



## Bài báo nghiên cứu

# MÃ VẠCH DNA CỦA CÁC LOÀI TẮC KÈ *GEKKO* (SQUAMATA: GEKKONIDAE) PHÍA NAM VIỆT NAM

Nguyễn Đăng Hoàng Vũ<sup>1</sup>, Nguyễn Thành Luân<sup>2</sup>, Ngô Thị Hạnh<sup>3</sup>, Nguyễn Ngọc Sang<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Viện Sinh học Nhiệt đới, Việt Nam

<sup>2</sup> Tổ chức Indo-Myanmar Conservation, Việt Nam

<sup>3</sup> Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG Hà Nội, Việt Nam

\*Tác giả liên hệ: Nguyễn Ngọc Sang – Email: [ngocsangitb@yahoo.com](mailto:ngocsangitb@yahoo.com)

Ngày nhận bài: 14-6-2019; ngày nhận bài sửa: 05-6-2020, ngày chấp nhận đăng: 08-6-2020

## TÓM TẮT

Mã vạch DNA là một công cụ định danh nhanh các loài dựa vào một đoạn trình tự DNA ngắn, dễ khuếch đại và có thông tin di truyền. Ở phía Nam Việt Nam, có tám loài tắc kè *Gekko* (Squamata: Gekkonidae) phân bố. Hầu hết các loài này có hình thái tương tự nhau và đang bị khai thác để làm thực phẩm, thuốc và buôn bán động vật cảnh. Nghiên cứu này thu thập tất cả tám loài tắc kè kể trên để xây dựng bộ mã vạch DNA chuẩn phục vụ công tác phân loại hoặc truy xuất nhanh nguồn gốc các cá thể buôn bán. Kết quả thu được bộ mã vạch DNA gồm 11 trình tự từ vùng gene COI (681 bp) đầu tiên của tất cả tám loài tắc kè *Gekko* ở phía Nam Việt Nam với số hiệu GenBank MN062174-84. Có sáu loài được thu tại địa điểm mô tả gốc. Khác biệt di truyền trung bình giữa các loài 20,3%, dao động từ 17,6% đến 25,3%. Cây phát sinh chủng loại phân tách riêng từng loài nhưng quan hệ tiến hóa giữa chúng không rõ ràng.

**Từ khóa:** mã vạch DNA; tắc kè *Gekko*; phía Nam Việt Nam

## 1. Giới thiệu

Mã vạch DNA (DNA barcoding) là một công cụ định danh nhanh các loài dựa vào trình tự DNA của chúng. Trình tự dùng làm mã vạch này phải đảm bảo ba điều kiện: (1) chứa đựng thông tin di truyền đủ khác biệt để phân biệt loài, (2) tồn tại những vùng gene bảo tồn ở hai đầu để phát triển cặp mồi chung áp dụng cho nhiều nhóm loài khác nhau và (3) độ dài vừa đủ để các kỹ thuật phân tử hiện nay có thể nhanh chóng tách chiết và khuếch đại thành công (khoảng 400-800 bp). Để định danh nhanh một loài bằng mã vạch DNA, trước hết cần phải có bộ mã vạch DNA chuẩn từ các loài đã biết, sau đó so sánh trình tự của mẫu vật cần biết với bộ dữ liệu chuẩn để tìm ra loài (Kress, & Erickson, 2012). Do đó, thuận tiện của phương pháp định danh này là chỉ cần một mẫu mô nhỏ từ một bộ phận bất

---

*Cite this article as:* Nguyen Dang Hoang Vu, Nguyen Thanh Luan, Ngo Thi Hanh, & Nguyen Ngoc Sang (2020). DNA barcoding of Geckos (Squamata: Gekkonidae: *Gekko*) in Southern Vietnam. *Ho Chi Minh City University of Education Journal of Science*, 17(6), 989-998.

kì (đuôi, cơ, trứng, lá, hoa...) là có thể định danh đến loài mà không cần mẫu vật đặc trưng (con trưởng thành, hoa quả...) như cách phân loại truyền thống. Mã vạch DNA mới chỉ được biết đến (Hebert et al., 2003a) và thống nhất sử dụng cho việc định loại (Marshall, 2005) từ đầu thế kỉ XXI. Nó được áp dụng thành công trên nhiều đối tượng sinh vật như thực vật có hoa (Kress et al., 2005), côn trùng (Hajibabaei et al., 2006; Hebert et al., 2009), cá (Ivanova et al., 2007), lưỡng cư (Che et al., 2012), bò sát (Nagy et al., 2012), chim (Hebert et al., 2003b)... Ở động vật, gene mã hóa protein trên ti thể cytochrome c oxidase subunit I (COI hoặc COX1) được chọn làm mã vạch DNA (Hebert et al., 2003b) và cặp môi cho gene này cũng được phát triển cho nhiều nhóm động vật khác nhau (Che et al., 2012; Folmer et al., 1994; Ivanova et al., 2007).

