

**BỘ GIÁO DỤC  
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC  
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

**HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**

-----



**NGUYỄN VĂN THỊNH**

**NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG MỘT SỐ HỌ LŨƠNG CƯ Ở  
VIỆT NAM VÀ TÌNH TRẠNG NHIỄM NẤM CỦA CHÚNG**

**TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ SINH HỌC**

Ngành: Động vật học

Mã số: 9 42 01 03

***Hà Nội - 2024***

Công trình được hoàn thành tại: Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Người hướng dẫn khoa học:

1. Người hướng dẫn khoa học 1: PGS.TS. Nguyễn Thiên Tạo  
Viện nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

2. Người hướng dẫn khoa học 2: GS.TS. Thomas Ziegler  
Trường Đại học Cologne, Đức

Phản biện 1: PGS.TS. Lưu Quang Vinh

Phản biện 2: PGS.TS. Trần Đức Hậu

Phản biện 3: PGS.TS. Lê Đức Minh

Luận án được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện họp tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam vào hồi..... giờ....., ngày.....tháng..... năm 2024

Có thể tìm hiểu luận án tại:

1. Thư viện Học viện Khoa học và Công nghệ
2. Thư viện Quốc gia Việt Nam

## MỞ ĐẦU

### 1. Tính cấp thiết của luận án

Lưỡng cư (Amphibia) là lớp động vật có số lượng loài rất đa dạng với khoảng 8.700 loài phân bố rộng trên thế giới ngoại trừ vùng Bắc cực và Nam cực. Theo Liên minh Quốc tế về Bảo tồn Thiên nhiên, tính đến tháng 12/2023 đã có 7.486 loài lưỡng cư được đánh giá phân hạng bảo tồn, trong đó 36 loài được ghi nhận đã tuyệt chủng và 2 loài đã tuyệt chủng ngoài tự nhiên, 722 loài xếp hạng Cực kỳ nguy cấp, 1.144 loài Nguy cấp, 406 loài Sẽ nguy cấp, 740 loài Gần bị đe dọa, 3.291 loài Ít quan tâm và 1.145 loài Thiếu dữ liệu để đánh giá.

Khu hệ lưỡng cư của Việt Nam đa dạng về thành phần loài với nhiều loài mới được mô tả hàng năm. Đến năm 2009, số lượng loài lưỡng cư ghi nhận đã tăng lên 186 loài và gần đây nhất số lượng loài lưỡng cư ghi nhận đã tăng lên 295. Đặc biệt, có khoảng hơn 70 loài mới được mô tả dựa trên bộ mẫu thu ở Việt Nam kể từ năm 2010 cho đến nay đến nay.

Chytridiomycosis (Chytrid) là một bệnh truyền nhiễm do một chủng nấm có tên khoa học là *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*), gây bệnh trên các loài thủy sinh, dẫn đến sự suy giảm quần thể nhanh chóng hoặc tuyệt chủng của ít nhất khoảng 200 loài lưỡng cư. Gần đây phát hiện ra thêm một chủng nấm mới có tên khoa học là *Batrachochytrium salamandrivorans* (*Bsal*).

Nhằm cung cấp thông tin về tình trạng nhiễm nấm gây bệnh cũng như đưa ra các giải pháp, dự báo, phòng chống, từ đó giảm thiểu hậu quả của chúng trong tương lai là hết sức cấp bách. Trên cơ sở tính cấp thiết của các vấn đề nghiên cứu, chúng tôi thực hiện Đề tài “**Nghiên cứu đa dạng một số họ lưỡng cư ở Việt Nam và tình trạng nhiễm nấm của chúng**”.

### 2. Mục tiêu nghiên cứu của luận án

+ Đánh giá được mức độ đa dạng thành phần loài lưỡng cư thuộc các họ Cóc tía (Bombinatoridae), Cóc mắt (Megophryidae), Éch cây (Rhacophoridae) và Cá cóc (Salamandridae) ở Việt Nam.

+ Đánh giá được tình trạng nhiễm nấm gây bệnh trên các loài lưỡng cư thuộc các họ Cóc tía, Cóc mắt, Éch cây và Cá cóc ở Việt Nam.

### 3. Các nội dung nghiên cứu chính của luận án:

- Đánh giá đa dạng thành phần loài lưỡng cư thuộc các họ: Cóc tía, Cóc mắt, Éch cây và Cá cóc tại KVNC

- Xác định tình trạng nhiễm nấm gây bệnh trên các loài lưỡng cư tại KVNC thuộc các họ: Cóc tía, Cóc mắt, Ếch cây và Cá cóc

## **Chương 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU**

### **1.1. Lược sử nghiên cứu về đa dạng loài lưỡng cư trên thế giới**

Tổng số loài lưỡng cư trên thế giới được định danh tăng lên đáng kể từ 6.300 loài năm 2010 lên đến 7.480 loài năm 2015 và gần 8.700 loài tính đến tháng 12/2023.

Theo thống kê của Amphibiaweb thì giai đoạn từ 2005 đến 2022 thì có khoảng 2.749 loài lưỡng cư được mô tả mới cho khoa học.

Trong khuôn khổ nghiên cứu này, chúng tôi chỉ nêu sơ lược tình hình nghiên cứu theo hướng của đề tài ở các nước liền kề về địa lý hành chính với Việt Nam:

*Ở Trung Quốc:* Zhao & Adler. (1993) ghi nhận có 274 loài lưỡng cư. Yang & Rao. (2008) mô tả 115 loài lưỡng cư ghi nhận ở tỉnh Vân Nam. Số lượng loài lưỡng cư của Trung Quốc đã tăng lên đến 370 loài trong công bố của. Hiện nay ở Trung Quốc đã ghi nhận 590 loài cho nước này.

*Ở Lào:* Số lượng loài lưỡng cư tăng từ 58 loài trong công bố của Stuart et al. (1999) lên khoảng 120 loài vào thời điểm hiện tại (tháng 12/2023).

*Ở Cam-pu-chia:* Ohler et al. (2002) ghi nhận 34 loài; Grismer et al. (2008) ghi nhận 41 loài. Stuart et al. (2006) ghi nhận 30 loài ở khu vực miền núi thuộc phía Đông Cam-pu-chia, giáp ranh với Việt Nam và Hartmann et al. (2013) ghi nhận 22 loài ở khu vực Tây Bắc Cam-pu-chia. Hiện nay Cam-pu-chia ghi nhận khoảng 152 loài lưỡng cư (tháng 12/2023).

### **1.2. Lược sử nghiên cứu về đa dạng loài lưỡng cư ở Việt Nam**

#### **1.2.1. Các nghiên cứu về thành phần loài**

Nghiên cứu của Nguyễn Văn Sáng và cs. (2009) về lưỡng cư ở Việt Nam đã có lịch sử khá lâu đời. Cuốn sách *Les Batraciens de l'Indochine* đã mô tả 171 loài và phân loài lưỡng cư ở khu vực Đông Dương.

Năm 1977, Đào Văn Tiến đã công bố khóa định loại 87 loài lưỡng cư. Nghiên cứu của Trần Kiên và cs. (1981) đã thống kê thành phần loài động vật Miền Bắc Việt Nam (1955-1976) trong đó có 69 loài lưỡng cư. Năm 1996, Nguyễn Văn Sáng và Hồ Thu Cúc ghi nhận 82 loài lưỡng cư. Nguyễn Văn Sáng và cs. (2005) thống kê có 162 loài lưỡng cư. Danh lục có hệ thống và gần đây nhất của Nguyen et al. (2009) đã ghi nhận tổng số 176 loài lưỡng cư ở Việt Nam.

Các nghiên kể từ 2015 đến nay có 38 loài lưỡng cư mới ghi nhận và mô tả với mẫu chuẩn thu ở Việt Nam

*Ở khu vực Tây Bắc:* Phạm Văn Anh và cs. (2017) ghi nhận 16 loài thuộc 12 giống, 6 họ, 1 bộ ở khu vực đèo Pha Đin thuộc tỉnh Điện Biên và Sơn La. Nguyễn Quảng Trường và cs. (2017) nghiên cứu thành phần lưỡng cư ở khu vực Mường Bang, Phù Yên (Sơn La) ghi nhận 22 loài thuộc 15 giống, 6 họ, 1 bộ. Nghiên cứu của Trần Văn Huy và cs. (2018) đã ghi nhận 2 loài ếch suối mới nâng tổng số loài được ghi nhận cho tỉnh Lai Châu lên 24 loài. Phạm Văn Nhã và cs. (2018) đã ghi nhận 12 loài lưỡng cư thuộc 8 giống, 5 họ và 1 bộ tại khu vực rừng Tông Lạnh, huyện Thuận Châu (Sơn La). Phạm Văn Anh và Nguyễn Quảng Trường (2019) đã công bố thành phần 14 loài lưỡng cư thuộc 6 họ ở khu vực Rừng xã Pú Bẩu, huyện Sông Mã (Sơn La). Phạm Văn Anh và cs. (2019) đã ghi nhận thành phần và đặc điểm phân bố theo sinh cảnh của 36 loài lưỡng cư ở khu vực xã Mường Do, huyện Phù Yên (Sơn La). Phạm Văn Anh và cs. (2022) đã ghi nhận thành phần của 43 loài lưỡng cư ở khu vực Khu BTTN Sốp Cộp, huyện Phù Yên (Sơn La).

