VNU Journal of Science: Earth and Environmental Sciences

Journal homepage: https://js.vnu.edu.vn/EES

Original Article

Optimizing DNA Analyses of Pangolin Products from the Trade for Species Identification in Vietnam

Bui Thi Phuong Thanh[1], Ngo Thi Hanh[2], Nguyen Quang Truong[3], Le Duc Minh[1,2,*]

[1]*VNU University of Science, 334 Nguyen Trai, Thanh Xuan, Hanoi, Vietnam*

[2]*VNU Central Institute for Natural Resources and Environmental Studies, 19 Le Thanh Tong, Hoan Kiem, Hanoi, Vietnam*

[3]*Institute of Ecology and Biological Resources, Vietnam Academy of Science and Technology, 18 Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi, Vietnam*

Received 18 September 2020
Revised 23 April 2021; Accepted 04 May 2021

Abstract: To support law enforcement related to illegal wildlife trafficking in Vietnam, DNA analyses have been widely used to identify species based on products seized from the trade. Pangolins are one of the most threatened mammal groups in Vietnam and across the world because they have been trafficked in huge numbers and considered the most traded mammals globally. Although the government and management agencies have implemented several deterrent measures to reduce the illicit trade of pangolins, a high number of violations with large seizures have still been detected in recent years in the country. Species identification of pangolin products is often challenging, as many products don't have sufficient morphological diagnoses, especially their meat, hair, and scale. In this study, we present a protocol, which can be applied in laboratories in Vietnam, for extracting and amplifying a fragment of the mitochondrial cytochrome C oxidase subunit 1 (*COI*) from pangolin's scales and hairs. This protocol was successfully employed to generate a fragment the *COI* gene from 10 confiscated pangolin samples. The results show for the first time that three samples originated from an African pangolin species and highlight the importance of applying molecular approaches to combating wildlife trafficking in Vietnam.

Keywords: Pangolin, wildlife trade, forensics, DNA barcoding, wildlife product.

* Corresponding author.
E-mail address: le.duc.minh@hus.edu.vn

https://doi.org/10.25073/2588-1094/vnuees.4699

Chuẩn hóa phương pháp phân tích DNA từ vảy và lông tê tê phục vụ giám định tên loài ở Việt Nam

Bùi Thị Phương Thanh[1], Ngô Thị Hạnh[1,2], Nguyễn Quảng Trường[3], Lê Đức Minh[1,2,*]

[1]*Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội,*
334 Nguyễn Trãi, Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam
[2]*Viện Tài nguyên và Môi trường, Đại học Quốc gia Hà Nội,*
19 Lê Thánh Tông, Hoàn Kiếm, Hà Nội, Việt Nam
[3]*Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Học viện Khoa học và Công nghệ,*
Viện Hàn lâm Khoa học Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội

Nhận ngày 18 tháng 9 năm 2020
Chỉnh sửa ngày 23 tháng 4 năm 2021; Chấp nhận đăng ngày 04 tháng 5 năm 2021

Tóm tắt: Để hỗ trợ công tác thực thi pháp luật liên quan đến các loài động vật hoang dã (ĐVHD) ở Việt Nam, phương pháp phân tích DNA đã được ứng dụng phổ biến trong việc giám định tên loài từ những sản phẩm động vật bị buôn bán trái phép. Tê tê là một trong những nhóm động vật bị đe dọa tuyệt chủng cao nhất cả trên thế giới và ở Việt Nam vì chúng bị buôn bán với số lượng rất lớn và được coi là nhóm thú bị buôn bán nhiều nhất trên toàn cầu. Mặc dù Chính phủ và các cơ quan chức năng đã có nhiều biện pháp phòng chống buôn bán trái pháp luật nhóm động vật này, nhưng trong những năm gần đây tình trạng buôn bán tê tê và các sản phẩm của chúng ở Việt Nam vẫn xảy ra với số vụ việc và khối lượng tang vật lớn. Việc xác định tên các loài tê tê thường gặp nhiều khó khăn do các sản phẩm buôn bán không còn đầy đủ các đặc điểm hình thái để nhận dạng chính xác, đặc biệt là các dạng sản phẩm như thịt, lông và vảy. Trong nghiên cứu này, chúng tôi trình bày quy trình tách chiết DNA và nhân bản đoạn gen ty thể COI đảm bảo hiệu quả cao từ các sản phẩm buôn bán, có thể ứng dụng trong điều kiện phòng thí nghiệm tại Việt Nam. Quy trình này đã được sử dụng thành công trong việc tách chiết 10 mẫu lông và vảy tê tê tịch thu trong các vụ buôn bán. Kết quả nghiên cứu lần đầu tiên cho thấy 3 mẫu tê tê bị buôn bán trái phép có nguồn gốc từ châu Phi và nhấn mạnh tầm quan trọng của việc sử dụng phương pháp sinh học phân tử trong công tác phòng chống buôn bán trái phép ĐVHD tại Việt Nam.

Từ khóa: Tê tê, buôn bán ĐVHD, pháp y, DNA, mã vạch, sản phẩm động vật.