Tắc kè (*Gekko*) là một giống trong họ Tắc kè (Gekkonidae) với 59 loài (Uetz et al., 2019) phân bố chủ yếu ở châu Á, từ Ấn Độ đến các đảo ở Thái Bình Dương (Rosler et al., 2011). Đặc điểm chung của chúng là có mắt to, con người thẳng đứng, dưới ngón chân có các nếp mỏng nguyên, ngón chân thứ nhất không có móng vuốt và mỗi lứa thường đẻ hai trứng có vỏ vôi (Rosler et al., 2011). Ở phía Nam Việt Nam, có tám loài tắc kè được ghi nhận (Uetz et al., 2019). Tắc kè Bà đen (*G. badenii*) phân bố ở núi Bà Đen (Tây Ninh, địa điểm mô tả gốc), Hòn Me (Kiên Giang) và một điểm không xác định ở Kon Tum (Nguyen et al., 2010; Ziegler et al., 2015). Tắc kè (thần lằn) đá Cà ná (*G. canaensis*) phân bố ở Cà Ná (Bình Thuận) (Ngo, & Gamble, 2011). Tắc kè (*G. gecko*) phân bố rộng ở châu Á và đã được di nhập qua châu Mỹ (Uetz et al., 2019). Tắc kè Grossman (*G. grossmanni*) phân bố ở Khánh Hòa (Nguyen et al., 2009). Theo Gunther (1994) và Fritz (2002), các mẫu vật dùng để mô tả loài này được thu tại nơi buôn bán động vật và chúng có thể được bắt từ Nha Trang. Do đó, địa điểm thu mẫu chuẩn của loài này vẫn chưa được xác định. Tắc kè (thần lằn) đá Russell-train (*G. russelltraini*) phân bố ở núi Chứa Chan (Đồng Nai) (Ngo et al., 2009). Tắc kè (thần lằn) đá Tà kóu (*G. takouensis*) phân bố ở núi Tà Kóu (Bình Thuận) (Ngo, & Gamble, 2010). Tắc kè Trường (*G. truongi*) phân bố ở Vạn Thạnh (Khánh Hòa) (Phung, & Ziegler, 2011). Tắc kè Việt Nam (*G. vietnamensis*) phân bố ở đồi Tức Dụp (An Giang) (Nguyen, 2010). Ngoại trừ loài *Gekko gecko*, tất cả bảy loài trên đều chưa có bộ mã vạch DNA chuẩn từ gene COI. Đối với *Gekko gecko*, trên ngân hàng gene (GenBank) đã có nhiều đoạn trình tự gene COI từ nhiều nước ở châu Á. Tuy nhiên, mã vạch DNA của các cá thể ở phía Nam Việt Nam vẫn còn thiếu. Trong tự nhiên, hầu hết các loài này đang bị đe dọa bởi sự mất dần sinh cảnh sống và đặc biệt là hoạt động săn bắt của con người để làm thức ăn, làm thuốc hoặc vật nuôi cảnh (Bain, 2010; Ngo, & Gamble, 2010, Ngo, & Gamble 2011; Nguyen, & Hoang, 2005; Trinh et al., 2013).

Nghiên cứu này nhằm xây dựng bộ mã vạch DNA chuẩn cho tất cả tám loài tắc kè ở phía Nam Việt Nam để phục vụ công tác phân loại hoặc truy xuất nhanh nguồn gốc của các cá thể buôn bán. Ngoài ra, chúng tôi còn bước đầu tìm hiểu mối quan hệ phát sinh chủng loại giữa chúng dựa trên đoạn trình tự mã vạch này.

**2. Phương pháp nghiên cứu**

**2.1. Thu thập và xử lý mẫu vật**

Khảo sát thực địa được thực hiện từ 2016-2018. Mẫu vật của sáu loài sau được thu tại các địa điểm mô tả gốc (type locality) của chúng: *G. badenii*, *G. canaensis*, *G. russelltraini*, *G. takouensis*, *G. truongi* và *G. vietnamensis*. Đối với loài *G. grossmanni*, do địa điểm mô tả gốc chưa rõ ràng nên mẫu vật được thu từ ba địa điểm ở Khánh Hòa trong đất liền và đảo ven bờ, gồm Ninh Vân (bán đảo), Hòn Bà (đất liền) và Bình Hưng (đảo). Mẫu vật loài *G. gecko* được thu Vườn Quốc gia Chư Yang Sin, Đắk Lắk (Hình 1, Bảng 1).

Mẫu mô gan của các cá thể tắc kè được thu thập tại thực địa và lưu trữ trong cồn tuyệt đối, sau đó bảo quản trong tủ lạnh ở nhiệt độ -20°C. Mẫu vật, sau khi lấy mẫu mô và chụp hình, được cố định bằng dung dịch formaldehyde 5% trong 24 giờ và chuyển sang lưu trữ trong cồn 70% tại Bộ sưu tập Động vật Viện Sinh học Nhiệt đới (ITBCZ).

