2020	Lông	Ma Moi/ Đực		
31	Em 69	L034	Ghăm Sen	Buôn Chua, Yang Tao, Lăk	20/2/2020	Lông	Do Sác/ Đực		
32	Em 70	L035	Ban Nang	Buôn Mliêng, Đăk liêng, Lak	20/2/2020	Lông	Ma Mứ/ cái		
33	Em 71	L036	Thông Răng	Thị trấn Liên Sơn, Lak	20/2/2020	Lông	Lê Văn Quyết/ Đực		
34	Em 72	L037	Plộ	Buôn Mliêng, Đăk liêng, Lak	20/2/2020	Lông	Ma Hiếu, Ma Đạt/ cái		
35	Em 73	M.B1.01.1	1	B1 (ruộng lúa)	10/1/2020	Phân	Voi hoang dã	402.364	1.455.223
36	Em 74	M.B1.01.2	2	B1 (ruộng lúa)	10/1/2020	Phân	Voi hoang dã	402.432	455.238
37	Em 75	M.B1.01.3	3	B1 (ruộng lúa)	10/1/2020	Phân	Voi hoang dã		

STT	Mã PTN	Mã thực địa	Tên voi	Địa điểm	Ngày thu	Loại mẫu	Chủ sở hữu	UTM - E	UTM-N
								402.377	455.261
38	Em 76	M.B1.01.4	4	B1 (ruộng lúa)	10/1/2020	Phân	Voi hoang dã	402.352	455.275
39	Em 77	M.B17.1.1	5	B17 (vườn điều)	17/1/2020	Phân	Voi hoang dã	428.788	435.202
40	Em 78	M.B17.1.2	6	B17 (vườn điều)	17/1/2020	Phân	Voi hoang dã	428.968	434.967
41	Em 79	M.B17.1.3	7	B17 (vườn điều)	17/1/2020	Phân	Voi hoang dã	429.560	434.654
42	Em 80	M.B17.1.4	8	B17 (vườn điều)	17/1/2020	Phân	Voi hoang dã	429.518	434.559
43	Em 81	M.B17.1.5	9	B17 (vườn điều)	17/1/2020	Phân	Voi hoang dã	429.540	434.568
44	Em 82	M.B17.1.6	10	B17 (vườn điều)	17/1/2020	Phân	Voi hoang dã	429.454	434.523
45	Em 83	M.B17.1.7	11	B17 (vườn điều)	17/1/2020	Phân	Voi hoang dã	429.454	434.520
46	Em 84	TB.B15.1.1	12	B15 (rừng khộp)	17/1/2020	Phân	Voi hoang dã	-	-
47	Em 85	M.B15.1.2	13	B15 (rừng khộp)	17/1/2020	Phân	Voi hoang dã	-	-
48	Em 86	M.B15.1.3	14	B15 (rừng khộp)	17/1/2020	Phân	Voi hoang dã	-	-
49	Em 87	C.B16.2.1	15	B16 (rừng tre)	7/2/2020	Phân	Voi hoang dã		
50	Em 88	M.B10.2.1	16	B10	30/1/2020	Phân	Voi hoang dã	395.157	1.423.882
51	Em 89	M.B8.2.1	17	B8 (vườn điều)	3/2/2020	Phân	Voi hoang dã	413.377	1.430.288
52	Em 90	M.B8.2.2	18	B8 (vườn mía)	3/2/2020	Phân	Voi hoang dã	412.826	1.430.202
53	Em 91	M.B11.3.1	19	B11 (rừng khộp)	14/2/2020	Phân	Voi hoang dã	404.555	1.412.711