1. Mở đầu

Trong vài thập kỷ trở lại đây, buôn bán trái pháp luật các loài ĐVHD đã trở thành vấn đề mang tính toàn cầu, đe dọa sự tồn tại của hàng nghìn loài động vật hoang dã, ảnh hưởng nghiêm trọng đến đa dạng sinh học và quần thể của các loài [1, 2]. Tê tê là nhóm động vật bị buôn bán nhiều nhất trên thế giới, chiếm tới 20% tổng số lượng ĐVHD bị buôn bán bất hợp pháp trong thế kỉ 21 [3]. Các loài tê tê thuộc họ Tê tê (Manidae), bộ Tê tê (Pholidota), là một trong những nhóm

* Tác giả liên hệ.
Địa chỉ email: le.duc.minh@hus.edu.vn

https://doi.org/10.25073/2588-1094/vnuees.4699

thú bị đe dọa tuyệt chủng cao nhất trên thế giới theo Liên minh Bảo tồn Thiên nhiên Quốc tế (IUCN), trong đó ba loài được xếp hạng ở bậc Cực kỳ nguy cấp (CR) (Tê tê gia-va *Manis javanica* [4], Tê tê vàng *Manis pentadactyla* [5] và Tê tê phi-lip-pin *Manis culionensis* [6]), ba loài ở bậc Nguy cấp (EN) (Tê tê ấn độ *Manis crassicaudata* [7], Tê tê đất khổng lồ *Smutsia gigantea* [8] và Tê tê bụng trắng *Phataginus tricuspis* [9]) và hai loài ở bậc Sắp nguy cấp (VU) (Tê tê bụng đen *Phataginus tetradactyla* [10] và Tê tê đất Temminck *Smutsia temminckii* [11]). Tất cả 8 loài tê tê trên đều được liệt kê trong Phụ lục I của Công ước quốc tế về buôn bán các loại động, thực vật hoang dã nguy cấp (CITES) và các hoạt động khai thác và buôn bán đều bị kiểm soát nghiêm ngặt [12, 13]. Việt Nam ghi nhận phân bố của hai loài Tê tê gia-va và Tê tê vàng [14] và cả hai loài đều thuộc Danh mục các loài nguy cấp, quý, hiếm, được ưu tiên bảo vệ, có tên trong Nghị định 64/2019/NĐ-CP và thuộc nhóm IB trong Nghị định 06/2019/ND-CP của Chính phủ đồng thời có tên trong Phụ lục I CITES theo Thông báo số 296/TB-CTVN-HTQT của Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn) [12].

Một trong những nhân tố đe dọa đến các loài tê tê là săn bắt và buôn bán bất hợp pháp với số lượng lớn ở châu Á. Trong khi ở châu Phi, chúng bị săn bắt chủ yếu để làm thực phẩm, vảy buôn bán sang châu Á làm dược liệu cổ truyền [15-18]. Do đó, quần thể của các loài tê tê đang suy giảm nghiêm trọng và được cho là bị tuyệt chủng cục bộ ở một số khu vực của cả châu Á và châu Phi [15, 19]. Trong thập kỷ qua, hàng tấn vảy tê tê và thịt đã bị tịch thu trên toàn thế giới mỗi năm và những hồ sơ thu giữ có khả năng chỉ chiếm một phần nhỏ trong giao dịch bất hợp pháp có liên quan tới tê tê [3, 20, 21]. Theo thống kê, trên thế giới có 33 quốc gia và vùng lãnh thổ là địa điểm buôn bán tê tê quốc tế [16]. Tê tê sống chủ yếu được vận chuyển bằng đường bộ giữa các nước châu Á. Nguồn gốc chủ yếu là từ Indonesia (36%) và Malaysia (36%) và điểm đến bao gồm Trung Quốc, Singapore, Thái Lan và Việt Nam [16]. Từ năm 2010-2015 theo báo cáo của TRAFFIC (2017) tổng cộng có 1270 vụ việc đã bị phát hiện và bắt giữ, trong đó có ít nhất 20.749 kg thuộc 7.154 bộ phận cơ thể tê tê, 55.251 kg vảy và 44.475 kg tê tê nguyên con. Vào tháng 11 năm 2017, Trung Quốc đã tuyên bố thu giữ 11,9 tấn vảy từ một con tàu ở Thâm Quyến (Shenzen) [22]. Báo cáo kết hợp phân tích dữ liệu các vụ bắt giữ được ghi nhận trong khoảng thời gian từ 1/1/2016 đến 31/12/2019 và kết quả điều tra riêng của Tổ chức Wildlife Justice Commission (WJC) ước tính khoảng 206,4 tấn vảy tê tê nhập lậu đã bị tịch thu trong 52 vụ bắt giữ trong giai đoạn 2016-2019 [23]. Phân tích dữ liệu thu giữ cho thấy, tình trạng buôn lậu gia tăng ở mức độ chưa từng có với gần 2/3 số lượng vảy bị thu giữ (132,1 tấn) được phát hiện trong hai năm gần đây (2018-2019) [23]. Theo báo cáo tổng quan buôn bán ĐVHD trái pháp luật năm 2019 của Tổ chức Bảo tồn ĐVHD Việt Nam (Wildlife Conservation Society), trong tháng 1 năm 2019 đã có 8,3 tấn vảy tê tê đã bị hải quan Hồng Kông phát hiện giấu trong container đang trên đường từ Nigeria đến Việt Nam [24]. Từ tháng 4 đến tháng 7 năm 2019, có 37,6 tấn vảy tê tê bị hải quan Singapore thu giữ khi đang trên đường vận chuyển đến Việt Nam [24]. Ngày 31/3/2020, Cục Hải quan Malaysia đã thu giữ 6.160 kg vảy tê tê cất giấu trong một container có dán mác hạt điều, trị giá 18 triệu USD trong đợt kiểm tra tại cảng Klang [15].