**Bảng 1.** Danh sách mẫu vật tắc kè sử dụng trong nghiên cứu này.  
Số phía trước mỗi địa điểm thu mẫu tương ứng với vị trí thu mẫu ở Hình 1;  
(#) = mẫu vật được thu tại địa điểm mô tả gốc

Loài	Số hiệu mẫu (ITBCZ)	Địa điểm thu mẫu	Số hiệu GenBank (COI)
<i>G. badenii</i> <sup>#</sup>	6263	9. Núi Bà Đen, Tây Ninh	MN062174
<i>G. canaensis</i> <sup>#</sup>	5884	6. Cà Ná, Bình Thuận	MN062175
<i>G. cf. grossmanni</i>	6637	3.Ninh Vân, Ninh Hòa, Khánh Hòa	MN062176
<i>G. cf. grossmanni</i>	6638	2.Ninh Vân, Ninh Hòa, Khánh Hòa	MN062177
<i>G. cf. grossmanni</i>	5719	4. Hòn Bà, Khánh Hòa	MN062178
<i>G. cf. grossmanni</i>	6017	5. Bình Hưng, Khánh Hòa	MN062179
<i>G. gecko</i>	6053	1. Chư Yang Sin, Đắk Lắk	MN062180
<i>G. russelltraini</i> <sup>#</sup>	5801	8. Núi Chúa Chan, Đồng Nai	MN062181
<i>G. takouensis</i> <sup>#</sup>	5765	7. Tà Kóu, Bình Thuận	MN062182
<i>G. truongi</i> <sup>#</sup>	6252	2. Vạn Thạnh, Khánh Hòa	MN062183
<i>G. vietnamensis</i> <sup>#</sup>	5647	10. Núi Tức Dụp, An Giang	MN062184

**2.2. Giải trình tự DNA**

**Tách chiết DNA.** Sử dụng bộ kit DNeasy Blood and Tissue của nhà sản xuất Qiagen (Germany) để tách chiết DNA tổng số từ mẫu mô.

**PCR và đọc trình tự.** Trình tự DNA vùng gene COI được giải mã sử dụng cặp mồi VF1d (5'-TTC TCA ACC AAC CAC AAR GAY ATY GG-3') và VR1d (5'-TAG ACT TCT GGG TGG CCR AAR AAY CA-3') (Ivanova et al., 2007). PCR được tiến hành trong 21µl dung dịch gồm: 2 µl DNA tổng số, 2µl mỗi mồi, 5µl nước và 10µl HotStarTaq Mastermix (Qiagen, Germany). Điều kiện phản ứng khuếch đại được thiết lập theo các bước như sau: (1) khởi đầu (initialization) ở 95°C trong 15 phút, (2) biến tính

(denaturation) ở 95°C trong 30 giây, (3) gắn mồi (annealing) ở 48°C trong 45 giây, (4) kéo dài (elongation) ở 72°C trong 60 giây, (5) lặp lại 35 lần bước 2-4, (6) kéo dài lần cuối (final elongation) ở 72°C trong 6 phút, sau đó bảo quản tạm thời kết quả khuếch đại tại máy ở 4°C. Mẫu đối chứng âm được sử dụng khi thực hiện phản ứng khuếch đại. Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng điện di với thạch 1%, dung dịch đệm TBE 1X, thang đo 1kb (ThermoFisher Scientific, Lithuania), đánh dấu bằng ethidium bromide và chụp ảnh UV. Sản phẩm khuếch đại thành công được tinh sạch bằng bộ kit GeneJet PCR Purification (ThermoFisher Scientific, Lithuania) và được gửi đến Công ty First Base (Malaysia) để đọc trình tự.

### 2.3. Khoảng cách di truyền và cây phát sinh chủng loại

Bộ dữ liệu phân tích gồm 11 trình tự *COI* của tám loài tắc kè ở phía Nam Việt Nam. Loài *Lepidodactylus lugubris* (số hiệu GenBank NC\_025782) được chọn làm nhóm ngoài (outgroup) (Rosler et al., 2011) cho bộ dữ liệu.

Các trình tự DNA thô thu được từ máy đọc trình tự được kiểm tra bằng mắt trên phần mềm SeqMan Pro (DNASTAR Lasergene 7, Madison, WI, USA) để xem chất lượng. Sau đó, chúng được giống cột bằng công cụ ClustalW (Thompson et al., 1994) tích hợp trên phần mềm MEGA X (Kumar et al., 2018). Phần mềm này cũng được sử dụng để xác nhận bộ ba dừng phiên mã (stop codon) và quãng trống bên trong (internal gap) không xuất hiện trong bộ dữ liệu phân tích.

Khoảng cách di truyền giữa các loài và trong cùng một loài được ước tính bằng phương pháp khoảng cách tối thiểu (*p-distance*) sử dụng phần mềm MEGA X.

