

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 LƯỢNG CƯ Ở  
VIỆT NAM VÀ TÌNH TRẠNG NHIỄM NẤM  
CỦA CHÚNG**

**LUẬN ÁN TIẾN SĨ SINH HỌC**

*Hà Nội - 2024*

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 LƯỠNG CƯ Ở  
VIỆT NAM VÀ TÌNH TRẠNG NHIỄM NẤM CỦA CHÚNG

LUẬN ÁN TIẾN SĨ SINH HỌC

Ngành: Động vật học

Mã số: 9 42 01 03

Xác nhận của Học viện  
Khoa học và Công nghệ

Người hướng dẫn 1  
(Ký, ghi rõ họ tên)

Người hướng dẫn 2  
(Ký, ghi rõ họ tên)

PGS.TS. Nguyễn Thiên Tạo GS.TS. Thomas Ziegler


Hà Nội - 2024

## LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan luận án: “Nghiên cứu đa dạng một số họ lưỡng cư ở Việt Nam và tình trạng nhiễm nấm của chúng” là công trình nghiên cứu của chính mình dưới sự hướng dẫn khoa học của tập thể Thầy hướng dẫn. Luận án sử dụng thông tin trích dẫn từ nhiều nguồn tham khảo khác nhau và các thông tin trích dẫn được ghi rõ nguồn gốc. Các kết quả nghiên cứu của tôi được công bố chung với các tác giả khác đã được sự nhất trí của đồng tác giả khi đưa vào luận án. Các số liệu, kết quả được trình bày trong luận án là hoàn toàn trung thực và chưa từng được công bố trong bất kỳ một công trình nào khác ngoài các công trình công bố của tác giả. Luận án được hoàn thành trong thời gian tôi làm Nghiên cứu sinh tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

*Hà Nội, ngày 27 tháng 9 năm 2024*

**Tác giả luận án**



**Nguyễn Văn Thịnh**

## LỜI CẢM ƠN

Với lòng biết ơn sâu sắc, tôi xin chân thành cảm ơn PGS.TS. Nguyễn Thiên Tạo và GS.TS. Thomas Ziegler đã tận tình hướng dẫn, giúp đỡ tôi trong suốt quá trình khảo sát thực địa, phân tích số liệu, công bố các công trình khoa học và hoàn thành luận án.

Tôi xin cảm ơn Ban Lãnh đạo, phòng Đào tạo, các phòng chức năng của Học viện Khoa học và Công nghệ; Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam; Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật và Viện Nghiên cứu hệ gen (Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam), đã tạo điều kiện và giúp đỡ tôi trong quá trình học tập và nghiên cứu.

Tôi xin trân trọng cảm ơn GS.TS. Nguyễn Quảng Trường, TS. Phạm Thế Cường, TS. Lương Mai Anh, ThS. Phan Quang Tiến (Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật), PGS.TS. Phạm Văn Anh (Trường Đại học Khoa học Tự nhiên- Đại học Quốc gia Hà Nội), TS. Ninh Thị Hòa, TS. Ngô Ngọc Hải, TS. Bùi Tuấn Hải, ThS. Nguyễn Thị Ngân, ThS. Nguyễn Quốc Huy, CN. Lê Từ Hoàng Linh (Viện Nghiên cứu hệ gen), TS. Hoàng Văn Chung (Viện Điều tra quy hoạch rừng), GS. Frank Pasmans, GS. An Martel (Đại học Ghent, Vương quốc Bỉ) và các bạn bè, đồng nghiệp đã hỗ trợ trong quá trình khảo sát thực địa, phân tích số liệu và hoàn thành luận án.

Tôi xin tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới gia đình và người thân đã hết lòng giúp đỡ, động viên tôi trong suốt thời gian học tập và hoàn thiện luận án.

Đề tài nghiên cứu được hỗ trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số FWO.106-NN.2015.02 và mã số 106.05-2019.334; dự án (GOF3816N) của Quỹ Nghiên cứu-Flanders (FWO), Bỉ.

*Hà Nội, ngày 27 tháng 9 năm 2024*

**Tác giả luận án**



**Nguyễn Văn Thịnh**

## MỤC LỤC

### DANH MỤC BẢNG

### DANH MỤC HÌNH

<b>MỞ ĐẦU .....</b>	<b>1</b>
<b>1. Tính cấp thiết của đề tài .....</b>	<b>1</b>
<b>2. Mục tiêu.....</b>	<b>2</b>
<b>3. Nội dung nghiên cứu .....</b>	<b>3</b>
<b>4. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn.....</b>	<b>3</b>
<b>5. Những đóng góp mới của đề tài .....</b>	<b>4</b>
<b>Chương 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU .....</b>	<b>5</b>
<b>1.1. Lược sử nghiên cứu về đa dạng loài lưỡng cư trên thế giới.....</b>	<b>5</b>
<b>1.2. Lược sử nghiên cứu về đa dạng loài lưỡng cư ở Việt Nam .....</b>	<b>7</b>
1.2.1. Các nghiên cứu về thành phần loài .....	7
1.2.2. Các nghiên cứu về các họ Cóc tía, Cóc mắt,Ếch cây và Cá cóc ở Việt Nam.....	11
<b>1.3. Lược sử nghiên cứu về bệnh nấm trên các loài lưỡng cư.....</b>	<b>16</b>
1.3.1. Tình trạng nhiễm nấm trên các loài lưỡng cư trên thế giới.....	16
1.3.2. Tình trạng nhiễm nấm trên các loài lưỡng cư ở Việt Nam .....	20
1.3.3. Cơ chế gây bệnh của chủng nấm trên các loài lưỡng cư.....	21
<b>Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....</b>	<b>24</b>
<b>2.1. Đối tượng nghiên cứu.....</b>	<b>24</b>
2.1.1. Thời gian và địa điểm nghiên cứu.....	24
2.1.2. Tư liệu nghiên cứu .....	25
<b>2.2. Phương pháp nghiên cứu.....</b>	<b>26</b>
2.2.1. Khảo sát thực địa.....	26
2.2.2. Phương pháp nghiên cứu trong phòng thí nghiệm.....	28
<b>Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN .....</b>	<b>41</b>
<b>3.1. Đa dạng thành phần loài trong 4 họ Cóc tía, Cóc mắt,Ếch cây và Cá cóc</b>	<b>41</b>
3.1.1. Danh mục các loài ghi nhận .....	41
3.1.2. Phát hiện mới .....	50
3.1.3. Đặc điểm hình thái các loài lưỡng cư mới ghi nhận ở khu vực nghiên cứu ...	50
3.1.4. Quan hệ di truyền của các loài thuộc họ Cá cóc .....	75
<b>3.2. Tình trạng nhiễm nấm trên các loài lưỡng cư ở Việt Nam .....</b>	<b>82</b>
3.2.1. Địa điểm và số lượng lấy mẫu nấm trên các loài lưỡng cư.....	82
3.2.2. Ghi nhận của chủng nấm Bd tại Việt Nam .....	83
3.2.3. Thành phần loài lưỡng cư ghi nhận chủng nấm Bd tại Việt Nam .....	84
3.2.4. Ghi nhận của chủng Bsal tại Việt Nam.....	85

3.2.5. Thành phần loài lưỡng cư ghi nhận nhiễm nấm Bsal tại Việt Nam.....	86
3.2.6. Tình trạng nhiễm nấm ở họ Cóc tía .....	88
3.2.7. Tình trạng nhiễm nấm ở họ Cóc mắt .....	90
3.2.8. Tình trạng nhiễm nấm ở họ Éch cây .....	92
3.2.9. Tình trạng nhiễm nấm ở họ Cá cóc .....	95
<b>KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ .....</b>	<b>107</b>
<b>DANH MỤC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN .....</b>	<b>109</b>
<b>DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO.....</b>	<b>110</b>
<b>PHỤ LỤC</b>	
<b>MỘT SỐ HÌNH ẢNH TRONG QUÁ TRÌNH NGHIÊN CỨU</b>	

## DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT

---

CITES	Công ước về buôn bán quốc tế các loài động thực vật hoang dã nguy cấp
cs.	Cộng sự
CR	Cực kì nguy cấp
DNA	Axit đêôxi ribônuclêic
ĐDSH	Đa dạng sinh học
EN	Nguy cấp
<i>et al.</i>	Và những người khác
ICZN	Ủy ban Quốc tế về Danh pháp Động vật
IEBR	Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật
IUCN	Liên minh Quốc tế về Bảo tồn Thiên nhiên
KBTTN	Khu Bảo tồn Thiên nhiên
KVNC	Khu vực nghiên cứu
Max	Giá trị lớn nhất
Mean	Trung bình
Min	Giá trị nhỏ nhất
NT	Gần bị đe dọa
SD	Độ lệch chuẩn
SĐVN	Sách Đỏ Việt Nam
VNMN	Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam
VQG	Vườn Quốc gia
VU	Sẽ nguy cấp
♂	Con đực
♀	Con cái

---

## DANH MỤC BẢNG

Bảng 2.1. Thời gian và địa điểm nghiên cứu. ....	24
Bảng 2.2. Các chỉ số đo hình thái của lưỡng cư không đuôi (đơn vị: mm). ....	29
Bảng 2.3. Các chỉ số đo hình thái của lưỡng cư có đuôi (đơn vị: mm). ....	30
Bảng 2.4. Các môi sử dụng trong nghiên cứu quan hệ di truyền của họ Cóc mắt, họ Ếch cây. ....	34
Bảng 2.5. Các môi sử dụng trong nghiên cứu quan hệ di truyền của họ Cá cóc. ....	35
Bảng 2.6. Danh sách các mẫu vật được sử dụng trong phân tích di truyền giữa các loài thuộc giống <i>Tylototriton</i> . ....	36
Bảng 2.7. Danh sách các mẫu vật được sử dụng trong phân tích di truyền giữa các loài thuộc giống <i>Paramesotriton</i> . ....	38
Bảng 2.8. Các môi sử dụng trong nghiên cứu xác định chủng nấm . ....	40
Bảng 3.1. Danh sách thành phần loài lưỡng cư ở khu vực nghiên cứu. ....	41
Bảng 3.2. Các loài lưỡng cư có giá trị bảo tồn ở khu vực nghiên cứu. ....	49
Bảng 3.3. Ghi nhận vùng phân bố mới cho các tỉnh. ....	50
Bảng 3.4. Số đo của các loài Cá cóc thuộc giống <i>Tylototriton</i> phân bố tại Việt Nam. ....	69
Bảng 3.5. So sánh đặc điểm hình thái của các loài thuộc giống <i>Paramesotriton</i> . ....	73
Bảng 3.6. Khoảng cách di truyền các loài Cá cóc thuộc giống <i>Tylototriton</i> ở Việt Nam. ....	78
Bảng 3.7. Khoảng cách di truyền giữa các loài Cá cóc thuộc giống <i>Paramesotriton</i> ở Việt Nam dựa trên phân tích đoạn 16S. ....	80
Bảng 3.8. Khoảng cách di truyền giữa các loài Cá cóc thuộc giống <i>Paramesotriton</i> ở Việt Nam dựa trên phân tích đoạn ND2. ....	81
Bảng 3.9. Địa điểm và số lượng lấy mẫu nấm trên một số loài lưỡng cư ở Việt Nam. ....	82
Bảng 3.10. Thành phần loài lưỡng cư ghi nhận nhiễm nấm <i>Bsal</i> tại Việt Nam. ....	87
Bảng 3.11. Hiện trạng nhiễm nấm <i>Chytrid</i> của một số loài lưỡng cư thuộc họ Cóc mắt tại khu vực nghiên cứu. ....	90
Bảng 3.12. Hiện trạng nhiễm nấm <i>Chytrid</i> của một số loài lưỡng cư thuộc họ Ếch cây tại khu vực nghiên cứu. ....	93
Bảng 3.13. Hiện trạng nhiễm nấm <i>Bd</i> và <i>Bsal</i> trên các loài Cá cóc thuộc giống <i>Paramesotriton</i> tại Việt Nam. ....	98
Bảng 3.14. Hiện trạng nhiễm nấm <i>Bd</i> và <i>Bsal</i> trên các loài Cá cóc thuộc giống <i>Tylototriton</i> tại Việt Nam. ....	101
Bảng 3.15. Yếu tố nhiệt độ ảnh hưởng đến khả năng nhiễm nấm các loài thuộc họ Cá cóc. ....	106



## DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1. Biểu đồ số loài lưỡng cư trên thế giới.....	5
Hình 1.2. Biểu đồ thành phần loài lưỡng cư của các nước trong khu vực.....	6
Hình 1.3. Hình ảnh chủng nấm <i>Bd</i> .....	18
Hình 1.4. Hình ảnh chủng nấm <i>Bsal</i> .....	19
Hình 1.5. Vòng đời của nấm Chytrid gây bệnh <i>Bd</i> .....	22
Hình 1.6. Cơ chế gây bệnh Chytrid trên lưỡng cư.....	23
Hình 2.1. Địa điểm khảo sát thực địa và địa điểm thu thập mẫu vật nghiên cứu. ....	25
Hình 2.2. Thao tác lấy mẫu nấm trên <i>M. maosoneensis</i> .....	28
Hình 2.3. Sơ đồ minh họa các chỉ số đo mẫu vật lưỡng cư không đuôi theo Bảng 2.2. Ảnh: Nguyễn Văn Thịnh.....	31
Hình 2.4. Sơ đồ minh họa các chỉ số đo mẫu vật lưỡng cư có đuôi theo Bảng 2.3. Ảnh: Nguyễn Văn Thịnh.....	32
Hình 3.1. Hình ảnh loài: – Họ Cóc tía <i>Bombina microdeladigitora</i> .....	44
Hình 3.2. Hình ảnh các loài: – Họ Cóc mắt.....	44
Hình 3.3. Hình ảnh các loài: – Họ Cóc mắt.....	45
Hình 3.4. Hình ảnh các loài: – HọẾch cây.....	46
Hình 3.5. Hình ảnh các loài: – HọẾch cây.....	47
Hình 3.6. Hình ảnh các loài: – HọẾch cây.....	47
Hình 3.7. Hình ảnh các loài họ Cá cóc.....	48
Hình 3.8. Sự khác biệt hình thái giữa: <i>Theلودerma khoii</i> (A, C, E) và <i>T. bicolor</i> (B, D, F).....	52
Hình 3.9. Sơ đồ phân bố các loài: – HọẾch cây.....	56
Hình 3.10. Sơ đồ phân bố các loài –HọẾch cây.....	60
Hình 3.11. Sơ đồ phân bố các loài Cá cóc thuộc giống <i>Tylostotriton</i> .....	68
Hình 3.12. Tương quan hình thái giữa các loài Cá cóc thuộc giống <i>Tylostotriton</i> ở Việt Nam. ....	71
Hình 3.13. Tương quan chiều dài cơ thể giữa các loài Cá cóc thuộc giống <i>Tylostotriton</i> ở Việt Nam. ....	72
Hình 3.14. So sánh các đặc điểm hình thái giữa loài <i>P. deloustali</i> và <i>P. guangxiensis</i> .75	
Hình 3.15. Cây quan hệ di truyền của các loài Cá cóc thuộc giống <i>Tylostotriton</i> ở Việt Nam xây dựng trên mô hình BI Giá trị xác suất hậu nghiệm thể hiện ở các gốc nhánh (ML/BI). ....	76

Hình 3.16. Cây quan hệ di truyền của các loài cá cóc thuộc giống <i>Paramesotriton</i> ở Việt Nam xây dựng trên mô hình BI trên đoạn gen ty thể 16S (bên trái) và ND2 (bên phải).....	79
Hình 3.17. Sơ đồ phân bố của chủng nấm <i>Bd</i> trên các loài lưỡng cư tại Việt Nam.	84
Hình 3.18. Sơ đồ ghi nhận chủng nấm <i>Bsal</i> trên các loài lưỡng cư tại Việt Nam. ....	86
Hình 3.19. Sơ đồ ghi nhận nấm trên họ Cóc tía ở Việt Nam .....	89
Hình 3.20. Hình ảnh các cá thể Cóc tía nhiễm nấm.....	89
Hình 3.21. Sơ đồ địa điểm khảo sát nhiễm nấm trên họ Cóc mắt tại Việt Nam. ....	91
Hình 3.22. Sơ đồ ghi nhận nấm nghiên cứu khác trên họ Cóc mắt tại Việt Nam. ....	92
Hình 3.23. Sơ đồ địa điểm khảo sát nhiễm nấm trên họẾch cây tại Việt Nam.....	94
Hình 3.24. Sơ đồ ghi nhận nấm nghiên cứu khác trên họẾch cây tại Việt Nam. ....	95
Hình 3.25. Sơ đồ ghi nhận chủng nấm <i>Bsal</i> trên họ Cá cóc tại Việt Nam.....	96
Hình 3.26. Sơ đồ ghi nhận chủng nấm <i>Bd</i> trên họ Cá cóc tại Việt Nam. ....	97
Hình 3.27. Đặc điểm bề mặt da đầu, mặt da bụng và mặt lưng của cá thể <i>P. deloustali</i> nhiễm nấm <i>Bsal</i> và không nhiễm nấm <i>Bsal</i> .....	99
Hình 3.28. Đặc điểm bề mặt da đầu (trên), mặt da bụng (giữa) và mặt lưng (dưới) của cá thể <i>Tylototriton pasmansi</i> nhiễm nấm (bên trái) và không nhiễm nấm (bên phải) .	102
Hình 3.29. Đặc điểm bề mặt da đầu (trên), mặt da bụng (giữa) và mặt lưng (dưới) của cá thể <i>Tylototriton vietnamensis</i> nhiễm nấm (bên trái) và không nhiễm nấm (bên phải).....	103
Hình 3.30. Đặc điểm bề mặt da đầu (trên), mặt da bụng (giữa) và mặt lưng (dưới) của cá thể <i>Tylototriton zieglerei</i> nhiễm nấm (bên trái) và không nhiễm nấm (bên phải) ....	104

## MỞ ĐẦU

### 1. Tính cấp thiết của đề tài

Lưỡng cư (Amphibia) là lớp động vật có số lượng loài rất đa dạng với khoảng 8.700 loài việc phân bố của lưỡng cư không chỉ ngoại trừ các vùng Bắc cực và Nam cực mà còn các vùng núi cao. Theo Liên minh Quốc tế về Bảo tồn Thiên nhiên (IUCN), tính đến tháng 12 năm 2023 có 7.486 loài lưỡng cư được đánh giá phân hạng bảo tồn, trong đó 36 loài ghi nhận đã tuyệt chủng (EX), 2 loài đã tuyệt chủng ngoài tự nhiên (EW), 722 loài xếp hạng Cực kỳ nguy cấp (CR), 1.144 loài Nguy cấp (EN), 406 loài Sẽ nguy cấp (VU), 740 loài Gần bị đe dọa (NT), 3.291 loài Ít quan tâm (LC) và 1.145 loài Thiếu dữ liệu để đánh giá (DD) [1].

Khu hệ lưỡng cư của Việt Nam được đánh giá đa dạng về thành phần loài với nhiều loài mới được mô tả hàng năm. Nguyễn Văn Sáng và Hồ Thu Cúc (1996) đã ghi nhận 82 loài ở nước ta. Đến năm 2009, số lượng loài lưỡng cư ghi nhận đã tăng lên 186 loài và gần đây nhất (tháng 12 năm 2023) số lượng loài lưỡng cư ghi nhận đã tăng lên 295 loài [2–4]. Trong đó đáng chú ý có khoảng hơn 70 loài mới được phát hiện và mô tả dựa trên các mẫu chuẩn thu ở Việt Nam kể từ năm 2010 cho đến tháng 12 năm 2023 [2].

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. Bệnh nấm được coi là yếu tố gây ra sự suy giảm quần thể nhanh chóng hoặc tuyệt chủng của ít nhất khoảng 200 loài lưỡng cư [5]. Theo ước tính của IUCN (2023), có khoảng 36% các loài lưỡng cư trên thế giới đang đứng trước nguy cơ bị đe dọa dẫn tới tuyệt chủng, mặt khác sự suy giảm của chúng hiện nay được ví như một cuộc khủng hoảng lần thứ 6 của đa dạng sinh học trên Trái đất [1]. Gần đây các nhà khoa học đã phát hiện thêm một chủng nấm mới có tên khoa học là *Batrachochytrium salamandrivorans* (*Bsal*). Theo Martel et al. (2013), chủng nấm *Bsal* được phát hiện ở Châu Âu là nguồn nguy hại đã dẫn đến quần thể của các loài cóc ở Châu Âu suy giảm rõ rệt, vì vậy chủng nấm *Bsal* được coi là mối đe dọa nghiêm trọng ảnh hưởng đến số lượng của các loài lưỡng cư ở các nước ôn đới [6].

Số lượng loài mới được mô tả và ghi nhận bổ sung cho khu hệ lưỡng cư ở Việt Nam trong thời gian vừa qua, đã chứng minh việc kết hợp các phương pháp nghiên cứu cơ bản (phân tích hình thái học) và phương pháp hiện đại (phân tích sinh học phân tử, âm sinh học...), đó là phương pháp hữu hiệu trong phân loại học các loài lưỡng cư. Từ những nghiên cứu đó, các hướng mở ra tiếp theo liên quan tới bệnh nấm Chytrid trên các quần thể lưỡng cư ngoài tự nhiên ở Việt Nam chưa có nhiều công trình nghiên cứu chuyên sâu, do hầu hết mới chỉ dừng lại ở việc cung cấp một số

thông tin dữ liệu khảo sát bước đầu về sự có mặt của nấm gây bệnh trên một số quần thể và tại một vài địa điểm nghiên cứu nhất định [6].

Các nghiên cứu trước đây, chủng nấm *Bd* được phát hiện ký sinh trên họ Cóc mắt (Megophryidae Bonaparte) và họẾch cây (Rhacophoridae Hoffman) ghi nhận ở VQG Bidoup-Núi Bà (Lâm Đồng) [7–9]. Gần đây, nghiên cứu của Tapley et al. (2020) cho thấy xuất hiện chủng nấm *Bd* trên loài: *Bombina microdeladigitora*, *Boulenophrys fansipanensis* Tapley, Cutajar, Mahony, Nguyen, Dau, Luong, Le, Nguyen, Nguyen, Portway, Luong & Rowley, 2018), *B. hoanglienensis*, *Gracixalus sapaensis* [10]. Kết quả nghiên cứu trước đây cho thấy khả năng lây nhiễm chủng nấm *Bd* thông qua nguồn nước, nên lựa chọn đối tượng nghiên cứu chính là họ Cóc mắt, họ Cá cóc (Salamandridae Goldfuss). Bên cạnh đó, lựa chọn bổ sung để kiểm tra khả năng lây nhiễm ở các loài sinh sống trên cây như họẾch cây hoặc ở sinh cảnh trên cạn ẩm ướt hoặc hốc cây mục ẩm như họ Cóc tía.

Việc nghiên cứu đa dạng thành phần loài lưỡng cư, cũng như đánh giá ảnh hưởng tiêu cực của bệnh nấm Chytrid đến quần thể lưỡng cư ngoài tự nhiên ở Việt Nam có ý nghĩa quan trọng. Nhằm cung cấp thông tin về tình trạng nhiễm nấm Chytrid cũng như có thể 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, nghiên cứu sinh thực hiện đề tài: “**Nghiên cứu đa dạng một số họ lưỡng cư ở Việt Nam và tình trạng nhiễm nấm của chúng**”.

Đề tài nghiên cứu đã chọn 4 họ lưỡng cư sống ở các môi trường khác nhau, đại diện cho các môi trường sống điển hình của các loài lưỡng cư Việt Nam: họ Cóc tía sống ở môi trường vùng ẩm ướt hoặc trong các hốc cây có chứa nước; họ Cóc mắt đại diện môi trường sống trên cạn; họẾch cây đại diện môi trường sống trên cây và họ Cá cóc đại diện môi trường sống dưới nước. Vì vậy nghiên cứu về 4 giống loài đại diện này đã phản ánh hết môi trường sinh sống của các loài lưỡng cư và đánh giá được tình trạng nhiễm nấm của các loài lưỡng cư ở Việt Nam.

Mặc dù việc tập trung nghiên cứu, dự đoán diễn biến lây nhiễm của các chủng nấm gây bệnh đang được quan tâm hàng đầu trên thế giới, cũng như ở Việt Nam hiện nay, bên cạnh đó những hiểu biết về đặc tính sinh học và nguồn gốc lây truyền mầm bệnh cũng đóng vai trò quan trọng giúp nắm rõ cơ sở dịch tễ học của tác nhân gây bệnh. Chính vì vậy, đề tài này sẽ có những đóng góp ý nghĩa vào việc bảo tồn sự sống của các loài lưỡng cư bị đe dọa, đặc biệt là các loài lưỡng cư quý hiếm tại Việt Nam cũng như trên toàn cầu.

## 2. Mục tiêu

+ Đánh giá được mức độ đa dạng thành phần loài lưỡng cư thuộc các họ Cóc

tía, Cóc mắt, Éch cây và Cá cóc 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. Nội dung nghiên cứu

**Nội dung 1:** Đánh giá đa dạng thành phần loài lưỡng cư thuộc các họ: Cóc tía, Cóc mắt, Éch cây và Cá cóc tại KVNC

- Phân tích đặc điểm hình thái một số loài lưỡng cư thu thập được ở các địa điểm nghiên cứu; lập danh lục thành phần loài; phát hiện và mô tả loài mới cho khoa học; ghi nhận vùng phân bố mới cho các loài lưỡng cư.

- Phân loại các loài trong họ Cá cóc: So sánh tương quan hình thái các loài thuộc giống Cá cóc sần (*Tylototriton*) và Cá cóc bụng hoa (*Paramesotriton*); xây dựng cây quan hệ di truyền và mối quan hệ di truyền các loài thuộc giống: Cá cóc sần và Cá cóc bụng hoa.

**Nội dung 2:** Xác định tình trạng nhiễm nấm gây bệnh trên các loài lưỡng cư tại KVNC thuộc các họ: Cóc tía, Cóc mắt, Éch cây và Cá cóc

- Phân bố của các chủng nấm *Bd* và *Bsal* trên các loài lưỡng cư tại KVNC.

- Tình trạng nhiễm nấm trên các loài lưỡng cư: Tỷ lệ nhiễm, hiện trạng nhiễm trên các loài nghiên cứu, tỷ lệ nhiễm trên các cá thể/tổng số mẫu, đánh giá triệu chứng vật chủ nhiễm nấm tại KVNC.

### 4. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn

**Ý nghĩa khoa học:**

- Luận án đã cung cấp những dữ liệu cập nhật về đa dạng các loài thuộc họ: Cóc tía (ghi nhận 1 loài), Cóc mắt (ghi nhận 13 loài), Éch cây (ghi nhận 19 loài) và họ Cá cóc (ghi nhận 8 loài).

- Đặc biệt: Mô tả loài mới cho khoa học tên là Éch cây sần khô *Theلودerma khoui* Ninh, Nguyen, Nguyen, Hoang, Siliyavong, Nguyen, Le, Le & Ziegler, 2022, với mẫu chuẩn được thu tại Quận Bạ (Hà Giang).

- Ghi nhận vùng phân bố mới của 2 họ với 9 loài cho 4 tỉnh, cụ thể:

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

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

- Đã cung cấp tình trạng, tỷ lệ nhiễm nấm, đánh giá khả năng lây lan của các chủng nấm trên các loài thuộc các họ: 1 loài thuộc họ Cóc tía, 12 loài Cóc mắt, 16 loài Éch cây và 8 loài Cá cóc ở Việt Nam. Đây là lần đầu tiên tại Việt Nam thực hiện nghiên cứu chuyên sâu về nấm trên các loài lưỡng cư ở nhiều nhóm loài ở các sinh

cảnh sống khác nhau: trên cạn, dưới nước, trên cây và ở nhiều địa điểm khác nhau trải dài từ Bắc vào Nam tại những khu vực có nguy cơ nhiễm nấm cao nguy cơ tác động rất lớn các quần thể lưỡng cư ở khu vực đó.

### **Ý nghĩa thực tiễn:**

Kết quả nghiên cứu của đề tài là cơ sở khoa học quan trọng cho việc quản lý, giám sát trong việc quy hoạch bảo tồn và phát triển bền vững tài nguyên, đa dạng sinh học thông qua: 1) Xác định các địa điểm cần ưu tiên bảo tồn đặc biệt tập trung vào các loài ghi nhận mới và nguy cấp quý hiếm được ưu tiên bảo vệ; 2) Xác định đối tượng lưỡng cư nhiễm nấm, ảnh hưởng của sự lây lan chủng nấm; 3) Các hoạt động ưu tiên bảo tồn và các biện pháp phòng chống nấm.

### **5. Những đóng góp mới của đề tài**

- Cập nhật thành phần và phân bố 41 loài lưỡng cư thuộc các họ: Cóc tía, Cóc mắt,Ếch cây và Cá cóc ghi nhận ở KVNC.

- Mô tả bổ sung đặc điểm hình thái nhận dạng, đặc điểm phân bố 18 loài thuộc các họ: Cóc mắt,Ếch cây, Cá cóc và mối quan hệ di truyền giữa các loài của 2 giống Cá cóc bụng hoa và Cá cóc sần thuộc họ Cá cóc ghi nhận ở KVNC.

- Phát hiện và ghi nhận phân bố mới:

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

- + Nghiên cứu lần đầu tiên ghi nhận chủng nấm *Bsal* trên họ Cóc tía 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).

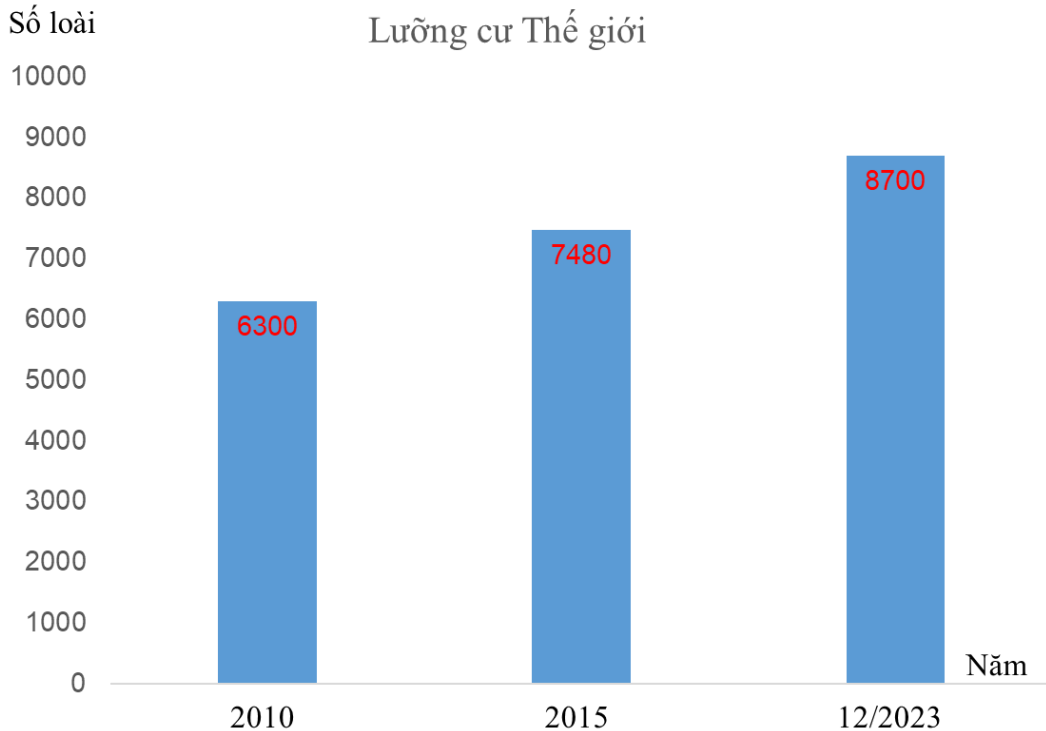
HọẾch cây: *Rhacophorus orlovi* (cho tỉnh Hà Giang); *Rhacophorus kio* (cho tỉnh Bắc Kạn); *Theloderma hekouense*, *Zhangixalus puerensis* (cho tỉnh Cao Bằng).