Với vị trí địa lý quan trọng, Việt Nam trở thành một trong các tuyến đường buôn bán và trung chuyển tê tê chủ đạo trên thế giới. Tê tê được buôn bán từ trong nước, các nước Đông Nam Á và châu Phi qua Việt Nam vào thị trường chính là Trung Quốc [18]. Hoạt động buôn bán trái phép tê tê diễn ra phức tạp và tinh vi. Theo thống kê của Trung tâm giáo dục Thiên nhiên, từ năm 2013-2016 có hơn 2600 cá thể tê tê sống và khoảng 30 tấn vảy tê tê đã được lực lượng chức năng thu giữ ở Việt Nam. Trong 5 năm (2013-2017), các cơ quan chức năng đã bắt giữ 111 vụ việc vi phạm với 1.949 cá thể tê tê và 8.337 kg tê tê và sản phẩm vảy tê tê - chiếm tỷ lệ cao thứ hai (20,17%) sau ngà voi trong tổng khối lượng ĐVHD bị bắt giữ, tịch thu [26]. Trong số này, phần lớn là tê tê còn sống, chiếm 95,33% (1.858/1.949) so với tổng số lượng cá thể tê tê và

chiếm 81,48% (7.627/8.3367 kg) so với tổng khối lượng ĐVHD là tê tê bị bắt giữ, tịch thu, còn lại tê tê đã chết, đông lạnh. Vảy tê tê chỉ chiếm 18,52% (1.735/8.337 kg) so với tổng khối lượng ĐVHD là tê tê bị bắt giữ, tịch thu. Phần lớn vi phạm ở mức quy mô lớn với 23,6% (27/117) vi phạm có khối lượng tê tê bắt giữ trung bình lớn hơn 150 kg trong đó các vụ có khối lượng lớn xảy ra tại Quảng Ninh (3.318 kg), Hải Phòng (1.083 kg), Hưng Yên (821 kg), Ninh Bình (722 kg) [26]. Cũng cần lưu ý rằng trong dữ liệu thu thập được, một số địa phương, không ghi rõ khối lượng tê tê bị bắt giữ và tịch thu [26]. Trong năm 2019, theo báo cáo Tổng quan buôn bán ĐVHD trái pháp luật năm 2019 của Tổ chức Bảo tồn ĐVHD Việt Nam (Wildlife Conservation Society) có 42.105 kg vảy tê tê và 454 cá thể được thu giữ trong các vụ buôn bán [24].

Tình trạng săn bắt và buôn bán tê tê trái pháp luật trên thế giới và Việt Nam hiện rất đáng lo ngại, gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến quần thể của các loài tê tê trong tự nhiên. Do vậy, việc xây dựng quy trình tách chiết, tối ưu phản ứng chuỗi polymerase (PCR) cho các mẫu tê nhằm xây dựng cơ sở dữ liệu DNA để xác định chính xác tên loài, nguồn gốc của sản phẩm tê tê bị buôn bán qua Việt Nam và các con đường vận chuyển trái phép nhóm động vật nguy cấp, quý hiếm này là hết sức cần thiết, góp phần cung cấp cơ sở khoa học cho các nhà quản lý và bảo tồn ĐVHD trong xử lý vi phạm và cứu hộ các loài động vật quý hiếm, bị đe dọa tuyệt chủng. Vì vậy, trong nghiên cứu này chúng tôi đã xây dựng quy trình tách chiết DNA đơn giản và hiệu quả từ mẫu lông và vảy tê tê, là những sản phẩm phổ biến trong buôn bán, nhằm xác định tên loài và nguồn gốc địa lý của các vảy tê tê bị tịch thu, từ đó cung cấp cơ sở khoa học cho các nhà quản lý, hỗ trợ được công tác cứu hộ, bảo tồn tê tê và thực thi pháp luật tốt hơn.

2. Vật liệu và phương pháp

2.1. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu là các mẫu lông và vảy của tê tê đã được thu thập trên các cá thể tê tê cứu hộ ở Trung tâm Bảo tồn ĐVHD Việt Nam, Vườn quốc gia (VQG) Cúc Phương, Ninh Bình và các mẫu tịch thu từ các vụ vi phạm (Bảng 1). Đặc điểm chung của các mẫu lông và vảy là mẫu thu được từ khá lâu, lưu trữ, bảo quản trong điều kiện còn hạn chế nên hàm lượng DNA thấp và có thể lẫn các thành phần không mong muốn (vi khuẩn hoặc vật liệu di truyền của các loài khác).