Cây phát sinh chủng loại được xây dựng bằng hai phương pháp là suy luận Bayes (Bayesian Inference, BI) và hợp lí cực đại (Maximum Likelihood, ML). Mô hình tiến hóa phù hợp nhất cho bộ dữ liệu là GTR+I+G được chọn bởi phần mềm MrModeltest 2.3 (Nylander, 2004). Phần mềm MrBayes 3.1.2 (Ronquist, & Huelsenbeck, 2003) được sử dụng để xây dựng cây BI. Xác suất hậu nghiệm (posterior probability) của cây BI được ước lượng bằng phương pháp Metropolis-coupled Markov Chain Monte Carlo với tần số lấy mẫu là mỗi 100 thế hệ ngẫu nhiên trong 1.000.000 thế hệ, đến khi trung bình độ lệch chuẩn đạt 0,009. Cây ML được thực hiện trên phần mềm RAxML (Stamatakis et al., 2008) sử dụng mô hình tiến hóa GTR+G với 1000 lần giả lặp (pseudoreplicate) để lấy chỉ số tin cậy ở gốc nhánh. Nhánh có giá trị gốc nhánh (bootstrap)  $\geq 70\%$  ở cây ML và xác suất hậu nghiệm  $\geq 95\%$  ở cây BI được xem là đáng tin cậy (Felsenstein, 2004; Hillis, & Bull, 1993).

## 3. Kết quả

### 3.1. Mã vạch DNA

Xác định được 11 trình tự *COI* của tám loài *Gekko* (loài *G. cf. grossmanni* có bốn trình tự) ở phía Nam Việt Nam. Chiều dài cuối cùng sau giống cột của các đoạn mã vạch là 681 bp. Trong đó, 286 vị trí có đột biến thay thế và 395 vị trí bảo tồn. Bộ dữ liệu được đưa lên ngân hàng gene với mã số MN062174-MN062184.

**3.2. Khoảng cách di truyền**

Khoảng cách di truyền giữa tám loài tắc kè ở phía Nam Việt Nam (Bảng 2) dao động từ 17,6% (giữa loài *G. cf. grossmanni* và *G. russelltraini*) đến 25,3% (giữa loài *G. canaensis* và *G. gecko*), trung bình 20,3%. Khoảng cách di truyền giữa ba quần thể ở loài *G. cf. grossmanni* (Ninh Vân, Hòn Bà và Bình Hưng) dao động từ 8,8% đến 14,4%.

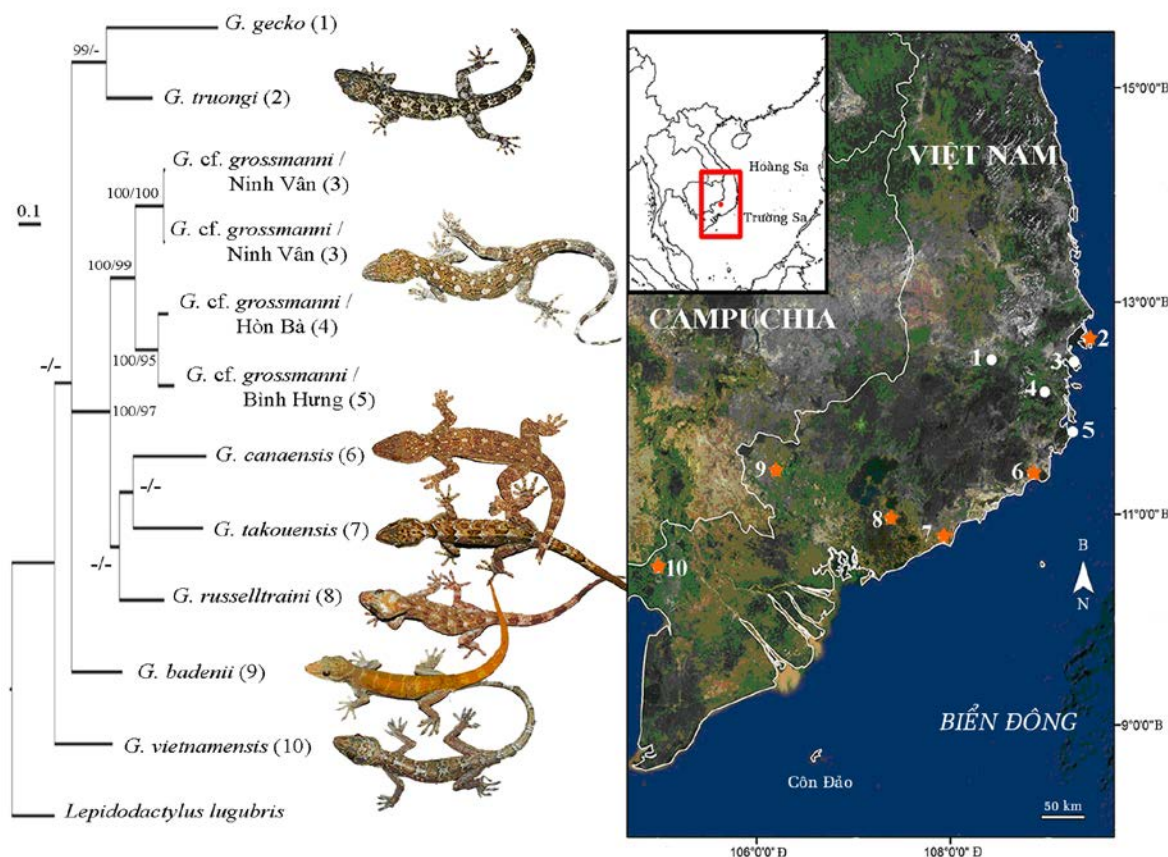
**Bảng 2.** Khoảng cách di truyền (*p*-distance) giữa các loài tắc kè ở phía Nam Việt Nam