*Ở khu vực Đông Bắc:* Pham et al. (2017) ghi nhận bổ sung 2 loài Ếch cây *Rhacophorus kio* và *R. rhodopus*) cho tỉnh Hà Giang, đưa tổng số loài lưỡng cư ghi nhận ở tỉnh này lên 54 loài và bò sát lên 57 loài. Lương Mai Anh và cs. (2019) nghiên cứu ở Khu BTTN Thẩn Sa-Phượng Hoàng (Thái Nguyên), đã ghi nhận 16 loài lưỡng cư trong đó ghi nhận 4 loài phân bố mới cho tỉnh này, nâng tổng số loài lưỡng cư ghi nhận cho khu bảo tồn này lên 26 loài lưỡng cư. Pham et al. (2020) đã ghi nhận 27 loài lưỡng cư, trong đó có 10 loài lần đầu tiên được ghi nhận ở khu vực biên giới giáp ranh Trung Quốc thuộc huyện Hải Hà (Quảng Ninh). Luong et al. (2022) đã nghiên cứu và ghi nhận 32 loài lưỡng cư phân bố ở Khu BTTN Bản Thi-Xuân Lạc trong đó ghi nhận bổ sung 8 loài cho tỉnh Bắc Kạn.

*Ở khu vực đồng bằng Bắc Bộ:* Ziegler et al. (2015) nghiên cứu khu hệ lưỡng cư, bò sát ở Trạm Đa dạng Sinh học Mê Linh đã ghi nhận 22 loài lưỡng cư thuộc 7 họ, 2 bộ. Lê Trung Dũng và cs. (2016) công bố danh sách thành phần loài lưỡng cư ở KBTTN Đất ngập nước Vân Long (Ninh Bình) với 17 loài thuộc 11 giống, 6 họ và 1 bộ. Hoàng và cs. (2022) đã ghi nhận vùng phân bố mới của loài Ngóe nước lợ *Fejervarya moodiei* ở 2 tỉnh Nam Định và Thái Bình.

*Phân vùng núi cao Bắc Trường Sơn:* Đậu Quang Vinh và cs. (2016) ghi nhận 6 loài thuộc 5 giốngẾch cây ở KBTTN Pù Luông (Thanh Hóa). Nguyen et al. (2016) ghi nhận 16 loài lưỡng cư tại KBTTN Bắc Hương Hóa (Quảng Trị). Ông Vĩnh An và cs. (2016) ghi nhận 9 loài thuộc 4 giốngẾch cây ở KBTTN Pù Huông (Nghệ An). Đỗ Văn Thoại và cs. (2017) ghi nhận bổ sung 2 loài thuộc họ Megophriidae ở tỉnh Nghệ An. Phạm Thế Cường và cs. (2019) đã nghiên cứu ở khu vực Rừng phòng hộ Động Châu (Quảng Bình) ghi nhận 30 loài lưỡng cư.

*Phân vùng núi cao Trung Trường Sơn:* Dương Đức Lợi và cs. (2016) cung cấp danh sách 9 loài lưỡng cư thuộc họ Ranidae ở tỉnh Bình Định. Nguyễn Thành Luân và cs. (2016) ghi nhận bổ sung 5 loài Cóc lá nhỏ Leptobranchela cho VQG Bạch Mã (Thừa Thiên-Huế), nâng tổng số loài ghi nhận được lên 51 loài. Nghiên cứu của Do et al. (2018) ghi nhận bổ sung 8 loài lưỡng cư nâng tổng số loài của tỉnh Phú Yên lên 33 loài. Phạm Hồng Thái và cs. (2019) đã cập nhật danh sách 19 loài lưỡng cư nâng tổng số loài lên 52 thuộc 8 họ, 2 bộ ở KBTTN Bà Nà-Núi Chúa (Đà Nẵng).

*Phân vùng núi cao Nam Trường Sơn:* Nguyễn Thành Luân và cs. (2017) bước đầu công bố thành phần loài lưỡng cư ở KBTTN Hòn Bà (Khánh Hòa) với 35 loài thuộc 6 họ, 12 giống. Cao Tiến Trung và cs. (2019) ghi nhận 6 loài thuộc họ Ranidae ở KBTTN Núi Ông (Bình Thuận).

*Phân vùng đồng bằng sông Cửu Long:* Goodall & Faithfull (2010) ghi nhận 8 loài lưỡng cư ở VQG U Minh Thượng (Kiên Giang).

*Phân vùng ven biển Miền Nam:* Poyarkov (2011) đã thống kê được 11 loài lưỡng cư thuộc 6 họ, 2 bộ ở VQG Côn Đảo (Bà Rịa-Vũng Tàu).

*Khu vực Tây Nguyên:* Một số nghiên cứu tiêu biểu tại các tỉnh Lâm Đồng, Đắk Lắk, Gia Lai, Kon Tum, được trình bày chi tiết trong luận án.

Số loài mới cung cấp dẫn liệu cho khoa học và ghi nhận cho Việt Nam mới tăng lên rõ rệt trong thời gian qua, số loài ghi nhận vào năm 2009 là 176 loài, đến tháng 12 năm 2023 có khoảng 301 loài.

***Các nghiên cứu về các họ Cóc tía, Cóc mắt,Ếch cây và Cá cóc ở Việt Nam.***

***Các nghiên cứu về họ Cóc tía ở Việt Nam***

Họ cóc tía ghi nhận một loài duy nhất phân bố ở Việt Nam *Bombina microdeladigitora* Liu, Hu & Yang, 1960.

Gần đây đã xác nhận loài Cóc tía phân bố ở Việt Nam và Nam Trung Quốc là loài *Bombina microdeladigitora*, còn loài *Bombina maxima* được coi là đặc hữu của miền trung Trung Quốc.

Hiện nay mới chỉ ghi nhận loài *B. microdeladigitora* phân bố ở vùng núi cao miền Bắc (cụ thể các tỉnh: Lào Cai, Lai Châu và Hà Giang), do đó cần có những nghiên cứu tiếp theo về loài này ở Việt Nam.

### **Các nghiên cứu về họ Cóc mắt ở Việt Nam**

Họ Cóc mắt đã ghi nhận 68 loài thuộc 9 giống phân bố ở Việt Nam: *Leptobranchella*, *Leptobranchium*, *Oreolalax*, *Atympanophrys*, *Boulenophrys*, *Brachytarsophrys*, *Ophryophryne*, *Xenophrys*.

Nghiên cứu từ năm 2015 đến nay có 20 loài mới cho khoa học được phát hiện và mô tả với mẫu chuẩn ở Việt Nam bao gồm: Giống *Leptobranchella* (13 loài), Giống *Boulenophrys* (5 loài), Giống *Xenophrys* (1 loài).

Ngoài ra, có 9 loài được ghi nhận phân bố mới cho Việt Nam gồm: *Leptobranchella aerea*, *L. eos*, *L. melica*, *L. minima*, *L. niveimontis*, *L. yingjiangensis*, *L. shiwandashanensis*, *Leptobranchium lunatum*, *Atympanophrys gigantea*, *Boulenophrys daweimontis* và *Ophryophryne synoria*.

Orlov et al. (2015) đã mô tả 1 loài mới cho khoa học, *Megophrys latidactyla* với mẫu chuẩn được thu tại KBTTN Pù Mát, tỉnh Nghệ An. loài này có đặc điểm hình thái tương đồng với loài *Megophrys papebralespinosa*. Tuy nhiên Wu et al. (2019) dựa trên dữ liệu hình thái và sinh học phân tử đã đề xuất loài *Megophrys latidactyla* nên được coi là tên đồng nghĩa của loài *M. papebralespinosa*, biến đổi hình dạng màng bơi có thể do biến đổi về mùa sinh sản của loài.

Mahony et al. (2017) chia giống *Megophrys* thành 7 phân giống: *Atympanophrys*, *Brachytarsophrys*, *Megophrys*, *Ophryophryne*, *Xenophrys*, *Pelobatrachus*, *Panophrys*. Trong đó, Việt Nam có đại diện của 5 phân giống: *Atympanophrys*, *Brachytarsophrys*, *Ophryophryne*, *Xenophrys*, *Panophrys*. Giống *Megophrys* chỉ phân bố ở In-đô-nê-xi-a và *Pelobatrachus* chỉ phân bố ở Xinh-ga-po, Ma-lay-xi-a, In-đô-nê-xi-a và Phi-lip-pin.