2.2. Phương pháp tách chiết DNA tổng số

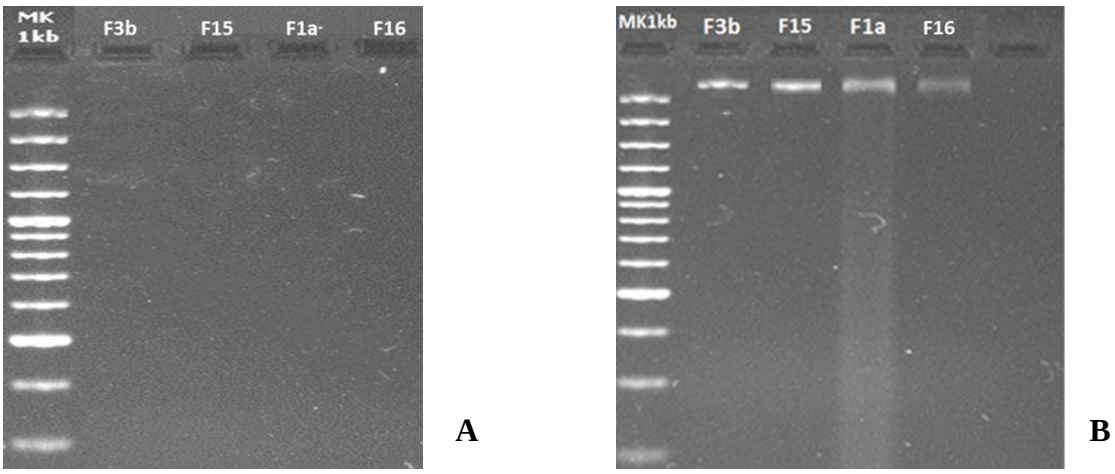
Các mẫu được tách chiết DNA tổng số sử dụng bộ kit Dneasy Blood and Tissue (Qiagen, CHLB Đức). Để giảm nguy cơ nhiễm các sản phẩm không mong muốn trên bề mặt và thu được tối đa lượng DNA, các mẫu được rửa với dung dịch Clorox 10% (pha với nước tỉ lệ 1:10), sau đó được rửa lại bằng nước cất một vài lần để làm sạch clorox và phơi khô. Quá trình tách chiết được tiến hành theo hướng dẫn của nhà sản xuất, có chỉnh lý theo Le và cộng sự (2007) [27]. Cụ thể, trong bước tiền xử lý mẫu được ủ ở 56^{o}C trong 24h với 1 ml dung dịch EDTA 0,5 M, sau đó, rửa EDTA bằng 1 ml Tris HCl 10 mM. Bước ly giải tế bào, bổ sung vào mỗi mẫu 300 µl ATL thay vì 200 µl ATL như hướng dẫn của nhà sản xuất, mẫu được ủ trong 48 h, kiểm tra và bổ sung 20 µl Proteinase K sau 24 h. Bước cuối cùng khi thu DNA tổng số, chỉ bổ sung 60 µl dung dịch đệm hòa tan DNA thay vì 200 µl như hướng dẫn của nhà sản xuất. Nồng độ DNA tổng số thu được kiểm tra bằng phương pháp đo quang phổ trên máy Alphalmager MINI (Protein Simple, Mỹ) và điện di trên gel agarose 1%, trong đệm TBE 1X (Tris base, Boric acid, EDTA pH = 8) ở trong 70V trong 30 phút.

Phản ứng PCR được tiến hành với HotStarTaq Mastermix (Qiagen, CHLB Đức) và DreamTaq Mastermix (ThermoFisher Scientific, Lithuania) nhằm bỏ qua thời gian tối ưu hóa điều kiện cho phản ứng PCR và tiết kiệm nguồn mẫu vốn ít ỏi trong nghiên cứu động vật hoang dã. Đối với các mẫu không thu được sản phẩm PCR do hàm lượng DNA quá thấp, sản phẩm của phản ứng PCR lần đầu được sử dụng để làm khuôn cho phản ứng PCR lần hai. Tổng thể tích phản ứng PCR là 21 µl bao gồm: 2 µl DNA khuôn, 2 µl mỗi chiều mồi (10 µM/µl), 5 µl H_2O, và 10 µl

Mastermix. Điều kiện phản ứng PCR là 95 ºC trong 15 phút với HotStar Taq, 05 phút với Dream Taq Mastermix, 35 chu kỳ gồm: 95 ºC trong 30 giây, 44 ºC – 50 ºC trong 45 giây, 72 ºC trong 1 phút, và bước kéo dài cuối 72 ºC trong 6 phút. Đối chứng âm, đối chứng dương được tiến hành song song trong mỗi lần PCR. Các cặp mồi sử dụng để khuếch đại đoạn gen *COI* thuộc hệ gen ty thể có kích thước khoảng 750 bp được trình bày trong Bảng 2. Sản phẩm PCR thành công sau khi tinh sạch được bảo quản ở 4ºC trước khi gửi giải trình tự hai chiều tại công ty FirstBase (Malaysia). Kết quả giải trình tự được kiểm tra bằng phần mềm Sequencher v5.4.6 (Gene Codes Corp, Ann Arbor, MI, USA). Trình tự thu nhận được cùng các trình tự từ Ngân hàng Gen (Genbank) được gióng cột bằng phần mềm ClustalX v2.1 [28] với các lựa chọn mặc định cho chức năng sắp xếp hoàn chỉnh. Cây phát sinh chủng loại được xây dựng dựa trên phương pháp Bayesian sử dụng phần mềm MrBayes v3.2 [29]. Mô hình tiến hóa tối ưu được xác định bằng phần mềm Modeltest v3.7 [30] và jModeltest v2.1.4 [31]. Các phân tích được thực hiện dựa trên cây lựa chọn ngẫu nhiên và chạy trong 1 x 10^7 thế hệ, tần số lấy mẫu được thực hiện sau 1000 thế hệ.