Loài	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1. <i>Gekko badenii</i> <sup>#</sup>										
2. <i>G. canaensis</i> <sup>#</sup>	23,6									
3. <i>G. cf. grossmanni</i> (NV)	22,2	21,1								
4. <i>G. cf. grossmanni</i> (NV)	21,7	21,3	0,7							
5. <i>G. cf. grossmanni</i> (HB)	22,3	20,0	13,7	13,8						
6. <i>G. cf. grossmanni</i> (BH)	21,0	20,1	14,2	14,4	8,8					
7. <i>G. gecko</i>	23,6	25,3	24,2	24,4	23,1	22,9				
8. <i>G. russelltraini</i> <sup>#</sup>	21,4	19,7	17,8	17,6	17,9	18,6	24,5			
9. <i>G. takouensis</i> <sup>#</sup>	21,7	21,1	19,5	19,5	20,7	20,0	23,3	19,5		
10. <i>G. truongi</i> <sup>#</sup>	19,5	22,6	21,4	21,4	21,7	20,7	22,0	22,8	24,8	
11. <i>G. vietnamensis</i> <sup>#</sup>	19,1	23,3	21,7	21,6	20,0	21,9	23,2	20,7	22,9	21,4

Ghi chú: NV = Ninh Vân, HB = Hòn Bà, BH = Bình Hưng; (#) = mẫu vật được thu tại địa điểm mô tả gốc

**3.3. Cây phát sinh chủng loại**

Cây phát sinh chủng loại của tám loài tắc kè phục dựng từ hai phương pháp BI và ML tương đồng với nhau về trật tự phân nhánh. Tuy nhiên, độ tin cậy ở gốc nhánh trên cây BI cao hơn cây ML (Hình 1). Kết quả phân tích phát sinh chủng loại cho thấy tiến hóa của các loài tắc kè ở khu vực nghiên cứu có thể được chia làm bốn nhánh chính. Nhánh thứ nhất gồm hai loài *G. truongi* và *G. gecko*. Nhánh này có độ tin cậy cao ở phân tích BI nhưng không đạt độ tin cậy ở phân tích ML. Nhánh thứ hai và thứ ba mỗi nhánh chỉ có một loài là *G. badenii* và *G. vietnamensis*. Nhánh cuối cùng gồm bốn loài còn lại (*G. cf. grossmanni*, *G. canaensis*, *G. takouensis* và *G. russelltraini*) có độ tin cậy cao ở cả hai phân tích. Trên nhánh này, ba quần thể *G. cf. grossmanni* ở Khánh Hòa hợp thành một phân nhánh có độ tin cậy cao từ cả hai phân tích. Trong đó, hai quần thể ở Hòn Bà và Bình Hưng có quan hệ gần gũi với nhau và khác xa so với quần thể ở Ninh Vân. Về mặt địa lí, đây là nhánh gồm các loài sống ở khu vực ven biển. Nhìn tổng thể, mối quan hệ phát sinh chủng loại giữa bốn nhánh chính không rõ ràng.



**Hình 1.** Cây phát sinh chủng loài phục dựng theo phương pháp suy luận Bayes (trái) và bản đồ thể hiện vị trí thu mẫu (phải) của các loài tắc kè trong nghiên cứu này. Chỉ số tại gốc nhánh lần lượt thể hiện độ tin cậy của phân tích BI và ML; dấu trừ thể hiện nhánh không đạt độ tin cậy; số phía sau tên loài tương ứng với địa điểm thu mẫu trên bản đồ bên phải và Bảng 1; hình ngôi sao màu đỏ thể hiện mẫu thu tại địa điểm mô tả gốc. (Nguồn bản đồ: Google Earth, <https://earth.google.com/web/>)

#### 4. Thảo luận

Trong bộ mã vạch DNA của tám loài tắc kè ở phía Nam đưa ra từ nghiên cứu này, có sáu mã vạch từ những mẫu vật thu tại địa điểm mô tả gốc. Dữ liệu này rất quan trọng và tiện lợi đối với những người làm nghiên cứu khi muốn định danh, so sánh hay mô tả một loài cùng giống ở khu vực khác vì chỉ cần đối chiếu với bộ trình tự các loài trong nghiên cứu này để xem kết quả bước đầu và định hướng cho những bước tiếp theo. Xu hướng định danh và mô tả loài mới những năm gần đây là kết hợp dữ liệu hình thái và trình tự DNA (Nguyen et al., 2018a; Nguyen et al., 2019). Do vậy, bộ dữ liệu từ nghiên cứu này là rất cần thiết. Ngoài ra, nhiều loài tắc kè ở phía Nam đang là đối tượng buôn bán (trong nước và quốc tế) để làm thức ăn và vật nuôi cảnh (Nguyen et al., 2018b; Nguyen et al., 2018c). Bộ mã vạch DNA trên có thể dùng để truy xuất nguồn gốc của các mẫu buôn bán.