- Cung cấp dẫn liệu về tình trạng nhiễm nấm *Bd* và *Bsal* 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.

## 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 ghi nhận tăng lên đáng kể từ 6.300 loài (năm 2010) lên đến 7.480 loài (năm 2015) và gần 8.700 loài vào thời điểm hiện tại (tính đến tháng 12/2023) [2].



**Hình 1.1.** Biểu đồ số loài lưỡng cư trên thế giới

Theo đánh giá mức độ đa dạng sinh học cao nhất được ghi nhận ở các khu vực rừng mưa nhiệt đới với khoảng 50% tổng số loài đã được ghi nhận và dự kiến còn nhiều loài chưa được mô tả. Theo Amphibiaweb từ năm 2005 đến năm 2022 có khoảng 2.749 loài lưỡng cư được phát hiện và mô tả mới cho khoa học [11].

Trên thế giới có rất nhiều nghiên cứu có liên quan đến phân loại học, sinh thái học, âm sinh học, sinh học phân tử và tiến hóa của các loài lưỡng cư. Tuy nhiên, trong khuôn khổ nghiên cứu này, tác giả chỉ nêu sơ lược tình hình nghiên cứu theo hướng phân loại học của đề tài ở các nước liền kề về địa lý hành chính với Việt Nam:

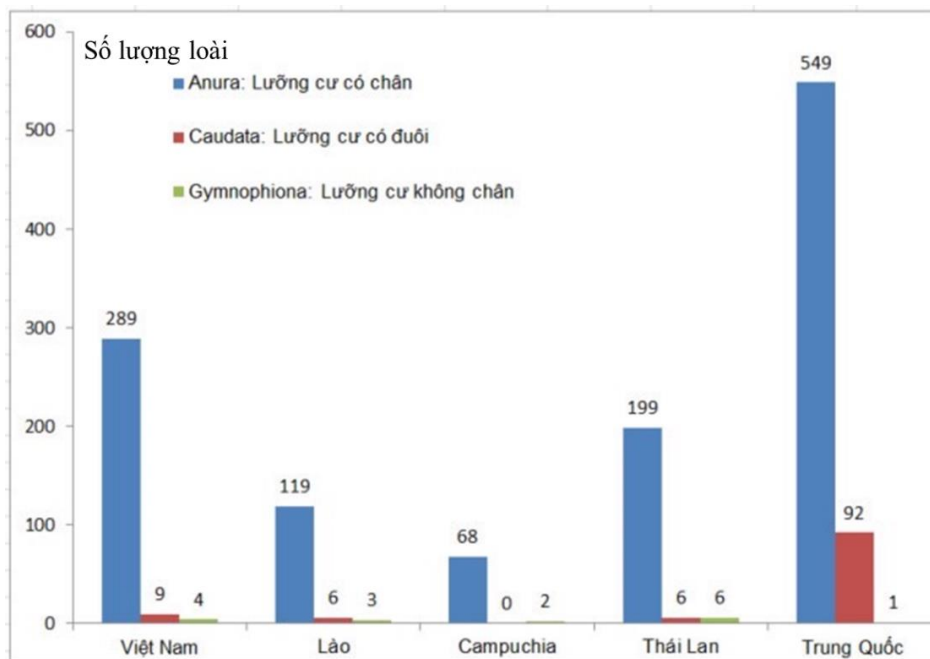
*Ở Trung Quốc:* Zhao & Adler (1993) ghi nhận 274 loài lưỡng cư [12]; Yang & Rao (2008) ghi nhận 115 loài lưỡng cư ở tỉnh Vân Nam [12]. Số lượng loài lưỡng cư của Trung Quốc đã tăng lên 370 loài trong công bố của Fei et al. 2012 [13,14]. Tính đến tháng 12/2023 ở Trung Quốc đã ghi nhận 590 loài cho nước này [2].

*Ở Lào:* Stuart et al. (1999) ghi nhận số loài lưỡng cư tăng từ 58 loài lên khoảng 120 loài vào tháng 12 năm 2023. Trong số đó có nhiều loài mới được phát hiện và mô tả gần đây như: *Theلودerma lacustrinum* Sivongxay, Davankham, Phimmachak, Phoumixay & Stuart, 2019; *Hylarana annamitica* (Sheridan & Stuart,

2018); *Limnonectes coffeatus* Phimmachak, Sivongxay, Seateun, Yodthong, Rujirawan, Neang, Aowphol & Stuart, 2018; *L. savan* Phimmachak, Richards, Sivongxay, Seateun, Chuaynkern, Makchai, So & Stuart, 2019 [2,15].

Ở *Cam-pu-chia*: Các nghiên cứu được triển khai chủ yếu ở dãy núi Cardamom ở miền Nam Cam-pu-chia như: Ohler et al. (2002) ghi nhận 34 loài [16]; Stuart et al. (2006) ghi nhận 30 loài ở khu vực miền núi thuộc phía Đông Cam-pu-chia, giáp ranh với Việt Nam [17]; Grismer et al. (2008) ghi nhận 41 loài [18] và Hartmann et al. (2013) ghi nhận 22 loài ở khu vực Tây Bắc Cam-pu-chia [19]. Hiện nay (tháng 12 /2023), ở Cam-pu-chia ghi nhận khoảng 152 loài lưỡng cư, trong đó có 2 loài mới mô tả gần đây: *Limnonectes fastigatus* Stuart, Schoen, Nelson, Maher, Neang, Rowley & Mcleod, 2020; *Leptobrachium lunatum* Stuart, Som, Neang, Hoang, Le, Dau, Potter & Rowley, 2020 [2]

Trong quá trình điều tra về đa dạng thành phần loài hiện nay, trong số các loài lưỡng cư, nhóm động vật có luôn có hướng về nghiên cứu loài mới và ghi nhận bổ sung vùng phân bố, đặc biệt là các nhóm loài phức tạp có đặc điểm hình thái tương đồng nhau (các loài đồng danh, đồng hình). Vấn đề bảo tồn các loài lưỡng cư, bên cạnh việc tiến hành điều tra và xác định thành phần loài, cũng cần thiết phải tiến hành xác định hiện trạng, song song với nghiên cứu đặc điểm tập tính sinh học, sinh thái học, kết hợp với xây dựng cây quan hệ di truyền. Từ đó làm cơ sở khoa học cho công tác bảo tồn, hướng đến phát triển bền vững thành phần loài ngoài tự nhiên.



**Hình 1.2.** Biểu đồ thành phần loài lưỡng cư của các nước trong khu vực (tháng 12/2023)



**Tình trạng bảo tồn:** Rowley et al. (2010) đã ghi rõ các loài lưỡng cư ở khu vực Đông Nam Á đang đứng trước nguy cơ bị đe dọa tuyệt chủng do tỷ lệ mất sinh cảnh sống ở khu vực này cao nhất trên toàn cầu và các quần thể cũng đang chịu tác động do khai thác nguồn tài nguyên thiên nhiên dẫn đến cạn kiệt [20]. Rowley et al. (2016) đã đánh giá ảnh hưởng của việc mua bán, trao đổi các loài lưỡng cư và bò sát từ Châu Á (trong đó có Việt Nam) sang các nước Châu Âu nhằm mục đích sử dụng làm sinh vật cảnh, đó là nguyên nhân gây lây lan dịch bệnh trên toàn cầu [21]. Auliya et al. (2023) cũng chỉ ra rằng ở thị trường Châu Âu là nơi tiêu thụ các loài lưỡng cư lớn nhất trên thế giới và được bắt nguồn chủ yếu từ các nước như: Indonesia, Việt Nam, Thổ Nhĩ Kỳ và Albania, chính tình trạng này đã đe dọa nghiêm trọng đến sự tồn tại quần thể của các loài lưỡng cư [22]. Theo IUCN (tháng 12/2023), có khoảng 41% tổng số các loài lưỡng cư đang bị đe dọa được xếp hạng từ bậc Sắp bị đe dọa (NT) đến bậc Tuyệt chủng trong tự nhiên (EW) trên quy mô toàn cầu [1].

## **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**

Theo nghiên cứu của Nguyễn Văn Sáng và cs. (2009) về lưỡng cư ở Việt Nam đã có lịch sử từ lâu đời. Tuy nhiên mới chỉ bắt đầu phát triển mạnh vào các giai đoạn từ cuối thế kỷ XIX, giữa và cuối thế kỷ XX, quan trọng nhất là những năm đầu của thế kỷ XXI cho đến nay (12/2023). Đã có nhiều công bố về loài mới vào nửa đầu thế kỷ XX, đáng chú ý có công trình của Bourret (1942) có tựa đề - *Les Batraciens de l'Indochine* (Lưỡng cư khu vực Đông Dương). Cuốn sách đã mô tả 171 loài và phân loài lưỡng cư ở khu vực Đông Dương (Việt Nam, Lào và Cam-puchia), đây có thể được coi là tài liệu tổng quan và ý nghĩa nhất về các loài lưỡng cư trong khu vực vào giữa thế kỷ XX [3, 23].

Vào năm 1977, Đào Văn Tiên đã công bố khóa định loại 87 loài lưỡng cư trong bài báo “*Về định loại ếch nhái Việt Nam*” [24]. Nghiên cứu của Trần Kiên và cs. (1981) đã có những dẫn liệu về thành phần loài động vật miền Bắc Việt Nam (giai đoạn 1955–1976) trong đó ghi nhận 69 loài lưỡng cư [25]. Năm 1996, Nguyễn Văn Sáng và Hồ Thu Cúc xuất bản chuyên khảo *Danh lục bò sát và ếch nhái Việt Nam* ghi nhận 82 loài lưỡng cư [4]. Nguyễn Văn Sáng và cs. (2005) thống kê trong cuốn *Danh lục ếch nhái và bò sát Việt Nam* có 162 loài lưỡng cư [26]. Danh lục có hệ thống và đến thời điểm gần đây nhất theo Nguyen et al. (2009) đã ghi nhận tổng số 176 loài lưỡng cư ở Việt Nam [3].

Các nghiên cứu kể từ 2015 đến nay (tháng 12/2023) có 38 loài lưỡng cư mô tả mới và được ghi nhận ở Việt Nam. Các quần thể có nhiều loài mới được ghi nhận

ở Việt Nam như: họ Cá cóc (4 loài), họ Ếch giun Ichthyophidae (2 loài), họ Ếch nhái chính thức Dicoglossidae (5 loài), họ Ếch nhái Ranidae (8 loài), họ Nhái bầu Microhylidae (10 loài), họ Cóc mắt (22 loài) và họ Ếch cây (14 loài) [2].

Ở khu vực Tây Bắc: Các nghiên cứu tiêu biểu trong 10 năm trở lại đây như: Hoàng Văn Chung và cs. (2016) ghi nhận 30 loài thuộc 7 họ lưỡng cư ở KBTTN Bát Xát (Lào Cai) [27]. Phạm Thế Cường và cs. (2016) cập nhật danh sách thành phần loài lưỡng cư ở KBTTN Ngọc Sơn-Ngổ Luông (Hòa Bình) với 41 loài thuộc 7 họ [28]. Phạm Văn Anh và cs. (2016) ghi nhận 11 loài lưỡng cư ở tỉnh Sơn La [29]. 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 [30]. Nguyễn Quang Trường và cs. (2017) nghiên cứu thành phần lưỡng cư ở khu vực Mường Bang, huyện Phù Yên (Sơn La) ghi nhận 22 loài thuộc 15 giống, 6 họ, 1 bộ [31]. Trần Văn Huy và cs. (2018) ghi nhận 2 loài ếch suối mới nâng tổng số loài ghi nhận cho tỉnh Lai Châu lên 24 loài [32]. Năm 2018 nghiên cứu của Phạm Văn Nhã và cs 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) [33]. Phạm Văn Anh và Nguyễn Quang Trường (2019) ghi nhận 14 loài lưỡng cư thuộc 6 họ ở khu vực rừng xã Pú Bấu, huyện Sông Mã (Sơn La) [34]. Phạm Văn Anh và cs. (2019) ghi nhận 36 loài lưỡng cư và cung cấp đặc điểm phân bố theo sinh cảnh ở khu vực xã Mường Do, huyện Phù Yên (Sơn La) [35]. Phạm Văn Anh và cs. (2022) ghi nhận 43 loài lưỡng cư ở khu vực KBTTN Sốp Cộp, huyện Phù Yên (Sơn La) [36].

Ở khu vực Đông Bắc: Tại đây các nghiên cứu được tập trung ở các khu vực núi cao hoặc các KBTTN và VQG như: Nghiên cứu của Phạm Thế Cường và cs. (2017) ghi nhận 21 loài lưỡng cư ở rừng núi đá vôi thuộc huyện Hạ Lang (Cao Bằng), trong đó 3 loài *Odorrana bacboensis* (Bain, Lathrop, Murphy, Orlov & Ho, 2023), *O. graminea* (Boulenger, 1900) và *Zhangixalus pachyproctus* Yu, Hui, Hou, Wu, Rao & Yang, 2019 lần đầu tiên ghi nhận phân bố ở tỉnh Cao Bằng [37]. Phạm Thế Cường và cs. (2017) ghi nhận bổ sung 2 loài *Rhacophorus kio* Ohler & Delorme, 2006 và *R. rhodopus* Liu & Hu, 1960 cho tỉnh Hà Giang đã bổ sung tổng số loài lưỡng cư ghi nhận ở tỉnh này lên 54 loài [38]. Lương Mai Anh và cs. (2019) nghiên cứu ở KBTTN Thần Sa-Phượng Hoàng (Thái Nguyên) đã ghi nhận 16 loài lưỡng cư trong đó ghi có 4 loài ghi nhận phân bố mới cho tỉnh này, nâng tổng số loài lưỡng cư ghi nhận cho KBTTN này lên 26 loài lưỡng cư [39]. Phạm Thế Cường và cs. (2020) đã ghi nhận 27 loài lưỡng cư, trong đó có 10 loài lần đầu tiên được ghi nhận phân bố ở khu vực biên giới giáp ranh với Trung Quốc thuộc huyện Hải Hà (Quảng Ninh) [40]. Lương Mai Anh và cs. (2022) đã nghiên cứu và ghi

nhận 32 loài lưỡng cư phân bố ở KBTTN Bản Thi-Xuân Lạc trong đó ghi nhận bổ sung 8 loài cho tỉnh Bắc Kạn [41].

*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 (Vĩnh Phúc) đã ghi nhận 22 loài lưỡng cư thuộc 7 họ, 2 bộ [42]. 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 [43]. Hoàng Văn Chung và cs. (2022) đã ghi nhận vùng phân bố mới của loài *Fejervarya moodiei* (Taylor, 1920) ở tỉnh Quảng Ninh, Nam Định, Thái Bình và Thừa Thiên-Huế [44].

*Phân vùng núi cao Bắc Trường Sơn:* Đậu Quang Vinh và cs. (2016) ghi nhận 6 loài thuộc 5 giống Ếch cây ở KBTTN Pù Luông (Thanh Hóa) [45]. Nguyen et al. (2016) ghi nhận 16 loài lưỡng cư tại KBTTN Bắc Hướng Hóa (Quảng Trị) [46]. Ông Vĩnh An và cs. (2016) ghi nhận 9 loài thuộc họ Ếch cây ở KBTTN Pù Huống (Nghệ An) [47]. Đỗ Văn Thoại và cs. (2017) ghi nhận bổ sung 2 loài thuộc họ Cóc mắt cho tỉnh Nghệ An [48]. 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 [49].

*Phân vùng núi cao Trung Trường Sơn:* Nguyễn Thành Luân và cs. (2016) ghi nhận bổ sung 5 loài *Leptobrachela* cho VQG Bạch Mã (Thừa Thiên-Huế), đã bổ sung tổng số loài ghi nhận tại VQG Bạch Mã lên 51 loài [50]. Phạm Hồng Thái và cs. (2019) đã cập nhật danh sách 19 loài lưỡng cư, nâng tổng số loài ghi nhận lên 52 thuộc 8 họ, 2 bộ ở KBTTN Bà Nà-Núi Chúa (Đà Nẵng) [51].

*Phân vùng núi cao Nam Trường Sơn:* Nguyễn Thành Luân và cs. (2017) bước đầu công bố danh sách thành phần loài lưỡng cư ở KBTTN Hòn Bà (Khánh Hòa) với 35 loài thuộc 6 họ, 12 giống [50]. Cao Tiến Trung và cs. (2019) ghi nhận 6 loài lưỡng cư ở KBTTN Núi Ông (Bình Thuận) [52].

*Phân vùng đồng bằng sông Cửu Long:* Goodall & Faithfull (2010) ghi nhận 8 loài lưỡng cư ở VQG U Minh Thượng (Kiên Giang) [53].

*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) [54].

*Khu vực Tây Nguyên:* Một số nghiên cứu tiêu biểu tại các tỉnh

+ Tỉnh Lâm Đồng: VQG Bidoup-Núi Bà là một trong những khu bảo tồn có thành phần loài lưỡng cư đa dạng với 66 loài thuộc 7 họ, 2 bộ. Đáng quan tâm, kể từ năm 2010 trở lại đây có 7 loài mới ghi nhận cho khoa học được phát hiện với mẫu chuẩn thu thập ở VQG Bidoup-Núi Bà: Cóc mây mắt trắng *Leptobrachium leucops* (Stuart et al. 2011), Cóc núi bì đoup *Leptolalax bidoupsensis* (Rowley et al. 2011b), Cóc mây nhạt màu *Leptolalax pallidus* (Rowley et al. 2016), Nhái bầu thông

*Microhyla pineticola* và Nhái bầu đẹp *Microhyla pulchella* (Poyarkov et al. 2014),Ếch cây ro-bot *Rhacophorus robertingeri* (Orlov et al. 2012),Ếch cây ma cà rồng *Rhacophorus vampyrus* (Rowley et al. 2010),Ếch cây sần trá hình *Theloderma palliatum* (Rowley et al. 2011a) [2]

+ Tỉnh Kon Tum: VQG Kon Ka Kinh là một trong những khu bảo tồn có thành phần loài lưỡng cư đa dạng với 47 loài lưỡng cư thuộc 7 họ và 2 giống. Điểm đáng chú ý, kể từ năm 2010 trở lại đây có 3 loài mới cho khoa học được phát hiện với mẫu chuẩn thu thập ở VQG Kon Ka Kinh đó là: Nhái cây mô-tô-ka-wa *Kurixalus motokawai* (Nguyen et al. 2014), Cóc mây iso *Leptolalax isos* (Rowley et al. 2015), Cóc mây lửa *Leptolalax ardens* (Rowley et al. 2016) [2].

Tổng số đã ghi nhận ở VQG Chư Mom Ray có 25 loài lưỡng cư thuộc 7 họ, 2 bộ (Ngo et al. 2006, Jestrzanski et al. 2013). Chiếm ưu thế có họẾch nhái chính thức *Dicroglossidae* (7 loài), họ Cóc mây Megophryidae (5 loài), họ Nhái bầu Microhylidae (4 loài). Như vậy, VQG Chư Mom Ray là khu bảo tồn có thành phần loài lưỡng cư hạn chế chỉ với 25 loài thuộc 7 họ, 2 bộ [2], [1].

+ Tỉnh Đắk Lắk: Tổng số loài đã ghi nhận ở VQG Chư Yang Sin có 38 loài lưỡng cư thuộc 7 họ, 2 bộ (Orlov et al. 2008). Các họ lưỡng cư chiếm ưu thế như họẾch nhái Ranidae (12 loài), họẾch cây Rhacophoridae (8 loài), họ Cóc mây Megophryidae (5 loài) [3], [2].

+ Tỉnh Gia Lai: Hoàng Văn Chung và cs. (2016) ghi nhận 44 loài lưỡng cư thuộc 7 họ, 2 bộ tại VQG Kon Ka Kinh; Năm 2019 theo khảo sát tại khu vực hành lang Kon Ka Kinh-Kon Chư Răng của Trung tâm Bảo tồn Đa dạng Sinh học Nước Việt Xanh (GreenViet) và Trung tâm Nghiên cứu Phát triển Xã hội (CSRĐ) ghi nhận 38 loài lưỡng cư [3], [2].

Nghiên cứu tại các đảo trong vịnh Bắc Bộ: Gawor et al. (2014) tiến hành khảo sát tại VQG Bái Tử Long (Quảng Ninh) đã ghi nhận được 8 loài lưỡng cư [55].

Ở Việt Nam có nhiều nghiên cứu về lưỡng cư, chủ yếu tập trung ở các dãy núi cao, các VQG hoặc KBTTN trên khắp cả nước. Tuy nhiên việc cần thiết cho các nghiên cứu về lưỡng cư tập trung về thành phần các loài lưỡng cư, ghi nhận mới cho các tỉnh, khu vực hay các loài mới cho khoa học vẫn cần được quan tâm.

Số loài được mô tả mới và ghi nhận vùng phân bố mới cho Việt Nam được tăng lên rõ rệt, cụ thể năm 2009 ghi nhận 176 loài, đến tháng 12/2023 ghi nhận khoảng 301 loài [11]. Các khu vực nghiên cứu cũng được điều tra thực địa và mở rộng trên khắp các vùng ở Việt Nam với nhiều dạng sinh cảnh môi trường khác nhau. Một số khu vực núi cao, hiểm trở, khu vực vùng giáp biên giới địa lý với Trung Quốc, Lào, Cam-pu-chia và các khu vực núi đá vôi do địa hình phức tạp

hiếm trở với độ cao, dốc, chia cắt bởi hệ thống sông suối chằng chịt, điều kiện khí hậu tại khu vực nghiên cứu khắc nghiệt. Việc tiếp cận các địa điểm để phục vụ cho việc khảo sát nghiên cứu còn gặp nhiều khó khăn nên còn hạn chế và định hướng cho các nghiên cứu tiếp theo.

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

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

Hiện nay, họ Cóc tía chỉ ghi nhận một loài duy nhất phân bố ở miền bắc Việt Nam có tên là *Bombina microdeladigitora* Liu, Hu & Yang, 1960 [2].

Trước đây Bourret (1942), ghi nhận 3 mẫu vật thuộc họ Cóc tía được thu từ khu vực Phan-xi-păng, Sa Pa (Lào Cai) [23]. Trong đó duy nhất một mẫu vật của loài này được thu thập lại vào năm 1998. So sánh các mẫu vật theo Bourret (1942) thu ở Sa Pa bao gồm một cá thể đực trưởng thành so với hình dạng với cá thể đực loài *B. maxima* (Boulenger, 1905) [56] ghi nhận trước đó, cho thấy rõ mẫu vật thu ở Phan-xi-păng có sự khác biệt rõ ràng về hình thái học. Chính sự khác biệt trong hình thái trong đó khác biệt giới tính đã giúp cho việc định danh được dễ dàng hơn, về hình thái cụ thể là phân biệt các màng chi trên cơ thể chúng, có ý nghĩa rất quan trọng để định loại ở cấp độ loài thuộc họ Cóc tía. Các nghiên cứu gần đây đã xác nhận loài Cóc tía phân bố ở Việt Nam và phía nam Trung Quốc là loài *B. microdeladigitora*, còn loài *B. maxima* được coi là đặc hữu của miền trung Trung Quốc và có thể có ở Myanmar [57].

Gần đây nghiên cứu của Tapley et al. (2020) đã phát hiện tỷ lệ nhiễm nấm *Bd* trên loài *B. microdeladigitora* với 1/13 mẫu dương tính được thu tại Phan-xi-păng, Sa Pa (Lào Cai) [10].

Các nghiên cứu về họ Cóc tía vẫn còn rất hạn chế do đặc điểm phân bố loài ở độ cao lớn, sinh cảnh tán bụi cây thấp rậm rạp, nằm trong rừng già với cây lớn và hiếm khi gặp loài này trong quan sát mắt thường. 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 ghi nhận 68 loài thuộc 9 giống phân bố ở Việt Nam bao gồm: *Leptobrachella* Smith, 1925; *Leptobrachium* Tschudi, 1838; *Oreolalax* Myers & Leviton, 1962; *Atympanophrys* Tian & Hu, 1983; *Boulenophrys* Fei, Ye & Jiang, 2016; *Brachytarsophrys* Tian & Hu, 1983; *Jingophrys* Lyu & Wang, 2023; *Ophryophryne* Boulenger, 1903 và *Xenophrys* Günther, 1864 [2].

Từ năm 2015 đến nay (tháng 12/2023) có 20 loài mới cho khoa học được phát hiện và mô tả với mẫu chuẩn thu được ở Việt Nam bao gồm: — giống

*Leptobrachella* (13 loài): *L. ardens* (Rowley, Tran, Le, Dau, Peloso, Nguyen, Hoang, Nguyen & Ziegler, 2016); *L. kalonensis* (Rowley, Tran, Le, Dau, Peloso, Nguyen, Hoang, Nguyen & Ziegler, 2016); *L. maculosa* (Rowley, Tran, Le, Dau, Peloso, Nguyen, Hoang, Nguyen & Ziegler, 2016); *L. pallida* (Rowley, Tran, Le, Dau, Peloso, Nguyen, Hoang, Nguyen & Ziegler, 2016); *L. tadungensis* (Rowley, Tran, Le, Dau, Peloso, Nguyen, Hoang, Nguyen & Ziegler, 2016); *L. petrops* (Rowley, Dau, Hoang, Le, Cutajar & Nguyen, 2017); *L. puhoatensis* (Rowley, Dau & Cao, 2017); *L. rowleyae* (Nguyen, Poyarkov, Le, Vo, Phan, Duong, Murphy & Nguyen, 2018); *L. macrops* Duong, Do, Ngo, Nguyen & Poyarkov, 2018; *L. namdongensis* Hoang, Nguyen, Luu, Nguyen & Jiang 2019; *L. graminicola* Nguyen, Tayley, Nguyen, Luong & Rowley, 2021; *L. phiaoacensis* Luong, Hoang, Pham, Ziegler & Nguyen, 2023; *L. phiadenensis* Luong, Hoang, Pham, Ziegler & Nguyen, 2023 [2]; — giống *Boulenophrys* (5 loài): *B. rubrimera* (Tapley, Cutajar, Mahony, Nguyen, Dau, Nguyen, Luong & Rowley, 2017); *B. hoanglienensis*; *B. fansipanensis*; *B. caobangensis* (Nguyen, Pham, Nguyen, Luong & Ziegler, 2020); *B. frigida* (Tapley, Cutajar, Nguyen, Portway, Mahony, Nguyen, Harding, Luong & Rowley, 2021); — giống *Ophryophryne* (1 loài): *O. elfina* Poyarkov, Duong, Orlov, Gogoleva, Vassilieva, Nguyen, Nguyen, Nguyen, Che & Mahony, 2017; — giống *Xenophrys* (1 loài): *X. truongsongensis* Luong, Hoang, Pham, Nguyen, Orlov, Ziegler & Nguyen, 2022 [2].

Ngoài ra, có 9 loài ghi nhận mới cho Việt Nam bao gồm: *Leptobrachella aerea* (Rowley, Stuart, Richards, Phimmachak & Sivongxay, 2010); *L. eos* (Ohler, Wollenberg, Grosjean, Hendrix, Vences, Ziegler & Dubois, 2011); *L. melica* (Rowley, Stuart, Neang & Emmett, 2010), *L. minima* (Taylor, 1962); *L. niveimontis* Chen, Poyarkov, Yuan & Che, 2020; *L. yingjiangensis* (Yang, Zeng & Wang, 2018); *L. shiwandashanensis* Chen, Peng, Pan, Liao, Liu & Huang, 2021; *Leptobrachium lunatum* Stuart, Som, Neang, Hoang, Le, Dau, Potter & Rowley, 2020; *Atympanophrys gigantea* Liu, Hu & Yang, 1960; *Boulenophrys daweimontis* (Rao & Yang, 1997) và *Ophryophryne synoria* Stuart, Sok & Neang, 2006.

Đáng chú ý, phân họ Cóc sừng châu Á (Megophryinae) là một trong những nhóm lưỡng cư đa dạng nhất, từ lâu đã thu hút sự chú ý về phân loại học. Tuy nhiên, việc phân loại học vẫn còn nhiều quan điểm khác nhau, do đặc điểm hình thái tương đồng và có nhiều định loại nhầm lẫn trong quá khứ [2]. Orlov et al. (2015) mô tả loài *Megophrys latidactyla* với mẫu chuẩn được thu tại KBTTN Pù Mát (Nghệ An), có đặc điểm hình thái tương đồng với loài *Boulenophrys palpebralespinosa* (Bourret) [58]. 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 danh của loài *Boulenophrys papebralespinosa* và nhấn mạnh sự biến đổi hình dạng màng bơi cũng có thể do biến đổi về mùa sinh sản của loài [59].

Chen et al. (2016) đề xuất phân chia giống *Megophrys* thành 5 phân giống: *Atympanophrys*, *Brachytarsophrys*, *Megophrys*, *Ophryophryne*, *Xenophrys*. *Ophryophryne* và *Brachytarsophrys* phân bố ở Đông Dương và Nam Trung Quốc. *Xenophrys* phân bố rộng khắp Nam Trung Quốc, Đông Nam Châu Á và dãy Hi-malay-a. Trong khi *Atympanophrys* và *Megophrys* chỉ phân bố ở dãy núi Hoàng Đoàn và khu vực Sundaland [60]. Trong khi đó, Mahony et al. (2017) đề xuất phân 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* [61]. Ngoài ra, Mahony et al. (2018) áp dụng sinh học phân tử để đánh giá phân loại và phân bố của các quần thể loài *Xenophrys major* phức tạp, đã đề xuất quần thể ở Việt Nam nên được coi là loài *Xenophrys maosonensis* (Bourret), trong khi đó *X. major* (Boulenger) hạn chế phân bố tại khu vực Đông Bắc Ấn Độ [62].

Luy et al. (2023) dựa trên dữ liệu hình thái kết hợp sinh học phân tử đề xuất phân loại mới cho 10 giống mới cho phân họ Cóc sừng châu Á: *Atympanophrys*; *Boulenophrys*; *Brachytarsophrys*; *Grillitschia* Dubois, Ohler & Pyron, 2021; *Jingophrys* Lyu & Wang, 2023; *Megophrys*; *Ophryophryne*; *Pelobatrachus*; *Sarawakiphrys* Lyu & Wang, 2023; *Xenophrys* [63].

Các dẫn liệu về sinh học phân tử của phân họ Cóc mắt ở miền Bắc nói riêng và Việt Nam nói chung vẫn còn rất ít được nghiên cứu. Một số loài mới được mô tả gần đây đều dựa trên kết quả phân tích và so sánh đặc điểm hình thái kết hợp với phân tích sinh học phân tử, chúng được tách từ các nhóm loài phức hợp. Đồng thời sự đa dạng và vị trí phân loại của một số loài trong họ Cóc mắt ở Việt Nam vẫn có nhiều vấn đề chưa rõ ràng và rất cần tiếp tục có những hướng nghiên cứu tiếp theo.

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

Nghiên cứu về họ Éch cây ở Việt Nam, lần đầu tiên được tiến hành cùng với các nghiên cứu về đa dạng thành phần loài lưỡng cư ở các khu vực nghiên cứu chủ yếu sử dụng phương pháp hình thái học. Điển hình là nghiên cứu của Smith (1924) đã đánh giá đa dạng các loài lưỡng cư ở khu vực cao nguyên Langbian trong đó mô tả 5 loài ếch cây mới bao gồm: *Rhacophorus annamensis*, *R. calcaneus*, *Kurixalus gryllus*, *Thelodemar laeve*, *Feihyla palpebralis* [64]. Bourret (1937) mô tả 4 loài ếch cây mới bao gồm: *Philautus maosonensis*, *Zhangixalus dorsovireidis*, *Gracixalus*

*gracilipes*, *Theلودerma bicolor* [65].