Bảng 1. Thông tin mẫu vật sử dụng trong nghiên cứu

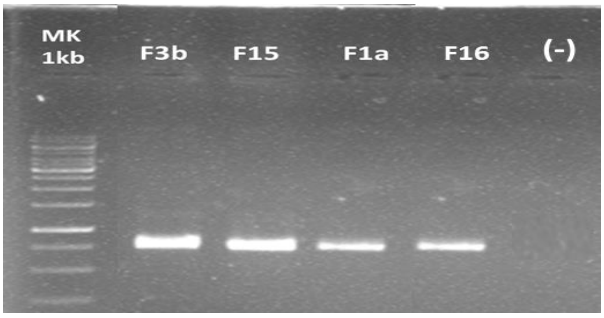
STT	Kí hiệu PTN	Loại mẫu	Địa điểm
1	F1a	Vảy	VQG Cúc Phương
2	F2b	Lông	VQG Cúc Phương
3	F3b	Lông	VQG Cúc Phương
4	F4b	Lông	VQG Cúc Phương
5	F5b	Lông	VQG Cúc Phương
6	F6b	Lông	VQG Cúc Phương
7	F7a	Vảy	VQG Cúc Phương
8	F15	Vảy	Mẫu thu được từ buôn bán
9	F16	Vảy	Mẫu thu được từ buôn bán
10	F17	Vảy	Mẫu thu được từ buôn bán



Hình 1. Kết quả điện di DNA tổng số:
A. Mẫu tách chiết theo quy trình tách chiết của nhà sản xuất; B. Mẫu tách chiết theo quy trình tách chiết đã hiệu chỉnh. Hình điện di trên gel agarose 1% trong đệm TBE 1X ở 70V trong 30 phút. Maker 1kb.

Bảng 2: Trình tự mồi cho phản ứng PCR

Tên mồi	Trình tự mồi	Tài liệu tham khảo
VF1d	5'- TTCTCAACCAACCACAARGAYATYGG – 3'	Nazarov và cộng sự, 2012 [32]
VR1d	5' – TAGACTTCTGGGTGGCCRAARAAYCA – 3'	Nazarov và cộng sự, 2012 [32]
HZF3	5' – AGATTTACAGTCTAATGCTT – 3'	Zhang và cộng sự, 2015 [11]
HZR1	5' – CCCATGTATCCAAAGGGCTCTT – 3'	Zhang và cộng sự, 2015 [11]



Hình 2. Kết quả điện di sản phẩm PCR Điện di trên gel agarose 1%, trong đệm TBE 1X ở 90V trong 30 phút.

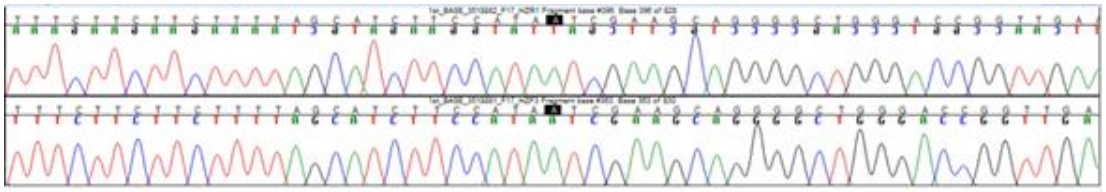
3. Kết quả và thảo luận

3.1. Tách chiết DNA tổng số

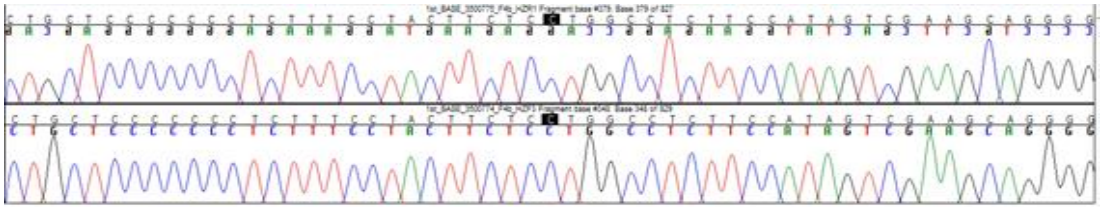
Kết quả điện di kiểm tra nồng độ DNA cho thấy, chúng tôi đã tách chiết thành công 10/10 mẫu với băng sáng rõ khi tách chiết theo quy trình đã hiệu chỉnh (Hình 1).

3.2. Phản ứng PCR và giải trình tự

Kết quả điện di sản phẩm PCR cho thấy, chúng tôi đã nhân bản thành công đoạn gen *COI*, với kích thước khoảng 750 bp của 10/10 mẫu (Hình 2). Sản phẩm PCR thành công cho kết quả giải trình tự tốt, các tín hiệu của mỗi nucleotide rõ ràng và tín hiệu nền tốt (Hình 3, 4).



Hình 3. Kết quả giải trình tự hai chiều một phân đoạn của gen *COI* từ một mẫu vảy.