Trong nghiên cứu này, mã vạch DNA của loài *G. grossmanni* vẫn chưa được giải quyết. Ba quần thể thu tại tỉnh Khánh Hòa có khoảng cách di truyền lớn, từ 8,8% đến 14,4%. Về phát sinh chủng loại, các quần thể ở Khánh Hòa chia thành hai phân nhánh riêng biệt. Chính vì địa điểm mô tả gốc ở Khánh Hòa của loài *G. grossmanni* vẫn chưa được xác định (Gunther, 1994) nên có thể một trong ba địa điểm trên là nơi mô tả gốc của loài này; nhưng cũng có thể cả ba địa điểm đều không phải. Muốn xác định địa điểm mô tả gốc cần dựa vào bộ mã vạch DNA từ nghiên cứu này để so sánh với trình tự của mẫu chuẩn (holotype) (ZMB52578) đang lưu tại Bảo tàng Lịch sử Tự nhiên Berlin, Đức. Nếu trình tự của mẫu chuẩn không khớp với trình tự ở ba quần thể trên thì phải thu thêm mẫu ở nhiều địa điểm khác để so sánh. Nhìn vào sự khác biệt di truyền, có thể có hơn một loài tắc kè ở Khánh Hòa.

Mối quan hệ phát sinh chủng loại của tám loài tắc kè ở phía Nam Việt Nam chưa rõ ràng nếu chỉ phân tích dựa trên trình tự *COI* (681 bp). Để giải quyết vấn đề này, cần giải mã thêm các đoạn gene khác có tốc độ tiến hóa chậm hơn trên ti thể và cả trong nhân.

Về hệ thống phân loại, gần đây giống *Gekko* được chia thành bảy giống phụ (subgenus) dựa vào phân tích trình tự DNA, gồm *Gekko*, *Japonigekko*, *Ptychozoon*, *Rhacogekko*, *Lomatodactylus*, *Balawangekko* và *Archipelagekko* (Wood et al., 2020). Trong tám loài tắc kè ở phía Nam Việt Nam, chỉ có loài *G. badenii* có mặt trong nghiên cứu vừa nêu (mẫu không phải thu từ tự nhiên mà từ nơi buôn bán động vật), bảy loài còn lại không được phân tích trình tự DNA. Theo đó, *G. badenii* được xếp vào giống phụ *Lomatodactylus*. Kết quả phân tích các vùng gene trên ti thể và trong nhân của Rosler et al. (2011) cho thấy *G. badenii* ở cùng nhánh tiến hóa với *G. grossmanni*. Kết quả từ nghiên cứu này của chúng tôi cho thấy *G. grossmanni* ở cùng nhánh tiến hóa với *G. canaensis*, *G. russelltraini* và *G. takouensis*. Do đó, các loài *G. canaensis*, *G. grossmanni*, *G. russelltraini* và *G. takouensis* cũng thuộc giống phụ *Lomatodactylus* (Wood et al., 2020). Cũng theo Rosler et al. (2011), *G. gekko* là loài chị em với *G. smithi* nên nó được xếp vào giống phụ *Gekko* (Wood et al., 2020). Hai loài *G. truongi* và *G. vietnamensis* thuộc nhóm *G. japonicus* (Luu et al., 2015) và được xếp vào giống phụ *Japonigekko* (Wood et al., 2020).

❖ **Tuyên bố về quyền lợi:** Các tác giả xác nhận hoàn toàn không có xung đột về quyền lợi.