Theo Forst (2023), hiện nay Việt Nam ghi nhận 86 loài thuộc 13 giống bao gồm: *Chirixalus* Boulenger, 1893; *Feihyla* Frost, Grant, Faivovich, Bain, Haas, Haddad, de Sá, Channing, Wilkinson, Donnellan, Raxworthy, Campbell, Blotto, Moler, Drewes, Nussbaum, Lynch, Green & Wheeler, 2006; *Gracixalus* Delorme, Dubois, Grosjean & Ohler, 2005; *Kurixalus* Ye, Fei & Dubois, 1999; *Liuxalus* Li, Che, Bain, Zhao & Zhang, 2008; *Orixalus* Dubois, Ohler & Pyron, 2021; *Philautus* Gistel, 1848; *Polypedates* Tschudi, 1838; *Raorchestes* Biju, Shouche, Dubois, Dutta & Bossuyt, 2010; *Rhacophorus* Kuhl & Van Hasselt, 1822; *Theلودerma* Tschudi, 1838; *Vampyrus* Dubois, Ohler & Pyron, 2021; *Zhangixalus* Li, Jiang, Ren & Jiang, 2019 [2].

Pyron & Wein (2011) đã phân tích quan hệ di truyền của các loài lưỡng cư trên thế giới dựa dữ liệu trên hơn 2800 loài đã đề xuất họ Éch cây gồm hai phân họ là Rhacophorinae và Buergeriinae, trong đó phân họ Rhacophorinae gồm 12 giống là *Chiromantis*, *Dendrobatorana*, *Feihyla*, *Ghatixalus*, *Gracixalus*, *Kurixalus*, *Liuxalus*, *Nyctixalus*, *Philautus*, *Polypedates*, *Rhacophorus* và *Theلودerma* [66].

Li et al. (2012) đánh giá quan hệ di truyền của các loài thuộc giống *Rhacophorus* sensus lato dựa trên đoạn gen 12S và 16S của 52 loài. Kết quả nghiên cứu cho thấy các loài trong giống *Rhacophorus* sensu lato được phân thành 3 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 [67].

Nguyen et al. (2014) đã phân tích mối quan hệ di truyền dựa trên phân tích đoạn gen 16S của 18 loài trên tổng số 22 loài giống *Rhacophorus* với các mẫu vật thu ở Việt Nam và các nước lân cận. Tác giả đã đánh giá mối quan hệ di truyền và thảo luận các vấn đề về phân loại chưa được giải quyết ở một số nhóm loài trong giống *Rhacophorus*, đặc biệt là hai nhóm loài phức tạp *R. dugritei* và *R. Rhodopus-bipunctatus* với các nhóm mẫu vật ghi phân bố ở Ma-lay-xi-a, Trung Quốc và Việt Nam [68].

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 bao gồm: — giống *Gracixalus* (5 loài): *G. sapaensis* Matsui, Ohler, Eto & Nguyen, 2017, *G. yunnanensis* Yu, Li, Wang, Rao, Wu & Yang, 2019, *G. trieng* Rowley, Duong, Hoang, Cao & Dau, 2020, *G. ziegleri* Le, Do, Tran, Nguyen, Orlov, Ninh & Nguyen, 2021, *G. truongi* Tran, Pham, Le, Nguyen, Ziegler & Pham, 2023; — giống *Kurixalus* (1 loài): *K. gracilloides* Nguyen, Duong, Luu & Poyarkov, 2020. — giống *Rhacophorus* (4 loài): *R. hoabinhensis* Nguyen, Pham, Nguyen, Ninh & Ziegler, 2017; *R. vanbanicus*



Kropachev, Orlov, Ninh & Nguyen, 2019; *R. napoensis* Li, Liu, Yu & Sun, 2022; *R. trangdinhensis* Kropachev, Evsyunin, Orlov & Nguyen, 2022; — giống *Theloderma* (4 loài): *T. vietnamense* Poyarkov, Orlov, Moiseeva, Pawgkhanant, Ruangsuwan, Vassilieva, Galoyan, Nguyen & Gogoleva, 2015; *T. annae* Nguyen, Pham, Nguyen, Ngo & Ziegler, 2016; *T. auratum* Poyarkov, Kropachev, Gogoleva & Orlov, 2018; *Theloderma hekouense* Du, Wang, Liu & Yu, 2022; — giống *Zhangixalus* (3 loài): *Z. franki* Ninh, Nguyen, Orlov, Nguyen & Ziegler, 2020; *Z. jodiae* Nguyen, Ninh, Orlov, Nguyen & Ziegler, 2020; *Z. thaoae* Nguyen, Nguyen, Ninh, Le, Bui, Orlov, Hoang & Ziegler, 2024 [2].

Bên cạnh mô tả các loài mới cho khoa học, sự kết hợp giữa phân tích sinh học phân tử hiện đại và hình thái học truyền thống đã góp phần xây dựng và tu chỉnh hệ thống học các loàiẾch cây ở trên thế giới nói chung và ở Việt Nam nói riêng.

Yu et al. (2019) đã mô tả loài mới *Zhangixalus pachyproctus* dựa trên sinh học phân tử nhóm loài đồng hình *Z. smaragdinus*, đồng thời kết quả nghiên cứu này cũng khẳng định loài *Z. smaragdinus* không có phân bố ở phía Nam Trung Quốc, Lào và Việt Nam [69]. Nguyen et al. (2020) đã đánh giá quan hệ di truyền của các loài thuộc giống *Kurixalus* và *Gracixalus*, trong đó cung cấp thông tin đề xuất loài *Gracixalus waza* nên được coi là tên đồng danh của loài *G. nonggangensis* [70]. Gần đây, Dubois et al. (2021) đã đánh giá lại mối quan hệ di truyền của các loài lưỡng cư trên thế giới. Kết quả là nhóm nghiên cứu đã đề xuất tách giống *Vampyrius* từ giống *Rhacophorus* với một loài duy nhất là *Vampyrius vampyrus* [71].

Như vậy, nghiên cứu hình thái kết hợp với sinh học phân tử trên đối tượng các loàiẾch cây ở Việt Nam có nhiều tiến bộ đáng kể về hệ thống học, sự kết hợp giữa nghiên cứu hình thái và sinh học phân tử hiện đại là một công cụ hữu hiệu cho việc định loại các loàiẾch cây, đặc biệt là các nhóm loài đồng hình với nhau.

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

Theo Frost (2023), họ Cá cóc có vùng phân bố ở hầu hết các vùng nhiệt đới và ôn đới, hiện ghi nhận có 20 giống, trong đó có 5 giống ghi nhận phân bố ở châu Á. Ở Việt Nam ghi nhận 2 giống là *Paramesotriton* và *Tylototriton* với 9 loài; giống *Paramesotriton* gồm 2 loài: *P. deloustali* (Bourret, 1934) và *P. quangxiensis* (Huang, Tang & Tang, 1983). Giống *Tylototriton* ghi nhận 7 loài phân bố ở miền Bắc từ Hà Giang đến Kon Tum: *T. anguliceps* Le, Nguyen, Nishikawa, Nguyen, Pham, Matsui, Bernardes & Nguyen, 2015; *T. ngoclinensis* Phung, Pham, Nguyen, Ninh, Nguyen, Bernardes, Le, Ziegler & Nguyen, 2023; *T. pasmansii* Bernardes, Le, Nguyen, Pham, Pham, Nguyen & Ziegler, 2020; *T. sparreboomi* Bernardes, Le, Nguyen, Pham, Pham, Nguyen & Ziegler, 2020; *T. thaiorum* Poyarkov, Nguyen & Arkhipov, 2021;

*T. vietnamensis* Böhme, Schöttler, Nguyen & Köhler, 2005; *T. zieglerei* Nishikawa, Matsui & Nguyen, 2013 [2].

Nishikawa et al. (2013) đã mô tả loài mới *T. zieglerei* tại 2 tỉnh Hà Giang và Cao Bằng [72].

Zhang 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 [73].

Wang et al. (2018) nghiên cứu phát sinh loài của giống Cá cóc sần đã đánh giá ảnh hưởng sự đa dạng do biến đổi khí hậu [74].

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 pasmansii* và *T. sparreboomi* trong nhóm loài *T. asperrimus* phức tạp ở Việt Nam [75].

Poyarkov et al. (2021) mô tả loài *Tylototriton thaiorum* tại Nghệ An, trước đây ghi nhận nhầm lẫn với loài *T. notialis* (hiện nay loài đặc hữu của Lào) [76].

Đặc biệt, gần đây Phung et al. (2023) phát hiện loài mới có tên Cá cóc ngọc linh *Tylototriton ngoclinensis* tại khu vực núi Ngọc Linh (Kon Tum) [77].

### **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 Chytrid ở lưỡng cư do 2 chủng nấm *Batrachochytrium* gây ra đó là: *Bd* và *Bsal* [78]. Bệnh do *Bd* gây ra được nghiên cứu lần đầu tiên vào năm 1998 ở Úc, cho đến nay đã lây nhiễm cho 500 loài lưỡng cư trên toàn thế giới, đặc biệt là ở Úc, Châu Âu, Bắc và Nam Mỹ. Ở Đông Á tỉ lệ xuất hiện bệnh nấm Chytrid này lại khá thấp dù Đông Á được coi là nơi bắt nguồn của các chủng nấm này, theo đánh giá có thể điều kiện môi trường như: nhiệt độ, môi trường sống, khả năng kháng lại của cơ thể loài với chủng nấm là yếu tố ảnh hưởng đến sự lây truyền nguồn bệnh giữa các loài trong quần thể [79].

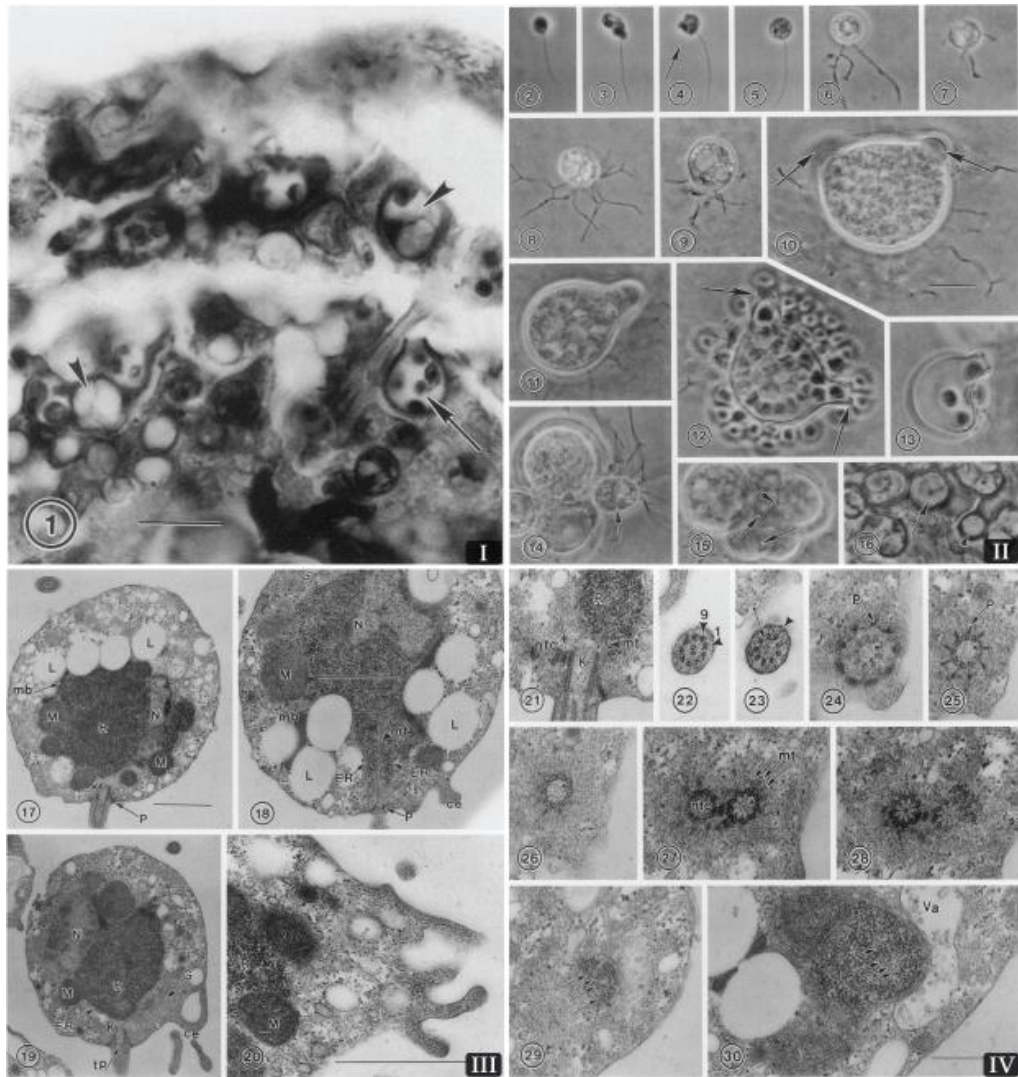
Theo nghiên cứu Crawford et al. (2010) cho thấy khả năng phản ứng cơ thể của các loài khi nhiễm chủng nấm *Batrachochytrium* là khác nhau [80]. Van Rooij et al. (2010) nghiên cứu trong phòng thí nghiệm để tìm hiểu rõ hơn về cơ chế gây bệnh ban đầu của chủng nấm *Bd* ở lưỡng cư [81]. Whitfield et al. (2012) cho rằng chủng nấm *Bd* có tỷ lệ lây lan nhanh trong các khu rừng ẩm ướt ở vùng đất thấp của Costa Rica, tuy nhiên chúng cũng có thể bị bất hoạt trong điều kiện nhiệt độ thấp [82].

Brutyn et al. (2012) chỉ ra rằng chủng nấm *Bd* lây truyền từ động vật có vú có thể làm ảnh hưởng đến vùng da của các loài lưỡng cư [83].

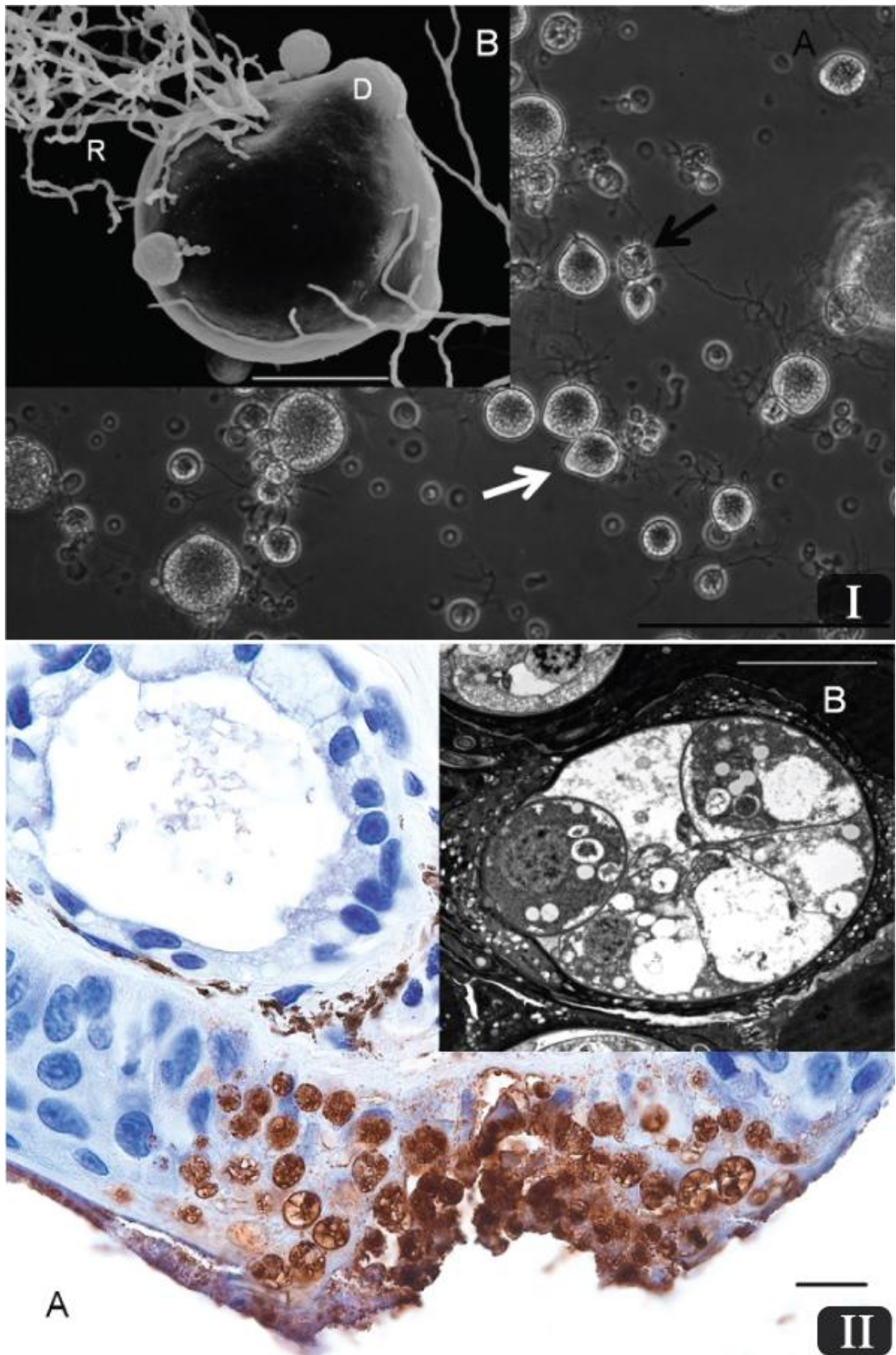
Năm 2014, một chủng nấm ký sinh gây bệnh trên lưỡng cư khác ngoài *Bd* đã được biết đến từ châu Á và châu Âu, đó là *Bsal*. Martel et al. (2014) đã cảnh báo về một loại bệnh nấm ăn da xâm nhập vào Châu Âu bởi con người, nó đã gây ra một

mối đe dọa lớn đối với loài Cá cóc bản địa. Đây là nấm đã làm suy giảm số lượng của loài *Paramesotriton deloustali* ở Hà Lan vào năm 2013. Năm 1894 chủng nấm *Bsal* được phát hiện trên các loài lưỡng cư ở các nước Nhật Bản, Thái Lan và Việt Nam, nhưng không gây bệnh. Việc các chủng nấm xuất hiện trên các loài lưỡng cư cho thấy việc buôn bán, vận chuyển các loài lưỡng cư giữa các lục địa là nguyên nhân chính lây lan dịch bệnh [84]. Theo Rodriguez et al. (2014) giả thuyết rằng mầm mống của dịch bệnh được ghi nhận ở khu vực Châu Mỹ Latinh [85]. Bletz et al. (2015) đã đánh giá sự xuất hiện rộng rãi của chủng nấm gây bệnh *Bd* trong các quần thể lưỡng cư hoang dã ở Madagascar [86]. Việc buôn bán động vật với mục đích làm sinh vật cảnh và các hoạt động khác của con người cũng góp phần rất lớn vào việc phát tán của chủng nấm *Bd* ra ngoài môi trường [87,88].

Mặc dù mới được phát hiện vào năm 1990, các kiến thức về chủng nấm *Bd* đã trở nên phổ biến, cách nhận biết cơ chế lây nhiễm mầm bệnh cũng khác nhau. Riêng dòng *Bd*-GPL đã phân tán trên toàn cầu và tốc độ lây lan nhanh [86,87]. Byrne et al. (2019) nghiên cứu đa dạng của một số mầm bệnh phổ biến trên toàn cầu là mối đe dọa lớn đối với việc bảo tồn các loài lưỡng cư. Từ đó, cho thấy chủng nấm *Bd* phân bố trên toàn cầu và có sự biến chủng thành các dòng khác nhau và khả năng gây bệnh cũng đa dạng trên các loài [91] (Hình 1.1, 1.2).



**Hình 1.3.** Hình ảnh chủng nấm *Bd* (theo Longcore et al. 1999): (I) Hình ảnh mặt cắt nhuộm của chủng *Bd* trong lớp biểu bì của loài ếch bị nhiễm bệnh tự nhiên; (II) Quá trình phân lập của chủng *Bd* trong môi trường nuôi cấy thuần khiết; (III) Hoạt động của bào tử *Bd*; (IV) Các vùng thể tích của *Bd*.



**Hình 1.4.** Hình ảnh chủng nấm *Bsal* (theo Martel et al. 2013): (I) Nuôi cấy *Bsal* trong phòng thí nghiệm; (II) Ảnh chụp kính hiển vi da của một loài kỳ giông lừa chết do nhiễm *Bsal*.

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

Ở Việt Nam đã có một số nghiên cứu về sự suy giảm của các quần thể lưỡng cư do các nguyên nhân như: ô nhiễm môi trường, biến đổi khí hậu, xâm nhập loài ngoại lai, khai thác quá mức nguồn tài nguyên. Mặc dù sự suy giảm số lượng của các quần thể lưỡng cư là chủ đề nhận được nhiều sự quan tâm trên thế giới thì ở Việt Nam những nghiên cứu về vấn đề này vẫn còn hạn chế, có thể kể đến các công trình nghiên cứu như:

Chủng nấm *Bsal* được tìm thấy trong tự nhiên, được biết loài Cá cóc có khả năng kháng lại cũng như thích nghi được *Bsal* và có khả năng ức chế sự lây nhiễm [84,92]. Điều này trái ngược hẳn với các quan sát trên thực địa đã được tìm thấy tại các nước Châu Âu [81, 90–93]. Vì chủng nấm *Bsal* mới được phát hiện, từ đó đặt ra nhiều vấn đề liên quan đến an toàn sinh học và dịch tễ học của chúng, cũng như sự phản ứng lại của các loài. Hiện chưa tìm được giải đáp hữu ích cho vấn đề này [6].

Nguyen et al. (2013) đã khảo sát về mức độ nguy hiểm và ảnh hưởng của chủng nấm *Bd* đối với các loài thuộc giống Cá cóc sần ở Việt Nam. Kết quả ghi nhận chủng nấm Chytrid từ các mẫu thu trên da của 19 cá thể của loài *Tylotriton asperrimus* và 104 cá thể loài *T. vietnamensis*. Biểu hiện bên ngoài cơ thể các cá thể Cá cóc sau khi bị lây nhiễm được ghi nhận như: tăng số lượng trực khuẩn, tế bào biểu mô. Điều này cho thấy khả năng phản ứng của chúng đối với bệnh Chytrid, từ đó khuyến nghị các biện pháp cấp bách để giảm sự lây nhiễm đối với loài này trong tự nhiên và trong điều kiện nuôi nhốt chúng [101].

Rowley et al. (2013) đã nghiên cứu về tỷ lệ nhiễm nấm *Bd* trên lưỡng cư ở một số quần thể tại KBTTN Ngọc Linh (Kon Tum) là 3,29% với khoảng tin cậy là 1,08–7,86%. Các nhóm cá thể dương tính gồm các họ Megophryidae (giống *Leptobrachium*, *Leptolalax*, *Ophryophryne*, *Xenophrys*), họ Microhylidae (giống *Microhyla*), họ Ranidae (giống *Odorrana*) và Rhacophoridae (giống *Gracixalus*, *Kurixalus*, *Rhacophorus*) [8].

Nghiên cứu của Martel et al. (2014) đã phát hiện một số quần thể của các loài thuộc giống Cá cóc sần ở Việt Nam bị nhiễm bệnh nấm *Bd* và *Bsal* [84]

Tapley et al. (2020) đã nghiên cứu sự xuất hiện của chủng nấm *Bd* và *Bsal* trên các loài lưỡng cư ở VQG Hoàng Liên (Lào Cai) dựa trên phân tích 601 mẫu từ 40 loài lưỡng cư tại 10 điểm thu mẫu [10]. Kết quả cho thấy chỉ ghi nhận 6 mẫu nhiễm chủng nấm *Bd* trên 601 mẫu và không ghi nhận sự xuất hiện của chủng nấm *Bsal* trong các mẫu phân tích. Trong đó 6 mẫu dương tính với chủng nấm *Bd* thuộc 5 loài: *Bombina microdeladigitora*, *Duttaphrynus melanostictus* (Schneider), *Boulenophrys fansipanensis*, *B. hoanglienensis* (Tapley, Cutajar, Mahony, Nguyen,

Dau, Luong, Le, Nguyen, Nguyen, Portway, Luong & Rowley, 2018) và *Gracixalus sapaensis*. Tất cả các mẫu nhiễm chủng nấm *Bd* đều không có biểu hiện khác thường trên cơ thể. Nghiên cứu cũng chỉ ra rằng chủng nấm *Bd* có tỷ lệ lây nhiễm khá thấp trong các quần thể lưỡng cư ở VQG Hoàng Liên (Lào Cai). Từ đó cho thấy chưa thể giải thích về nguyên nhân bùng phát cũng như lây lan của bệnh Chytrid đối với các loài này trên thế giới. Các nghiên cứu về bệnh học mới chỉ được bắt đầu trên một số ít loài lưỡng cư ở Việt Nam trong thời gian gần đây. Những phát hiện này cũng đã chứng tỏ nguy cơ lây nhiễm và ảnh hưởng của Chytrid đối với các quần thể lưỡng cư ở những khu vực địa lý khác nhau.

Do đó cần có các nghiên cứu tiếp theo để tìm hiểu cơ chế lây nhiễm cũng như đánh giá ảnh hưởng của các chủng nấm đến các loài lưỡng cư ở Việt Nam, cũng như ở các quốc gia khác trên thế giới và có các biện pháp dự phòng hiệu quả.

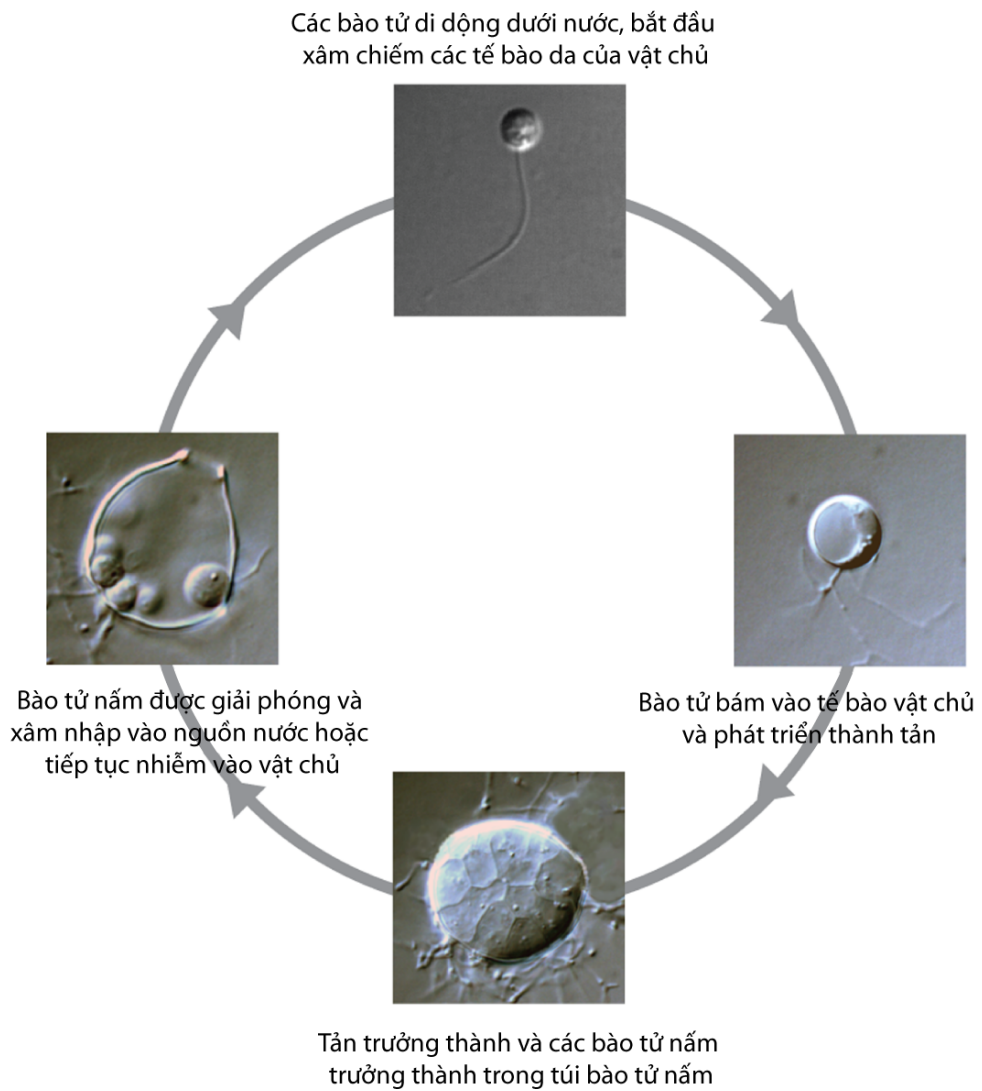
### 1.3.3. Cơ chế gây bệnh của chủng nấm trên các loài lưỡng cư

Bào tử chủng nấm *Bsal* có khả năng phá hủy tế bào da của Cá cóc trưởng thành. Biểu hiện của bệnh trên Cá cóc và các loài lưỡng cư bị nhiễm nấm kí sinh có nhiều mức độ khác nhau như: Viêm loét hay các tổn thương trên biểu mô tế bào [6]. Các tổn thương này có thể nhận biết rõ qua hình ảnh giải phẫu mô bệnh học, nhưng ở những giai đoạn đầu của lây nhiễm, với các biểu hiện triệu chứng trên cơ thể vật chủ khó có thể nhận biết bằng quan sát mắt thường [6,84]. Đồng thời phát hiện các tổn thương trên da của các loài động vật nhiễm bệnh và định lượng được lượng tế bào nấm gây bệnh tốt hơn, 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) [6,97].

Ở một số loài thuộc giống *Salamandra*, bệnh Chytrid do chủng nấm *Bsal* phát triển có thể là tiền đề cho việc biến thể bội nhiễm các vi khuẩn gây bệnh khác, dẫn đến tử vong nhanh chóng trong vòng hai tuần sau lần tiếp xúc đầu tiên. Trong khi đó các phản ứng miễn dịch không hiệu quả ở Cá cóc lửa châu Âu và một số loài Cá cóc khác có thể kháng lại chủng nấm *Bsal* [84]. Ví dụ như *Ichthyosaura alpestris* có thể kháng lại sự lây nhiễm nấm *Bsal* khi mật độ tế bào nấm vẫn còn ít [95].