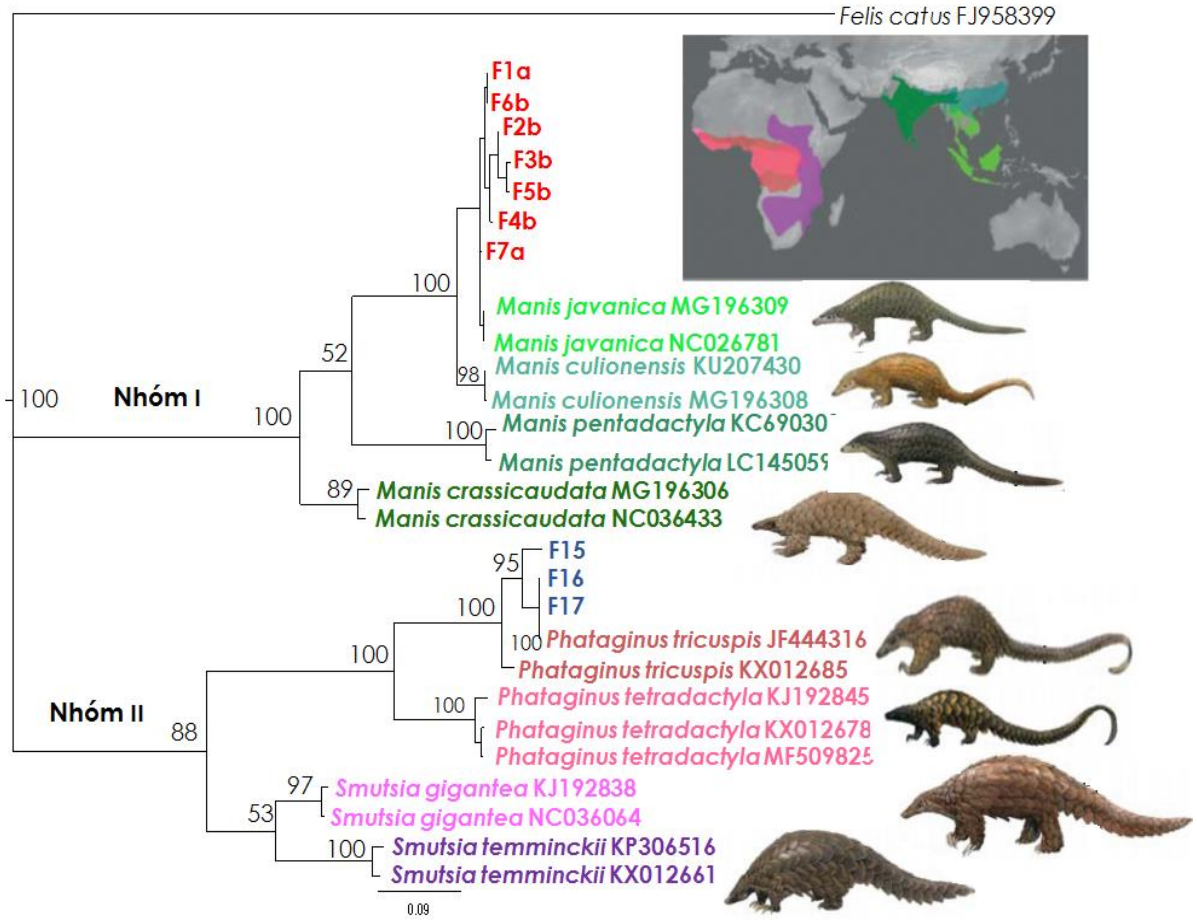


Hình 4. Kết quả giải trình tự hai chiều một phân đoạn của gen *COI* từ một mẫu lông.

Kết quả giải trình tự và so sánh với các trình tự đã công bố trên ngân hàng gen cho thấy, trong số 10 mẫu có 7 mẫu là loài Tê tê gia-va (*Manis javanica*), 3 mẫu là loài Tê tê bụng trắng (*Phataginus tricuspis*).

3.3. Xây dựng cây phát sinh chủng loại

Từ kết quả PCR và giải trình tự thành công, chúng tôi đã xây dựng được cây phát sinh chủng loại dựa trên trình tự đoạn gen *COI* thu nhận được từ nghiên cứu và từ Ngân hàng Gen cho các loài tê tê (Hình 5). Kết quả thu được cho thấy, các mẫu từ các cá thể cứu hộ tại Trung tâm Bảo tồn ĐVHD Việt Nam ở VQG Cúc Phương là loài Tê tê gia-va (*Manis javanica*) có quan hệ gần gũi với các loài tê tê ở Châu Á. Các mẫu vảy thu được trong quá trình buôn bán là loài Tê tê bụng trắng (*Phataginus tricuspis*) có nguồn gốc từ châu Phi. Bên cạnh đó, kết quả nghiên cứu còn cho thấy các loài tê tê được chia làm hai nhóm chính với giá trị xác suất hậu nghiệm khá cao: Nhóm 1 bao gồm 4 loài tê tê phân bố ở châu Á: Tê tê gia-va (*Manis javanica*), Tê tê vàng (*Manis pentadactyla*), Tê tê ấn độ (*Manis crassicaudata*) và Tê tê phi-lip-pin (*Manis culionensis*); Nhóm 2 bao gồm 4 loài phân bố ở châu Phi: Tê tê bụng đen (*Phataginus tetradactyla*), Tê tê bụng trắng (*Phataginus tricuspis*), Tê tê đất khổng lồ (*Smutsia gigantea*) và Tê tê đất temminck (*Smutsia temminckii*) (Hình 5).



Hình 5. Cây quan hệ di truyền sử dụng phương pháp Bayesian. Các mẫu từ Ngân hàng gen được thể hiện bằng mã số đi kèm với tên loài.