❖ **Lời cảm ơn:** Chân thành cảm ơn PGS TS Lê Đức Minh (Molecular Biodiversity Research Laboratory, Hanoi National University) đã cho phép sử dụng thiết bị tại phòng thí nghiệm. Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 106.05-2018.307.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- Bain, R. H. (2010). *Gekko grossmanni*. The IUCN Red List of Threatened Species. e.T178613A7581244.
- Che, J., Chen, H., Yang, J., Jin, J., Jiang, K., Yuan, Z., Murphy, R. W., & Zhang, Y. (2012). Universal COI primers for DNA barcoding amphibians. *Molecular Ecology Resources*, 12, 247-258. <https://doi.org/10.1111/j.1755099-8.2011.03090.x>
- Felsenstein, J. (2004). *Inferring phylogenies*. Sinauer Associates.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3, 294-299.
- Fritz, U. (2002). Herpetology and herpetological type specimens at the Museum für Tierkunde Dresden with the bibliography of herpetological contributions by Fritz Jürgen Obst (Amphibian, Reptilia). *Faunistische Abhandlungen*, 23, 3-34.
- Günther, R. (1994). A new species of the genus *Gekko* (Reptilia, Squamata, Gekkonidae) from southern Vietnam. *Zoologischer Anzeiger*, 233, 57-67.
- Hajibabaei, M., Janzen, D. H., Burns, J. M., Hallwachs, W., & Hebert, P. D. N. (2006). DNA barcodes distinguish species of tropical Lepidoptera. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103, 968-971. <http://doi.org/10.1073/pnas.0510466103>
- Hillis, D. M., & Bull, J. J. (1993). An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis. *Systems Biology*, 42, 182-192.
- Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L., & deWaard, J. R. (2003a). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings Biological Sciences*, 270, 313-321. <http://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>
- Hebert, P. D. N., deWaard, J. R., & Landry, J. F. (2009). DNA barcodes for 1/1000 of the animal kingdom. *Biology Letters*, 6, 359-362. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2009.0848>
- Hebert, P. D. N., Ratnasingham, S., & deWaard, J. R. (2003b). Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit I divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society London B*, Supplement 1, 270, S96-S99. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2003.0025>
- Hebert, P. D. N., Stoeckle, M. Y., Zemplak, T. S., & Francis, C. M. (2004). Identification of birds through DNA barcodes. *PLoS Biology*, 2(10), e312. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0020312>
- Ivanova, N. V., Zemplak, T. S., Hanner, R. H., & Hebert, P. D. N. (2007). Universal primer cocktails for fish DNA barcoding. *Molecular Ecology Notes*, 7, 544-548. <http://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01748.x>
- Kress, W. J., & Erickson, D. L. (2012). DNA Barcodes: Methods and Protocols. in W. J. Kress & D. L. Erickson (Eds.). *DNA Barcodes-Methods and Protocols* (pp. 3-8). Human Press.
- Kress, W. J., Wurdack, K. J., Zimmer, E. A., Weigt, L. A., & Janzen, D. (2005). Use of DNA barcodes to identify flowering plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102, 8369-8374. <http://doi.org/10.1073/pnas.0503-123102>
- Kumar, S., Stecher, G., Christina, K., & Kamura, K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35, 1547-1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Luu, V. Q., Calame, T., Nguyen, T. Q., Le, M. D., & Ziegler, T. (2015). Morphological and molecular review of the *Gekko* diversity of Laos with descriptions of three new species. *Zootaxa*, 3986, 279-306. <http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.3986.3.2>
- Marshall, E. (2005). Will DNA bar codes breathe life into classification?. *Science*, 307, 1037. <http://doi.org/10.1126/science.307.5712.1037>



- Nagy, Z. T., Sonet, G., Glaw, F., & Vences, M. (2012). First large-scale DNA barcoding assessment of reptiles in the biodiversity hotspot of Madagascar, based on newly designed COI primers. *PLoS ONE*, 7(3), e34506. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034506>
- Ngo, T. V., Bauer, A. M., Wood, P. L. J., & Grismer, J. L. (2009). A new species of *Gekko Laurenti*, 1768 (Squamata: Gekkonidae) from Dong Nai Province, Southeastern Vietnam. *Zootaxa*, 2238, 33-42.
- Ngo, T. V., & Gamble, T. (2010). A new species of *Gekko* (Squamata: Gekkonidae) from Ta Kou Nature Reserve, Binh Thuan Province, southern Vietnam. *Zootaxa*, 2346, 17-28.
- Ngo, T. V., & Gamble, T. (2011). *Gekko canaensis* sp. nov. (Squamata: Gekkonidae), a new gecko from southern Vietnam. *Zootaxa*, 2890, 53-64.
- Nguyen, N. S. (2010). A new poreless species of *Gekko Laurenti*, 1768 (Gekkonidae: Squamata) from An Giang Province, southern Vietnam. *Zootaxa*, 2501, 54-60.
- Nguyen, S. N., Golynsky, E., Milto, K., & Nguyen, T. Q. (2018b). *Gekko badenii*. *The IUCN Red List of Threatened Species 2018*, e.T178554A112309489. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20182.RLTS.T178554A112309489.en>
- Nguyen, S. N., & Hoang, D. D. (2005). Dan lieu sinh hoc tac ke hoa can *Gekko ulikovskii* tai nui Ba Den, Tay Ninh [Biological data of Golden Gecko *Gekko ulikovskii* at mount Ba Den, Tay Ninh Province]. *The basic research problems in life science*, 718-721.
- Nguyen, S. N., Jin, J., Vo, B. D., Nguyen, L. T., Zhou, W., Che, J., Murphy, R. W., & Zhang, Y. (2019). A new species of *Acanthosaura* Gray 1831 (Reptilia: Agamidae) from central Vietnam. *Zootaxa*, 4612, 555-565. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4612.4.7>
- Nguyen, S. N., Milto, K., & Golynsky, E. (2018c). *Gekko grossmanni*. *The IUCN Red List of Threatened Species 2018*, e.T178613A112331071. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20182.RLTS.T178613A112331071.en>
- Nguyen, S. N., Nguyen, T. L., Nguyen, V. D. H., Orlov, N. L., & Murphy, R. W. (2018a). A new skink of the genus *Sphenomorphus* Fitzinger, 1843 (Squamata: Scincidae) from Hon Ba Nature Reserve, southern Vietnam. *Zootaxa*, 4438, 313-326. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4438.2.6>
- Nguyen, S. V., Ho, C. T., & Nguyen, T. Q. (2009). *Herpetofauna of Vietnam*. Andreas S. Brahm.
- Nguyen, T. Q., Schmitz, A., & Böhme, W. (2010). *Gekko ulikovskii* Darevsky and Orlov, 1994: a junior synonym of *Gekko badenii* Szczerbak and Nekrasova, 1994. *Bonn Zoological Bulletin*, 57, 15-17.
- Nylander, J. A. A. (2004). *MrModeltest v2*. Program distributed by the author. Uppsala University, Evolutionary Biology Centre.
- Phung, T. M., & Ziegler, T. (2011). Another new *Gekko* species (Squamata: Gekkonidae) from Southern Vietnam. *Zootaxa*, 3129, 51-61.
- Ronquist, R. R., & Huelsenbeck, J. P. (2003). MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19, 1572-1574. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg180>
- Rosler, H., Bauer, A. M., Heinicke, M. P., Greenbaum, E., Jackman, T., Nguyen, T. Q., & Ziegler, T. (2011). Phylogeny, taxonomy, and zoogeography of the genus *Gekko Laurenti*, 1768 with the revalidation of *G. reevesii* Gray, 1831 (Sauria: Gekkonidae). *Zootaxa*, 2989, 1-50. <http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.2989.1.1>
- Stamatakis, A. S., Hoover, P., & Rougemont, J. (2008). A rapid bootstrap algorithm for the RAxML web servers. *Systems Biology*, 57, 758-771. <https://doi.org/10.1080/10635150802429642>