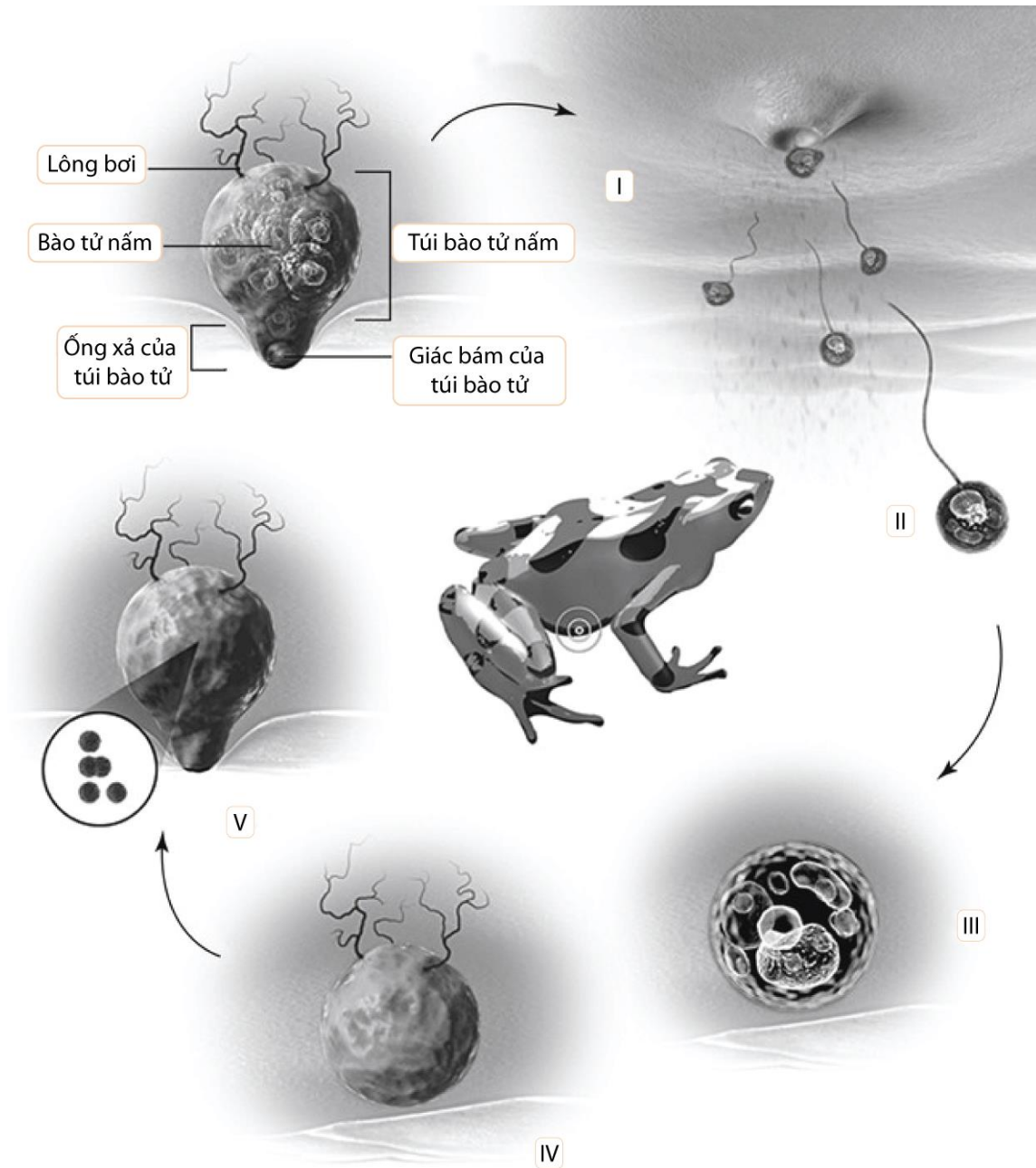
Chủng nấm *Bsal* tạo ra từ 2 loại bào tử có khả năng lây nhiễm: Loại di chuyển theo phương thức trùng roi và loại có màng bọc ở dạng bào tử. Các cá thể vật chủ ban đầu tiếp xúc đã mang chủng nấm kí sinh trên cơ thể sau đó là các giai đoạn tồn tại và phát tán; vật chủ có khả năng chống chịu với nấm hoặc nấm phát triển lây lan mạnh của các chủng nấm sẽ tiêu diệt nhanh chóng các quần thể Cá cóc trên khắp châu Âu [95]. Chủng nấm *Bsal* có khả năng lây nhiễm và gây bệnh cao, nó là mối đe dọa

nghiêm trọng đối với toàn bộ các quần thể cá cóc ở Tây Palearctic, các phương pháp để giảm thiểu sự lây nhiễm bệnh còn nhiều hạn chế [84,94,98,99].



**Hình 1.5.** Vòng đời của nấm Chytrid gây bệnh *Bd* (theo Erica B. R et al. 2010).





**Hình 1.6.** Cơ chế gây bệnh Chytrid trên lưỡng cư (theo <https://dazzling.homes/chytridiomycota-frog>)

## Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

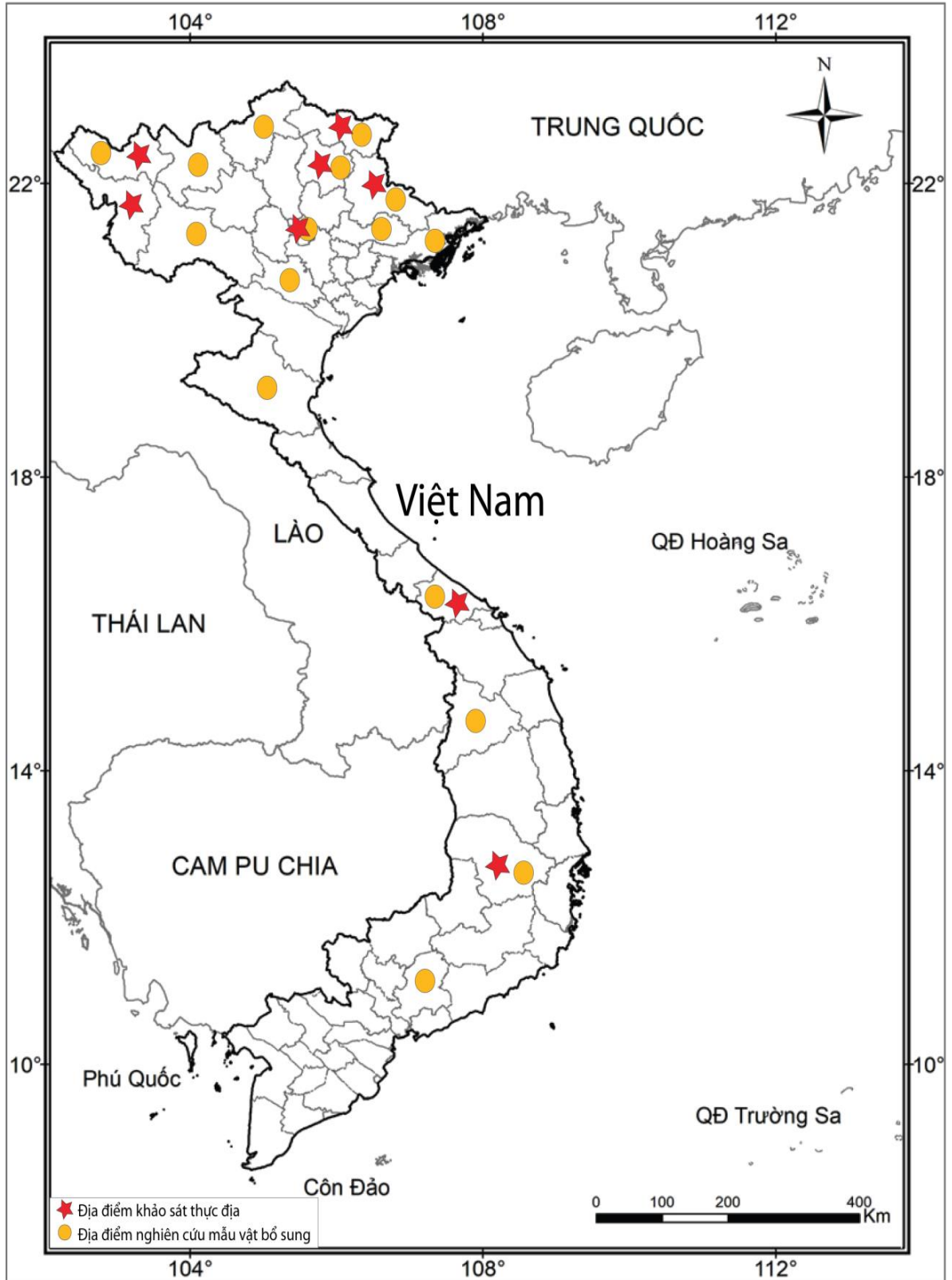
#### 2.1.1. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

- *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 (Bảng 2.1).

- *Địa điểm nghiên cứu*: Khảo sát thực địa được thực hiện ở 10 tỉnh (Bảng 2.1 và Hình 2.1). Đồng thời, chúng tôi cũng đã phân tích mẫu vật thu thập ở 14 tỉnh hiện đang được lưu trữ tại Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật (IEBR) và Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam (VNMN) bao gồm các tỉnh: Bắc Kạn, Bắc Giang, Cao Bằng, Đồng Nai, Hà Giang, Hòa Bình, Nghệ An, Kon Tum, Lào Cai, Lai Châu, Lạng Sơn, Quảng Ninh, Sơn La, Vĩnh Phúc (Hình 2.1).

**Bảng 2.1.** Thời gian và địa điểm nghiên cứu.

Địa điểm	Thời gian	Số ngày khảo sát	Số điểm khảo sát	Số thành viên tham gia
KBTTN Tây Yên Tử, Bắc Giang	8–9/5/2017	2	2	5
VQG Ba Bể, Bắc Kạn	12–13/5/2017	2	3	5
VQG Phia Oắc- Phia Đén, Cao Bằng	14–15/5/2017	2	2	4
VQG Hoàng Liên, Lào Cai	28–29/5/2017	2	2	4
KBTTN Tây Yên Tử, Bắc Giang	9–11/5/2017	3	2	5
Rừng đặc dụng Mẫu Sơn, Lạng Sơn	12–13/5/2017	2	2	4
KBTTN A Lưới, Thừa Thiên-Huế	1–6/6/2017	6	2	6
VQG Bạch Mã, Thừa Thiên-Huế	7–12/6/2017	6	2	5
VQG Ba Bể, Bắc Kạn	12–14/5/2017	2	2	5
VQG Hoàng Liên Sơn, Lào Cai	12–5/7/2017	4	2	7
VQG Tam Đảo, Vĩnh Phúc	16–17/7/2017	2	2	4
VQG Chư Yang Sin, Đắk Lắk	20–25/5/2018	6	6	4
KBTTN Nam Ka, Đắk Lắk	27/5–1/6/2018	6	6	4
VQG Tam Đảo, Vĩnh Phúc	10–12/12/2019	3	2	3
Huyện Văn Lãng, Lạng Sơn	12–16/9/2019	5	2	4
Huyện Phong Thổ, Lai Châu	8–11/5/2019	4	2	5
Huyện Tam Đường, Lai Châu	12–16/5/2019	5	3	5
VQG Phia Oắc-Phia Đén, Cao Bằng	5–6/7/2020	2	2	5
	7–8/9/2020	2	2	5
VQG Phia Oắc- Phia Đén, Cao Bằng	20–25/5/2020	6	5	3
Rừng đặc dụng Tây Côn Lĩnh và huyện Quản Bạ, Hà Giang	11–17/8/2023	7	6	14
<b>Tổng số</b>		<b>78</b>	<b>59</b>	<b>104</b>



**Hình 2.1.** Địa điểm khảo sát thực địa và địa điểm thu thập mẫu vật nghiên cứu.

### 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, chúng tôi thống kê các loài bị đe dọa ghi nhận ở các địa điểm bao gồm các loài có tên trong Nghị định 84/2021/NĐ-CP, Phụ lục CITES, Sách Đỏ Việt Nam (2007), Danh lục Đỏ IUCN (2024).

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.2.1. Khảo sát thực địa

*Thu mẫu và xử lý mẫu vật lưỡng cư*

- Thu thập mẫu vật lưỡng cư:

*Dụng cụ thực địa:* Bản đồ, GPS, túi nilon, côn, kim tiêm, xi lanh, nhãn, bút chì không tan, khay thao tác mẫu, bộ đồ phẫu thuật, gang tay không bột, khẩu trang y tế, lọ nhựa đựng mẫu vật, sổ ghi nhật ký, máy ảnh, đèn pin...

*Chọn địa điểm thu mẫu:* Nghiên cứu tập trung chủ yếu vào các khu vực ven các suối, vũng nước, ao nhỏ hoặc các vùng ẩm ướt ven các đường mòn trong rừng, dưới gốc cây mục trong rừng hoặc trên cành cây, chúng tôi cũng tiến hành khảo sát các vũng nước ven các cửa hang, động. Toạ độ các điểm nghiên cứu được xác định bằng máy định vị vệ tinh GPS Garmin Dakota 20.

*Thời gian thu mẫu:* Một số loài lưỡng cư, thu thập mẫu và quan sát vào ban ngày và ban đêm. Cụ thể, nghiên cứu tiến hành khảo sát vào ban ngày trong khoảng thời gian từ 09h:00 đến 15h:00 với các loài Cóc tía và Cá cóc. Đối với loài lưỡng cư khác như: Cóc mắt và Éch cây thì nghiên cứu thực hiện thu thập và đo đạc mẫu vật vào ban đêm trong khoảng thời gian từ 18h:00 đến 24h:00.

*Phương pháp thu mẫu:* Các loài lưỡng cư chủ yếu được thu thập bằng tay.

- Xử lý mẫu vật: Mẫu vật thu được thường đựng trong các túi nilon có chứa lá cây ướt. Sau khi chụp ảnh, một số mẫu phổ biến sẽ được thả lại tự nhiên tại điểm thu mẫu để phù hợp với sinh thái mỗi loài, một số mẫu đại diện sẽ được giữ lại làm tiêu bản phục vụ nghiên cứu.

*Làm tiêu bản:*

*Gây mê:* Mẫu vật được gây mê bằng miếng bông thấm etyl acetat trong lọ kín. Mẫu cơ và gan dùng để phân tích sinh học phân tử (DNA) được lưu giữ trong cồn 70% [100].

*Ký hiệu mẫu:* Sau khi gây mê, mẫu vật được gắn nhãn ký hiệu. Nhãn và chỉ buộc không thấm nước; chữ viết trên nhãn không bị tan trong cồn phục vụ công tác lưu trữ mẫu. Nhãn được buộc vào chân đối với các loài thuộc bộ không đuôi (*Anura*) và bộ có đuôi (*Caudata*) [100].

*Cố định mẫu:* Sắp xếp mẫu vật theo hình dạng mong muốn, sau đó phủ vải màn hoặc giấy thấm lên trên, ngâm trong cồn 80–90% trong vòng 5–10 giờ (tùy theo kích thước mẫu vật). Đối với mẫu lưỡng cư cỡ lớn, ngâm cồn 80% vào bụng và cơ của con vật để tránh thối hỏng mẫu.

**Bảo quản mẫu vật:** Để bảo quản lâu dài, sau khi cố định thì chuyển sang ngâm cồn 70%. Tùy điều kiện định kỳ thay cồn để đảm bảo việc lưu trữ mẫu.

#### *Thu mẫu nấm*

Mẫu được thu trên mẫu sống ngoài thực địa, song song cùng với việc thu mẫu lưỡng cư.

Tiến hành lấy mẫu bệnh phẩm bằng cách sử dụng đầu tăm bông tiết trùng (MW100, MWE Medical Wire, Bristol, United Kingdom) (Hình 2.2) [101]. Dùng tăm bông quét và xoay tròn đều trên da ở mặt bụng, mặt dưới đuôi (đối với Cá cóc) và đùi (mỗi cá thể quét 10 lần) của một số loài lưỡng cư.

Toàn bộ mẫu lưỡng cư thu thập để kiểm tra bệnh nấm được chụp ảnh chi tiết bề mặt da bụng, lưng, đầu, mắt để kiểm tra biểu hiện lâm sàng và so sánh giữa mẫu lưỡng cư nhiễm bệnh và mẫu không nhiễm bệnh.

Để kiểm tra nhiệt độ vũng nước, nhiệt độ nước suối và nhiệt độ môi trường xung quanh, được đo bằng nhiệt kế HHC201. Xác định tỷ lệ lây nhiễm của chủng nấm *Bsal* và *Bd* ở các loài lưỡng cư, mẫu thu được bằng cách dùng miếng gạc thu lớp chất nhầy trên da của các loài lưỡng cư [102].



**Hình 2.2.** Thao tác lấy mẫu nấm trên *M. maosoneensis*. Ảnh chụp: Nguyễn Văn Thịnh

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

### 2.2.2.1. Phân tích đặc điểm hình thái lưỡng cư

- Các loài lưỡng cư không đuôi

Các chỉ tiêu về kích thước được đo bằng thước kẹp điện tử Mitutoyo đơn vị đo với độ chính xác đến 0,1 mm [103]. Các chỉ số đo được sử dụng được trình bày trong Bảng 2.2 và Hình 2.3.

Định loại tên khoa học của các loài theo tài liệu theo tài liệu: Boulenger (1908) [104], Smith (1921) [105], Liu et al. (1950) [106], Taylor (1962) [107], Inger et al. (1999) [108], Ohler (2003) [109], Bain et al. (2004) [110], Fei et al. (2009) [13], Fei et al. (2010) [14], Yu et al. (2010) [111] [Yu et al., 2010], Tran et al. (2010) [112], Rowley et al. (2017) [113], Hecht et al. (2013) [114], Ziegler et al. (2014) [115], Orlov et al. (2015) [58], Tapley et al. (2017) [116]; Yu et al. (2019) [69].

Tên khoa học được tham khảo theo Nguyen et al. (2009) [3] và các tài liệu cập nhật khác.

**Bảng 2.2.** Các chỉ số đo hình thái của lưỡng cư không đuôi (đơn vị: mm).

Chỉ số đo	Kí hiệu	Chỉ số đo	Kí hiệu
1. Chiều dài nút mõm-lỗ huyệt	SVL	15. Chiều dài mõm	SL
2. Chiều rộng đầu	HW	16. Khoảng cách nhỏ nhất gian ổ mắt	IOD
3. Chiều dài đầu	HL	17. Chiều rộng mí mắt trên	UEW
4. Khoảng cách sau hàm-mũi	MN	18. Chiều dài ống tay	FLL
5. Khoảng cách sau hàm-góc trước ổ mắt	MFE	19. Chiều dài bàn tay	HAL
6. Khoảng cách sau hàm-góc sau ổ mắt	MBE	20. Chiều dài ngón tay III	Finger III
7. Khoảng cách giữa góc trước ổ mắt	DAE	21. Chiều dài củ bàn trong	IP
8. Khoảng cách giữa góc sau ổ mắt	DPE	22. Chiều dài ống chân	TbL
9. Khoảng cách gian mũi	IN	23. Chiều dài bàn chân	FoL
10. Khoảng cách góc trước ổ mắt-lỗ mũi	EN	24. Chiều dài đuôi	FeL
11. Đường kính mắt	ED	25. Chiều rộng ống chân	TW
12. Đường kính màng nhĩ	TYD	26. Chiều dài ngón chân I	Toes I
13. Khoảng cách góc sau ổ mắt-riạ trước màng nhĩ	TYE	27. Chiều dài ngón chân IV	Toes IV
14. Khoảng cách lỗ mũi-mút mõm	NS	28. Chiều dài củ bàn trong	IMT

- Các loài Cá cóc

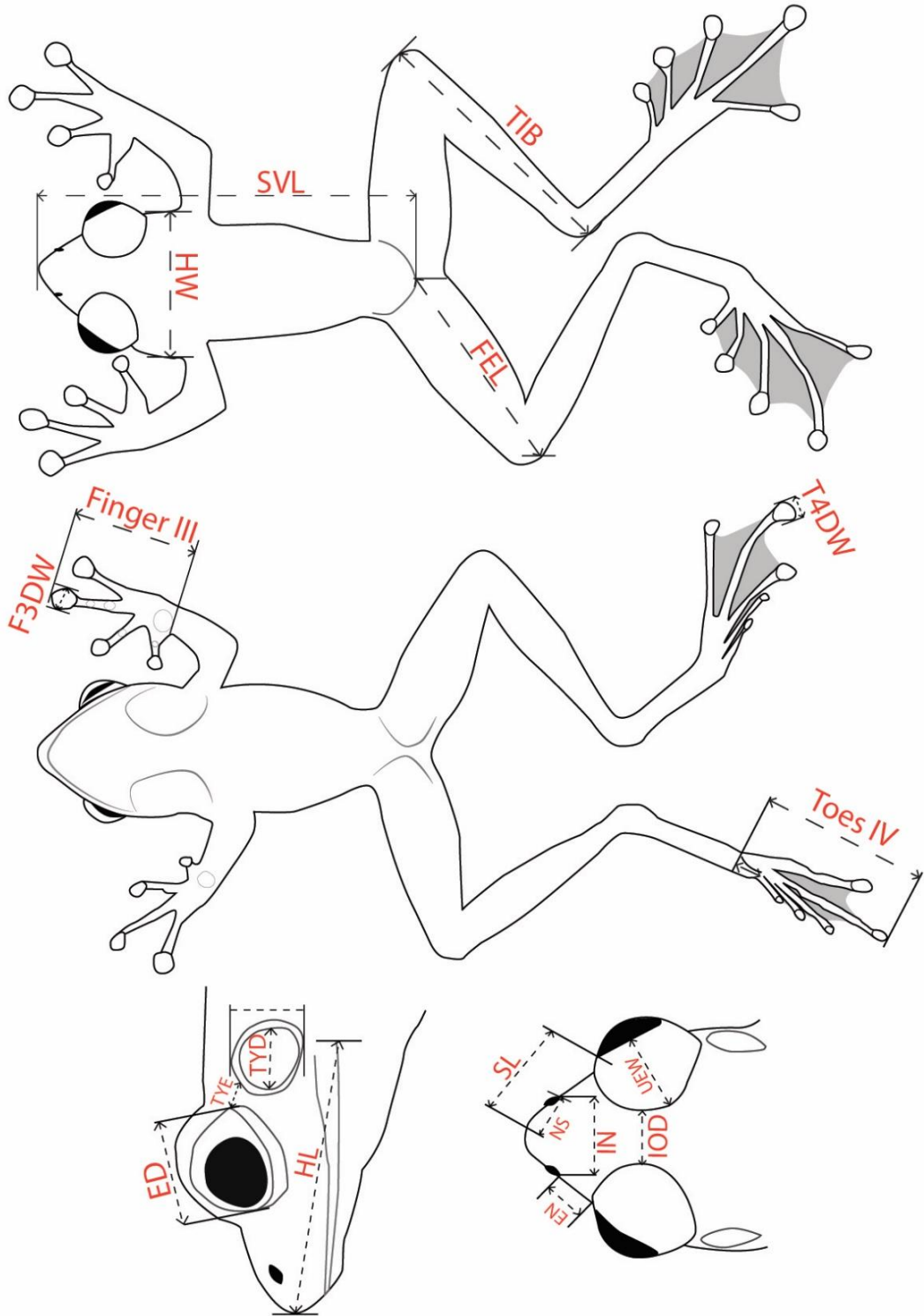
Đặc điểm hình thái của các loài lưỡng cư thuộc họ Cá cóc theo tài liệu của Nishikawa et al. (2011) và có bổ sung [117] (Bảng 2.3, Hình 2.4).

So sánh hình thái của mẫu vật thu được với các mẫu đã được định tên đang lưu giữ tại Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật (IEBR), Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam (VNMN).

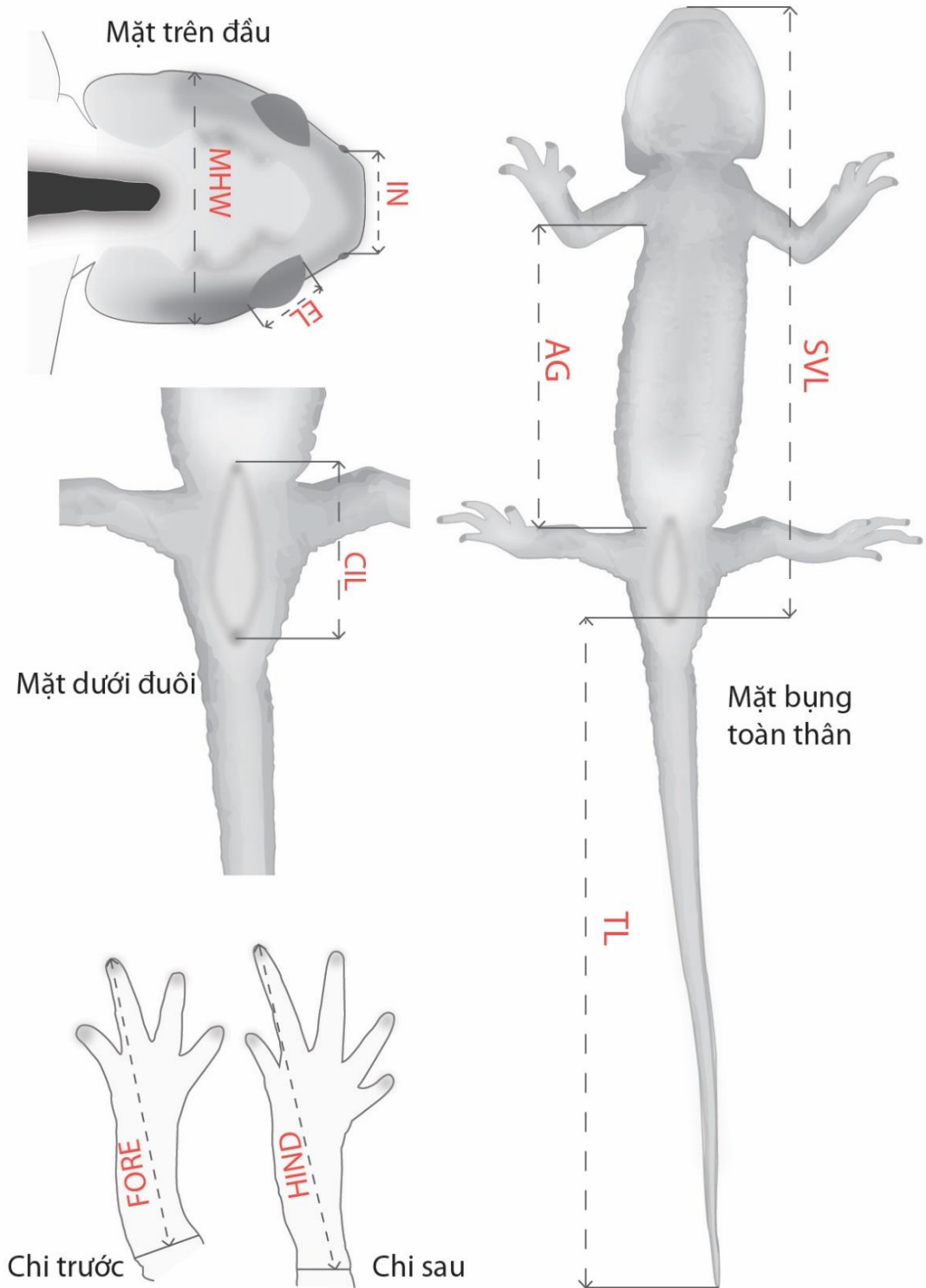
**Bảng 2.3.** Các chỉ số đo hình thái của lưỡng cư có đuôi (đơn vị: mm).

<b>Chỉ số đo</b>	<b>Kí hiệu</b>	<b>Chỉ số đo</b>	<b>Kí hiệu</b>
1. Chiều dài thân nút mõm-lỗ huyết	SVL	15. Chiều dài bàn tay	RAD
2. Chiều dài đầu	HL	16. Chiều dài đuôi	FEM
3. Chiều rộng của đầu sau rìa mắt	HW	17. Chiều dài cẳng chân	TIB
4. Khoảng cách rộng nhất của đầu	MHW	18. Chiều dài chi trước	FORE
5. Chiều rộng của tuyến mang tai	PW	19. Chiều dài chi sau	HIND
6. Chiều dài của tuyến mang tai	PL	20. Chiều dài đuôi	TL
7. Chiều cao của tuyến mang tai	PH	21. Chiều cao đuôi	TH
8. Chiều dài mắt	EL	22. Chiều dài hậu môn	CIL
9. Khoảng cách mắt-mũi	EN	23. Chiều rộng môn	CIW
10. Khoảng cách giữa 2 mũi	IN	24. Chiều rộng của xương cột sống được đo ở nốt sần thứ 5	WVr
11. Khoảng cách giữa 2 ổ mắt	IE	25. Chiều dài của 5 nốt sần trước ở mặt lưng	L5W
12. Chiều dài hàm dưới	LJL	26. Chiều dài từ nách đến bẹn	AG
13. Chiều rộng mí mắt trên	UEL	27. Chiều dài từ cổ họng đến trước hậu môn	TkL
14. Chiều dài ống tay	HUM	28. Tổng chiều dài cơ thể từ nút mõm đến nút đuôi	Total length





**Hình 2.3.** Sơ đồ minh họa các chỉ số đo mẫu vật lưỡng cư không đuôi theo Bảng 2.2. Ảnh: Nguyễn Văn Thịnh



**Hình 2.4.** Sơ đồ minh họa các chỉ số đo mẫu vật lưỡng cư có đuôi theo Bảng 2.3. Ảnh: Nguyễn Văn Thịnh

### 2.2.2.2. Phân tích thống kê

Nghiên cứu sử dụng các phương pháp thống kê và kiểm định để so sánh các đặc điểm hình thái giữa các loài thuộc giống *Paramesotriton* và giống *Tylototriton*. Cụ thể, kiểm định Shapiro-Wilk's được sử dụng để kiểm tra phân bố chuẩn ở chỉ số hình thái Chiều dài thân (SVL). Nghiên cứu sử dụng kiểm định Wilcoxon test (W) để kiểm tra sự và *P. guangxiensis*. Kiểm định ANOVA được sử dụng để so sánh giữa các loài sai khác giữa loài *Paramesotriton deloustali* thuộc giống *Tylototriton* tại Việt Nam, giá trị P-value < 0.05 khẳng định chỉ số hình thái khác biệt giữa các đối tượng so sánh. Phân tích so sánh được sử dụng trên phần mềm R.3.1.2 [118].

Ngoài những phân tích kiểm định so sánh về chỉ số hình thái Chiều dài thân (SVL), 13 chỉ số hình thái khác cũng được thu thập và so sánh. Tuy nhiên, để giảm thiểu ảnh hưởng sai lệch từ sự tương quan với chỉ số Chiều dài thân và đánh giá độc lập, nghiên cứu áp công thức chuẩn hóa do Thorpe (1975) [119], đề xuất và được áp dụng trong câu lệnh dữ liệu của Chan & Grismer (2021) [120] như sau:

$$X_{adj} = \log_{10}(X) - b[\log_{10}(SVL) - \log_{10}(SVL_{mean})],$$

Trong đó,  $X_{adj}$  = Chỉ số hình thái được chuẩn hóa;  $X$  = Chỉ số hình thái chưa được chuẩn hóa;  $b$  = Hệ số hồi quy giữa giá trị  $\log_{10}(X)$  và  $\log_{10}(SVL)$ . Các chỉ số hình thái chuẩn hóa được kiểm định tương ứng sử dụng t-test hoặc ANOVA giữa các biến 2 thành phần và nhiều hơn 2 thành phần.

Nghiên cứu sử dụng 13 chỉ số hình thái chuẩn hóa cho phân tích tổng hợp Principal Component Analysis (PCA) giữa 2 loài *P. deloustali* và *P. guangxiensis*. Các giá trị kích thước (Dim-Dimension) giải thích phần trăm sai khác về giá trị phương sai trong kiểm định PCA đánh giá sự sai khác chung về không gian hình thái giữa các loài.

Nghiên cứu sử dụng phân tích Multiple Factor Analysis (MFA) với các nhóm hình thái được phân loại gồm 5 nhóm: “Head” (chiều dài đầu, chiều rộng đầu, chiều cao đầu, rộng miệng và dài miệng), “Trunk Length” (khoảng cách giữa chi trước và chi sau), “Limbs” (dài chi trước & dài chi sau), “Cloaca” (dài lỗ huyệt) & “Tail” (dài đuôi). Kiểm định MFA được thực hiện để xác định các nhóm hình thái có đóng góp và giải thích sự sai khác trong hình thái giữa các quần thể. Nghiên cứu sử dụng phân tích hậu định Tukey post-hoc để so sánh và kiểm tra sự sai khác thông qua đánh giá sự khác biệt của giá trị kích thước sai khác phương sai Dims. Các phân tích kiểm định tổng hợp được thực hiện trên các câu lệnh “factoextra” [121] và “FactoMinerR” [122].

### 2.2.2.3. Phân tích sinh học phân tử

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, với sự hướng dẫn của PGS. TS. Nguyễn Thiên Tạo và hỗ trợ kỹ thuật của TS. Ninh

Thị Hòa, TS. Hoàng Văn Chung, ThS. Nguyễn Thị Ngân, CN. Lê Từ Hoàng Linh.

**- Sử dụng phân tích sinh học phân tử cho họ Cóc mắt, họ Ếch cây.**

Mẫu gan hoặc cơ của các loài Cóc mắt và Ếch cây được thu thập tại thực địa hoặc mẫu bảo quản trong cồn 70%, ở  $-20^{\circ}\text{C}$ . Các mẫu được sử dụng tách chiết DNA sử dụng bộ kit Dneasy Blood & Tissue (Qiagen, CHLB Đức). Quy trình tách chiết được tiến hành theo hướng dẫn của hãng sản xuất. Phản ứng PCR được tiến hành sử dụng HotStar Taq (Qiagen, CHLB Đức), với những mẫu có nồng độ DNA thấp và DreamTaq Mastermix (ThermoFisher Scientific, Hoa Kỳ) với những mẫu có nồng độ DNA cao. Đoạn gen 16S được lựa chọn để khuếch đại trong phản ứng. Mọi sử dụng cho nghiên cứu này chúng tôi tham khảo từ các nghiên cứu trước đây như sau (Bảng 2.4).