Nghiên cứu của Mahony et al. (2018) về phân tích sinh học phân tử của các quần thể loài *Xenophrys major* đã chỉ ra rằng các mẫu vật ở Việt Nam được định loại lại là loài *X. maasonensis*. Loài *X. major* chỉ phân bố ở khu vực Đông Bắc Ấn Độ.

Hiện nay, việc phân loại học vẫn còn nhiều bàn luận, do đặc điểm hình thái tương đồng. Dựa vào mối quan hệ phát sinh loài và dữ liệu hình thái

### **Các nghiên cứu về họ Ếch cây ở Việt Nam**

Nghiên cứu của Smith (1924) đã đánh giá đa dạng các loài lưỡng cư ở khu vực cao nguyên Langbian và mô tả 6 loài Ếch cây mới cho Việt Nam gồm: *Rhacophorus annamensis*, *R. calcaneus*, *Kurixalus gryllus*, *Thelodermar laeve*, *Feihyla palpebralis* và *F. vittata*.

Theo Bourret (1937) mô tả 4 loài Ếch cây mới bao gồm: *Philautus maosonensis*, *Zhangixalus dorsoviridis*, *Gracixalus gracilipes*, *Theloderma bicolor*.

Nghiên cứu về đa dạng thành phần loài: Hiện nay ghi nhận phân bố của 86 loài thuộc 13 giống ở Việt Nam.

Các nghiên cứu từ năm 2015 đến nay có 18 loài mới cho khoa học được phát hiện và mô tả với mẫu chuẩn ở Việt Nam.

Pyron & Wein. (2011) đã phân tích quan hệ di truyền của các loài lưỡng cư trên thế giới dựa trên hơn 2800 loài

Yu et al. (2019) đã mô tả loài mới *Zhangixalus pachyproctus* dựa trên sinh học phân tử nhóm loài đồng hình *Z. smaragdinus*, khẳng định loài *Z. smaragdinus* không có phân bố ở phía Nam Trung Quốc, Lào và Việt Nam.

Li et al. (2019) cho thấy các loài trong giống *Rhacophorus* sensu lato được phân thành ba giống riêng biệt gồm: *Rhacophorus* sensu stricto, *Leptomantis* và *Zhangixalus*. Trong đó có hai giống: *Rhacophorus* sensu stricto và *Zhangixalus* phân bố ở Việt Nam.

Theo Nguyen et al. (2020) đã đánh giá quan hệ di truyền của các loài Ếch cây thuộc giống *Kurixalus* và *Gracixalus*, cung cấp thông tin đề xuất loài *Gracixalus waza* là tên đồng danh của loài *G. nonggangensis*.

Dubois et al. (2021) đã đánh giá lại mối quan hệ di truyền của các loài lưỡng cư trên thế giới. Nghiên cứu đã đề xuất tách giống *Vampyrus* từ giống *Rhacophorus* với một loài duy nhất là *V. vampyrus*.

### **Các nghiên cứu về họ Cá cóc ở Việt Nam**

Ở Việt Nam ghi nhận 2 giống là *Paramesotriton* và *Tylostotriton* với 9 loài; giống *Paramesotriton* gồm 2 loài: Giống *Tylostotriton* ghi nhận 7 loài phân bố ở miền Bắc từ Hà Giang đến Kon Tum: *T. anguliceps*, *T. ngoclinhensis*, *T. pasmansii*, *T. sparreboomi*, *T. thailorum*, *T. vietnamensis*, *T. ziegleri*. Một số nghiên cứu tiêu biểu như sau:

Zang et al. (2018) đã giải mã toàn bộ hệ gen ty thể của loài *Paramesotriton deloustali* tại Việt Nam và ghi nhận vùng phân bố của loài này từ Trung Quốc.

Bernardes et al. (2020) dựa vào nghiên cứu hình thái và phân tích di



truyền trên gen ty thể đã mô tả 2 loài mới tên là *Tylototriton pasmansi* và *T. sparreboomi* trong nhóm loài *T. asperrimus* phức tạp ở Việt Nam.

Poyarkov et al. (2021) mô tả loài *Tylototriton thaiorum* tại Nghệ An, trước đây ghi nhận nhầm lẫn với loài *T. notialis* (loài đặc hữu của Lào).

Phùng Mỹ Trung và cs. (2023) phát hiện loài mới có tên Cá cóc ngọc linh *Tylototriton ngoclinhensis* tại khu vực núi Ngọc Linh (Kon Tum).

### **1.3. Lược sử nghiên cứu về bệnh nấm trên các loài lưỡng cư**

#### **1.3.1. Tình trạng nhiễm nấm trên các loài lưỡng cư trên thế giới**

Bệnh nấm Chytridiomycosis (Chytrid) ở lưỡng cư do 2 chủng nấm *Batrachochytrium* gây ra đó là: *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*) và *Batrachochytrium salamandrivorans* (*Bsal*).

Năm 2014, một chủng nấm ký sinh gây bệnh trên lưỡng cư khác ngoài *Batrachochytrium dendrobatidis* đã được biết đến từ châu Á và châu Âu, đó là *Batrachochytrium salamandrivorans*. Martel et al. (2014) cho thấy ảnh hưởng của nấm gây ra sự suy giảm số lượng của loài *Paramesotriton deloustali* ở Hà Lan vào năm 2013.

Theo Rodriguez et al. (2014) giả thuyết rằng mầm móng của dịch bệnh được ghi nhận ở Châu Mỹ Latinh.

Bletz et al. (2015) nghiên cứu sự xuất hiện rộng rãi của chủng nấm gây bệnh *Bd* trong các quần thể lưỡng cư hoang dã ở Madagascar.

Việc buôn bán sinh vật làm cảnh và các hoạt động khác của con người cũng góp phần rất lớn vào việc phát tán chủng nấm *Bd*.

#### **1.3.2. Tình trạng nhiễm nấm trên các loài lưỡng cư ở Việt Nam**

Nguyen et al. (2013) đã khảo sát về mức độ nguy hiểm và ảnh hưởng của chủng nấm *Bd* đối với các loài Cá cóc tại Việt Nam. Kết quả phân tích sự hiện diện của nấm Chytrid trong bệnh phẩm thu từ da của 19 mẫu của loài *T. asperrimus* và 104 mẫu của loài *T. vietnamensis* bằng phản ứng (PCR). Rowley et al. (2013) đã nghiên cứu về tỷ lệ nhiễm nấm *Bd* trên lưỡng cư ở một số quần thể tại Ngọc Linh (Kon Tum).

Các nghiên cứu của Martel et al. (2014) cũng đã phát hiện một số quần thể của các loài thuộc giống Cá cóc sần *Tylototriton* ở Việt Nam bị nhiễm bệnh nấm *Bd* và *Bsal*.

Năm 2020, Tapley et al. đã nghiên cứu sự xuất hiện của chủng nấm *Bd* và *Bsal* trên các loài lưỡng cư ở VQG Hoàng Liên (Lào Cai).

#### **1.3.3. Cơ chế gây bệnh của chủng nấm trên các loài lưỡng cư**

Bào tử chủng nấm *Bsal* có khả năng phá hủy tế bào da của Cá cóc

trường thành. Các kỹ thuật sử dụng có thể kết hợp giữa quan sát bằng kính hiển vi điện tử và kỹ thuật PCR định lượng (qPCR).

Chủng nấm *Bsal* tạo ra từ hai loại bào tử có khả năng lây nhiễm: Loại di chuyển trùng roi và loại có màng bọc ở dạng bào tử.

## **CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU**

#### **2.1.1. Thời gian và địa điểm nghiên cứu**

- *Thời gian*: Khảo sát thực địa được tiến hành từ tháng 05 năm 2017 đến tháng 08/2023 với 20 đợt khảo sát và 78 ngày thực địa.
- *Địa điểm*: Khảo sát thực địa được thực hiện ở 10 tỉnh và phân tích mẫu vật thu thập ở 14 tỉnh, hiện đang được lưu trữ tại IEBR và VNMN.

#### **2.1.2. Tư liệu nghiên cứu**

- Dựa vào kết quả phân tích 234 mẫu vật: trong đó 2 mẫu được mô tả mới cho khoa học và 101 mẫu mới ghi nhận vùng phân bố cho tỉnh; trình tự gen ND2 của 43 mẫu vật thuộc giống *Tylototriton*; trình tự gen ND2 của 15 mẫu vật và 16S của 9 mẫu vật thuộc giống *Paramesotriton* được sử dụng trong phân tích di truyền; 848 mẫu nấm được thu trên các loài lưỡng cư.
- Đánh giá giá trị bảo tồn của các loài lưỡng cư ở khu vực nghiên cứu dựa trên: Nghị định 84/2021/NĐ-CP, Phụ lục CITES 2022, Sách Đỏ Việt Nam (2007), Danh lục Đỏ IUCN (2024).