4. Kết luận

Quy trình tách chiết DNA từ mẫu lông và vảy tê tê có chất lượng thấp, qua phương pháp hiệu chỉnh được trình bày trong nghiên cứu này đã giúp xác định được rõ nguồn gốc các loài tê tê nhập khẩu vào Việt Nam gồm cả loài phân bố ở Châu Á, Tê tê gia-va (*Manis javanica*) và loài phân bố ở châu Phi, Tê tê bụng trắng (*Phataginus tricuspis*). Trong 10 mẫu tê tê thu thập từ các mẫu vật tịch thu được trong các vụ buôn bán trái pháp luật ở Việt Nam có 7 mẫu từ Tê tê gia-va và 3 mẫu từ Tê tê bụng trắng. Đây là lần đầu tiên kết quả phân tích di truyền cho thấy một số mẫu tê tê thu được trong buôn bán tại Việt Nam có nguồn gốc từ châu Phi. Nghiên cứu này cho kết quả phân tích DNA là cơ sở quan trọng phục vụ công tác giám định mẫu trong các vụ án buôn bán ĐVHD để đưa ra các biện pháp xử lý phù hợp trong quá trình thu giữ, xử lý vật chứng, cứu hộ, tái thả động vật cũng như tìm hiểu con đường buôn bán quốc tế của nhóm loài động vật nguy cấp, quý hiếm này.

Lời cảm ơn

Chúng tôi chân thành cảm ơn Quỹ US Fish and Wildlife Service đã tài trợ cho nghiên cứu này. Cảm ơn các đồng nghiệp của Tổ chức TRACE Forensics Network (Vương quốc Anh) và Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật đã hỗ trợ trong công tác thu thập và phân tích mẫu vật. Nghiên cứu này được hỗ trợ một phần bởi Nhiệm vụ cơ sở của Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật (Mã số IEBR NV.1-21).

Tài liệu tham khảo

[1] C. L. Anh, N. M. Ha, Report on Current Status of Wildlife Trade and the Management Measures. Report to Vietnam's CITES Management Authority, Hanoi, 2005 (in Vietnamese).

[2] E. J. Sterling, M. M. Hurley, L. D. Minh, Vietnam - A Natural History, Yale University Press, 2008.

[3] D. W. S. Challerder, J. E. M. Baillie, C. Waterman, on Scaling up Pangolin Conservation, TRAFFIC Bulletin, Vol. 28, No. 1, 2016, pp. 19-21.

[4] D. Challender, D. H. A. Willcox, E. Panjang, N. Lim, H. Nash, S. Heinrich, J. Chong, *Manis javanica*, The IUCN Red List of Threatened Species, 2019, https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2019-3.RLTS.T12763A123584856.en, (accessed on: March 06th, 2020).

[5] D. Challender, S. Wu, P. Kaspal, A. Khatiwada, A. Ghose, N. Ching-Min Sun, R.K. Mohapatra, T. Laxmi Suwal, *Manis pentadactyla*, The IUCN Red List of Threatened Species, 2019, https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20193.RLTS.T12764A168392151.en, (accessed on: March 06th, 2020).

[6] S. Schoppe, L. Katsis, L. Lagrada, *Manis culionensis*, The IUCN Red List of Threatened Species, 2019, https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2019-3.RLTS.T136497A123586862.en, (accessed on: March 06th, 2020).

[7] T. Mahmood, D. Challender, A. Khatiwada, S. Andleeb, P. Perera, S. Trageser, A. Ghose, R. Mohapatra, *Manis crassicaudata*, The IUCN Red List of Threatened Species, 2019, https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20193.RLTST12761A123583998.en, (accessed on: March 06th, 2020).

[8] S. Nixon, D. Pietersen, D. Challender, M. Hoffmann, I. Godwill Ichu, T. Bruce, D. J. Ingram, N. Matthews, M. H. Shirley, *Smutsia gigantea*, The IUCN Red List of Threatened Species, 2019, https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20193.RLTS.T12762A123584478.en, (accessed on: March 06th, 2020).

[9] D. Pietersen, C. Moumbolou, D. J. Ingram, D. Soewu, R. Jansen, O. Sodeinde, C. Keboy Mov Linkey Iflankoy, D. Challender, M. H. Shirley, *Phataginus tricuspis*, The IUCN Red List of Threatened Species, 2019, https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2019-3.RLTS.T12767A123586469.en, (accessed on: March 06th, 2020).

[10] D. J. Ingram, M. H. Shirley, D. Pietersen, M. Hoffmann, M. Gudehus, D. Challender, *Phataginus tetradactyla*, The IUCN Red List of Threatened Species, 2019, https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2019-3.RLTS.T12766A123586126.en, (accessed on: March 06th, 2020).

[11] D. Pietersen, R. Jansen, E. Connelly, *Smutsia temminckii*, The IUCN Red List of Threatened Species, 2019, https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2019-3.RLTS.T12765A123585768.en, (accessed on: March 06th, 2020).