**Bảng 2.4.** Các môi sử dụng trong nghiên cứu quan hệ di truyền của họ Cóc mắt, họ Ếch cây.

Tên môi	Trình tự	Tài liệu tham khảo
H3056 (môi xuôi)	CTCCGGTCTGAACTCAGATCACGTAGG	[123]
L2606 (môi ngược)	CTGACCGTGCAAAGGTAGCGTAATCACT	[123]
Hnew (môi xuôi)	TACCATGTTACGACTTTCCTCTTCT	[124]
L2204 (môi ngược)	GGCCTAAAAGCAGCCACCTGTAAAGACAG	[125]

Tổng thể tích mỗi phản ứng PCR là 20  $\mu\text{l}$ , bao gồm 10  $\mu\text{l}$  mastermix, 7  $\mu\text{l}$   $\text{H}_2\text{O}$ , 0,5  $\mu\text{l}$  mỗi chiều môi (môi xuôi và môi ngược), 2  $\mu\text{l}$  DNA. Điều kiện phản ứng PCR:  $95^{\circ}\text{C}-5'$  đối với DreamTaqMastermix và  $-15'$  đối với HotStarTaq Mastermix; 40 chu kỳ phản ứng ở  $95^{\circ}\text{C}-30''$ ,  $56,5^{\circ}\text{C}-30''$ ,  $72^{\circ}\text{C}-1'$ ; kéo dài cuối cùng ở  $72^{\circ}\text{C}-7'$  và sản phẩm tinh sạch và giải trình tự 2 chiều ở FirstBase (Ma-lai-xi-a). Kết quả giải trình tự cuối cùng được xác thực bằng công cụ BLAST trên Ngân hàng gen (Genbank).

Các trình tự thu được, cùng với các trình tự sẵn có trên (Genbank) được đối chiếu cột bằng phần mềm ClustalX, với các lựa chọn mặc định cho chức năng sắp xếp tối ưu hoàn chỉnh. Cây quan hệ di truyền được xây dựng dựa trên phương pháp Bayesian, được sử dụng phần mềm Bayesian. Với phân tích Bayesian, mô hình tiến hóa tối ưu được xác định bằng phần mềm Modeltest v3.7 với các thông số khác được phần mềm Bayesian xác định. Các phân tích được thực hiện dựa trên phân tích cây ngẫu nhiên lúc ban đầu và chạy trong  $1 \times 10^7$  chu kỳ, lấy mẫu sau 1000 thế hệ. Giá trị của gốc nhánh được coi là đáng tin cậy khi xác suất hậu nghiệm  $\geq 95\%$ . Các loài ngoài nhóm được lựa chọn tùy theo đối tượng và mục đích nghiên cứu. Việc ước tính khoảng cách di truyền giữa các mẫu được thực hiện trên phần mềm PAUP v4.0b10.

### - Sử dụng phân tích sinh học phân tử cho họ Cá cóc

Trong nghiên cứu này. Các mẫu gan hoặc cơ được tách chiết DNA tham khảo theo quy trình được trình bày trong nghiên cứu của Kuraishi et al. (2013) [126], bổ sung và hiệu chỉnh theo Nguyen et al. (2015) [127], sử dụng bộ kit Dneasy Blood & Tissue (Qiagen, CHLB Đức). DNA tổng số sau khi tách chiết sẽ được sử dụng để khuếch đại bằng phương pháp PCR. Tỷ lệ thành phần các chất tham gia phản ứng chuỗi PCR như sau: 7 µl H<sub>2</sub>O; 10 µl mastermix; 0.5 µl mỗi chiều mỗi (mỗi xuôi và mỗi ngược), 2 µl DN khuôn. Hai đoạn mỗi được sử dụng dựa trên nghiên cứu của Wang et al. (2018) [74] (Bảng 2.5).

**Bảng 2.5.** Các mỗi sử dụng trong nghiên cứu quan hệ di truyền của họ Cá cóc.

Tên mỗi	Trình tự (ND2)	Tài liệu tham khảo
SL-1 (mỗi xuôi)	5'-ATAGAGGTTCAAACCCTCTC-3'	[74]
SL-2 (mỗi ngược)	5'-TTAAAGTGTCTGGGTTGCATTCAG-3'	[74]

Tên mỗi	Trình tự (16S)	Tài liệu tham khảo
Will 6 (mỗi xuôi)	CCCTCGTGATGCCGTTGATAC	[128]
Tval L (mỗi ngược)	CGTACCTTTTGCATCATGGTC	[127]

Các sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1%. Sản phẩm đã được nhân đoạn thành công sẽ được tinh sạch bằng bộ kit GeneJET™. Sản phẩm tinh sạch sau đó được gửi tới Công ty Firstbase (Malaysia) để giải trình tự. Trình tự trả về được cắt bỏ mỗi bằng phần mềm Chromas Pro 2.1.6. Kết quả được so sánh bằng công cụ Blast trên Genbank để xác định loài.

**Bảng 2.6.** Danh sách các mẫu vật được sử dụng trong phân tích di truyền giữa các loài thuộc giống *Tylototriton*.

STT	Tên khoa học	Số hiệu mẫu	Địa điểm thu mẫu	Mã genbank	Nguồn
1.	<i>T. ngoclinhensis</i>	GO7 KT2022 2	Ngọc Linh, Kon Tum, Việt Nam	GO7 KT2022 2	[77]
2.	<i>T. ngoclinhensis</i>	GO8 KT2022 3	Ngọc Linh, Kon Tum, Việt Nam	GO7 KT2022 2	[77]
3.	<i>T. panhai</i>	NUOL 00421	Sainyabuli, Lào	KT304310	[129]
4.	<i>T. panhai</i>	NUOL 00425	Sainyabuli, Lào	KT304311	[129]
5.	<i>T. vietnamensis</i>	IEBR A.2014.44	Mẫu Sơn, Lộc Bình, Lạng Sơn, Việt Nam	KX609962	[130]
6.	<i>T. vietnamensis</i>	IEBR A.2014.43	KBTTN Đồng Sơn-Kỳ Thượng, Hoành Bồ, Quảng Ninh, Việt Nam	KX609961	[130]
7.	<i>T. vietnamensis</i>	IEBR A.0701	Mẫu Sơn, Lộc Bình, Lạng Sơn, Việt Nam	KY800873	[131]
8.	<i>T. liuyangensis</i>	CSUFT 20100108	Hồ Nam, Trung Quốc	KJ205598	[132]
9.	<i>T. liuyangensis</i>	CIB 110601F06	Hồ Nam, Trung Quốc	KY800875	[74]
10.	<i>T. tongziensis</i>	CIB TZ20160714002	Quý Châu, Trung Quốc	OK349413	[133]
11.	<i>T. tongziensis</i>	CIB TZ20160714010	Quý Châu, Trung Quốc	OK349414	[133]
12.	<i>T. tongziensis</i>	CIB WB2020202	Quý Châu, Trung Quốc	OK349415	[133]
13.	<i>T. dabienicus</i>	CIB 08042905-3	An Huy, Trung Quốc	KY800854	[74]
14.	<i>T. dabienicus</i>	CIB 08042905-4	An Huy, Trung Quốc	KY800855	[74]
15.	<i>T. wenxianensis</i>	GZNU 200706050101	Quý Châu, Trung Quốc	FJ415596	[134]
16.	<i>T. wenxianensis</i>	GZNU 200706050102	Quý Châu, Trung Quốc	JF825868	[134]
17.	<i>T. wenxianensis</i>	GZNU 20060626001	Quý Châu, Trung Quốc	FJ415600	[74]
18.	<i>T. wenxianensis</i>	GZNU 20060626002	Quý Châu, Trung Quốc	JF825872	[133]
19.	<i>T. wenxianensis</i>	CIB WG20090601002	Quý Châu, Trung Quốc	KY800840	[74]
20.	<i>T. wenxianensis</i>	CIB WG20090601001	Quý Châu, Trung Quốc	KY800841	[74]
21.	<i>T. wenxianensis</i>	CIB 2010123101	Cam Túc, Trung Quốc	KY800867	[74]
22.	<i>T. wenxianensis</i>	CIB 2010123102	Cam Túc, Trung Quốc	KY800868	[74]
23.	<i>T. asperrimus</i>	SYS a006890	Quảng tây, Trung Quốc	OK539838	[63]
24.	<i>T. asperrimus</i>	CIB GX20080714	Quảng tây, Trung Quốc	KY800819	[74]

25.	<i>T. pasmansi</i>	IEBR 4466	Đà Bắc, Hòa Bình, Việt Nam	MT210166	[75]
26.	<i>T. pasmansi</i>	IEBR 4467	Đà Bắc, Hòa Bình, Việt Nam	MT210167	[75]
27.	<i>T. sparreboomi</i>	IEBR 4476	Sin Hồ, Lai Châu, Việt Nam	MT210162	[75]
28.	<i>T. sparreboomi</i>	IEBR 4477	Sin Hồ, Lai Châu, Việt Nam	MT210163	[75]
29.	<i>T. ziegleri</i>	VNMN 3390	Quản Bạ, Hà Giang, Việt Nam	KY800889	[131]
30.	<i>T. notialis</i>	FMNH 271120	Khăm Muộn, Lào	HM462061	[135]
31.	<i>T. thaiorum</i>	ZMMU A-7577	VQG Pù Hoạt, Nghệ An	MW883478	[76]
32.	<i>T. verrucosus</i>	No voucher	Doi Chang, Chiang Rai, Thái Lan	LC505606	[130]
33.	<i>T. verrucosus</i>	No voucher	Doi Chang, Chiang Rai, Thái Lan	LC505607	[130]
34.	<i>T. podichthys</i>	NCSM 77725	Phoukhoun, Luang Phabang, Lào	KT304295	[129]
35.	<i>T. shanjing</i>	KUHE 46406	Pet Trade	KY800880	[74]
36.	<i>T. uyenoii</i>	KUHE:19147	Doi Suthep, Chiang Mai Prov., Thái Lan	AB830733	[72]
37.	<i>T. anguliceps</i>	VNMN A.2014.3	KBTTN Mường Nhé, Điện Biên, Việt Nam	LC017832	[129]
38.	<i>T. yangi</i>	KUHE 42282	Mẫu vật buôn bán	KY800887	[72]
39.	<i>T. ngarsuensis</i>	LSUHC 13762	Shan, Mi-an-mar	MH836585	[18]
40.	<i>T. taliangensis</i>	CIB GG200110183	Tứ Xuyên, Trung Quốc	KC147819	[132]
41.	<i>T. pseudoverrucosus</i>	CIB WCG2012003	Tứ Xuyên, Trung Quốc	KY800861	[74]
42.	<i>Pleurodeles waltl</i>	MVZ 231894	Andalusia, Tây Ban Nha	EU880330	[136]
43.	<i>P. waltl</i>	MVZ 162384	Rabat, Morocco	AY916026	[137]

**Bảng 2.7.** Danh sách các mẫu vật được sử dụng trong phân tích di truyền giữa các loài thuộc giống *Paramesotriton*.

(Chú thích: \* Nghiên cứu này, – không có dữ liệu)

STT	Tên khoa học	Số hiệu mẫu	Địa điểm thu mẫu	ND2	16S	Nguồn
1	<i>P. deloustali</i>	MVZ 223628	VQG Tam Đảo, Vĩnh Phúc, Việt Nam	–	EU880327	[138]
2	<i>P. deloustali</i>		Vân Nam, Trung Quốc	–	KY744236	[138]
3	<i>P. deloustali</i>	CAU1507046	Vân Nam, Trung Quốc	–	NC 037713	[138]
4	<i>P. deloustali</i>	TD03	VQG Tam Đảo, Vĩnh Phúc, Việt Nam	–	BK (4) BB	*
5	<i>P. deloustali</i>	BK (2) BB	VQG Ba Bể, Bắc Kạn, Việt Nam	*	BK (4) BB	*
6	<i>P. deloustali</i>	BK (1) BB	VQG Ba Bể, Bắc Kạn, Việt Nam	–	*	*
7	<i>P. deloustali</i>	BK (4) BB	VQG Ba Bể, Bắc Kạn, Việt Nam	–	*	*
8	<i>P. deloustali</i>	BK (3) BB	VQG Ba Bể, Bắc Kạn, Việt Nam	*	*	*
9	<i>P. deloustali</i>	VNMN 6621	VQG Tam Đảo, Vĩnh Phúc, Việt Nam	*		*
10	<i>P. deloustali</i>	VNMN 6622	VQG Tam Đảo, Vĩnh Phúc, Việt Nam	*		*
11	<i>P. deloustali</i>	XM 10 HG	Xín Mần, Hà Giang, Việt Nam	*		*
12	<i>P. deloustali</i>	XM 12 HG	Xín Mần, Hà Giang, Việt Nam	*		*
13	<i>P. deloustali</i>	Laocai 02	Lào Cai, Việt Nam	*		*
14	<i>P. deloustali</i>	Son La 03	Son La, Việt Nam	*		*
15	<i>P. deloustali</i>	Son La 04	Son La, Việt Nam	*		*
16	<i>P. deloustali</i>	VNMN 06615	VQG Tam Đảo, Vĩnh Phúc, Việt Nam	*		*
17	<i>P. deloustali</i>	VNMN 06616	VQG Tam Đảo, Vĩnh Phúc, Việt Nam	*		*
18	<i>P. deloustali</i>	VNMN 6617	VQG Tam Đảo, Vĩnh Phúc, Việt Nam	*		*
19	<i>P. quangxiensis</i>	CB (1)	Cao Bằng, Việt Nam	*	*	*
20	<i>P. quangxiensis</i>	CB (2)	Cao Bằng, Việt Nam		*	*
21	<i>P. quangxiensis</i>	CB (3)	Cao Bằng, Việt Nam		*	*
22	<i>P. quangxiensis</i>	Genbank	Quảng Tây, Trung Quốc	NC35008	NC35008	[132]
23	<i>P. quangxiensis</i>	Genbank	Quảng tây, Trung Quốc	KY609177	KY609177	[132]
24	<i>P. chinensis</i>	–	Chiết Giang, Trung Quốc		NC 35008	[132]
25	<i>P. chinensis</i>	–	Chiết Giang, Trung Quốc		KY609177	[132]



Các trình tự mới phân tích và các trình tự tham khảo trên Genbank được sắp xếp bằng phần mềm Bio Edit. Khoảng cách di truyền giữa các đơn vị phân loại được tính toán bằng cách so sánh các số lượng khác biệt cố định và các đột biến chung, số lượng nu-clê-ô-tit (Nu) thay thế trung bình cũng như số lượng Nu thay thế thực tại từng vị trí. Cây phát sinh chủng loại sẽ được xây dựng dựa trên phương pháp phân tích hợp lý tối đa Maximum Likelihood (ML) có trong phần mềm Kakusan 4 và Treefinder [139,140]. Mô hình tiến hóa của các trình tự sẽ được lựa chọn dựa trên tiêu chí thông tin Akaike (AIC) bằng cách so sánh các mô hình phân tích Kakusan. Phân tích mô phỏng phi thông số cung cấp độ tin cậy về thống kê cho các nhánh trong cây quan hệ di truyền dựa trên phân tích hợp lý tối đa trong phương pháp Bayesian inference (BI) bằng phần mềm MrBayes v3.2 [141]. Giá trị xác suất hậu nghiệm gốc nhánh được coi là đáng tin cậy đối với hai dạng mô hình xây dựng cây ML và BI lần lượt là 75 và 95.

Trình tự gen ND2 của 43 mẫu vật thuộc giống *Tylototriton* thuộc 23 loài được sử dụng trong phân tích di truyền, trong đó 2 trình tự của loài *Pleurodeles waltl* sử dụng làm nhóm ngoài cho việc so sánh trong quá trình xây dựng cây quan hệ di truyền (Bảng 2.6)

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, hai trình tự của loài *Pleurodeles waltl* được sử dụng làm nhóm ngoài cho việc so sánh trong quá trình xây dựng cây quan hệ di truyền (Bảng 2.7).

#### 2.2.3.4. Phương pháp xác định các chủng nấm gây bệnh

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.

Quy trình tách chiết DNA từ tấm bông [6].

DNA từ tấm bông

Lắc lọ PrepMan Ultra solution trước khi sử dụng;

Đặt đầu pipet chứa bông gòn vào trong ống eppendorf chứa 100µl PrepMan Ultra solution;

Cắt đi phần bông thừa, quay ly tâm ống eppendorf trong vòng 1 phút, ở mức 8000 rpm (vòng/phút);

Loại bỏ đầu pipet chứa bông và ủ ống nghiệm ở 100°C trong vòng 10 phút;

Quay ly tâm 3 phút ở mức 13000 rpm;

Pha loãng DNA 10 lần (10µl DNA & 90µl nước HPLC) và lắc kỹ.

Các mẫu được phân tích dựa trên sử dụng môi đặc hiệu *Bsal* và *Bd*, quy trình real-time PCR được mô tả bởi Blooi et al. (2013) [97], trên hệ thống real-time

CFX96 (Bio-Rad, Mỹ). Kết quả real-time PCR (trình tự gen (GE) bào tử của *Bsal* và *Bd* đã được hiệu chuẩn theo hệ số pha loãng ban đầu. Kỹ thuật qPCR được tiến hành bằng cách sử dụng mẫu dò Taqman MGB có khả năng phân biệt các trình tự nucleotide trong bộ gen ty thể *Bd* được chẩn đoán khi đại dịch toàn cầu hóa (*Bd* GPL) [86].

**Bảng 2.8.** Các môi sử dụng trong nghiên cứu xác định chủng nấm .

Tên môi	Trình tự (16S)	Tài liệu tham khảo
SterF (môi xuôi)	5'- TGCTCCATCTCCCCCTCTTCA-3'	[6]
STerR (môi ngược)	5'- TGAACGCACATTGCACTCTAC-3'	[6]

Tất cả các môi và mẫu dò đã được phân tích trên BLASTN, để đảm bảo sự khuếch đại gen từ các sinh vật hoặc loài khác là không thể xảy ra. Đối với *Bsal*, tính đặc hiệu của môi được kiểm soát trong quá trình PCR chất huỳnh quang SYBR, tách chiết DNA khi nuôi cấy *Bsal* thuần chủng và kiểm tra tín hiệu âm tính dựa trên phân tích đường cong nóng chảy và điện di trên gel của các sản phẩm PCR.

Chất huỳnh quang SYBR được thực hiện trên hệ thống real-time PCR-CFX96 (Bio-Rad, Mỹ). Hỗn hợp phản ứng gồm PCR chất huỳnh quang 12,5  $\mu$ l SYBR (1xSensiMix SYBR No-ROX; Bioline Re-agent Ltd., London, Vương quốc Anh), *Bsal* sử dụng môi xuôi STerF ở nồng độ 0,3  $\mu$ M, *Bsal* môi ngược STerR ở nồng độ 0,3  $\mu$ M, 5 $\mu$ l mẫu và thể tích nước tổng số có RNase và DNase lên tổng cộng 25  $\mu$ l đã được sử dụng trong mỗi phản ứng. Điều kiện khuếch đại bao gồm 95°C trong 10', sau đó trong 40 chu kỳ 95°C trong 15'' và 62°C trong 15''. Độ dốc nhiệt độ từ 60–95°C, với số lần đọc trên đĩa ở mọi mức tăng nhiệt độ 0,5°C [97].

### Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

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

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

Dựa vào kết quả phân tích 234 mẫu vật, 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 Ếch cây và 8 loài thuộc họ Cá cóc (Bảng 3.1).

Trong đó, có 6 loài ở mức EN = Endangered (Nguy cấp) thuộc SĐVN (2007)

Có 8 loài thuộc Danh lục Đỏ IUCN (2024)

Có 8 loài thuộc phụ lục II CITES 2022

Có 8 loài thuộc NĐ 84/2021/NĐ-CP (Bảng 3.2).

**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 mày phê	<i>Brachytarsophrys cf. feae</i> (Boulenger, 1887)	Cao Bằng
7	Cóc mày na hang	<i>Leptobranchella nahangensis</i> (Lathrop, Murphy, Orlov & Ho, 1998)*	Hà Giang
8	Cóc mày đêm khuya	<i>Leptobranchella nyx</i> (Ohler, Wollenberg, Grosjean, Hendrix, Vences, Ziegler & Dubois, 2011)	Hà Giang
9	Cóc mày 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,

STT	Tên Việt Nam	Tên khoa học	Địa điểm thu mẫu
12	Cóc núi han-x	<i>Ophryophryne hansii</i> (Ohler, 2003)	Gia Lai 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 sparreboommi</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

Nhận xét: 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 [3],[2].



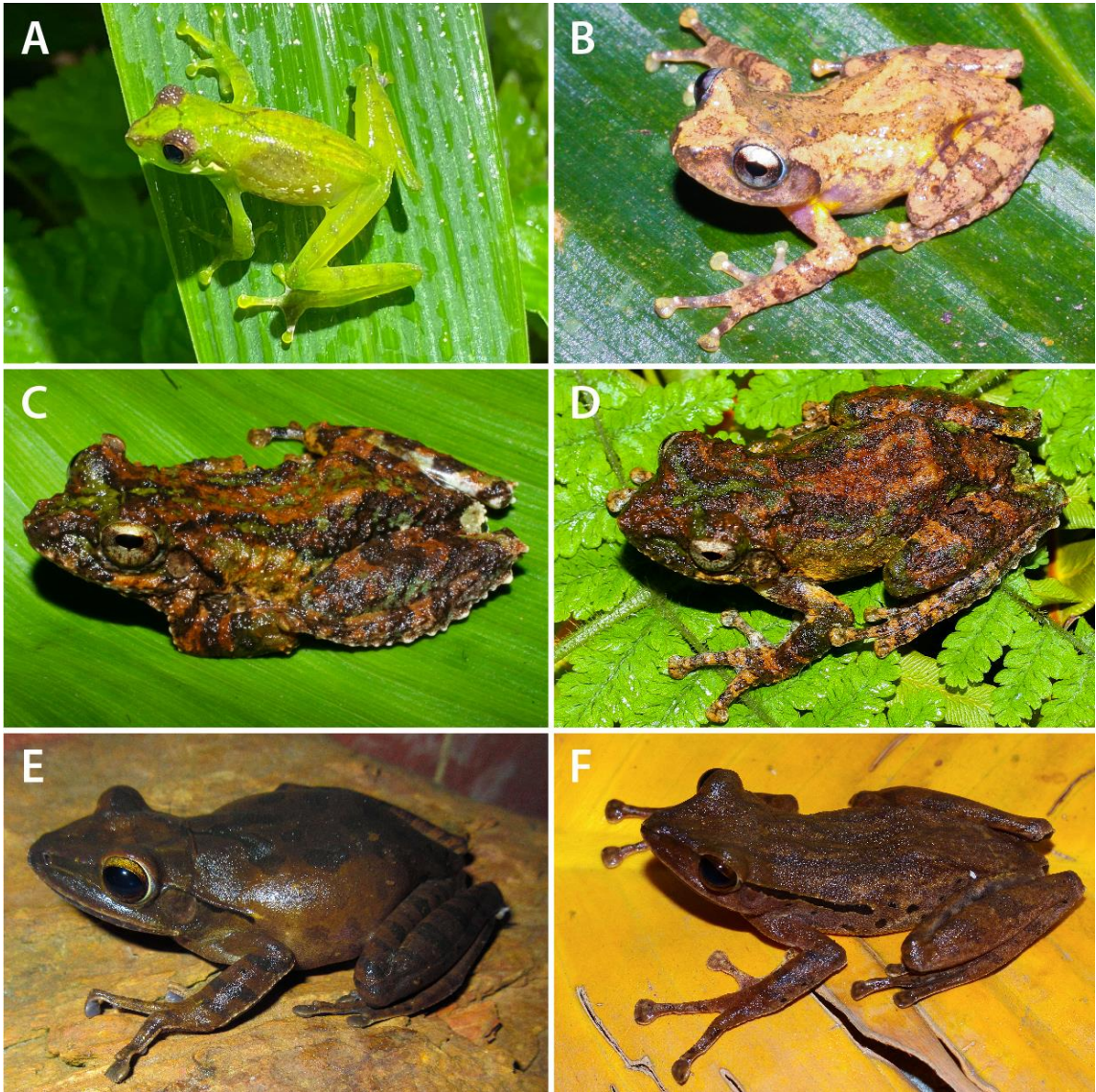
**Hình 3.1.** Hình ảnh loài: – Họ Cóc tía *Bombina microdeladigitora*  
 Ảnh chụp: Nguyễn Thiên Tạo.



**Hình 3.2.** Hình ảnh các loài: – Họ Cóc mắt: (A) *Atympanophrys gigantea*, (B) *Boulenophrys caobangensis*, (C, D) *B. jingdongensis*, (E) *B. rubrimera*, (F) *Brachytarsophrys* cf. *faeae*. Ảnh chụp (A, B, C, D, F). Lương Mai Anh, (E). Nguyễn Thiên Tạo.



**Hình 3.3.** Hình ảnh các loài: – Họ Cóc mắt. (A) *Leptobrachella nahangensis*, (B) *L. nyx*, (C) *L. sungi*, (D) *Leptobrachium ailaonicum*, (E) *Ophryophryne gerti*, (F) *O. hansii*, (G) *O. microstoma*, (H) *Xenophrys maosonensis*; Ảnh chụp: (A, B, C, E, F, G, H) Nguyễn Thiên Tạo, (D) Lương Mai Anh.

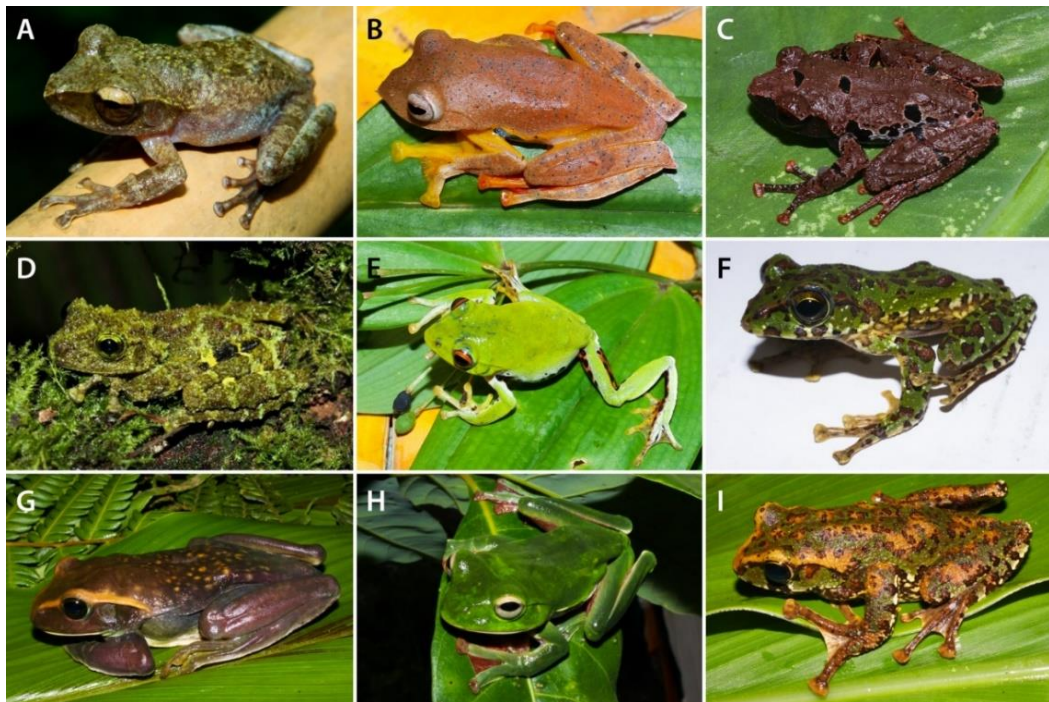


**Hình 3.4.** Hình ảnh các loài: – Họ Ếch cây: (A) *Gracixalus gracilipes*, (B) *G. sapaensis*, (C) *Kurixalus* cf. *bisacculus*, (D) *K. hainanus*, (E) *Polypedates megacephalus*, (F) *P. mutus*. Ảnh chụp: (A) Nguyễn Văn Thịnh, (C) Nguyễn Thiên Tạo, (B) Phạm Thế Cường, (D, E, F) Lương Mai Anh.





**Hình 3.5.** Hình ảnh các loài: – Họ Ếch cây. (A) *Raorchestes* cf. *parvulus*, (B) *Rhacophorus annamensis*, (C) *R. helenae*, (D) *R. kio*. Ảnh chụp: (A) Phạm Thế Cường, (B) Nguyễn Thiên Tạo, (C, D) Lương Mai Anh.



**Hình 3.6.** Hình ảnh các loài: – Họ Ếch cây: (A) *Rhacophorus orlovi*, (B) *R. napoensis*, (C) *Theلودerma hekouense*, (D) *T. khoii*, (E) *Zhangixalus dorsoviridis*, (F) *Z. duboisi*, (G) *Z. feae*, (H) *Z. pachyproctus*, (I) *Z. puerensis*. Ảnh chụp: (A, C, E, G, H, I) Lương Mai Anh, (B, D, F) Nguyễn Thiên Tạo.



**Hình 3.7.** Hình ảnh các loài họ Cá cóc: (A) *Paramesotriton deloustali*, (B) *P. guangxiensis*, (C) *Tylototriton anguliceps*, (D) *T. pasmansi*, (E) *T. sparreboomi*, (F) *T. thaiorum*, (G) *T. vietnamensis*, (H) *T. zieglerei*. Ảnh chụp: (A, B, G, H) Nguyễn Thiên Tạo, (C, E) Phạm Văn Anh, (D) Ngô Ngọc Hải, (F, H) Phạm Thế Cường.

**Bảng 3.2.** Các loài lưỡng cư có giá trị bảo tồn ở khu vực nghiên cứu.

TT	Tên Việt Nam	Tên khoa học	NĐ 84 2021	CITES 2022	SDVN 2007	IUCN 2024
1	Cóc tía	<i>Bombina microdeladigitora</i>			VU	
2	Cóc mắt lớn	<i>Atympanophrys gigantea</i>				VU
4	Cóc mắt đùi đỏ	<i>Boulenophrys rubrimera</i>				EN
7	Ếch gai hàm sa pa	<i>Leptobrachium ailaonicum</i>			VU	NT
8	Cóc núi gót	<i>Ophryophryne gerti</i>				EN
9	Nhái cây sa pa	<i>Gracixalus sapaensis</i>				EN
10	Ếch cây he len	<i>Rhacophorus helenae</i>			VU	EN
11	Ếch cây ki ô	<i>Rhacophorus kio</i>			EN	
14	Ếch cây phê	<i>Zhangixalus feae</i>			VU	
15	Cá cóc tam đảo	<i>Paramesotriton deloustali</i>	IIB	II	EN	
16	Cá cóc quảng tây	<i>Paramesotriton guangxiensis</i>	IIB	II	VU	VU
17	Cá cóc gờ sọ mảnh	<i>Tylototriton anguliceps</i>	IIB	II	EN	
18	Cá cóc ngọc linh	<i>Tylototriton ngoclinhensis</i>	IIB	II		
19	Cá cóc sần pasmans	<i>Tylototriton pasmansii</i>	IIB	II	VU	
20	Cá cóc sần sparreboom	<i>Tylototriton sparreboomi</i>	IIB	II	EN	
21	Cá cóc thái	<i>Tylototriton thaiorum</i>	IIB	II		
22	Cá cóc việt nam	<i>Tylototriton vietnamensis</i>	IIB	II	EN	VU
23	Cá cóc sần zig-lơ	<i>Tylototriton ziegleri</i>	IIB	II	EN	VU

**Ghi chú:** Các bậc xếp hạng trong Sách Đỏ Việt Nam (2007) và Danh lục đỏ IUCN (2024): EN = Endangered (Nguy cấp), VU = Vulnerable (Sẽ nguy cấp); NĐ84/2021/NĐ-CP (2021) = Nghị định 84 của Chính phủ: Nhóm IIB: Danh mục động vật rừng nguy cấp, quý, hiếm. Công ước CITES (2022): Phụ lục II - loài chưa bị đe dọa tuyệt chủng nhưng việc buôn bán các loài trong phụ lục này phải được kiểm soát để tránh tình trạng bị đe dọa tuyệt chủng.