STT	Mã PTN	Mã thực địa	Tên voi	Địa điểm	Ngày thu	Loại mẫu	Chủ sở hữu	UTM - E	UTM-N
54	Em 92	M.B11.3.2	20	B11 (rừng khộp)	14/2/2021	Phân	Voi hoang dã	404.572	1.412.717
55	Em 93	M.B11.3.3	21	B11 (rừng khộp)	14/2/2022	Phân	Voi hoang dã	404.631	1.412.674
56	Em 94	M.B18.3.1	22	B18 (rừng khộp)	13/2/2020	Phân	Voi hoang dã	440.165	1.435.745
57	Em 95	TB.C8.3.1	23	C8 (rừng khộp)	4/2/2020	Phân	Voi hoang dã	422.597	1.431.877
58	Em 96	C.B5.3.1	24	B5 (trang trại)	5/2/2020	Phân	Voi hoang dã	408.013	1.434.999
59	Em 97	M.B16.3.1	25	B16 (rừng tre)	19/2/2020	Phân	Voi hoang dã	424.385	1.430.397
60	Em 98	M.B16.3.2	26	B16 (rừng tre)	19/2/2020	Phân	Voi hoang dã	424.385	1.430.397
61	Em 99	M.B16.3.3	27	B16 (rừng tre)	19/2/2020	Phân	Voi hoang dã	424.385	1.430.375
62	Em 100	TB.B16.3.4	28	B16 (rừng tre)	19/2/2020	Phân	Voi hoang dã	424.336	1.430.430
63	Em 101	M.B16.3.5	29	B16 (rừng tre)	19/2/2020	Phân	Voi hoang dã	424.326	1.430.488
64	Em 102	TB.B16.3.6	30	B16 (rừng tre)	19/2/2020	Phân	Voi hoang dã	424.281	1.430.514
65	Em 103	M.C2.4.1	31	C2 (rừng khộp)	19/2/2020	Phân	Voi hoang dã	401.700	1.448.632
66	Em 104	M.C3.4.1	32	C3 (vườn điều)	19/2/2020	Phân	Voi hoang dã	407.460	457.209
67	Em 105	M.C3.4.2	33	C3 (vườn điều)	19/2/2021	Phân	Voi hoang dã	407.021	457.109
68	Em 106	TB.PH.1.1	49	PH (rừng thường xanh)	03/01/2020	Phân	Voi hoang dã	442007	1477015
69	Em 107	C.PH.1.2	50	PH (rừng tre gần suối)	03/01/2020	Phân	Voi hoang dã	438358	1478048

STT	Mã PTN	Mã thực địa	Tên voi	Địa điểm	Ngày thu	Loại mẫu	Chủ sở hữu	UTM - E	UTM-N
70	Em 108	C.PH.1.3	51	PH (rừng tre gần suối)	03/01/2020	Phân	Voi hoang dã	438361	1478058
71	Em 109	C.PH.1.4	52	PH (rừng tre gần suối)	03/01/2020	Phân	Voi hoang dã	438355	1478061
72	Em 110	RC.PH.2.1	53	PH (rừng tre gần suối)	03/10/2020	Phân	Voi hoang dã	438258	477859
73	Em 111	RC.PH.2.2	54	PH (rừng tre gần suối)	03/10/2020	Phân	Voi hoang dã	438259	477865
74	Em 112	RC.PH.2.3	55	PH (rừng tre gần suối)	03/10/2020	Phân	Voi hoang dã	438135	477757
75	Em 113	RC.PH.2.4	56	PH (rừng tre gần suối)	03/10/2020	Phân	Voi hoang dã	438081	477671
76	Em 114	RC.PH.2.5	57	PH (rừng tre gần suối)	03/10/2020	Phân	Voi hoang dã	438066	477613
77	Em 115	RC.PH.2.6	58	PH (rừng tre gần suối)	03/10/2020	Phân	Voi hoang dã	438138	477104
78	Em 116	RC.PH.2.7	59	PH (rừng tre gần suối)	03/10/2020	Phân	Voi hoang dã	438138	477104
79	Em 117	RM.PH.2.8	60	PH (vườn cao su)	03/10/2020	Phân	Voi hoang dã	443179	477533
80	Em 118	M.PH.2.9	61	PH (vườn cao su gần suối)	03/10/2020	Phân	Voi hoang dã	442950	476933
81	Em 119	TB.PH.2.10	62	PH (vườn cao su gần suối)	03/10/2020	Phân	Voi hoang dã	442988	476942
82	Em 120	M.PH.2.11	63	PH (rừng thường xanh)	03/10/2020	Phân	Voi hoang dã	442800	475735
83	Em 121	M.PH.2.12	64	PH (rừng thường xanh)	03/10/2020	Phân	Voi hoang dã	442713	475917
84	Em 122	TB.PH.2.13	65	PH (rừng thường xanh)	03/10/2020	Phân	Voi hoang dã	442771	475823
85	Em 123	RM.PH.2.14	66	PH (rừng thường xanh)	03/10/2020	Phân	Voi hoang dã	442719	476297
86	Em 124	RC.PH.3.1	67	PH (đường đi)	23/3/2020	Phân	Voi hoang dã	442887	1476702
87	Em 125	RC.PH.3.2	68	PH (ven suối)	23/3/2020	Phân	Voi hoang dã	442721	1476293
88	Em 126	RC.PH.3.3	69	PH (ven suối)	23/3/2020	Phân	Voi hoang dã	442831	1475694
89	Em 127	M.BN.I	70	BN (vườn điều)	20/3/2020	Phân	Voi hoang dã	426494	1461032
90	Em 128	TB.BN.II	71	BN (vườn điều)	20/3/2020	Phân	Voi hoang dã	425242	1463113
91	Em 129	TB.BN.III	72	BN (vườn điều)	20/3/2020	Phân	Voi hoang dã	424942	1463149
92	Em 130	M.PH.I	73	PH (vườn điều)	21/3/2020	Phân	Voi hoang dã	424818	1463122
93	Em 131	TB.B18.4.01	34	B18 (rừng khộp)	28/2/2020	Phân	Voi hoang dã	440.184	1.435.663
94	Em 132	TB.B18.4.02	35	B18 (rừng khộp)	28/2/2020	Phân	Voi hoang dã	440.184	1.435.663
95	Em 133	TB.C6.4.1	36	C6 (rừng khộp)	27/2/2020	Phân	Voi hoang dã		