- Thompson, J. D., Higgins, D., & Gibson, T. J (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22, 4670-4680.
- Trinh, T. M. D., Hoang, M. D, Luu, H. T., & Vu, N. L. (2013). Dong vat thuong bi khai thac tai Khu Bao ton Thien nhien Takou [Animals commonly exploited by local communities in Takou Nature Reserve]. *The 4<sup>th</sup> Scientific report on ecology and biological resource*, 508-514.
- Uetz, P., Freed, P., & Jirí, H. (2019). *The Reptile Database*. Retrieved May 13, 2019 from <http://www.reptile-database.org>
- Wood, P. L., Guo, X., Travers, S. L., Su, Y., Olson, K. V., Bauer, A. M., Grismer, L. L., Siler, C. D., Moyle, R. G., Andersen, M. J., & Brown, R. M. (2020). Parachute geckos free fall into synonymy: *Gekko* phylogeny, and a new subgeneric classification, inferred from thousands of ultraconserved elements. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 146, 106731. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2020.106731>
- Ziegler, T., Rauhaus, A., Nguyen, T. Q., & Nguyen, K. V. (2015). Südlichster Nachweis von *Gekko badenii* Szczerbak & Nekrasova, 1994, mit Bemerkungen zur Herpetofauna der Hon-Me-Auffangstation in der Provinz Kien Giang, Südvietnam [Southernmost record of *Gekko badenii* Szczerbak & Nekrasova, 1994, with remarks on the herpetofauna of the Hon Me Rescue Station in Kien Giang Province, Southern Vietnam]. *Sauria*, 37, 3-14.

**DNA BARCODING OF GECKOS (SQUAMATA: GEKKONIDAE: GEKKO)  
IN SOUTHERN VIETNAM**

**Nguyen Dang Hoang Vu<sup>1</sup>, Nguyen Thanh Luan<sup>2</sup>, Ngo Thi Hanh<sup>3</sup>, Nguyen Ngoc Sang<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup> *Institute of Tropical Biology, Vietnam*

<sup>2</sup> *Indo-Myanmar Conservation, Vietnam*

<sup>3</sup> *Hanoi University of Science, Vietnam National University, Vietnam*

\*Corresponding author: Nguyen Ngoc Sang – Email: [ngocsangitb@yahoo.com](mailto:ngocsangitb@yahoo.com)

Received: June 14, 2019; Revised: June 05, 2020; Accepted: June 08, 2020

**ABSTRACT**

*DNA barcoding is a quick tool for species identification using a fragment of DNA sequence which is short, genetically informative, and easy to amplify. In the southern Vietnam, there are eight species of geckos genus Gekko (Squamata: Gekkonidae). Most of them are morphologically similar and used for food, medicine, and pet trade. Based on the samples of all the eight species collected from the area, this study seeks to build the standard DNA barcodes of these species which will be then used for species identification and searching the origin of traded geckos. The first set of DNA barcodes (681 bp, COI gene, 11 sequences) of all the eight geckos living in the southern Vietnam with GenBank accession numbers MN062174-MN062184 was found. Six of the eight species collected from their type localities can be considered for standard DNA barcodes for these geckos. Mean genetic distance between species is 20.3%, ranging from 17.6% to 25.3%. The phylogenetic trees strongly support all species but do not clearly resolve their interspecific relationships.*

**Keywords:** DNA barcoding; Gekkos; southern Vietnam