### 3.1.2. Phát hiện mới

- Loài mới cho khoa học

Kết quả nghiên cứu đã phát hiện và mô tả một loài mới cho khoa học là Ếch cây sần khô *Theلودerma khoii*, với mẫu chuẩn được thu tại huyện Quán Bạ (Hà Giang). *T. khoii* có đặc điểm hình thái tương đồng với loài Ếch cây sần hai màu *T. bicolor* được ghi nhận phân bố ở khu vực Tây Bắc, Việt Nam. Tuy nhiên, 2 loài này có sự khác biệt về hình thái, ở loài *T. khoii* có một số đặc điểm như: Màng nhĩ nổi rõ ràng, khước mắt tròn, các đường gờ xương từ mắt đến chẩm đầu không có, da đầu nhô cao, phần sườn thân có màu nâu rõ ràng, phần bụng có dải màu vàng, vại đốm hơi xanh nhỏ trên cổ họng. Loài *T. khoii* có sai khác di truyền thấp nhất với loài *T. bicolor* là 4,6% và cao nhất so với loài *T. lateriticum* là 17,1% dựa trên so sánh trình tự của đoạn gen 16S rRNA. Loài *T. khoii* có môi trường sống trong các hốc cây có nước, hoặc gần hang đá ẩm, trong một thung lũng rừng núi đá vôi, có cây gỗ vừa và nhỏ xen lẫn cây bụi và dây leo.

- Lần đầu tiên ghi nhận chủng nấm *Bsal* tại Việt Nam: Trên đối tượng là loài Cóc tí *Bombina microdeladigitora* (tỉnh Lào Cai) và các loài cá cóc thuộc 2 giống *Paramesotriton* (tỉnh Hòa Bình, Bắc Kạn, Lào Cai và Vĩnh Phúc) và *Tylostotriton* (tỉnh Bắc Giang, Cao Bằng và Hà Giang).

- Ghi nhận phân bố mới cho các tỉnh: trong số 13 loài thuộc họ Cóc mắt và 19 loài thuộc họ Ếch 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 Ếch cây ghi nhận vùng phân bố mới cho tỉnh Hà Giang, tỉnh Bắc Kạn và tỉnh Cao Bằng (Bảng 3.3).

**Bảng 3.3.** Ghi nhận vùng phân bố mới cho các tỉnh.

Họ	Tên khoa học	Vùng phân bố mới
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
Ếch 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

### 3.1.3. Đặc điểm hình thái các loài lưỡng cư mới ghi nhận ở khu vực nghiên cứu

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: số lượng mẫu vật nghiên cứu, một số chỉ tiêu

hình thái chính, mô tả đặc điểm nhận dạng, cung cấp một số đặc điểm sinh thái tại điểm thu mẫu và phạm vi phân bố của loài ở Việt Nam. Ngoài ra, do các loài có nhiều đặc điểm tương đồng về mặt hình thái và phức tạp về phân loại học, nghiên cứu nhấn mạnh mô tả hình thái và kết hợp phân tích thống kê và so sánh các đặc điểm hình thái giữa các loài của 2 giống *Paramesotriton* và *Tylototriton*.

**Ếch cây sần khô–*Theloderma khoii* Ninh, Nguyen, Nguyen, Hoang, Siliyavong, Nguyen, Le, Le & Ziegler, 2022**

Mẫu vật nghiên cứu (n=2): 01 ♂ (VNMN 012757) và 01 ♀ (VNMN 012758) thu ở Hà Giang.

Kích thước: ♂ (n=1): SVL 52,2 mm, HW 19,7 mm, HL 19,7 mm, ED 4,6 mm; ♀ (n=1): SVL 59,4 mm, HW 20,7 mm, HL 21,5 mm, ED 5,6 mm (Phụ lục T2).

Đặc điểm nhận dạng: Kích thước cơ thể trung bình; chiều dài đầu bằng chiều rộng đầu; mút mõm nhọn, có lỗ mũi hình bầu dục, chiều dài mõm gấp đôi đường kính mắt, đồng tử tròn, màng nhĩ rõ, có răng lá mía, lưỡi lớn, có xẻ thùy, có nếp gấp trên màng nhĩ. 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.

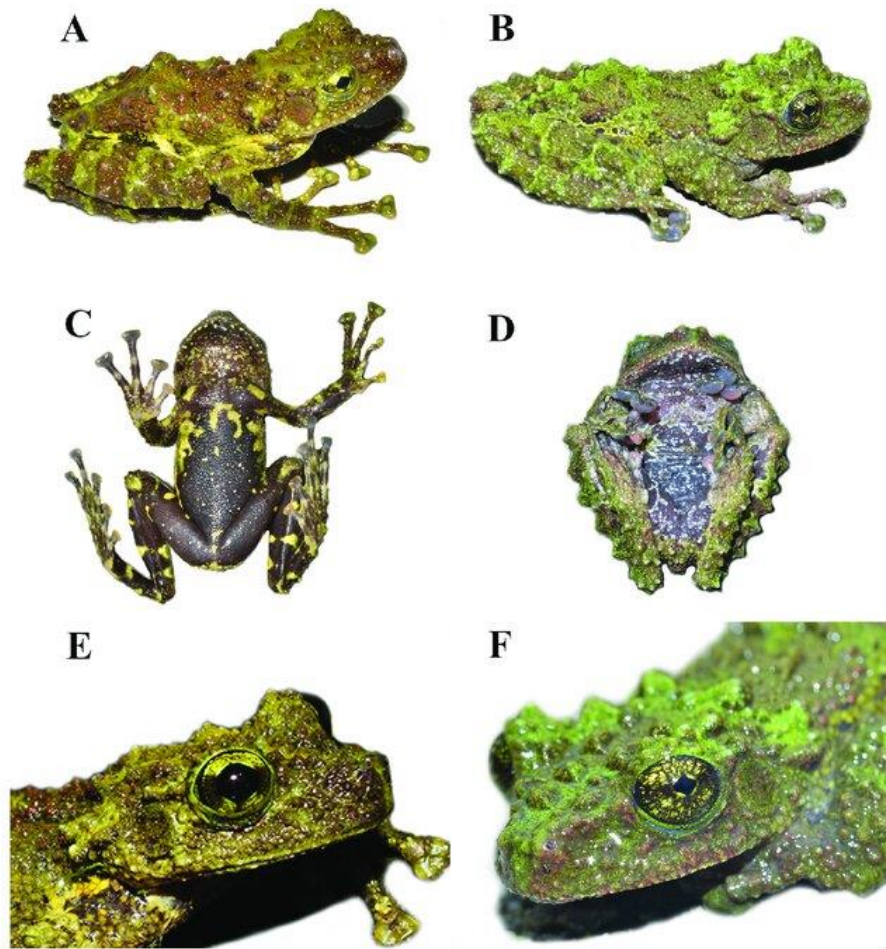
*Da*: Mặt lưng và mặt trên các chi sần, có các đường gờ lớn không đều, xếp đối xứng mở vùng đốt sống giữa, có một tuyến sừng lớn, rõ rệt phía sau đầu hình chữ X; trên mỗi hốc mắt có 3–4 tuyến hình nón rõ rệt; mặt bên của cơ thể có các nốt sần dạng hạt; có các nốt sần hình nón lớn ở mặt sau đùi gần lỗ huyết; cổ họng và ngực có vài vết sần nhỏ; bụng, mặt bụng và mặt dưới đùi có các nốt sần phẳng dày lên hoặc mụn cóc ở háng; vùng nách và mặt dưới xương chày nhẵn; xung quanh màng nhĩ có các nốt sần nhỏ, có 4–5 nốt sần to ở phía sau (Hình 3.6D).

*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; mặt lưng của chi trước và chi sau có dải màu xanh lá cây và một số mảng không đều trên màng; cả hai đĩa ngón tay và ngón chân đều có màu xanh lá cây, ở giữa có màu ô-liu đậm; củ bàn có màu trắng ngà; cổ họng và ngực màu nâu sẫm có mụn cóc 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.

*Phân bố*: Loài *T. khoii* hiện chỉ ghi nhận phân bố ở Hà Giang, Việt Nam và Vân Nam, Trung Quốc [142] (Hình 3.9A).

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.



**Hình 3.8.** Sự khác biệt hình thái giữa: *Theloderma khoii* (A, C, E) và *T. bicolor* (B, D, F). Tham khảo theo: Ninh et al. (2022).

### Họ cóc mắt

#### Cóc mắt jingdong–*Boulenophrys jingdongensis* (Fei & Ye, 1983)

Mẫu vật nghiên cứu (n=4): 02 ♂ (IEBR YTY.2018.12, VNMN 1480) thu ở Lào Cai; 02 ♂ (IEBR TĐ.LC.2020.21, 22) thu ở Lai Châu.

Kích thước: ♂ (n=4): SVL 48,8–54,4 mm; HW 18,3–19,7 mm; HL 18,1–20,8 mm; ED 5,2–6,6 mm (Phụ lục T1).

Đặc điểm nhận dạng: Kích cỡ cơ thể nhỏ; chiều dài đầu lớn hơn chiều rộng đầu, mõm tròn, màng nhĩ rõ, có răng lá mía, lưỡi xẻ thùy nông, có nếp gấp trên màng nhĩ. Chi trước không có màng bơi giữa các ngón tay, mút ngón tay tròn, có củ bàn trong, có nốt sần dưới ngón tay. Chi sau có màng bơi, mút ngón chân hơi tròn, có riềm da dưới ngón chân, có củ bàn trong, nốt sần dưới ngón chân không rõ.

*Da*: Mặt lưng nhẵn, bên sườn có các nốt sần nhỏ, có nếp da nhỏ trên mí mắt, mặt bụng nhẵn.

*Màu sắc mẫu sống*: Cơ thể màu xám, có hình tam giác màu xám đậm trên mắt,

bên sườn màu xám nhạt, mặt trên các chi màu xám với các thanh màu xám đậm, mặt bụng màu kem với các hoa văn màu nâu sẫm (Hình 3.2 C, D).

Các mô tả hình thái của mẫu vật trong nghiên cứu tương đồng với các mô tả trước đây của Fei et al. (2010) [14], Nguyen et al. (2016) [143].

Phân bố: Nghiên cứu là lần đầu tiên ghi nhận phân bố của loài này ở Lai Châu (Hình 3.9B). Trước đây, loài *B. jingdongensis* ghi nhận phân bố ở Sơn La, Lào Cai, Hà Giang, Vĩnh Phúc [2,3].

Một số đặc điểm sinh thái: loài *B. jingdongensis* tìm thấy bên bờ suối chảy hoặc trên cây cạnh suối nước chảy mạnh. Sinh cảnh xung quanh là rừng thứ sinh cây gỗ nhỏ xen cây bụi tầng thấp.

**Cóc mắt đui đỏ–*Boulenophrys rubrimera* (Tapley, Cutajar, Mahony, Chung, Dau, Nguyen, Luong & Rowley, 2017)**

Mẫu vật nghiên cứu (n=5): 02 ♂ (IEBR TĐ.LC.2020.49,19) và 01 ♀ (VNMN TĐ.LC.2020.68) thu ở Lai Châu; 02 ♂ (IEBR YTY.2018.1, 2) thu ở Lào Cai.

Kích thước: ♂ (n= 4): SVL 28,0–30,8 mm, HW 9,6–11,3 mm, HL 10,1–11,5 mm, ED 2,8–3,9 mm. ♀ (n=1): SVL 29,3 mm; HW 12,8 mm; HL 13,4 mm, ED 4,1 mm (Phụ lục T1).

Đặc điểm nhận dạng: Kích thước cơ thể trung bình; con đực nhỏ hơn con cái; chiều dài đầu nhỏ hơn chiều rộng đầu mõm ngắn, màng nhĩ rõ, có răng lá mía, lưỡi không xẻ thùy, có nếp gấp trên màng nhĩ. Chi trước không có màng bơi, mút ngón tay tròn, có củ bàn trong, nốt sần dưới ngón tay không rõ. Chi sau có màng bơi yếu, mút ngón tay hơi tròn, có củ bàn trong, nốt sần dưới ngón chân không rõ.

*Da*: Mặt lưng, mặt bên đầu và trên các chi sần, có nốt sần trên mí mắt, sườn có các nốt sần nhỏ, mặt bụng và mặt dưới chi nhẵn.

*Màu sắc mẫu sống*: Cơ thể màu nâu sáng với hình tam giác màu nâu trên mí mắt, mặt trên các chi có thanh màu nâu sẫm, mút ngón tay và ngón chân màu cam, mặt bụng màu kem với hoa văn màu nâu vàng (Hình 3.2E).

Đặc điểm hình thái của mẫu vật phù hợp với mô tả của Tapley et al. (2017) [116].

Phân bố: Nghiên cứu là lần đầu tiên ghi nhận phân bố của loài này ở Lai Châu (Hình 3.9C). Trước đây, loài *B. rubrimera* ghi nhận phân bố ở Lào Cai [2,116].

Một số đặc điểm sinh thái: loài *B. rubrimera* được tìm thấy trong khi bám trên các tảng đá hoặc trên cành cây nhỏ dọc ven theo suối, dòng chảy chậm. Sinh cảnh xung quanh là rừng thứ sinh cây nhỏ xen cây bụi và thảo quả.

**Cóc mỳ na hang–*Leptobranchella nahangensis* (Lathrop, Murphy, Orlov & Ho, 1998)**

Mẫu vật nghiên cứu (n=2): 02 ♀ (IEBR HG.2019.1, 80) thu ở Hà Giang

Kích thước: ♀ (n=2): SVL 44,4–51,8 mm; HW 17,4–20,7 mm; HL 17,9–20,4 mm; ED 5,8–6,8 mm (Phụ lục T1).

Đặc điểm nhận dạng: Kích thước cơ thể lớn; chiều dài đầu bằng chiều rộng đầu; mút mõm tròn, mắt lớn, màng nhĩ rõ, không có răng lá mía, lưỡi xẻ thùy ở phía sau, nếp gấp trên màng nhĩ rõ. Chi trước không có màng bơi, mút ngón tay tròn, có hai củ bàn, củ bàn trong lớn hơn củ bàn ngoài. Chi sau có màng bơi yếu, mút ngón chân tù, có củ bàn trong, không có nốt sần dưới ngón chân.

*Da*: Mặt lưng nhẵn với các nốt sần nhỏ, mặt bên sần, bụng, ngực và mặt dưới chi nhẵn.

*Màu sắc mẫu sống*: Mặt lưng màu nâu xám với các hoa văn màu nâu tối, mặt sườn màu xám sáng với các đốm màu đen; mặt trên các chi màu nâu xám với các thanh nâu sẫm; mặt bụng, họng và mặt dưới các chi màu kem (Hình 3.3A).

Đặc điểm hình thái của mẫu vật phù hợp với mô tả của Lathrop et al. (1998b) [144].

Phân bố: Nghiên cứu là lần đầu tiên ghi nhận phân bố của loài này ở Hà Giang [2] (Hình 3.9D). Trước đây, loài *L. nahangensis* ghi nhận phân bố ở Tuyên Quang, Bắc Kạn.

Một số đặc điểm sinh thái: loài *L. nahangensis* tìm thấy trên tầng đá sát suối nước chảy, xung quanh là cây gỗ lớn xen kẽ tầng cây bụi thấp rậm rạp.

#### **Cóc mào sung–*Leptobranchella sungi* (Lathrop, Murphy, Orlov & Ho, 1998)**

Mẫu vật nghiên cứu (n=2): 02 ♂ (IEBR HG.2019.79, 100) thu ở Hà Giang.

Kích thước: ♂ (n=2) SVL 54,0–55,8 mm; HW 21,2–21,4 mm; HL 20–22,7 mm; ED 7,3–7,5 mm (Phụ lục T1).

Đặc điểm nhận dạng: Kích thước cơ thể lớn chiều dài đầu nhỏ hơn chiều rộng đầu; mút mõm tròn, mắt lớn, màng nhĩ không rõ, không có răng lá mía, lưỡi xẻ thùy ở phía sau, nếp gấp trên màng nhĩ rõ. Chi trước không có màng bơi, mút ngón tay không nở rộng, củ bàn trong lớn, có nốt sần dưới ngón tay. Chi sau ngắn, có màng bơi yếu, mút ngón chân không nở rộng, nốt sần dưới ngón chân không rõ, củ bàn trong hình oval.

*Da*: Mặt lưng, trên đầu mặt trên của sườn nhẵn với các nốt sần nhỏ, mặt bụng và ngực nhẵn.

*Màu sắc mẫu sống*: Cơ thể màu nâu vàng với các vệt đen giữa mắt, nếp gấp trên màng nhĩ màu nâu, môi trên có các vệt nâu, bên sườn màu nâu sáng với các đốm đen, mặt trên các chi màu nâu sáng với các thanh màu nâu sẫm, mặt bụng màu kem (Hình 3.3C).



Kết quả phân tích đặc điểm hình thái của mẫu vật phù hợp với mô tả của Lathrop et al. (1998) [144].

Phân bố: Nghiên cứu là lần đầu tiên ghi nhận phân bố của loài này ở Hà Giang (Hình 3.9E). Trước đây, loài *L. sungi* ghi nhận ở Điện Biên, Lào Cai, Yên Bái, Vĩnh Phúc, Phú Thọ, Hòa Bình, Sơn La [2,3].

Một số đặc điểm sinh thái: loài *L. sungi* được tìm thấy khu vực trên đá nhỏ ven suối chảy, xung quanh tầng cây thấp rậm rạp, xen kẽ với cây gỗ lớn trong rừng thường xanh.

**Ếch gai hàm sa pa–*Leptobrachium ailaonicum* (Yang, Chen & Ma, 1983)**

Mẫu vật nghiên cứu (n=3): 03 ♂ (IEBR TĐ.LC.2020.88, 89, 90) thu ở Lai Châu.

Kích thước: ♂ (n=3) SVL 66,2–69,1 mm; HW 26,8–29,7 mm; HL 26,6–28,4 mm; ED 8,4–9,2 mm (Phụ lục T1).

Đặc điểm nhận dạng: Kích thước cơ thể lớn; chiều dài đầu bằng chiều rộng đầu, mút mõm tròn khi quan sát từ mặt trên, khu vực má hơi lõm vào, chiều dài mõm có kích thước lớn hơn đường kính ổ mắt, mắt lớn, màng nhĩ không rõ, nếp gấp màng nhĩ rõ, lỗ mũi nằm cạnh mút mõm hơn so với mắt, không có răng lá mía, lưỡi hơi xẻ thùy. Chi trước dài, không có màng bơi, mút ngón tay hơi sưng nề dạng tròn, có hai củ bàn trong, củ bàn trong tròn lớn hơn củ bàn ngoài, có nốt sần dưới ngón tay. Chi sau ngắn, chân có màng bơi giữa các ngón chân, nốt ngón chân hơi sưng, củ bàn trong hình oval, có nốt sần dưới ngón chân, khi gấp dọc thân khớp cổ chày chạm tới phía sau ổ mắt.

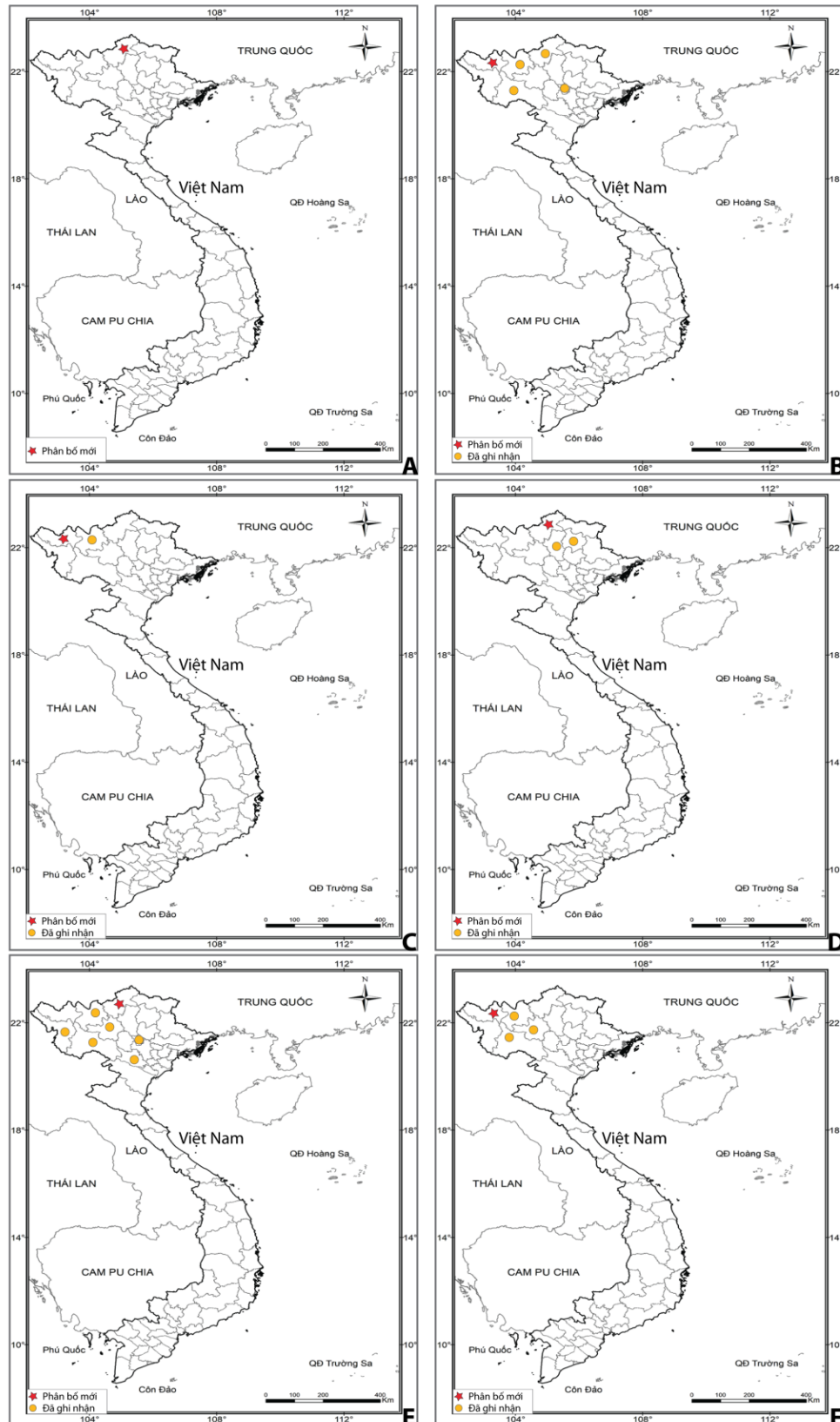
*Da*: Mặt lưng có các nếp gấp hình mạng lưới đặc trưng và lốm đốm có các mụn nhỏ xen kẽ, đầu và mặt trên của các chi nhẵn cùng với các nếp gấp nhỏ, bên sườn, bụng, ngực và mặt dưới các chi sần.

*Màu sắc mẫu sống*: Cơ thể màu nâu đồng với các đốm màu nâu sẫm, mặt lưng có màu nâu đỏ kết hợp các vệt sẫm màu, mặt bụng màu nâu với các hoa văn màu trắng sáng, bên sườn với các đốm màu nâu tối xen với các nốt sần trắng, mắt có màu xanh sáng ở phía trên và màu nâu vàng ở phía dưới (Hình 3.3D).

Đặc điểm hình thái của mẫu vật phù hợp với mô tả của Fei et al. (2009) [13].

Phân bố: Nghiên cứu là lần đầu tiên ghi nhận phân bố của loài này ở Lai Châu (Hình 3.9F). Trước đây, loài *L. ailaonicum* ghi nhận phân bố ở Lào Cai, Lai Châu, Sơn La, Yên Bái [2,145,146].

Một số đặc điểm sinh thái: loài *L. ailaonicum* sống trong rừng thường xanh trên núi cao gồm cây gỗ to và vừa xen cây bụi, thường bắt gặp trên mặt đất hoặc các tảng đá dọc các suối nước chảy [147].



**Hình 3.9.** Sơ đồ phân bố các loài: –HọẾch cây: (A) *Theloderma khowii*; –Họ Cóc mắt: (B) *Boulenophrys jingdongensis*, (C) *B. rubrimera*, (D) *Leptobranchella nahangensis*; (E) *L. sungi*; (F) *Leptobranchium ailaonicum*.

## Họ Éch cây

### Éch cây ki-ô–*Rhacophorus kio* Ohler & Delorme, 2006

Mẫu vật nghiên cứu (n=9): 06 ♂ (IEBR TK.CB.2019.43, 47, 42, 44, 46, 45) thu ở Cao Bằng; 03 ♂ (IEBR BK.2020.24, 26, 25) thu ở Bắc Kạn.

Kích thước: ♂ (n=9) SVL 61,6–71,8 mm; HW 21,0–23,8 mm; HL 21,8–24,2 mm; ED 7,4–9,2 mm.

Đặc điểm nhận dạng: Kích thước cơ thể trung bình; chiều dài đầu lớn hơn chiều rộng đầu; mút mõm tù, mắt lớn, màng nhĩ rõ, có răng lá mía, lưỡi xẻ thùy ở phía sau, có nếp da trên màng nhĩ. Chi trước có màng bơi một phần, mút ngón tay nở rộng thành đĩa bám, có củ bàn trong, có nốt sần dưới ngón tay. Chi sau có màng bơi hoàn toàn, mút ngón chân nở rộng thành đĩa bám, có củ bàn trong có nốt sần dưới ngón chân.

*Da*: Mặt lưng nhẵn, mặt trên của các chi và hai bên sườn hơi sần, có cựa ở khớp cổ chày, có nếp da trên hậu môn.

*Màu sắc mẫu sống*: Cơ thể màu xanh với các đốm nhỏ màu trắng, có một đốm đen ở nách, mặt bụng, họng, ngực và mặt dưới đuôi màu vàng (Hình 3.5A).

Đặc điểm hình thái của mẫu vật phù hợp với mô tả của Ohler & Delorme (2006) [148].

Phân bố: Nghiên cứu là lần đầu tiên ghi nhận phân bố của loài này ở Bắc Kạn (Hình 3.10B). Trước đây, loài *R. kio* ghi nhận phân bố ở Lào Cai, Cao Bằng, Vĩnh Phúc, Bắc Giang, Hải Dương, Sơn La, Thanh Hóa, Nghệ An, Hà Tĩnh, Quảng Bình, Thừa Thiên-Huế, Đà Nẵng, Quảng Nam, Kon Tum, Gia Lai [2,3].

Một số đặc điểm sinh thái: loài *R. kio* được thu trên cành cây bụi thấp cách mặt đất khoảng 3m phía trên vũng nước đọng, xung quanh cây gỗ lớn trong rừng thứ sinh.

### Éch cây óc-lop–*Rhacophorus orlovi* Ziegler & Köhler, 2001

Mẫu vật nghiên cứu (n=4): 01 ♂ (IEBR HG.2019.64) thu ở Hà Giang; 03 ♂ (IEBR BK.2020.07, 08, 63) thu ở Bắc Kạn.

Kích thước: ♂ (n=4) SVL 41,7–48,1 mm; HW 15,3–18,7 mm; HL 14,8–18,1 mm; ED 4,9–6,7 mm (Phụ lục T1).

Đặc điểm nhận dạng: Kích thước cơ thể trung bình; chiều dài đầu nhỏ hơn chiều rộng đầu; mút mõm hơi nhọn, mắt lớn, màng nhĩ rõ, có răng lá mía, lưỡi xẻ thùy ở phía sau, có nếp da trên màng nhĩ. Chi trước có màng bơi một phần, mút ngón tay nở rộng thành đĩa bám, có củ bàn trong, có nốt sần dưới ngón tay. Chi sau có màng bơi, mút ngón chân nở rộng thành đĩa bám, có củ bàn trong, có nốt sần dưới ngón chân.

*Da*: Mặt lưng, hai bên sườn và mặt trên các chi ngắn, mặt bụng, họng, ngực và mặt dưới các chi sần.

*Màu sắc mẫu sống*: Cơ thể màu nâu đỏ tới nâu xám với các vệt màu đen, sườn và mặt bụng màu nâu xám, vùng má có các chấm màu trắng tới vàng nhạt (Hình 3.6A).

Đặc điểm hình thái của mẫu vật phù hợp với mô tả của Ziegler & Köhler (2000) [149].

Phân bố: Nghiên cứu là lần đầu tiên ghi nhận phân bố của loài này ở Hà Giang. Tuy nhiên, do loài *R. orlovi* có nhiều phức tạp do hình thái giống nhau nên cần các nghiên cứu tiếp theo cho loài này (Hình 3.10B). Trước đây, loài *R. orlovi* ghi nhận phân bố ở Bắc Kạn, Gia Lai, Cao Bằng, Nghệ An, Lào Cai, Kon Tum, Ninh Bình, Hà Tĩnh, Quảng Nam, Quảng Ngãi, Sơn La, Tuyên Quang, Thừa Thiên-Huế và Quảng Bình [2,3].

Một số đặc điểm sinh thái: loài *R. orlovi* sống trong rừng thường xanh núi đất xen kẽ.

**Ếch cây sần hà khẩu–*Theloderma hekouense* Du, Wang, Liu & Yu, 2022**

Mẫu vật nghiên cứu (n=3): 03 ♂ (VNMN PO.2018.30, IEBR CB.2020.12, 58) thu ở Cao Bằng.

Kích thước: ♂ (n=3) SVL 19,9–24,5 mm; HW 7,0–7,8 mm; HL 6,8–9,1 mm; ED 2,7–3,1 mm (Phụ lục T1).

Kích thước cơ thể nhỏ; chiều dài đầu nhỏ hơn chiều rộng đầu; mút mõm tù, mắt lớn, màng nhĩ rõ, có răng lá mía, lưỡi xẻ thùy ở phía sau, có nếp gấp trên màng nhĩ. Chi trước không có màng bơi, mút ngón tay nở rộng thành đĩa bám, có hai củ bàn, củ bàn trong lớn hơn củ bàn ngoài, có nốt sần dưới ngón tay. Chi sau có màng bơi một phần, mút ngón chân nở rộng thành đĩa bám, có củ bàn trong, có nốt sần dưới ngón chân.

*Da*: Mặt lưng và mặt trên các chi sần với các mụn to nhỏ nằm rải rác, mặt bụng và mặt dưới các chi sần, họng và ngực ngắn.

*Màu sắc mẫu sống*: Cơ thể màu nâu xanh đỏ với các đốm đen nằm rải rác trên lưng, mặt trên các chi màu nâu đỏ với các thanh ngang màu đen, mặt bụng màu nâu đen với các hoa văn màu trắng (Hình 3.6C).

Đặc điểm hình thái của mẫu vật phù hợp với mô tả của Bain et al. (2004) [110]. *Theloderma hekouense* trước đây Việt Nam ghi nhận là loài *T. rhododiscus*, được cho là có sự phân bố rộng rãi từ phía đông Trung Quốc đến Tây Nam Trung Quốc và miền Bắc Việt Nam [150]. Tuy nhiên nghiên cứu Du et al. (2022) đã dựa trên dữ liệu phân tích sinh học phân tử và so sánh hình thái đã đề xuất loài *T.*

*rhododiscus* từ Vân Nam, Trung Quốc và các vùng lân cận như miền bắc Việt Nam được coi là có quan hệ đồng danh của *T. rhododiscus*, từ đó loài *T. hekouense* có sự sai khác về mặt hình thái bởi những mụn cóc màu trắng dày đặc hơn trên bề mặt lưng và các nốt sần dưới khớp xương bàn tay và xương bàn chân có màu đỏ [151].