STT	Mã PTN	Mã thực địa	Tên voi	Địa điểm	Ngày thu	Loại mẫu	Chủ sở hữu	UTM - E	UTM-N
								412.446	1.441.408
96	Em 134	RC.B10.4.1	37	B10 (gần hồ nước)	27/2/2020	Phân	Voi hoang dã	395.531	1.423.546
97	Em 135	M.B7.4.1	38	B7 (rừng tre)	27/2/2020	Phân	Voi hoang dã	400.262	1.424.324
98	Em 136	C.B5.5.2	39	B5 (nông trại)	2/3/2020	Phân	Voi hoang dã	408.057	1.434.943
99	Em 137	C.B5.5.3	40	B5 (nông trại)	2/3/2020	Phân	Voi hoang dã	408.778	1.434.561
100	Em 138	TB.B18.5.1	41	B18 (rừng khộp)	13/3/2020	Phân	Voi hoang dã	440.249	1.435.698
101	Em 139	TB.B18.5.2	42	B18 (rừng khộp)	13/3/2020	Phân	Voi hoang dã	440.254	1.435.684
102	Em 140	C.B18.5.3	43	B18 (rừng khộp)	13/3/2020	Phân	Voi hoang dã	440.254	1.435.684
103	Em 141	TB.B18.5.4	44	B18 (rừng khộp)	13/3/2020	Phân	Voi hoang dã	440.254	1.435.684
104	Em 142	RC.C2.6.1	45	C3 (rừng khộp)	17/3/2020	Phân	Voi hoang dã	399.032	1.450.744
105	Em 143	RC.B11.6.1	46	B11 (rừng khộp)	26/3/2020	Phân	Voi hoang dã	398.634	1.415.698
106	Em 144	RC.B11.6.2	47	B11 (rừng khộp)	26/3/2020	Phân	Voi hoang dã	398.551	1.415.850
107	Em 145	C.B5.6.5	48	B5 (rừng khộp)	16/3/2020	Phân	Voi hoang dã	408.848	1.434.479
108	Em38			VQG Yok Đôn	24/3/2019	Lông	Voi nhà		

Phụ lục 6. Một số sinh cảnh tại các khu vực nghiên cứu



1. Vườn cam tại KBTTN Chạm Chu



2. Sinh cảnh rừng thường xanh tại KBTTN Chạm Chu



3. Rừng khô tại VQG Yok Đôn



4. Sinh cảnh suối trong rừng thường xanh tại KBTTN Bắc Mê

Phụ lục 7. Một số hoạt động nghiên cứu trên thực địa



1.Đặt lưới thụ cầm



2.Thu thập và xử lý mẫu vật ngoài thực địa



3.Tập huấn thu mẫu phân cho cán bộ
VQG Yok Đôn



4.Di chuyển trên địa hình núi đá vôi tại
KBTTN Bắc Mê



5.Khảo sát trong hang tại KBTTN
Chạm Chu



6.Khảo sát tại VQG Phia Oắc – Phia Đén