### **2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

#### **2.2.1. Khảo sát thực địa**

Thời gian từ 09h:00-15h:00 với các loài Cóc tía và Cá cóc; Cóc mắt và Éch cây thu thập và đo đạc mẫu vật thời gian từ 18h:00-24h:00.

Thu mẫu nấm dùng tăm bông quét và xoay tròn đều trên da ở mặt bụng, mặt dưới đuôi (đối với Cá cóc) và đuôi của một số loài lưỡng cư.

#### **2.2.2. Phương pháp nghiên cứu trong phòng thí nghiệm**

- Với 28 chỉ tiêu về kích thước trên cả lưỡng cư có đuôi và không đuôi, được đo bằng thước kẹp Mitutoyo đơn vị đo với độ chính xác đến 0,1 có điều chỉnh.

- Phần mềm PAST Hammer et al. (2001) được để phân tích thống kê và so sánh mức độ tương đồng và sai khác giữa các loài có sự tương đồng cao về hình thái ở Việt Nam

- Kiểm định ANOVA được sử dụng để so sánh giữa các quần thể của loài *Paramesotriton deloustali* và giữa các loài thuộc giống *Tylototriton* tại Việt Nam

- Phân tích sinh học phân tử được thực hiện tại Phòng bảo tồn Thiên nhiên-Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, Phòng Hệ gen học miễn dịch, Viện Nghiên cứu hệ gen.

- Mẫu tách chiết DNA được sử dụng bộ kit Qiagen, Đức. Qui trình real-time PCR, mỗi sử dụng cho từng họ là khác nhau; Mẫu vật sử dụng trong phân tích di truyền được trích dẫn nguồn tham khảo.

- Phương pháp nghiên cứu được phối hợp với các chuyên gia Bỉ được hỗ trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số FWO.106NN.2015.02 và mã số 106.05-2019.334; Dự án (GOF3816N) của Quỹ Nghiên cứu-Flanders (FWO), Vương quốc Bỉ.

### **Chương 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU**

#### **3.1. Đa dạng thành phần loài trong 4 họ Cóc tía, Cóc mắt, Éch cây và Cá cóc**

##### **3.1.1. Danh mục các loài ghi nhận**

Dựa vào kết quả phân tích 234 mẫu, chúng tôi đã ghi nhận 41 loài thuộc 4 họ, 2 bộ. Trong đó 1 loài thuộc họ Cóc tía, 13 loài thuộc họ Cóc mắt, 19 loài thuộc họ Éch cây, 8 loài thuộc họ Cá cóc (Bảng 3.1).

Trong đó, có 6 loài ở mức EN (Nguy cấp) thuộc SDVN (2007); Có 8 loài thuộc Danh lục Đỏ IUCN (2024); Có 8 loài thuộc phụ lục II CITES 2022; Có 8 loài thuộc ND 84/2021/ND-CP.

Trong danh sách thành phần loài ghi nhận các loài: *Brachytarsophrys* cf. *feae* (theo Poyarkov et al. 2023; He et al. 2024), *Kurixalus* cf. *bisacculus* (theo Nguyen et al. 2020, Mo et al., 2023), *Raorchestes* cf. *parvulus* (theo Du et al., 2024), *Rhacophorus* cf. *napoensis* Li, Liu, Yu & Sun, 2022 (theo Li et al. 2022; Nguyen et al. 2024) là những loài có phân bố rộng ở Việt Nam và các nước lân cận cũng như có tình trạng phân loài còn nhiều phức tạp. Nghiên cứu sinh vẫn đang tiếp tục thu thập dữ liệu hình thái và sinh học phân tử bổ sung, để có những nghiên cứu chuyên sâu hơn về các nhóm loài phức tạp này.

**Bảng 3.1.** Danh sách thành phần loài lưỡng cư ở khu vực nghiên cứu.  
(Ghi chú: \* ghi nhận mới vùng phân bố; \*\* ghi nhận loài mới cho khoa học)

STT	Tên Việt Nam	Tên khoa học	Địa điểm thu mẫu
	<b>BỘ KHÔNG ĐUÔI</b>	<b>ANURA Fischer von Waldheim, 1813</b>	
	<b>Họ cóc tía</b>	<b>Bombinatoridae (Gray, 1825)</b>	
1	Cóc tía	<i>Bombina microdeladigitora</i> (Liu, Hu & Yang, 1960)	Lai Châu, Lào Cai
	<b>Họ cóc mắt</b>	<b>Megophryidae (Bonaparte, 1850)</b>	
2	Cóc mắt lớn	<i>Atympanophrys gigantea</i> (Liu, Hu & Yang, 1960)	Lai Châu
3	Cóc mắt cao bằng	<i>Boulenophrys caobangensis</i> (Nguyen, Pham, Nguyen, Luong & Ziegler, 2020)	Cao Bằng
4	Cóc mắt jingdong	<i>Boulenophrys jingdongensis</i> (Fei & Ye, 1983)*	Lào Cai, Lai Châu
5	Cóc mắt đuôi đỏ	<i>Boulenophrys rubrimera</i> (Tapley, Cutajar, Mahony, Nguyen, Dau, Nguyen, Luong & Rowley, 2017)*	Lai Châu, Lào Cai
6	Cóc mây phê	<i>Brachytarsophrys cf. feae</i> (Boulenger, 1887)	Cao Bằng
7	Cóc mây na hang	<i>Leptobranchella nahangensis</i> (Lathrop, Murphy, Orlov & Ho, 1998)*	Hà Giang
8	Cóc mây đêm khuya	<i>Leptobranchella nyx</i> (Ohler, Wollenberg, Grosjean, Hendrix, Vences, Ziegler & Dubois, 2011)	Hà Giang
9	Cóc mây sung	<i>Leptobranchella sungi</i> (Lathrop, Murphy, Orlov & Ho, 1998) *	Hà Giang
10	Ếch gai hàm sa pa	<i>Leptobranchium ailaonicum</i> (Yang, Chen & Ma, 1983) *	Lai Châu
11	Cóc núi gót	<i>Ophryophryne gerti</i> (Ohler, 2003)	Đắk Lắk, Gia Lai

STT	Tên Việt Nam	Tên khoa học	Địa điểm thu mẫu
12	Cóc núi han-x	<i>Ophryophryne hansii</i> (Ohler, 2003)	Gia Lai, Kon Tum
13	Cóc núi miệng nhỏ	<i>Ophryophryne microstoma</i> (Boulenger, 1903)	Kon Tum, Lào Cai, Gia Lai
14	Cóc mắt mẫu sơn	<i>Xenophrys maosonensis</i> (Bourret, 1937)	Vĩnh Phúc, Lào Cai, Nghệ An
	<b>Họ ếch cây</b>	<b>Rhacophoridae (Hoffman, 1932 (1858))</b>	
15	Nhái cây chân mảnh	<i>Gracixalus gracilipes</i> (Bourret, 1937)	Lai Châu, Cao Bằng
16	Nhái cây sa pa	<i>Gracixalus sapaensis</i> Matsui, Ohler, Eto & Nguyen, 2017	Lai Châu
17	Ếch cây tay-lơ	<i>Kurixalus cf. bisacculus</i> (Taylor, 1962)	Lai Châu
18	Nhái cây hải nam	<i>Kurixalus hainanus</i> (Zhao, Wang & Shi, 2005)	Cao Bằng, Hà Giang
19	Ếch cây hồng không	<i>Polypedates megacephalus</i> (Hallowell, 1861)	Cao Bằng, Hà Giang
20	Ếch cây mi-an-ma	<i>Polypedates mutus</i> (Smith, 1940)	Cao Bằng
21	Nhái cây tí hon	<i>Raorchestes cf. parvulus</i> (Boulenger, 1893)	Lai Châu, Cao Bằng
22	Ếch cây trung bộ	<i>Rhacophorus annamensis</i> Smith, 1924	Đồng Nai
23	Ếch cây he-len	<i>Rhacophorus helenae</i> Rowley, Tran, Hoang & Le, 2012	Đồng Nai
24	Ếch cây ki-ô	<i>Rhacophorus kio</i> Ohler & Delorme, 2006*	Cao Bằng, Bắc Kạn
25	Ếch cây óc-lop	<i>Rhacophorus orlovi</i> Ziegler & Köhler, 2001*	Hà Giang, Bắc Kạn
26	Ếch cây na pha	<i>Rhacophorus cf. napoensis</i> Li, Liu, Yu & Sun, 2022	Lai Châu
27	Ếch cây sần hà khẩu	<i>Theloderma hekouense</i> Du, Wang, Liu & Yu, 2022*	Cao Bằng
28	Ếch cây sần khô	<i>Theloderma khoii</i> Ninh, Nguyen, Nguyen, Hoang, Siliyavong, Nguyen, Le, Le & Ziegler, 2022**	Hà Giang
29	Ếch cây lưng xanh	<i>Zhangixalus dorsovireidis</i> (Bourret, 1937)	Lai Châu