[12] Ministry of Agriculture and Rural Development of the Socialist Republic of Vietnam, Notification No. 296/TB-CTVNHTQT Announcing the List of Wild Fauna and Flora of CITES (the Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) Appendices, Hanoi, 2019 (in Vietnamese).
[13] R. C. Larson, Pangolin Species Identification Guide: A Rapid Assessment Tool for Field and Desk, Prepared for the United States Agency for International Development, Bangkok: USAID Wildlife Asia Activity, available online at http://www.usaidwildlifeasia.org/resources, 2017 (accessed on: March 06th, 2020).
[14] D. N. Can, Checklist of Wild Mammal Species of Vietnam, Institute of Ecology and Biological Resources, Vietnam, 2008, pp. 184-185.
[15] L. Gomez, B. T. C. Leupen, T. K. Hwa, The Trade of African Pangolins to Asia: A Brief Case Study of Pangolin Shipments from Nigeria, TRAFFIC Bulletin, Vol. 28, No. 1, 2016, pp. 3-5.
[16] S. Heinrich, T. A. Wittman, J. V. Ross, C. R. Shepherd, D. W. S. Challender, P. Cassey, The Global Trafficking of Pangolins: A Comprehensive Summary of Seizures and Trafficking Routes from 2010 to 2015, TRAFFIC Southeast Asia, Malaysia, 2017.
[17] N. S. Sodhi, L. P. Koh, B. W. Brook, P. K. Ng. Peter, Southeast Asian Biodiversity: An Impending Disaster, Trends in Ecology & Evolution, Vol. 19, No. 12, 2004, pp. 654-660, https://doi.org/10.1016/j.tree.2004.09.006.
[18] H. Zhang, M. P. Miller, F. Yang, H. K. Chan, P. Gaubert, G. Ades, G. A. Fischer, Molecular Tracing of Confiscated Pangolin Scales for Conservation and Illegal Trade Monitoring in Southeast Asia, Global Ecology and Conservation, Vol. 4, 2015, pp. 414-422, https://doi.org/10.1016/j.gecco.2015.08.002.
[19] IUCN SSC Pangolin Specialist Group, Pangolins, https://www.pangolinsg.org/pangolins/, 2020 (accessed on: April 10th, 2020).
[20] D. W. Challender, S. R. Harrop, D. C. MacMillan, Understanding Markets to Conserve Trade-Threatened Species in CITES, Biological Conservation, Vol. 187, 2015, pp. 249-259, https://doi.org/10.1016/j.biocon.2015.04.015.
[21] S. Pantel, A Preliminary Assessment of Sunda Pangolin Trade in Sabah. TRAFFIC Southeast Asia, Malaysia, 2010.
[22] United Nations Environment Programme, Wildlife Crime: Pangolin Trade Still Flourishing Despite Ban, https://www.unep.org/news-and-stories/story/wildlife-crime-pangolin-trade-still-flourishing-despite-ban/, 2018 (accessed on: April 12th, 2020).
[23] Wildlife Justice Commission, Scaling Up: The Rapid Growth in the Trafficking of Pangolin Scales (2016-2019), https://wildlifejustice.org/wp-content/uploads/2020/02/The_Rapid_Growth_in_the_Trafficking_of_Pangolin_Scales_2015-2019-Update1.pdf/, 2020 (accessed on: April 12th, 2020).
[24] Wildlife Conservation Society, Overview of the illegal wildlife trade in 2019, Wildlife Conservation Society, Vietnam Program, Hanoi, Vietnam, 2017 (in Vietnamese).
[25] TRAFFIC, Malaysian Customs Make Six-tonne African Pangolin Scale Seizure, https://www.traffic.org/news/malaysian-customs-make-six-tonne-african-pangolin-scale-seizure/, 2020 (accessed on: April 13th, 2020).
[26] Wildlife Conservation Society, A Review Report of Wildlife Crime and Law Enforcement in Vietnam between 2013 and 2017, Wildlife Conservation Society, Vietnam Program, Hanoi, Vietnam, 2017 (in Vietnamese).
[27] L. D. Minh, W. P. McCord, J. B. Iverson, on the Paraphyly of The Genus *Kachuga* (Testudines: Geoemydidae), Molecular Phylogenetics and Evolution, Vol. 45, 2007, pp. 398-404, https://doi.org/10.1016/j.ympev.2007.05.002.
[28] J. D. Thompson, T. J. Gibson, F. Plewniak, F. Jeanmougin, D. G. Higgins, The ClustalX Windows Interface: Flexible Strategies for Multiple Sequence Alignment Aided by Quality Analysis Tools, Nucleic Acids Research, Vol. 25, No. 24, 1997, pp. 4876-4882, https://doi.org/10.1093/nar/25.24.4876.
[29] F. Ronquist, M. Teslenko, P. van der Mark, D. L. Ayres, A. Darling, S. Höhna, B. Larget, L. Liu, M. A. Suchard, J. P. Huelsenbeck, MrBayes 3.2: Efficient Bayesian Phylogenetic Inference and Model Choice Across a Large Model Space, Systematic Biology, Vol. 61, No. 3, 2012, pp. 539-542, https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029
[30] D. Posada, K.A. Crandall, MODELTEST: Testing the Model of DNA Substitution, Bioinformatics, Vol. 14, No. 9, 1998, pp. 817-818, https://doi.org/10.1093/bioinformatics/14.9.817.
[31] D. Posada, jModelTest: Phylogenetic Model Averaging, Molecular Biology and Evolution, Vol. 25, No. 7, 2008, pp. 1253-1256.
[32] N. V. Ivanova, J. R. De Waard, P. D. N. Hebert, An Inexpensive, Automation-Friendly Protocol For Recovering High-quality DNA, Mol Ecol, No. 6, 2006, pp. 998-1002.