Phân bố: Nghiên cứu là lần đầu tiên ghi nhận phân bố của loài này ở Cao Bằng (Hình 3.10C). Trước đây, loài *T. hekouense* trước đây ghi nhận phân bố ở Lào Cai, Hà Giang [2,3].

Một số đặc điểm sinh thái: loài *T. hekouense* sống trên cành cây, lá cây tầng thấp, cách mặt đất khoảng 3m, xung quanh xen lẫn cây bụi, thảo quả và cây gỗ lớn.

#### **Ếch cây pueren–*Zhangixalus puerensis* (He, 1999)**

Mẫu vật nghiên cứu (n=06): 03 ♂ (IEBR TĐ.LC.2020.56, 57, 58) thu ở Lai Châu; 03 ♂ (IEBR CB.2015.15, WAR.CB.22, 21) thu ở Cao Bằng.

Kích thước: ♂ (n=6) SVL 38,0–62,1 mm; HW 15,4–22,7 mm; HL 15,4–22,8 mm; ED 4,4–8,8 mm (Phụ lục T1).

Đặc điểm nhận dạng: Kích thước cơ thể trung bình; chiều dài đầu lớn hơn hoặc bằng chiều rộng đầu; mút mõm tù, mắt lớn, màng nhĩ rõ, có răng lá mía, lưỡi xẻ thùy ở phía sau, có nếp da trên màng nhĩ. Chi trước có màng bơi một phần, mút ngón tay nở rộng thành đĩa bám, có hai củ bàn, củ bàn trong lớn hơn củ bàn ngoài, có nốt sần dưới ngón tay. Chi sau có màng bơi kém phát triển, mút ngón chân nở rộng thành đĩa bám, có củ bàn trong, có nốt sần dưới ngón chân.

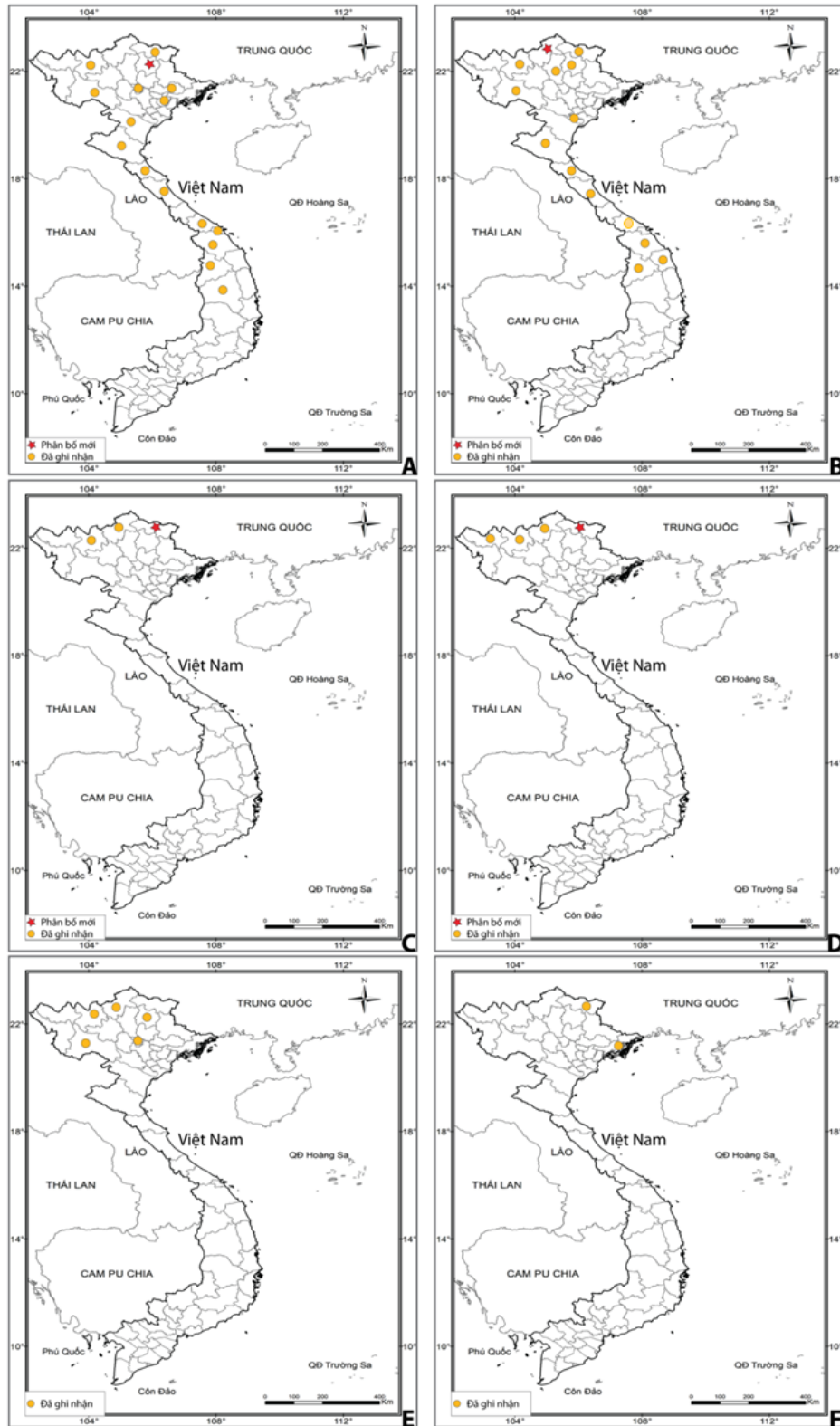
*Da*: Mặt lưng và mặt trên các chi với các nếp gấp lớn, hai bên sườn sần, mặt bụng và mặt dưới các chi sần.

*Màu sắc mẫu sống*: Cơ thể màu xanh sẫm với các đốm lớn màu nâu và trắng xen kẽ nhau, mặt bụng màu kem với các hoa văn màu nâu (Hình 3.6I).

Đặc điểm hình thái của mẫu vật phù hợp với mô tả của Liu et al. (1950) [106].

Phân bố: Nghiên cứu là lần đầu tiên ghi nhận phân bố của loài này ở Cao Bằng (Hình 3.10D). Trước đây, loài *Z. puerensis* trước đây ghi nhận phân bố ở Lai Châu, Lào Cai, Hà Giang [2,3].

Một số đặc điểm sinh thái: loài *Z. puerensis* sống trên cành cây cao khoảng 3m, trong rừng thường xen cây bụi và cây gỗ lớn.



**Hình 3.10.** Sơ đồ phân bố các loài: –Họ Ếch cây: (A) *Rhacophorus kio*, (B) *R. orlovi*, (C) *Theloderma hekouense*, (D) *Zhangixalus puerensis*; –Họ Cá cóc: (E) *Paramesotriton deloustali*, (F) *P. guangxiensis*.

## Họ Cá cóc

### Cá cóc tam đảo–*Paramesotriton deloustali* (Bourret, 1934)

Mẫu vật nghiên cứu (n=4): 02 ♂ (IEBR SL.2017.1; SL.2017.4) và 02 ♀ (IEBR SL.2017.3; SL.2017.2) thu ở Sơn La.

Kích thước: ♂ (n=2) SVL 67,5–74,5 mm; HL 20,3–22,3 mm; HW 12,5–12,7 mm; TL 53,0–57,2 mm. ♀ (n=2) SVL 77,4–78,0 mm; HL 22,3–22,8 mm, HW 13,2–13,6 mm; TL 70,2–70,7 mm (Phụ lục T3).

Đặc điểm nhận dạng: Kích thước cơ thể trung bình, con cái thường lớn hơn con đực; thân hình thuôn dài, hơi dẹt từ trên xuống dưới, đầu dài hơn rộng; chiều dài từ mắt đến lỗ mũi lớn hơn đường kính ổ mắt; mút mồm gần tròn, hơi vát khi nhìn từ trên xuống, có răng lá mía, lưỡi không xẻ thùy ở phía sau; chi trước vượt qua ổ mắt khi gấp dọc theo đầu về phía trước cơ thể; gờ giữa sống lưng nổi rõ chạy từ phía sau đầu đến gốc đuôi; các nốt sần 2 bên sườn không phát triển, kích cỡ không đồng đều xếp thành hàng chạy từ phía sau chi trước đến hết gốc đuôi; đuôi dẹp theo chiều thẳng đứng.

*Da*: Lưng thô ráp với các nốt sần nhỏ nằm rải rác từ đầu tới hậu môn; đôi khi có các nếp nhăn chạy ngang thân; các nốt sần dọc hai bên sườn không phát triển.

*Màu sắc mẫu sống*: Cơ thể màu nâu đỏ, bụng màu nâu với các đốm hoa văn màu cam lớn xen kẽ các vệt màu đen tạo thành hình mạng lưới; bày tay và bàn chân màu cam; mặt bên của đuôi có một vệt màu cam chạy dọc giữa đuôi ở con đực, màu xanh nhạt ở con cái. (Hình 3.7A)

Đặc điểm hình thái của mẫu vật phù hợp với mô tả của Bour et al. (2009) [152].

Phân bố: Ở Việt Nam, loài *P. deloustali* ghi nhận phân bố ở Lào Cai, Sơn La, Hà Giang, Tuyên Quang, Vĩnh Phúc, Bắc Kạn, Quảng Ninh [2,3] (Hình 3.10E).

Một số đặc điểm sinh thái: loài *P. deloustali* ghi nhận dọc các suối đá vừa, nước chảy, tập trung nhiều ở các vũng nước tĩnh và nông, trong rừng thường xanh ở độ cao từ 200–1.200 m so với mực nước biển [26].

### Cá cóc quảng tây–*Paramesotriton quangxiensis* (Huang, Tang & Tang, 1983)

Mẫu vật nghiên cứu (n=17): 08 ♂ (IEBR PD 1, 2, 4, 5, 10, 14, 15, 17) và 09 ♀ (VNMN PD 3, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 16) thu ở Cao Bằng.

Kích thước: ♂ (n=8) SVL 70,6–81,8 mm; HL 19,3–25,6 mm; HW 16,3–19,9 mm; TL 62,3–72,7 mm. ♀ (n = 9) SVL 76,6–83,7 mm; HL 23,7–26,3 mm, HW 16,7–19,2 mm; TL 71,9–80,5 mm (Phụ lục T3).

Đặc điểm nhận dạng: Kích thước cơ thể trung bình con đực nhỏ hơn con cái, thân thuôn dài chiều dài thân lớn hơn chiều dài đuôi và hơi dẹt từ trên xuống, đầu lớn hình tam giác, dài đầu lớn hơn rộng đầu; chiều dài mồm lớn hơn đường kính

mắt, phía mang tai phát triển, có răng lá mía, lưỡi không xẻ thùy ở phía sau, đuôi dẹp bên và dài, gờ sống lưng nổi rõ kéo dài đến gốc đuôi; chi trước ngắn, mút ngón tay chạm với mút ngón chân khi gập dọc thân.

*Da*: Tho ráp với nhiều nốt sần to nhỏ xen kẽ nhau, có nhiều nếp nhăn ngang thân; dọc hai bên sườn có gờ mỏng kéo dài từ nách tới bẹn; mặt bụng nhẵn.

*Màu sắc mẫu sống*: Cơ thể màu nâu sẫm đen, mặt bụng màu đen với những đốm hoa văn lớn màu cam sáng; riềm da phía dưới đuôi, đầu mút ngón tay và ngón chân màu cam, mép đuôi thường có màu đỏ da cam, rõ nhất là phần hậu môn (Hình 3.7B).

Đặc điểm hình thái của mẫu vật phù hợp với mô tả của Fei & Ye. (2016) [153].

Phân bố: Ở Việt Nam, loài *P. guangxiensis* ghi nhận phân bố ở Cao Bằng, Lạng Sơn và Quảng Ninh [2,153] (Hình 3.10F).

Một số đặc điểm sinh thái: loài *P. guangxiensis* được ghi nhận dọc các suối đá, nước chảy, tập trung nhiều ở các vũng nước tĩnh trong rừng thường xanh ở độ cao từ 400–800 m so với mực nước biển; ban ngày chúng thường ẩn mình dưới các tảng đá hoặc lớp lá mục; sau khi trời mưa to có thể quan sát thấy chúng ở trên cạn cách bờ suối khoảng 1 m [153].

**Cá cóc gờ sọ mảnh–*Tylototriton anguliceps* Le, Nguyen, Nishikawa, Nguyen, Pham, Matsui, Bernardes & Nguyen, 2015**

Mẫu vật nghiên cứu (n=3): 03 ♀ (IEBR ML.SL. 55, 58, 80) được thu tại Sơn La.

Kích thước: ♀ (n=3) SVL 62,6–78,2 mm; HL 19,5–22,1 mm, HW 11,3–12,8 mm; TL 48,7–66,0 mm.

Đặc điểm nhận dạng: Kích thước cơ thể trung bình; đầu hình lục giác, lõm và hơi xiên, dài đầu lớn hơn rộng đầu, dẹt và hơi gò khi quan sát nghiêng; mõm ngắn, tù hàm dưới hơi nhô và kéo dài; lỗ mũi nằm gần mút mõm; gờ xương trên đầu rõ và nhô lên; nếp gấp môi vòm hình vẩy và rộng; lưỡi hình oval dính vào thềm miệng; tuyến mang tai rõ ràng và nhô ra phía sau; có nếp gấp ở cổ họng; gờ sống lưng nổi rõ và chia đốt khá rõ, từ cổ đến gốc đuôi, ngăn cách với sống lưng trên đầu bởi một khe (rãnh ngang) nhỏ; mỗi bên xương sườn có 1 dãy nốt sần nổi rõ, mỗi dãy gồm 15 nốt, từ nách đến gốc đuôi; các nốt sần tăng kích thước dần từ nốt thứ nhất đến nốt thứ năm, sau đó giảm dần kích thước ở các nốt phía sau; các chi dài và nhỏ, mối tương quan giữa các ngón tay: 4IV<1I<2II<3III, ngón chân: 5V<1I<2II<4IV<3III, mút ngón tay và ngón chân chồng lên nhau nhiều khi gập dọc thân; dãy răng lá mía có hình chữ V ngược, hướng về phía trước và chạm tới lỗ mũi; đuôi dài, dẹp bên, mút đuôi nhọn.



*Da*: Tho ráp với các nốt sần; gờ da ở giữa đỉnh đầu nổi rõ; các nốt sần lớn chạy dọc hai bên gờ lưng-sườn; da gờ sống lưng nổi rõ, hơi phân đoạn; các mụn lớn ở dọc gờ lưng bên và phần đuôi; đuôi mỏng.

*Màu sắc mẫu sống*: Mặt lưng có màu nâu sẫm, phần đầu có màu cam, các mụn lớn dọc sống lưng, mặt trên và dưới các chi màu cam, mặt dưới bụng có màu đen và phần đuôi màu cam sáng; các phần còn lại của cơ thể màu đen thẫm (Hình 3.7C).

Đặc điểm hình thái của mẫu vật phù hợp với mô tả của Le et al. (2015) [154].

Phân bố: Ở Việt Nam, loài *T. anguliceps* ghi nhận phân bố ở Điện Biên và Sơn La [2] (Hình 3.11A).

Một số đặc điểm sinh thái: loài *T. anguliceps* sống trong rừng thường xanh gồm nhiều cây gỗ to và cây bụi thấp xen kẽ, chúng thường ẩn mình dưới các khúc gỗ mục, tảng đá có nhiều lá rụng rậm rạp, ẩn cách suối từ 2–20 m [154].

**Cá cóc sần pasmans–*Tylototriton pasmansii* Bernardes, Le, Nguyen, Pham, Pham, Nguyen & Ziegler, 2020**

Mẫu vật nghiên cứu (n=4): 04 ♂ (IEBR JJLR01195; VNMN03015; VNMN 03014; IEBR JJLR01194) thu ở Hoà Bình.

Kích thước: SVL 60,0–73,8 mm; HL 17,6–23,9 mm; HW 10,9–3,1 mm; TL 47,0–64,0 mm.

Đặc điểm nhận dạng: Kích thước cơ thể trung bình, hơi thon dài; dài đầu lớn hơn rộng đầu, đầu nở rộng hơn thân, lõm xuống và hơi vát khi quan sát từ trên xuống; tuyến mang tai nở rộng và nhô ra phía sau; mõm ngắn, rộng mõm lớn hơn dài mõm, mút mõm cụt khi nhìn từ mặt trên, hơi tạo thành góc khi nhìn từ bên và nhô ra ngoài hàm dưới; khoảng cách giữa hai mắt lớn; gờ xương trên đầu rõ, nhô vừa phải, từ trên ổ mắt đến mép trước tuyến mang tai, mép sau khá dày và cuộn vào trong; nếp gấp môi và nếp gấp cổ họng khá rõ; lỗ mũi gần mút mõm và dễ thấy khi nhìn từ trên xuống; dãy nốt sần ở hai bên sườn hình dạng không đều từ nhọn đến tròn, hơi gồ ghề, to hơn các nốt sần sống lưng và phân đốt; mút ngón tay chạm mắt khi gập dọc thân lên phía trước, mút ngón tay và ngón chân chạm vào nhau khi gập dọc thân; đuôi nén ở mặt bên, mỏng và mút đuôi nhọn.

*Da*: Mặt lưng ráp và nhiều nốt sần hơn mặt bụng; da bụng có các nốt sần nhỏ xếp thành nếp nhăn ngang; gờ da giữa sống lưng nổi rõ với các nốt sần nổi kéo dài từ sau đầu đến gốc đuôi; các nốt sần bên sườn rõ, tròn nhỏ và lớn hơn các nốt sần ở giữa; đuôi mỏng và nhọn về phía sau, mặt bụng có nếp gấp da và phần da vùng cổ họng ráp.

*Màu sắc mẫu sống*: Cơ thể màu xám đen, mặt bụng màu nâu sẫm tuy nhiên hơi sáng so với lưng; mút ngón chân, ngón tay màu cam; viền xung quanh lỗ huyết

và riềm dưới của đuôi có màu cam, một dải màu cam kéo dài từ hậu môn đến mút đuôi (Hình 3.7D).

Đặc điểm hình thái của mẫu vật phù hợp với mô tả của Bernardes et al. (2020) [75].

Phân bố: Ở Việt Nam, loài *T. pasmansii* ghi nhận phân bố ở Hoà Bình, Phú Thọ, Sơn La và Thanh Hoá [2,75] (Hình 3.11B).

Một số đặc điểm sinh thái: loài *T. pasmansii* ghi nhận trong rừng thường xanh có độ cao từ 720–1.090 m so với mực nước biển, sinh cảnh là cây gỗ to, vừa và nhỏ xen cây bụi. Loài này chủ yếu sống trên cạn, dưới các lớp lá mục ẩm, chỉ xuống nước vào mùa sinh sản, các cá thể đực di chuyển xuống nước trước đợt con cái giao phối và đẻ trứng [75].

**Cá cóc sần sparreboomi–*Tylototriton sparreboomi* Bernardes, Le, Nguyen, Pham, Pham, Nguyen & Ziegler, 2020**

Mẫu vật nghiên cứu (n=6): 06 ♂ (IEBR LC.2015.3; IEBR ML.53.LC; IEBR LC.2015.5; IEBR SH.LC.2022.92; IEBR SH.LC.2020; IEBR SH.LC.2020.91) thu ở tỉnh Lai Châu.

Kích thước: ♂ (n=6) SVL 61,1–68,6 mm; HL 17,5–21,9 mm; HW 9,7–14 mm; TL 49,6–61,7 mm (Phụ lục T3).

Đặc điểm nhận dạng: Kích thước trung bình, thon dài; đầu dài hơn rộng, đầu nở rộng hơn thân, đầu dẹt và hơi xiên khi nhìn từ mặt bên; mõm rộng hơn dài, mõm tù khi nhìn từ trên xuống và nhô vượt hàm dưới; lỗ mũi gần mút mõm và không nhìn thấy được khi quan sát từ mặt trên; nếp gấp môi khá rõ ràng; gờ giữa sống lưng nổi rõ, rộng, nhô vừa phải, từ trên ổ mắt đến mép trước tuyến mang tai; tuyến mang tai rộng, nhô ra phía sau; gờ tuyến nốt sần bên sườn cao, rộng, nhẵn và phân đoạn kéo dài từ đỉnh đầu đến gốc đuôi, tách biệt với gờ sống giữa lưng; mỗi dãy nốt sần ở hai bên sườn khá tròn và gồm 13 nốt, các nốt phía trước kích thước lớn hơn các nốt ở phía sau; các chi ngắn, chân có màng bơi, chi trước chạm lỗ mũi khi gập về phía trước dọc theo đầu, mút ngón tay và ngón chân chồng lên nhau khi gập dọc thân; đuôi dẹt nhọn theo chiều thẳng đứng.

*Da*: Mặt da trên toàn bộ cơ thể sần thô ráp, tuy nhiên da bụng nhẵn hơn da lưng, có các nốt sần hình nếp nhăn ngang; cổ họng có nếp gấp yếu; gờ tuyến mang tai lớn; gờ sống lưng nổi rõ và phân đoạn; dọc hai bên sườn có các nốt sần tròn kéo dài từ nách tới bẹn.

*Màu sắc mẫu sống*: Cơ thể màu đen bóng; mút ngón tay, ngón chân và mặt dưới đuôi màu cam, viền xung quanh hậu môn có màu cam (Hình 3.7E).

Đặc điểm hình thái của mẫu vật phù hợp với mô tả của Bernardes et al. (2020) [75].

Phân bố: Ở Việt Nam, loài *T. sparreboomi* ghi nhận phân bố ở Lai Châu [75] (Hình 3.11C).

Một số đặc điểm sinh thái: loài *T. sparreboomi* ghi nhận ở những vùng nước động, trong rừng thường xanh trên núi đất, ở độ cao trên 1.600 m so với mực nước biển [75].

**Cá cóc thái–*Tylototriton thaiorum* Poyarkov, Nguyen & Arkhipov, 2021**

Mẫu vật nghiên cứu (n=5): 05 ♂ (IEBR JJLR 01193; IEBR JJLR 01196; IEBR JJLR01229; IEBR PH0403; IEBR PH0207) thu ở Nghệ An.

Kích thước: ♂ (n=5) SVL 61,5–68,2 mm; HL 18,3–20,9 mm; HW 11,2–12,3 mm; TL 51,2–58,2 mm.

Đặc điểm nhận dạng: kích thước cơ thể trung bình; thân hình mập mạp; đầu nở rộng hơn so với thân và có hình lục giác tròn khi nhìn từ trên xuống, dài đầu lớn hơn rộng đầu; mõm tròn khi nhìn từ trên và nhìn mặt bên; lỗ mũi nằm gần mút mõm hơn mắt và không nhìn thấy khi nhìn từ mặt lưng; không có rãnh môi; lưỡi hình oval gắn vào trước thềm miệng; dây răng lá mía hình chữ V ngược, hướng về phía trước nhưng không chạm tới lỗ mũi; tuyến mang tai rõ, lớn, hình lưỡi liềm, hơi nhô ra phía sau; gờ xương trên thái dương trên đầu rộng, hơi nhô ra, xuất phát từ góc trước ổ mắt tiếp tục đến đầu trước mang tai, mép sau hơi cong vào trong; gờ xương dọc trên đầu rất yếu, không rõ ràng; cổ họng có rãnh ngang; không có rãnh ngang ở sườn; gờ giữa sống lưng rõ, rộng, không chia đốt, gồ gề, chạy từ vùng chẩm đến xương cùng và phần trước đuôi; các nốt sần xếp thành hai chuỗi dọc không đều trên mặt lưng của lưng, 12 nốt sần ở mỗi bên sườn, từ sau đến nách đến mép trước góc đuôi; các nốt sần ở xương sườn xen kẽ với các mụn cóc nhỏ hơn không đều, tạo thành các dãy vây lưng có hình dạng hơi gồ gề. Các chi mảnh, mút ngón tay và ngón chân chồng lên nhau khi gập dọc cơ thể; ngón tay và ngón chân phát triển, không có màng màng bơi; mối tương quan giữa các ngón tay:  $1FL < 4FL < 2FL = 3FL$ ; ngón chân:  $1TL = 5TL < 2TL < 3TL = 4TL$ , dài đuôi lớn hơn dài cơ thể, đuôi mỏng và nhọn.

*Da*: Mặt lưng thô ráp phủ đầy các nốt sần lớn nhỏ ở mặt trên đầu, lưng, hai bên thân và đuôi; các nốt sần trên gờ sống lưng nổi cao kéo dài từ đầu đến gốc đuôi, các nốt sần bên sườn rõ, tròn nhỏ; mặt bụng có nốt sần nhỏ mịn hơn và có nếp gấp da; cổ họng có nhiều nốt sần dẹt nhỏ; lòng bàn tay và bàn chân có các rãnh nhỏ tạo thành hoa văn dạng lưới; vùng lỗ huyệt hơi sưng, lỗ huyệt hình thành một khe dọc, mép lỗ huyệt có nhiều nếp ngang nhỏ.

*Màu sắc mẫu sống*: Cơ thể màu nâu; lỗ huyệt màu nâu xám; các chi màu nâu đậm; các ngón chân và tay màu cam; các nốt sần ở cổ chân màu đỏ; lỗ huyệt và mặt dưới của đuôi màu cam sáng. Màu sắc mẫu ngâm cồn: màu lưng nhạt dần, trở thành màu xám đậm, trong khi các mảng màu cam nhạt dần thành màu kem (Hình 3.7F).

Đặc điểm hình thái của mẫu vật phù hợp với mô tả của Poyarkov et al. (2021) [76]

Phân bố: Ở Việt Nam, loài *T. thaiorum* ghi nhận phân bố ở Nghệ An [2] (Hình 3.11D).

Một số đặc điểm sinh thái: loài *T. thaiorum* sống trong rừng thường xanh núi đất, xen lẫn cây bụi với cây gỗ lớn.

**Cá cóc việt nam—*Tylototriton vietnamensis* Böhme, Schöttler, Nguyen & Köhler, 2005**

Mẫu vật nghiên cứu (n=5): 03 ♂ (IEBR SD.1, 2, 3) và 02 ♀ (IEBR SD.4, 5) thu ở Bắc Giang.

Kích thước: ♂ (n=3): SVL 65,1–67,4 mm, HL 16,6–19,0 mm, HW 7,4–8,9 mm, TL 44,0–62,6 mm. ♀ (n=2): SVL 63,8–68,9 mm, HL 20,1–21,4 mm, HW 10,9–12,1 mm, TL 56,4–62,9 mm (Phụ lục 3).

Đặc điểm nhận dạng: Kích thước cơ thể trung bình, con đực nhỏ hơn con cái, Thân mập; đầu dẹp và nở rộng hơn thân, dài đầu lớn hơn rộng đầu, khi nhìn từ trên xuống đầu hơi vát; tuyến mang tai phình rộng, dài, hơi xiên về phía sau; mõm ngắn, hơi xiên khi quan sát từ mặt trên, phía trước mõm gần tròn; lỗ mũi gần mút mõm; môi trên dày hơn môi dưới, rìa mép trên có thể trùm kín môi dưới; răng lá mía xếp thành hai hàng bắt đầu từ phía sau của răng hàm trên sau cùng cho đến giữa lỗ khẩu cái, tách biệt nhau; lưỡi không phát triển, không có rìa tự do; gờ giữa sống lưng nổi rõ từ phía sau đầu đến hết phần gốc đuôi; hai dãy nốt sần nổi đối xứng nhau kéo dài từ sau nách tới gốc đuôi, mỗi dãy gồm 13–15 nốt sần. Chi trước chạm hoặc vượt lỗ mũi khi gập về phía trước dọc theo đầu, các ngón tay không phủ màng bơi; các ngón chân có màng bơi phần sát gốc bàn chân; đuôi dẹp theo chiều thẳng đứng, mút đuôi nhọn.

*Da:* Mặt da trên toàn bộ cơ thể thô ráp phủ đầy các nốt sần to nhỏ, các nốt sần hơi dẹt; hai bên sườn có nếp nhăn; mặt bụng nhẵn.

*Màu sắc mẫu sống:* Cơ thể màu nâu nhạt; các nốt sần hai bên sườn màu vàng cam; mút ngón tay, ngón chân, quanh lỗ huyệt và riềm da mặt trên, dưới đuôi có màu cam, các viền xung quanh lỗ hậu môn có màu cam (Hình 3.7G).

Đặc điểm hình thái của mẫu vật phù hợp với mô tả của Böhme et al. (2005) [155].

Phân bố: Ở Việt Nam, loài *T. vietnamensis* ghi nhận phân bố ở Cao Bằng, Lạng Sơn, Bắc Giang, Quảng Ninh và Phú Thọ [2,3] (Hình 3.11E).

Một số đặc điểm sinh thái: loài *T. vietnamensis* ghi nhận trong rừng thường xanh ở độ cao từ 180–980 m so với mực nước biển, sinh cảnh là cây gỗ vừa và nhỏ xen kẽ tre nứa và cây bụi. Loài này chủ yếu sống trên cạn, dưới các lớp lá mục ẩm, chỉ xuống nước vào mùa sinh sản, các cá thể đực thường xuống nước trước đợt con cái giao phối và đẻ trứng.

**Cá cóc zig-lơ *Tylototriton ziegleri*—Nishikawa, Matsui & Nguyen, 2013**

Mẫu vật nghiên cứu (n=19): 17 ♂ (IEBR TQ.2018.93; TQ.2018.91; TQ.2018.92; CB.2020.76; CB.2016.88; CB.2020.75; CB.2020.77; CB.2016.86; HG 1/15; CB.2016.78; QB-HG.2013.1; HG.20.4.51; BL.CB.7/12/2022; QB.HG.2/1/2013; BL.CB.13/3/2022; HG2014.45; BL.CB.13/7/2022). 02 ♀ (IEBR BL-CBANG.2014.2; BL-CB 13/7/2022) thu ở Cao Bằng.

Kích thước: ♂ (n=17) SVL 62,8–78,0 mm, HL 17,6–21,6 mm, HW 10,9–13,1 mm, TL 53,8–73 mm. ♀ (n=2) SVL 69,5–89,4 mm, HL 20,1–24,4 mm, HW 11,6–15,0 mm, TL 64,5–57,4 mm (Phụ lục 3).

Đặc điểm nhận dạng: Kích thước cơ thể trung bình; thân hơi mập, đầu hình lục giác lõm xuống và hơi xiên về phía trước; dài đầu lớn hơn rộng đầu; mõm ngắn, cụt, hơi nhô ra khỏi hàm dưới; lỗ mũi gần mút mõm; gờ giữa lưng trên đầu ngắn, nổi bật; không có nếp gấp môi; hộp sọ rộng và có hình tam giác, có các mào ở lưng và giữa lưng; gờ xương trên đầu rõ; tuyến mang tai rõ và nhô ra phía sau; không có nếp gấp bên sườn; gờ sống lưng nổi bật và phân đoạn, tạo thành một hàng nốt sần, từ cổ đến gốc đuôi, ngắn cách với gờ giữa lưng trên đầu bằng một khe nhỏ; nốt sần ở xương sườn rõ rệt, tạo thành mụn cóc dạng nốt sần, 15 nốt bên phải và 15 nốt bên trái cơ thể từ nách đến gốc đuôi dọc hai bên sườn có các nốt sần kéo dài từ cổ đến bẹn; nốt sần ở bên sườn có kích thước lớn hơn ở phía trước và nhỏ dần về phía sau; số đốt sống là 13; dãy răng lá mía hình chữ V ngược, hướng về phía trước nhưng không chạm tới lỗ mũi; lưỡi hình oval và dính vào thềm miệng; các chi dài và mảnh, mút ngón nhọn, mút ngón tay và ngón chân chồng lên nhau rất nhiều khi gập dọc cơ thể; đuôi nhọn và mỏng.