STT	Tên Việt Nam	Tên khoa học	Địa điểm thu mẫu
30	Ếch cây duy-boa	<i>Zhangixalus duboisi</i> (Ohler, Marquis, Swan & Grosjean, 2000)	Lai Châu
31	Ếch cây phê	<i>Zhangixalus feae</i> (Boulenger, 1893)	Lai Châu
32	Ếch cây lớn	<i>Zhangixalus pachyproctus</i> (Yu, Hui, Hou, Wu, Rao & Yang, 2019)	Bắc Kạn
33	Ếch cây pueren	<i>Zhangixalus puerensis</i> (He, 1999) *	Lai Châu, Cao Bằng
<b>BỘ CÓ ĐUÔI</b>		<b>CAUDATA Fischer von Waldheim, 1813</b>	
<b>Họ cá cóc</b>		<b>Salamandridae (Goldfuss, 1820)</b>	
34	Cá cóc tam đảo	<i>Paramesotriton deloustali</i> (Bourret, 1934)	Sơn La
35	Cá cóc quảng tây	<i>Paramesotriton quangxiensis</i> (Huang, Tang & Tang, 1983)	Cao Bằng
36	Cá cóc gờ sọ mảnh	<i>Tylototriton anguliceps</i> Le, Nguyen, Nishikawa, Nguyen, Pham, Matsui, Bernardes & Nguyen, 2015	Sơn La
37	Cá cóc sần pasmas	<i>Tylototriton pasmansii</i> Bernardes, Le, Nguyen, Pham, Pham, Nguyen & Ziegler, 2020	Hòa Bình
38	Cá cóc sần sparreboommi	<i>Tylototriton sparreboomii</i> Bernardes, Le, Nguyen, Pham, Pham, Nguyen & Ziegler, 2020	Lai Châu
39	Cá cóc sần thái	<i>Tylototriton thaiorum</i> Poyarkov, Nguyen & Arkhipov, 2021	Nghệ An
40	Cá cóc việt nam	<i>Tylototriton vietnamensis</i> Böhme, Schöttler, Nguyen & Köhler, 2005	Bắc Giang
41	Cá cóc zig-lơ	<i>Tylototriton ziegleri</i> Nishikawa, Matsui & Nguyen, 2013	Cao Bằng

### 3.1.2. Phát hiện mới

- Loài mới cho khoa học

Loài Éch cây sần khô *Theلودerma khoii*, với mẫu chuẩn được thu tại huyện Quán Bạ, Hà Giang.

- Ghi nhận mới cho các tỉnh

Trong số 13 loài thuộc họ Cóc mắt và 19 loài thuộc họ Éch cây, kết hợp phương pháp phân tích di truyền và phân tích hình thái chúng tôi đã mô tả ghi nhận 5 loài thuộc họ Cóc mắt ghi nhận vùng phân bố mới cho tỉnh Hà Giang và tỉnh Lai Châu; 4 loài thuộc họ Éch cây ghi nhận vùng phân bố mới cho tỉnh Hà Giang, tỉnh Bắc Kạn và tỉnh Cao Bằng (Bảng 3.2).

**Bảng 3.2.** Ghi nhận vùng phân bố mới.

	Tên khoa học	Vùng phân bố mới
Họ Cóc mắt	<i>Boulenophrys jingdongensis</i>	Lai Châu
	<i>Boulenophrys rubrimera</i>	Lai Châu
	<i>Leptobranchella nahangensis</i>	Hà Giang
	<i>Leptobranchella sungi</i>	Hà Giang
	<i>Leptobranchium ailaonicum</i>	Lai Châu
Họ Éch cây	<i>Rhacophorus kio</i>	Bắc Kạn
	<i>Rhacophorus orlovi</i>	Hà Giang
	<i>Theلودerma hekouense</i>	Cao Bằng
	<i>Zhangixalus puerensis</i>	Cao Bằng

Phân tích các mẫu vật mới thu thập và các mẫu lưu trữ, chúng tôi cung cấp dẫn liệu mới của các loài lưỡng cư có đuôi và các loài lưỡng cư không đuôi ghi nhận mới ở các khu vực nghiên cứu bao gồm. Các loài ghi nhận vùng phân bố mới được mô tả chi tiết trong luận án. Trong tóm tắt luận án, tác giả chỉ mô tả đại diện loài mới cho khoa học:

**Éch cây sần khô-*Theلودerma khoii* Ninh, Nguyen, Nguyen, Hoang, Siliyavong, Nguyen, Le, Le & Ziegler, 2022**

Mẫu vật nghiên cứu (n=02): 01 mẫu đực (VNMN 012757) và 01 mẫu cái (VNMN 012758) thu ở Hà Giang.

Kích thước: Con đực SVL 52,2 mm, HW 19,7 mm, HL 19,7 mm, ED 4,6 mm; con cái SVL 59,4 mm, HW 20,7 mm, HL 21,5 mm, ED 5,6 mm

Đặc điểm nhận dạng: Kích thước cơ thể trung bình; chiều dài đầu bằng chiều rộng đầu; Chi trước không có màng bơi, mút ngón tay nở rộng thành đĩa bám, có củ bàn lớn ở ngón cái, có nốt sần dưới ngón tay. Chi sau có màng bơi một phần, mút ngón chân nở rộng thành đĩa bám, củ bàn trong lớn, hình bầu dục, có nốt sần dưới ngón chân.

*Da:* Mặt lưng và mặt trên các chi sần, có các đường gờ lớn không đều, xếp đôi vứng mở vùng đốt sống giữa, có một tuyến sừng lớn, rõ rệt phía sau đầu hình chữ X; xung quanh màng nhĩ có các nốt sần nhỏ, có 4 - 5 nốt sần to ở phía sau.

*Màu sắc mẫu sống:* Mặt lưng màu xanh rêu hoặc màu ô liu nhạt xen lẫn màu xanh rêu; đầu các gờ và nốt sần trên da có màu nâu đỏ; mặt bên có hoa văn màu nâu sẫm rõ nét, ở bụng có dải màu xanh vàng; bụng đen, kích thước không đều, có hoa văn màu xanh vàng và có vài mụn cóc màu kem; đồng tử màu đen, móng mắt màu xanh vàng với các đường lưới màu đen không đều; màng nhĩ màu ô-liu sẫm.

Loài *T. khoii* hiện chỉ ghi nhận phân bố ở Hà Giang, Việt Nam và Vân Nam, Trung Quốc.

Một số đặc điểm sinh thái: loài *T. khoii* được tìm thấy vào ban đêm ở lối vào hang nhỏ vách đá, nằm sâu trong dãy núi đá vôi cách suối nước chảy chậm khoảng 5–6 m, xung quanh tầng cây thấp rậm xen với cây gỗ trong rừng thứ sinh.

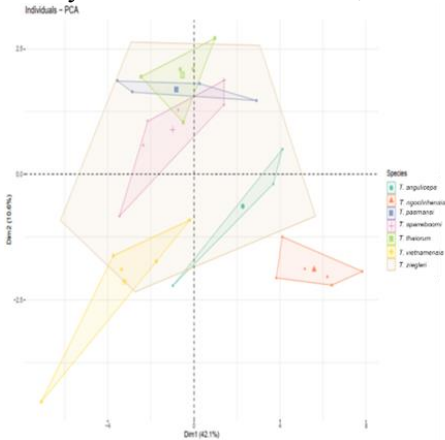
### 3.1.3. So sánh tương quan hình thái giữa các loài thuộc họ Cá cóc

+ So sánh hình thái giữa loài cá cóc thuộc giống *Tylototriton*

Trong phân tích thành phần chính PCA (Principal Component Analysis) về hình thái của một số loài cá cóc thuộc giống *Tylototriton* ở Việt Nam. Cụ thể, loài *T. ziegleri* có hình thái vượt trội hơn hẳn so với các loài còn lại do kích thước cơ thể lớn hơn (Hình 3.2). Phân tích PCA ghi nhận sự đồng nhất về sai khác hình thái, cụ thể loài *T. angulices* tách biệt với nhánh gồm các loài còn lại về mặt hình thái (theo cả 2 chiều giá trị Dim1 và Dim2 trong phân tích PCA-Phần trăm sai khác phương sai với thành phần chính giá trị Dim1 và Dim2) (Hình 3.1). Ngoài ra, 3 loài *T. sparreboomi*, *T. pasmansii* và *T. thaiorum* có quan hệ gần gũi về di truyền và được nhóm vào cùng 1 không gian hình thái nhất định trong phân tích PCA. Sự tách biệt của loài *T. vietnamensis* theo chiều Dim2 giải thích phần



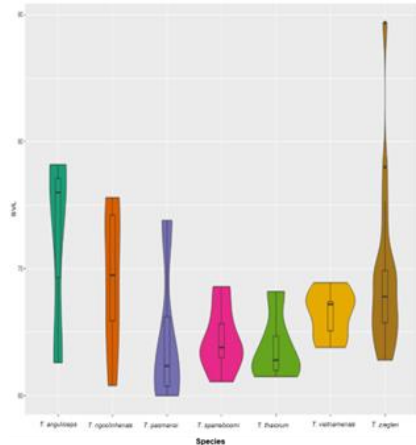
nào sự khác biệt về mặt di truyền với nhánh trong cây phát sinh không chứa loài *T. angulipes*. Quần thể ghi nhận tại Kon Tum được ghi nhận là loài mới *T. ngoclinhensis* thì số liệu hình thái trong phân tích PCA cho thấy là chúng có không gian hình thái gần tương đồng với loài *T. angulipes*. Có thể tách biệt hoàn toàn so với các loài còn lại được ghi nhận trước đây tại Việt Nam và đây là loài mới cho khoa học.



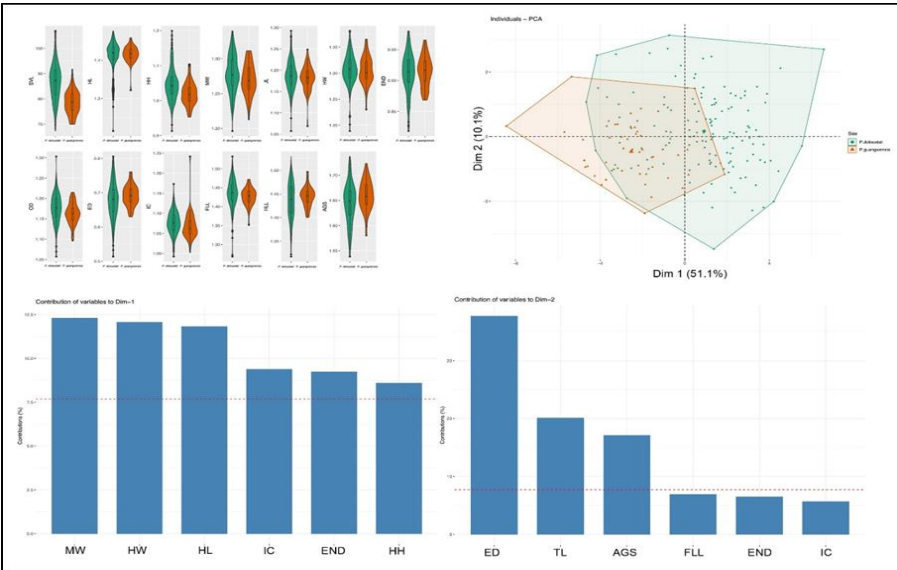
**Hình 3.1.** Tương quan hình thái giữa các loài Cá cóc thuộc giống *Tylototriton* ở Việt Nam

+ So sánh hình thái giữa loài cá cóc thuộc giống *Paramesotriton*

Sự khác biệt ghi nhận ở các đặc điểm như chiều dài thân (SVL), dài đuôi (TL), cao đầu (HH), rộng miệng (MW), chiều dài chi (FLL) và (HLL), và chiều dài bụng (AGS) của loài *P. deloustali* lớn hơn rất nhiều so với các đặc điểm hình thái tương ứng của loài cá cóc *P. quangxiensis* ( $P_{\text{values}} < 0,05$ ) (Hình 3.3).



**Hình 3.2.** Tương quan chiều dài cơ thể giữa các loài Cá cóc thuộc giống *Tylototriton* ở Việt Nam



**Hình 3.3.** So sánh các đặc điểm hình thái giữa loài *P. deloustali* và *P. quangxiensis* (trái trên); Phân tích PCA mô tả không gian hình thái giữa 2 loài (phải trên); Phần trăm giải thích sự khác biệt phương sai của Dim 1 (trái dưới); của Dim 2 (phải dưới) trong phân tích PCA.

### 3.1.4. Quan hệ di truyền của các loài trong họ Cá cóc

#### *Quan hệ di truyền giữa các loài thuộc giống Tylototriton*

Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng hai dạng cây di truyền BI và ML được xây dựng dựa trên hai phương pháp có hình dạng tương tự nhau, giá trị  $-LnI$  mỗi mô hình là 3856,384 và 3654,6155, giá trị anpha đối với cây BI là 0,361 và giá trị Gama với cây ML là 0,3629. Về khoảng cách di truyền giữa các quần thể của 7 loài: *T. ngoclinhensis*, *T. anguliceps*, *T. pasmansii*, *T. sparreboomi*, *T. thailorum*, *T. vietnamensis* và *T. ziegleri*, hiện ghi nhận phân bố ở Việt Nam nhỏ hơn 12,80%. Riêng loài *T. ziegleri* có sai khác di truyền giữa một mẫu vật KY800889 với các cá thể còn lại đạt 2,70%.

#### *Quan hệ di truyền giữa các loài thuộc giống Paramesotriton*

Nghiên cứu sử dụng 2 đoạn gen ty thể (16S và ND2) để đánh giá mối quan hệ di truyền giữa các quần thể cá cóc bụng hoa ghi nhận tại Việt Nam. Kết quả cho thấy, cả 2 phân tích ML và BI đều cho ra kết quả giống nhau với sự tách biệt của 2 nhánh của hai loài *P. deloustali* và *P. quangxiensis*.

Nghiên cứu so sánh sự khác biệt về di truyền giữa hai loài Cá cóc quảng tây ghi nhận tại Việt Nam dao động trong khoảng từ 0,00–0,56%.

### **3.2. Tình trạng nhiễm nấm trên các loài lưỡng cư ở Việt Nam**

#### **3.2.1. Phân bố của các chủng nấm**

Nghiên cứu tiến hành khảo sát tại 106 điểm lấy mẫu thuộc 14 tỉnh khác nhau. Tổng cộng 848 mẫu được thu trên các loài lưỡng cư để kiểm tra sự xuất hiện của 2 chủng nấm *Bd* và *Bsal*, trong đó 137 mẫu với 1 loài thu trên họ Cóc tía, 44 mẫu thu trên 12 loài thuộc họ Cóc mắt, 84 mẫu thu trên 16 loài thuộc họẾch cây và 583 mẫu thu trên 8 loài thuộc họ Cá cóc.

##### *Phân bố của chủng nấm Bd tại Việt Nam*

Nghiên cứu ghi nhận dương tính của chủng nấm *Bd* tại huyện Bảo Lạc (Cao Bằng).

##### *Thành phần loài lưỡng cư ghi nhận chủng nấm Bd tại Việt Nam*

Trong nghiên cứu này chỉ ghi nhận chủng nấm *Bd* dương tính với 04 cá thể/ 30 mẫu thu được thuộc duy nhất một loài cá cóc *Tylototriton ziegleri* tại tỉnh Cao Bằng.

##### *Phân bố của chủng Bsal tại Việt Nam*

Trong nghiên cứu này, đây là lần đầu tiên ghi nhận chủng nấm *Bsal* tại Việt Nam. Cụ thể, ghi nhận dương tính của chủng nấm *Bsal* tại các tỉnh phía Bắc bao gồm: Khu BTTN Tây Yên Tử (Bắc Giang), KBTTN Phu Canh (Hòa Bình), VQG Tam Đảo (Vĩnh Phúc), VQG Ba Bể (Bắc Kạn), huyện Bảo Lạc (Cao Bằng), huyện Quảng Bạ (Hà Giang), huyện Văn Bàn, (Lào Cai), huyện Sapa (Lào Cai).

##### *Thành phần loài lưỡng cư ghi nhận nhiễm nấm Bsal tại Việt Nam*

Nghiên cứu ghi nhận chủng nấm *Bsal* trên 2 họ lưỡng cư gồm: Cóc tía và Cá cóc. Đây là lần đầu tiên ghi nhận *Bsal* trên Cóc tía tại Việt Nam.

Chủng nấm *Bsal* được ghi nhận trên các loài Cá cóc thuộc cả 2 giống: *Paramesotriton* và *Tylototriton* tại Việt Nam (Bảng 3.3).

**Bảng 3.3.** Thành phần loài lưỡng cư ghi nhận nhiễm nấm *Bsal* tại Việt Nam.

Tên loài	Địa điểm thu mẫu	Số điểm lấy mẫu	Mẫu lấy	Số mẫu dương tính <i>Bsal</i>	Tỷ lệ nhiễm <i>Bsal</i> (%)
<i>B. microdeladigitora</i>	Lào Cai	4	137	18	<b>13,14%</b>
<i>Họ Cóc mắt</i>	-	18	44	-	0,00%
<i>HọẾch cây</i>	-	29	84	-	0,00%
<i>T. vietnamensis</i>	Bắc Giang	11	184	3	<b>1,60%</b>
<i>T. vietnamensis</i>	Quảng Ninh	2	11	-	0,00%
<i>T. vietnamensis</i>	Lạng Sơn	1	12	-	0,00%
<i>T. zieglerei</i>	Bảo Lạc, Cao Bằng	4	30	2	<b>6,70%</b>
<i>T. zieglerei</i>	Nguyên Bình, Cao Bằng	1	8	-	0,00%
<i>T. zieglerei</i>	Bắc Mê, Hà Giang	2	13	-	0,00%
<i>T. zieglerei</i>	Quản Bạ, Hà Giang	9	33	2	<b>6,10%</b>
<i>T. zieglerei</i>	Bắc Quang, Hà Giang	2	26	-	0,00%
<i>T. sparreboomi</i>	Lai Châu	4	17	-	0,00%
<i>T. pasmansii</i>	Sơn La	1	8	-	0,00%
<i>T. asperimus</i>	Hòa Bình	7	46	3	<b>0,65%</b>
<i>P. guanxiensis</i>	Cao Bằng	4	54	-	0,00%
<i>P. deloustali</i>	Bắc Kạn	2	62	1	<b>1,60%</b>
<i>P. deloustali</i>	Lào Cai	4	61	4	<b>6,60%</b>
<i>P. deloustali</i>	Vĩnh Phúc	1	18	2	<b>11,10%</b>
<b>8 loài</b>		<b>59</b>	<b>720</b>	<b>35</b>	<b>0,65%–13,14%</b>

### 3.2.2. Tình trạng nhiễm nấm trên các loài lưỡng cư

#### *Tình trạng nhiễm nấm ở họ Cóc tía*

Tổng số 137 mẫu được tiến hành để kiểm tra các mẫu nhiễm nấm trên loài Cóc tía tại tỉnh Lào Cai.

Kết quả của nghiên cứu lần đầu tiên ghi nhận chủng nấm *Bsal* xuất hiện trên bộ lưỡng cư không đuôi tại Việt Nam, cụ thể trên loài Cóc tía với tỷ lệ nhiễm nấm thấp.

#### *Tình trạng nhiễm nấm ở họ Cóc mắt*

Trong tổng số 44 mẫu được thực hiện để kiểm tra các mẫu nhiễm nấm trên các cá thể 12 loài thuộc họ Cóc mắt. Kết quả không ghi nhận mẫu nào trong nghiên cứu này dương tính với cả 2 chủng nấm *Bsal* và *Bd* trên họ Cóc mắt.

#### *Tình trạng nhiễm nấm ở họẾch cây*

Tổng 84 mẫu được tiến hành để kiểm tra các mẫu nhiễm nấm của 16 loài thuộc họẾch cây.

Kết quả không ghi nhận mẫu nào trên các loàiẾch cây trong nghiên cứu này dương tính với cả hai chủng nấm *Bsal* và *Bd*.

#### *Tình trạng nhiễm nấm ở họ Cá cóc*

Tổng cộng 195 mẫu được tiến hành để kiểm tra mẫu nhiễm nấm trên của 02 loài Cá cóc bụng hoa thuộc giống *Paramesotriton* nghiên cứu ghi nhận tổng cộng 07 cá thể loài *P. deloustali* dương tính với chủng nấm *Bsal*.

**Bảng 3.4.** Tình trạng nhiễm nấm *Bd* và *Bsal* trên các loài Cá cóc thuộc giống *Paramesotriton* tại Việt Nam

Tên loài	Địa điểm thu mẫu	Số điểm lấy mẫu	Khoảng nhiệt độ (°C)	Mẫu lấy	Số mẫu dương tính <i>Bsal</i>	Số mẫu dương tính <i>Bd</i>	Tỷ lệ nhiễm <i>Bsal</i>	Tỷ lệ nhiễm <i>Bd</i>
<i>P. guangxiensis</i>	Cao Bằng	4	20,60–22,97	54	-	-	0,00%	0,00%
<i>P. deloustali</i>	Bắc Kạn	2	21,20–22,47	62	1	-	<b>1,60%</b>	0,00%
<i>P. deloustali</i>	Lào Cai	4	20,50–22,07	61	4	-	<b>6,60%</b>	0,00%
<i>P. deloustali</i>	Vĩnh Phúc	1	18,80	18	2	-	<b>11,10%</b>	0,00%
<b>02 loài</b>	<b>Tổng</b>	<b>11</b>	<b>18,80–22,97</b>	<b>195</b>	<b>7</b>	<b>0</b>	<b>1,60%–11,10%</b>	0,00%

Tổng cộng 388 mẫu được tiến hành để kiểm tra nhiễm nấm trên các cá thể của 05 loài Cá cóc thuộc giống *Tylototriton* (Bảng 3.5).

**Bảng 3.5.** Tình trạng nhiễm nấm *Bd* và *Bsal* trên các loài Cá cóc thuộc giống *Tylototriton* tại Việt Nam.

Tên loài	Địa điểm thu mẫu	Số điểm lấy mẫu	Khoảng nhiệt độ (°C)	Mẫu lấy	Số mẫu dương tính <i>Bsal</i>	Số mẫu dương tính <i>Bd</i>	Tỷ lệ nhiễm <i>Bsal</i>	Tỷ lệ nhiễm <i>Bd</i>
<i>T. vietnamensis</i>	Bắc Giang	11	22,70–24,80	184	3	-	<b>1,60%</b>	0,00%
<i>T. vietnamensis</i>	Quảng Ninh	2	23,80–24,90	11	-	-	0,00%	0,00%
<i>T. vietnamensis</i>	Lạng Sơn	1	31,90	12	-	-	0,00%	0,00%
<i>T. zieglerei</i>	Bảo Lạc, Cao Bằng	4	16,07–22,53	30	2	4	<b>6,70%</b>	<b>13,30%</b>
<i>T. zieglerei</i>	Nguyên Bình, Cao Bằng	1	19,57	8	-	-	0,00%	0,00%
<i>T. zieglerei</i>	Hà Giang	2	18,70–19,70	13	-	-	0,00%	0,00%
<i>T. zieglerei</i>	Quản Bạ, Hà Giang	9	16,37 – 20,73	33	2	-	<b>6,10%</b>	0,00%
<i>T. zieglerei</i>	Bắc Quang, Hà Giang	2	21,60 – 23,37	26	-	-	0,00%	0,00%
<i>T. sparreboomi</i>	Lai Châu	4	18,53 – 23,90	17	-	-	0,00%	0,00%
<i>T. pasmansii</i>	Sơn La	1	20,60	8	-	-	0,00%	0,00%
<i>T. asperrimus</i>	Hòa Bình	7	20,07 – 26,43	46	3	-	<b>6,50%</b>	0,00%
<b>05 loài</b>	<b>Tổng</b>	<b>44</b>	<b>16,37–31,90</b>	<b>388</b>	<b>10</b>	<b>4</b>	<b>1,60–6,70%</b>	<b>13,30%</b>

Nhận xét:

- Nghiên cứu tiến hành quan sát chi tiết các biểu hiện trên bề mặt da và mắt của các cá thể thuộc các họ Cóc tía, Cóc mắt,Ếch cây và Cá cóc, nhằm đánh giá lâm sàng các mẫu dương tính với chủng nấm. Kết quả cho thấy,

các cá thể dương tính với 2 chủng nấm *Bd* và *Bsal* không có biểu hiện khác lạ so với các cá thể không nhiễm nấm. Cụ thể, trên bề mặt da thuộc phần lưng, mặt bụng và mắt không có các tổn thương như các vết trầy xước, lở loét, khô ráp. Toàn bộ các cá thể thu ngoài tự nhiên đều có thể trạng và biểu hiện sức khỏe tốt.

4. Do tỷ lệ nhiễm nấm *Bsal* và *Bd* GPL thấp và mối tương quan giữa các yếu tố môi trường ảnh hưởng đến sự tồn tại của các chủng nấm, nghiên cứu đã cung cấp dữ liệu ghi nhận chủng nấm Chytrid trên các loài lưỡng cư là khác nhau, từ đó xác định được điểm phát hiện nhiễm nấm, trên từng đối tượng, yếu tố môi trường như nhiệt độ đã ảnh hưởng đến sự tồn tại chủng nấm ngoài tự nhiên. Kết quả nghiên cứu cho thấy khi nhiệt độ môi trường tăng lên từ 20,6–24,8°C chỉ ghi nhận chủng nấm *Bsal* với tỷ lệ nhiễm 1,67% trên giống *Tylototriton* và không ghi nhận chủng nấm *Bd*. Ảnh hưởng chủng nấm *Bsal* phổ biến rộng rãi hơn ở miền Bắc Việt Nam. Từ đó cần tiếp tục các nghiên cứu phân tích thêm địa điểm thu mẫu, trên các loài khác nhau, cơ chế lây nhiễm để xác định phạm vi của *Bsal*, *Bd* và đối tượng lây nhiễm

## KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

### KẾT LUẬN

#### Đa dạng thành phần loài

- Ghi nhận 41 loài thuộc 4 họ, 2 bộ ở khu vực nghiên cứu: 1 loài thuộc họ Cóc tía, 13 loài thuộc họ Cóc mắt, 19 loài thuộc họ Ếch cây, 8 loài thuộc họ Cá cóc.

- Mô tả và phát hiện loài mới cho khoa học: - Ếch cây sần khò *Theloderma khoii*.

- Ghi nhận phân bố mới của 9 loài cho các tỉnh: Hà Giang, Lai Châu, Bắc Kạn và Cao Bằng.

- Mô tả tương quan hình thái của các loài thuộc 2 giống *Paramesotriton* và *Tylototriton* thuộc họ Cá cóc.

- Sử dụng 2 đoạn gen ty thể 16S và ND2 để đánh giá mối quan hệ di truyền của 8 loài *Tylototriton pasmansi*, *T. ngoclinensis*, *T. sparreboomi*, *T. thaiorum*, *T. vietnamensis*, *T. zieglerei*, *T. ngoclinensis* và *T. anguliceps* thuộc giống *Tylototriton*; Mối quan hệ di truyền giữa 2 quần thể *Paramesotriton deloustali* và *P. quangxiensis* thuộc giống *Paramesotriton* ghi nhận tại Việt Nam.

#### Tình trạng nhiễm nấm

- Kết quả nghiên cứu lần đầu tiên ghi nhận chủng nấm *Bsal* ở Việt Nam, cụ thể trên các loài thuộc 2 họ Cóc tía (tỷ lệ nhiễm 23,75%) và Cá cóc (các loài thuộc giống *Paramesotriton* tỷ lệ nhiễm từ 1,60–11,10%, các loài thuộc giống *Tylototriton* tỷ lệ nhiễm từ 1,60–6,70%.

- Tổng số 848 mẫu được thu trên các loài lưỡng cư ở các môi trường khác nhau (trên cây, dưới nước, trên cạn và vùng ẩm ướt), đã ghi nhận 2 họ Cóc tía (19/137) và Cá cóc (21/583) dương tính với cả 2 chủng nấm *Bd* và *Bsal*; không ghi nhận chủng nấm *Bd* và *bsal* trên 2 họ Cóc mắt (0/44) và Ếch cây (0/84) cụ thể:

- Với giống *Tylototriton* chỉ ghi nhận chủng nấm *Bd* trên 4 cá thể thuộc loài *T. zieglerei* tại Cao Bằng. Chủng nấm *Bsal*: 3 cá thể loài *T.*



*vietnamensis* tại tỉnh Bắc Giang; 2 cá thể loài *T. zieglerei* tại Cao Bằng, 2 cá thể *T. zieglerei* tại Hà Giang; 3 cá thể *T. asperimus* tại Hòa Bình.

- Với giống *Paramesotriton* ghi nhận chủng nấm *Bsal* trên các loài *P. deloustali* cụ thể: 1 cá thể thu tại Bắc Kạn, 4 cá thể thu tại Lào Cai và 2 cá thể thu tại Vĩnh Phúc.

- Nghiên cứu cho thấy ở môi trường sinh sống của các loài lưỡng cư ẩm ướt và dưới nước đã ghi nhận chủng nấm *Bd* và *Bsal* trên 2 họ Cóc tía và Cá cóc. Đây là 2 dạng môi trường có nguy cơ cao là nguồn lây lan chủng nấm *Bd* và *Bsal* ngoài tự nhiên.

#### KIẾN NGHỊ

- Do có nhiều đặc điểm hình thái giống nhau, tương đồng giữa các cá thể trong quần thể vì vậy cần tiếp tục nghiên cứu các loài đồng hình, phân loại học các loài thuộc họ Cóc mắt,Ếch cây và Cá cóc; cũng như mở rộng nghiên cứu phân loại học ở các họ, các vùng phân bố khác nhau.

- Dựa trên kết quả nghiên cứu, ngoài họ Cóc tía và Cá cóc tương ứng với 2 dạng môi trường ẩm ướt và môi trường nước ghi nhận nhiễm nấm. Tiếp tục nghiên cứu đánh giá tình trạng nhiễm nấm trên 2 họ Cóc mắt vàẾch cây, mở rộng nghiên cứu trên các quần thể và môi trường sinh cảnh sống ở các khu vực khác nhau ngoài tự nhiên.

- Kết quả nghiên cho thấy yếu tố nhiệt độ ảnh hưởng đến khả năng nhiễm nấm của các quần thể Cóc tía, Cá cóc (tỷ lệ nhiễm nấm giảm khi nhiệt độ môi trường tăng lên). Từ đó tiếp tục nghiên cứu các yếu tố điều kiện môi trường: sinh cảnh sống khác nhau, yếu tố vi khí hậu ảnh hưởng đến sự lây lan chủng nấm ngoài tự nhiên.

- Nghiên cứu chu trình sinh học của chủng nấm và giải trình tự gen trong điều kiện phòng thí nghiệm ở Việt Nam.

- Bảo tồn các loài quý hiếm, có giá trị thuộc họ Cóc tía, Cóc mắt,Ếch cây và Cá cóc trong SDVN, NĐ84/2021/NĐ-CP, IUCN 2024, CITES 2022, tại khu vực nghiên cứu và mở rộng ra các vùng khác ở Việt Nam;

- Dựa trên kết quả của nghiên cứu về tình trạng nhiễm nấm trên họ Cóc tía là một trong 4 họ lưỡng cư và là các loài trong danh lục quý hiếm,

đặc hữu cần được bảo tồn ở Việt Nam. Từ đó cho thấy cần thiết việc kiểm soát việc vận chuyển, buôn bán các loài động vật làm sinh vật cảnh đó là nguy cơ lây lan dịch bệnh, ảnh hưởng trực tiếp đến các quần thể ngoài tự nhiên.

## **NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN**

- Phát hiện và ghi nhận phân bố mới:

+ Nghiên cứu này góp phần mô tả một loài Ếch cây mới cho khoa học: Ếch cây sần khôi (*Theلودerma khoii*).

+ Nghiên cứu lần đầu tiên ghi nhận chủng nấm *Bsal* trên họ Cóc tía và Cá cóc ở Việt Nam.

+ Ghi nhận phân bố mới của 9 loài gồm 2 họ:

Họ Cóc mắt: *Boulenophrys jingdongensis*, *B. rubrimera*, *Leptobrachium ailaonicum* (cho tỉnh Lai Châu); *Leptobrachella nahangensis*, *L. sungi* (cho tỉnh Hà Giang).

Họ Ếch cây: *Rhacophorus orlovi* (cho tỉnh Hà Giang); *Rhacophorus kio* (cho tỉnh Bắc Kạn); *Theلودerma hekouense*, *Zhangixalus puerensis* (cho tỉnh Cao Bằng).

- Cung cấp dẫn liệu về tình trạng nhiễm nấm *Bsal* và *Bd* gây bệnh trên 4 họ lưỡng cư ngoài tự nhiên ở Việt Nam, đặc biệt lần đầu tiên ghi nhận chủng nấm *Bsal* trên 2 họ: Cóc tía và Cá cóc ngoài tự nhiên ở KVNC.

**DANH MỤC CÁC BÀI BÁO ĐÃ XUẤT BẢN**  
**LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN**

1. Tao Thien Nguyen, **Thinh Van Nguyen**, Thomas Ziegler, Frank Pasmans, An Martel (2017). Trade in wild anurans vectors the urodelan pathogen *Batrachochytrium salamandrivorans* into Europe. *Amphibia-Reptilia*, 38(4): pp. 554-556.
2. **Nguyen Van Thinh**, Nguyen Thien Tao, Luong Mai Anh, Pham The Cuong, Nguyen Quang Truong, (2021). New records of three species of treefrogs (Rhacophoridae: Amphibia) from Northeastern Vietnam, *HNUE Journal of Science*, 66(3): pp. 153-160.
3. Ninh, H. T., Nguyen, T. T., Nguyen, H. Q., Hoang, N. V., Siliyavong, S., **Nguyen, T. V.**, Le, D. T., Le, Q. K., & Ziegler, T. (2022). A new species of mossy frog (Anura: Rhacophoridae) from Northeastern Vietnam. *European Journal of Taxonomy*, 794(1): pp. 72–90.
4. **Nguyễn Văn Thịnh**, Ninh Thị Hòa, Nguyễn Thị Ngần, Nguyễn Thiên Tạo, Đỗ Hữu Dũng, Phạm Thế Cường, Phạm Văn Anh, Ngô Ngọc Hải, Nguyễn Quảng Trường, Hoàng Văn Chung (2022). Quan hệ di truyền và đặc điểm hình thái các loài cá cóc thuộc giống *Tylototriton* (Amphibia: Caudata) ở Việt Nam. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp*, 5: tr. 40-49.