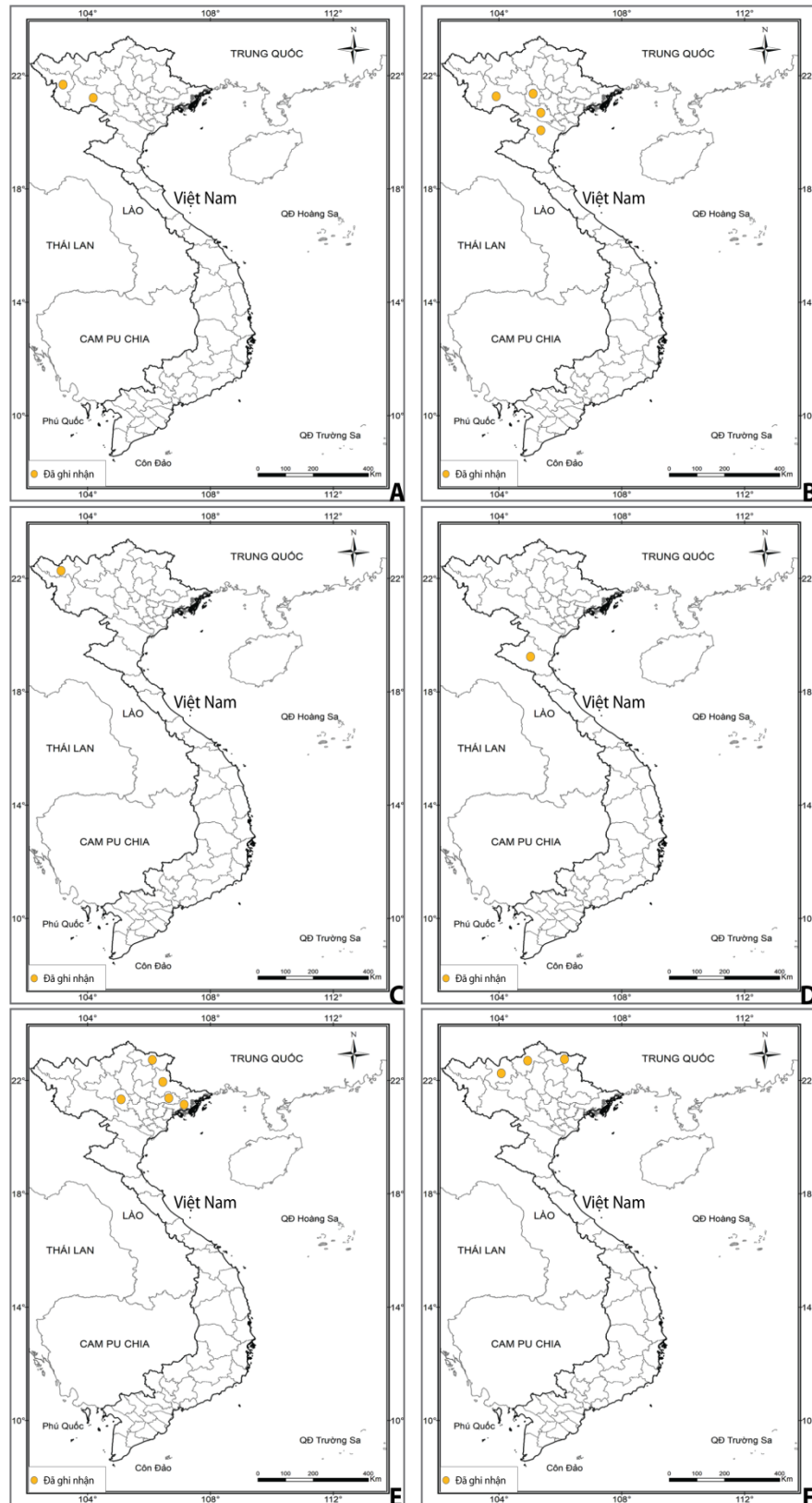
*Da:* Nhám với các nốt sần mịn dày đặc phân bố nhiều hơn mặt lưng và bụng, ít hơn ở cổ; mặt bụng nhẵn.

*Màu sắc mẫu sống:* Mặt lưng màu nâu tối hoặc màu đen đồng nhất; bụng màu nâu; nốt sần ở xương sườn cùng màu đen với mặt lưng cơ thể; đầu mút ngón tay, ngón chân, quanh lỗ huyết và mặt dưới đuôi màu cam (Hình 3.7H).

Đặc điểm hình thái của mẫu vật phù hợp với mô tả của Nishikawa et al. (2013) [72].

*Phân bố:* Ở Việt Nam, loài *T. ziegleri* ghi nhận phân bố ở Hà Giang, Cao Bằng, Lào Cai [2,72] (Hình 3.11F).

Một số đặc điểm sinh thái: loài *T. ziegleri* ghi nhận ở những ao, vũng nước đọng và các đoạn suối ngắn, nước chảy chậm trong rừng thường xanh trên núi đá vôi ở độ cao từ 885–1.650 m, sinh cảnh là cây gỗ vừa và nhỏ xen tre nứa và cây bụi. Loài này chủ yếu sống trên cạn, dưới các lớp lá mục ẩm, chỉ xuống nước vào mùa sinh sản, các cá thể đực di chuyển xuống nước trước đơi con cái giao phối và đẻ trứng [72,131].



**Hình 3.11.** Sơ đồ phân bố các loài Cá cóc thuộc giống *Tylototriton*: (A) *T. anguliceps*, (B) *T. pasmansi*, (C) *T. sparreboomi*, (D) *T. thaiorum*, (E) *T. vietnamensis*, (F) *T. ziegleri*.

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

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

Các đặc điểm hình thái chi tiết các thông tin về kích thước của 06 loài *Tylototriton* ghi nhận ở Việt Nam (Bảng 3.4). Trong phân tích thành phần chính Principal Component Analysis (PCA) về hình thái của một số loài Cá cóc thuộc giống *Tylototriton* ở Việt Nam gồm: *T. vietnamensis*, *T. thaiorum*, *T. anguliceps*, *T. ziegleri*, *T. sparreboomi*, *T. pasmansii* và *T. ngoclinhsensis*. Trong nghiên cứu của Phùng Mỹ Trung và cs. (2023) ghi nhận các loài có sự tương đồng trong phân tích hình thái, tuy nhiên vẫn ghi nhận những sự khác biệt về khoảng biến thiên phương sai hình thái giữa một số loài [77]. Cụ thể, loài *T. ziegleri* có hình thái vượt trội hơn hẳn so với các loài còn lại do kích thước cơ thể (SVL) lớn hơn (Hình 3.13). Phân tích PCA ghi nhận sự đồng nhất về sai khác hình thái, cụ thể loài *T. anguliceps* tách biệt với nhánh gồm các loài còn lại về mặt hình thái theo cả 2 chiều giá trị Dim1 (Phần trăm sai khác phương sai với thành phần chính giá trị Dim1) và (Phần trăm sai khác phương sai với thành phần chính giá trị Dim1) giá trị Dim2 trong phân tích PCA (Hình 3.12). Ngoài ra, 3 loài *T. sparreboomi*, *T. pasmansii* và *T. thaiorum* có quan hệ gần gũi được nhóm vào cùng 1 khoảng biến thiên phương sai hình thái nhất định trong phân tích PCA. Sự tách biệt của loài *T. vietnamensis* theo chiều giá trị Dim2 giải thích phần nào sự khác biệt về mặt di truyền với nhánh trong cây phát sinh không chứa loài *T. anguliceps*. Loài mới được mô tả *T. ngoclinhsensis* có khoảng biến thiên phương sai hình thái gần tương đồng với loài *T. anguliceps* và tách biệt hoàn toàn với tất cả các loài ghi nhận ở Việt Nam.

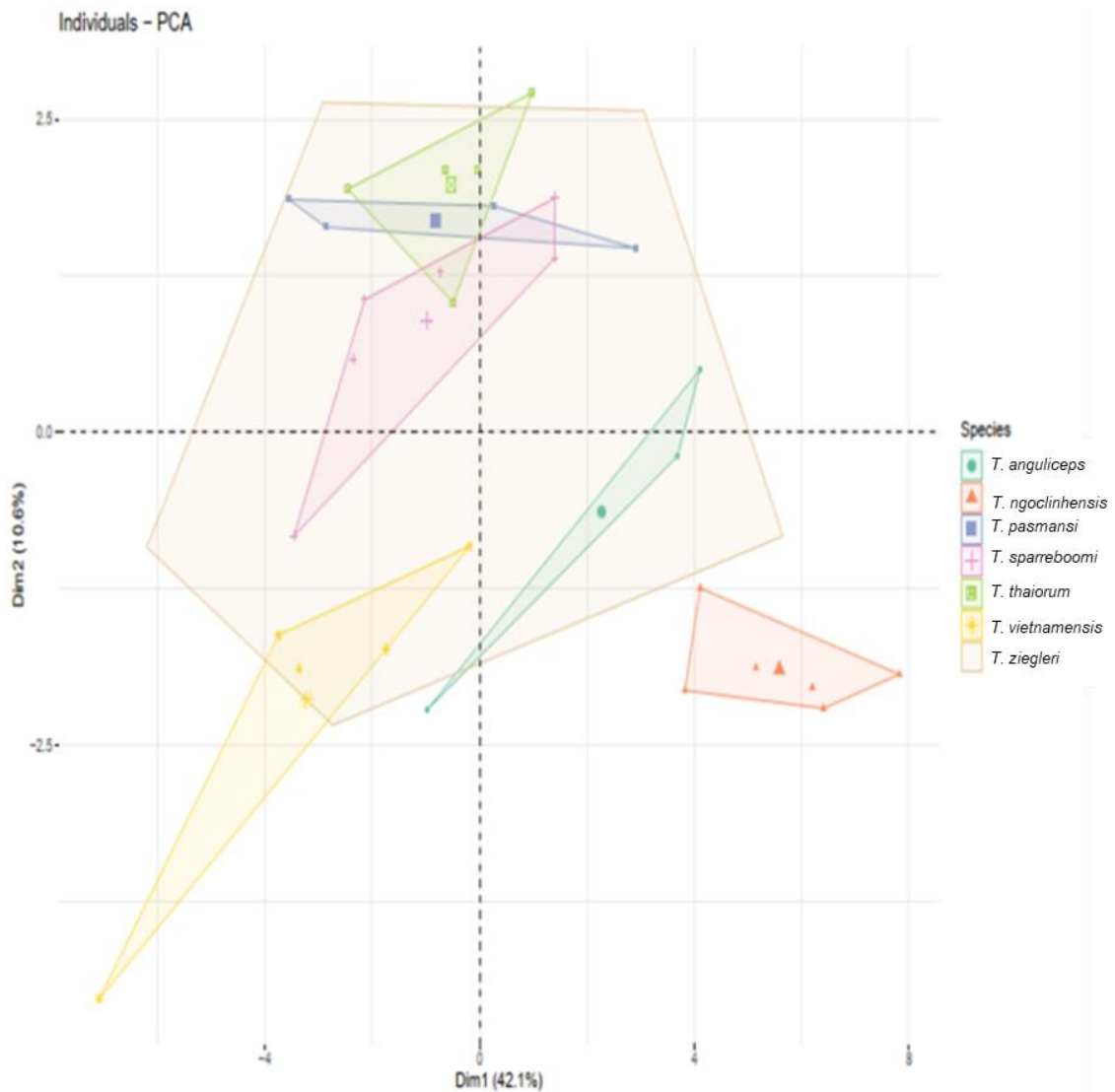
**Bảng 3.4.** Số đo của các loài Cá cóc thuộc giống *Tylototriton* phân bố tại Việt Nam.

Chỉ số (mm)	<i>T. anguliceps</i> (n=3)	<i>T. sparreboomi</i> (n=6)	<i>T. ziegleri</i> (n=19)	<i>T. thaiorum</i> (n=5)	<i>T. pasmansii</i> (n=4)	<i>T. vietnamensis</i> (n=5)
SVL	62,6–78,2 (72,3±8,44)	61,1–68,6 (64,4±2,7)	62,8–89,4 (69,3±6,3)	61,5–68,2 (63,8±2,7)	60–73,8 (64,6±6,3)	63,8–68,9 (66,5±2,0)
HL	19,5–22,12 (1,07±1,38)	17,5–21,9 (19,5±1,7)	17,6–24,4 (19,7±1,6)	18,3–20,9 (19,48±1,0)	17,6–23,9 (19,6±2,9)	16,6–21,4 (19,1±1,8)
HW	11,3–12,81 (2,0±0,8)	9,7–14 (11,92±1,6)	10,9–15 (12,2±0,9)	11,2–12,3 (11,9±0,5)	10,9–13,1 (11,7±0,98)	7,4–12,1 (9,6±1,9)
MHW	15,2–18,41 (6,7±1,61)	15–18,6 (16,75±1,32)	15–21 (16,5±1,4)	16,1–18,8 (17,04±1,04)	16,1–19,3 (17,7±1,3)	15,5–17,2 (16,2±0,7)
PW	3,8–4,9 (4,43±0,57)	3,6–5,2 (4,38±0,64)	3,0–6,4 (4±0,76)	4,8–6 (5,56±0,46)	4,0–6,1 (5,2±0,9)	1,8–5,4 (3,3±1,5)
PL	9,5–11,71 (0,9±1,22)	8,2–11,6 (10,15±1,2)	8,9–13,3 (10,4±1,1)	10,3–11,2 (10,8±0,4)	9,3–12,4 (10,6±1,4)	4,6–11,6 (8,9±2,8)

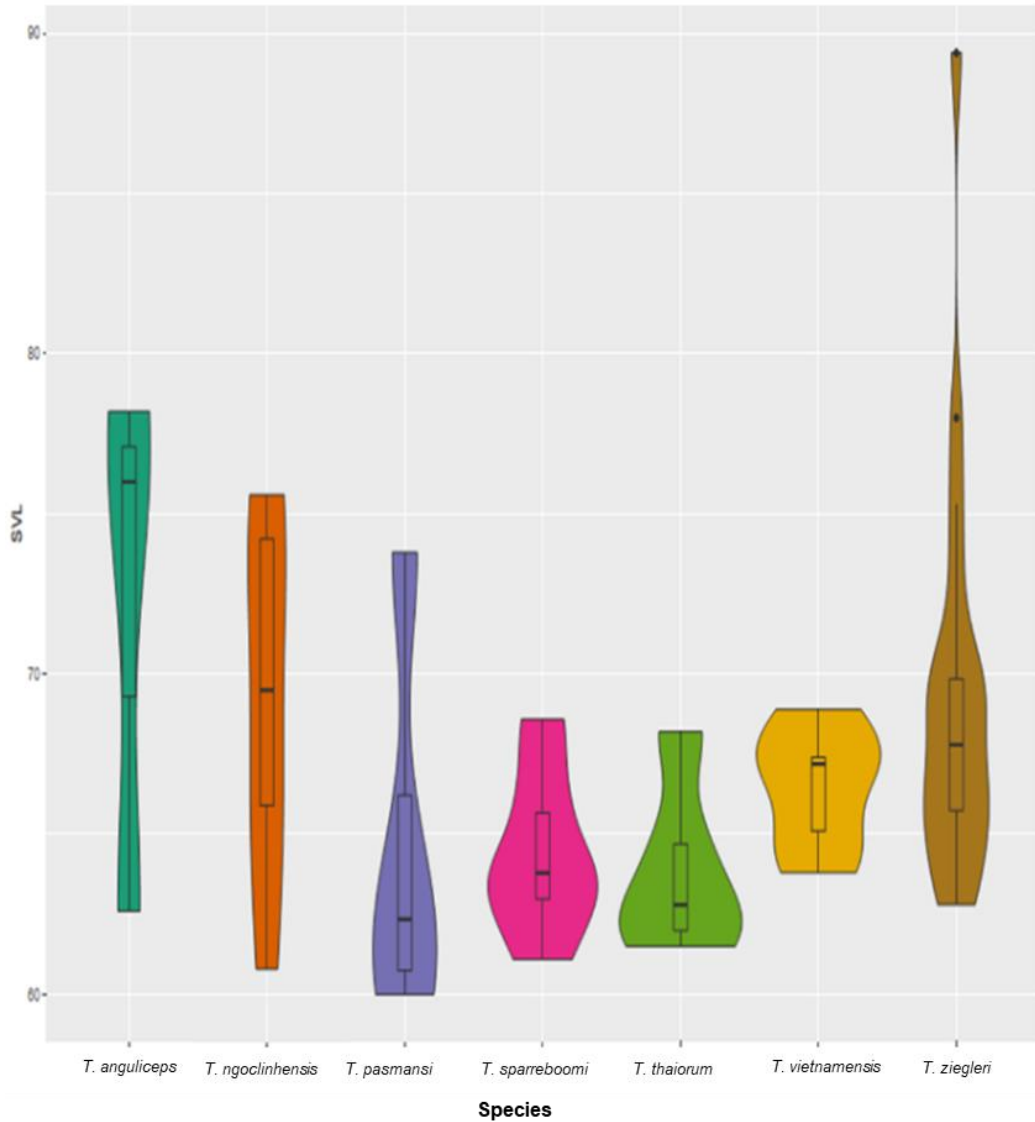
Chỉ số (mm)	<i>T. anguliceps</i>	<i>T. sparreboomi</i>	<i>T. zieglerei</i>	<i>T. thaiorum</i>	<i>T. pasmansii</i>	<i>T. vietnamensis</i>
	(n=3)	(n=6)	(n=19)	(n=5)	(n=4)	(n=5)
PH	6,9–8,3 (7,8±0,8)	5,7–7,0 (6,3±0,5)	5,5–8,5 (6,7±0,9)	6,5–7,0 (6,7±0,2)	5,9–8,0 (6,7±1,0)	5,1–7,0 (5,9±0,7)
EL	3,8–5,5 (4,6±0,9)	3,5–4,0 (4,2±0,5)	2,8–5,5 (4,1±0,8)	3,5–5,3 (4,3±0,7)	3,2–4,6 (4,0±0,7)	2,7–3,6 (3,3±0,4)
EN	4,0–6,1 (5,1±1,1)	3,3–4,8 (3,9±0,5)	2,9–5,4 (4,0±0,8)	3,2–4,0 (3,6±0,4)	3,7–4,1 (3,9±0,2)	2,9–3,7 (3,2±0,3)
IN	3,6–6,2 (5,1±1,4)	4,8–7,4 (5,8±0,9)	3,8–6,9 (5,6±0,7)	5,7–6,4 (6,0±0,3)	5,5–6,4 (5,8±0,4)	4,8–6,1 (5,7±0,6)
IE	4,4–5,5 (4,8±0,6)	4,4–5,8 (5,3±0,7)	3,7–6,3 (5,1±0,6)	4,4–5,6 (5,1±0,5)	4,8–6,3 (5,7±0,7)	4,8–8,1 (6,4±1,3)
LJL	13,4–15,8 (4,6±1,2)	10,6–13,3 (12,2±1,1)	12,1–17,4 (13,2±1,4)	11,8–14,4 (12,9±1,1)	10,2–15 (12,1±2,1)	12,3–14,8 (13,6±1,0)
UEL	1,27–2,2 (1,9±0,5)	1,5–2,5 (1,9±0,4)	0,7–2,5 (1,6±0,5)	0,9–2,4 (1,9±0,6)	2,0–3,0 (2,3±0,5)	0,6–1,5 (1,1±0,4)
HUM	7,7–9,1 (8,6±0,8)	6,3–8,8 (7,5±0,9)	5,6–10,8 (7,5±1,4)	6,8–8,8 (7,7±0,8)	6,2–7,5 (7,1±0,6)	6,4–10,3 (7,9±1,6)
RAD	14,9–17,4 (6,0±1,3)	13,7–16,7 (14,9±1,1)	11,1–17,9 (14,7±1,6)	14,5–15,3 (14,9±0,3)	13,7–15,4 (14,6±0,8)	11,8–14,9 (13,4±1,1)
FEM	8,6–9,4 (8,9±0,4)	6,6–8,5 (7,5±0,7)	5,6–10,5 (7,8±1,2)	6,1–9,2 (7,3±1,1)	4,8–8,6 (6,6±1,9)	6,8–9,1 (8,1±1,0)
TIB	15,3–20,0 (17,1±2,5)	13,1–16,2 (14,4±1,0)	13,1–18,8 (15,3±1,5)	12,2–17,1 (15,1±1,8)	11,3–16,5 (14,3±2,3)	10,3–16,4 (14,4±2,4)
FORE	22,6–26,3 (4,5±1,9)	20,0–24,0 (22,4±1,6)	16,7–27,2 (22,2±2,4)	22–23,6 (22,6±0,7)	19,9–22,9 (21,6±1,3)	19,6–24,1 (21,4±2,2)
HIND	24,0–29,42 (6,0±2,9)	20,3–24,7 (21,9±1,5)	19,7–26,9 (23,1±2,0)	18,3–24,2 (22,3±2,4)	16,1–25,1 (20,9±4,0)	17,1–25,1 (22,5±3,2)
TL	48,7–66,0 (58,6±9,0)	49,6–61,7 (55,0±4,0)	53,8–73,0 (62,3±4,9)	51,2–58,2 (55,5±3,0)	47,0–64,0 (56,3±7,9)	44,0–62,9 (56,1±7,7)
TH	5,5–7,2 (6,5±0,9)	6,8–9,1 (7,8±0,9)	6,1–12,2 (7,5±1,4)	7,3–10,0 (8,7±1,2)	7,3–9,1 (8,1±0,8)	4,92–6,8 (6,1±0,8)
CIL	4,1–7,0 (5,7±1,5)	6,4–8,1 (6,9±0,6)	4,3–8,3 (6,2±1,3)	4,4–7,2 (6,8±0,7)	5,0–6,4 (5,8±0,6)	5,1–8,6 (6,6±1,4)
CIW	2,9–4,3 (3,6±0,7)	1,3–5,1 (2,5±1,4)	0,9–5,2 (2,0±0,9)	1,4–2,3 (1,9±0,3)	1,8–2,8 (2,3±0,4)	1,2–4,5 (2,5±1,3)
WVr	2,5–3,5 (2,9±0,5)	1,9–3,0 (2,4±0,5)	1,1–3,9 (2,3±0,6)	2,1–3,1 (2,6±0,4)	2,6–3,1 (2,9±0,2)	1,3–1,8 (1,8±0,3)
L5W	1,9–2,7	1,2–2,5	0,9–3,1	1,5–2,3	1,9–2,1	1,0–1,2



Chỉ số (mm)	<i>T. anguliceps</i> (n=3)	<i>T. sparreboomi</i> (n=6)	<i>T. ziegleri</i> (n=19)	<i>T. thaiorum</i> (n=5)	<i>T. pasmansii</i> (n=4)	<i>T. vietnamensis</i> (n=5)
	(2,4±0,5)	(1,9±0,5)	(1,8±0,6)	(1,8±0,3)	(1,9±0,1)	(1,1±0,1)
AG	27,5–35,43 (0,9±4,1)	26,3–31,6 (29,7±1,9)	24,8–43,7 (31,0±4,1)	25,8–29,9 (28,2±1,9)	25,0–36,0 (29,0±5,2)	30,5–31,4 (33,0±3,7)
TkL	43,9–50,64 (7,6±3,4)	42,0–47,0 (43,6±1,8)	39,7–61,8 (46,3±4,7)	38,7–44,1 (41,8±2,0)	38,9–51,0 (43,6±5,2)	43,0–44,2 (46,0±3,4)
Total length	123,7–144,2 (131,0±12,0)	112,0–125,8 (119,0±5,5)	117,0–151,0 (131,5±8,5)	112,7–126,4 (119,4±3,8)	108,0–137,8 (120,9±12,5)	109,1–130,0 (122,6±8,1)



**Hình 3.12.** Tương quan hình thái giữa các loài Cá cóc thuộc giống *Tylototriton* ở Việt Nam.



**Hình 3.13.** Tương quan chiều dài cơ thể 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 *P. quangxiensis* ( $P_{\text{values}} < 0,05$ ) (Bảng 3.5; Hình 3.11).

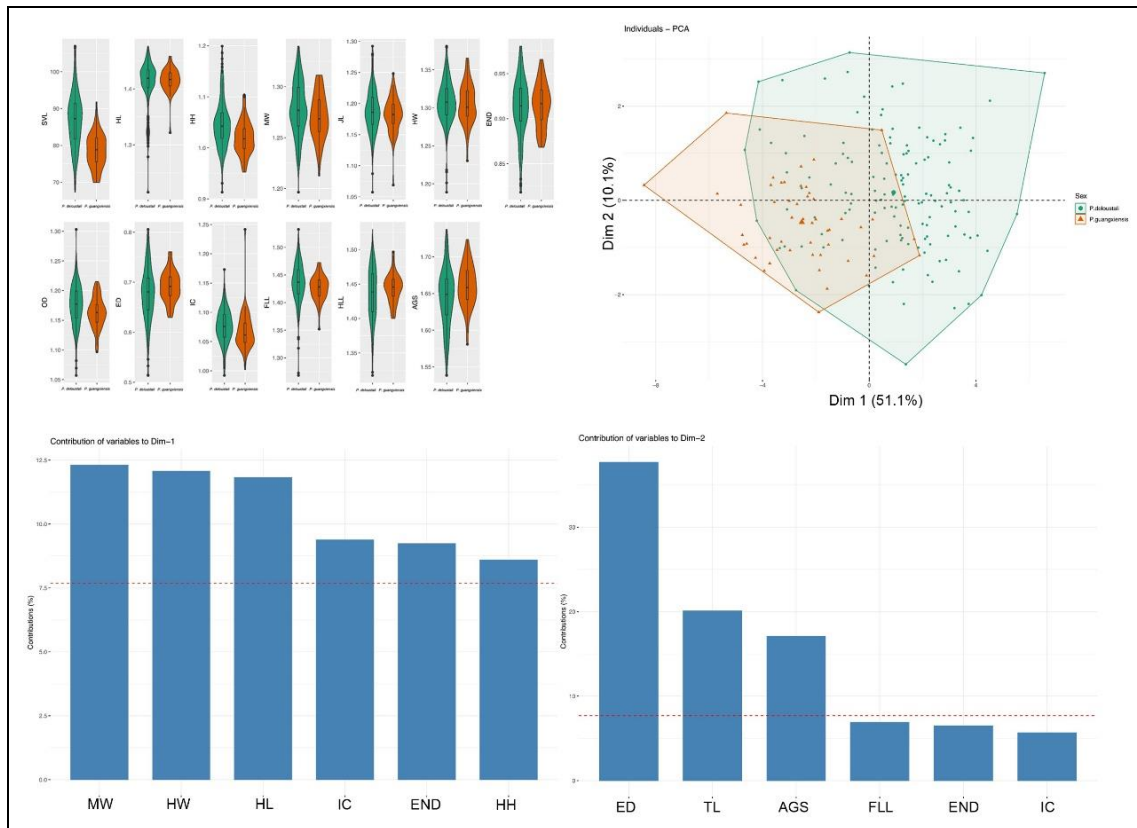
Nghiên cứu áp dụng phân tích tổng hợp PCA mô tả khoảng biến thiên phương sai hình thái giữa 2 loài Cá cóc bụng hoa *P. deloustali* và Cá cóc quảng tây *P. quangxiensis*. So sánh khoảng biến thiên phương sai hình thái cho thấy sự khác biệt theo chiều của giá trị Dim 1 (chiếm 51,1% biến thiên phương sai) được giải thích bởi 3 chỉ số chính là chiều rộng miệng MW, rộng đầu HW và dài đầu HL. Trong khi đó, theo chiều phân tích Dim 2 (chiếm 10,1%) không ghi nhận sự khác biệt (Hình 3.11).

**Bảng 3.5.** So sánh đặc điểm hình thái của các loài thuộc giống *Paramesotriton*.

Đặc điểm hình thái (mm)	<i>P. deloustali</i> (♀, n=113)	<i>P. guangxiensis</i> (♀, n=25)	<i>P. deloustali</i> (♂, n=127)	<i>P. guangxiensis</i> (♂, n=32)
SVL	70,37–105,88 (88,40±0,69)	70,20–91,80 (79,60±0,91)	67,29–106,95 (85,47±0,64)	69,93–87,38 (77,75±0,82)
TL	57,01–108,16 (82,03±1,02)	66,39–89,00 (76,45±1,21)	56,95–96,11 (76,33±0,77)	57,85–83,51 (71,82±1,09)
HL	15,23–33,02 (26,37±0,27)	22,13–28,39 (24,94±0,31)	28,18–32,12 (25,91±0,25)	19,33–29,12 (24,34±0,38)
HW	14,06–24,67 (20,83±0,20)	15,92–20,85 (18,75±0,26)	15,59–25,18 (20,62±0,18)	15,00–22,78 (18,90±0,37)
HH	7,86–14,78 (11,32±0,18)	8,04–10,93 (9,62±0,15)	8,80–15,58 (11,29±0,12)	7,79–12,80 (9,90±0,22)
MW	14,36–24,80 (19,64±0,21)	15,99–19,59 (17,57±0,21)	15,64–22,25 (18,88±0,15)	13,61–20,87 (17,25±0,30)
JL	11,41–19,99 (15,75±0,18)	12,72–16,94 (14,38±0,21)	11,73–19,69 (15,44±0,14)	10,21–17,18 (14,48±0,26)
END	6,10–10,03 (8,28±0,11)	6,56–8,93 (7,73±0,12)	6,37–9,75 (8,25±0,08)	6,37–9,16 (7,81±0,11)
OD	12,27–20,67 (15,58±0,20)	12,32–16,13 (13,83±0,22)	11,80–17,55 (14,75±0,14)	10,82–16,40 (13,65±0,22)

<b>Đặc điểm hình thái (mm)</b>	<b><i>P. deloustali</i></b> (♀, n=113)	<b><i>P. guangxiensis</i></b> (♀, n=25)	<b><i>P. deloustali</i></b> (♂, n=127)	<b><i>P. guangxiensis</i></b> (♂, n=32)
ED	3,26–6,45 (4,81±0,06)	4,07–5,57 (4,71±0,07)	3,26–6,71 (4,83±0,07)	4,01–5,48 (4,88±0,07)
IC	9,38–14,26 (12,04±0,10)	9,29–16,24 (10,88±0,27)	10,19–14,67 (12,16±0,11)	9,69–12,80 (11,25± 0,16)
FLL	17,06–35,79 (28,36±0,27)	23,42–28,76 (25,61±0,28)	18,69–35,33 (27,26±0,25)	19,86–29,64 (24,60±0,39)
HLL	19,05–35,60 (28,28±0,30)	23,47–28,96 (26,52±0,27)	20,96–35,39 (27,40±0,29)	22,31–29,63 (25,57±0,34)
AGS	33,23–65,50 (46,90 0,78)	38,27–49,94 (43,53 0,69)	30,31–52,96 (43,17 0,48)	36,39–47,93 (41,12 0,53)

Phân tích tổng hợp MFA giữa các nhóm chỉ số hình thái cho thấy nhóm chỉ số lỗ huyết (Cloaca), chiều dài bụng (Trunk Length) và chiều dài chi (Limbs) được xác định là nhóm hoạt động giải thích phương sai về hình thái. Trong đó, chỉ số chiều dài bụng (AGS), chiều dài lỗ huyết (CL) là những chỉ số lần lượt giải thích tốt nhất sự biến thiên trong sai khác về hình thái theo chiều Dim 1 (39.9%) và Dim 2 (30%). Mặc dù phân tích tổng hợp hình thái giữa cá thể đực và cái tương đối trùng khớp với nhau. Tuy nhiên, phân tích kiểm định cho thấy không gian theo chiều Dim1 ( $t = -2,3$ ;  $df = 161,0$ ;  $P \text{ value} < 0.05$ ) và Dim 2 ( $t = -14,3$ ;  $df = 140,0$ ;  $P \text{ value} < 0.001$ ) khác biệt giữa cá thể đực và cái của loài *P. deloustali*. Xem xét sự biến thiên phương sai hình thái giữa các quần thể của loài *P. deloustali*, nghiên cứu nhận thấy quần thể ở tỉnh Vĩnh Phúc tách biệt tương đối rõ ràng với các quần thể còn lại về khoảng biến thiên phương sai hình thái trong phân tích PCA và MFA ở các cá thể cái và các cá thể đực (Bảng 3.5; Hình 3.14).



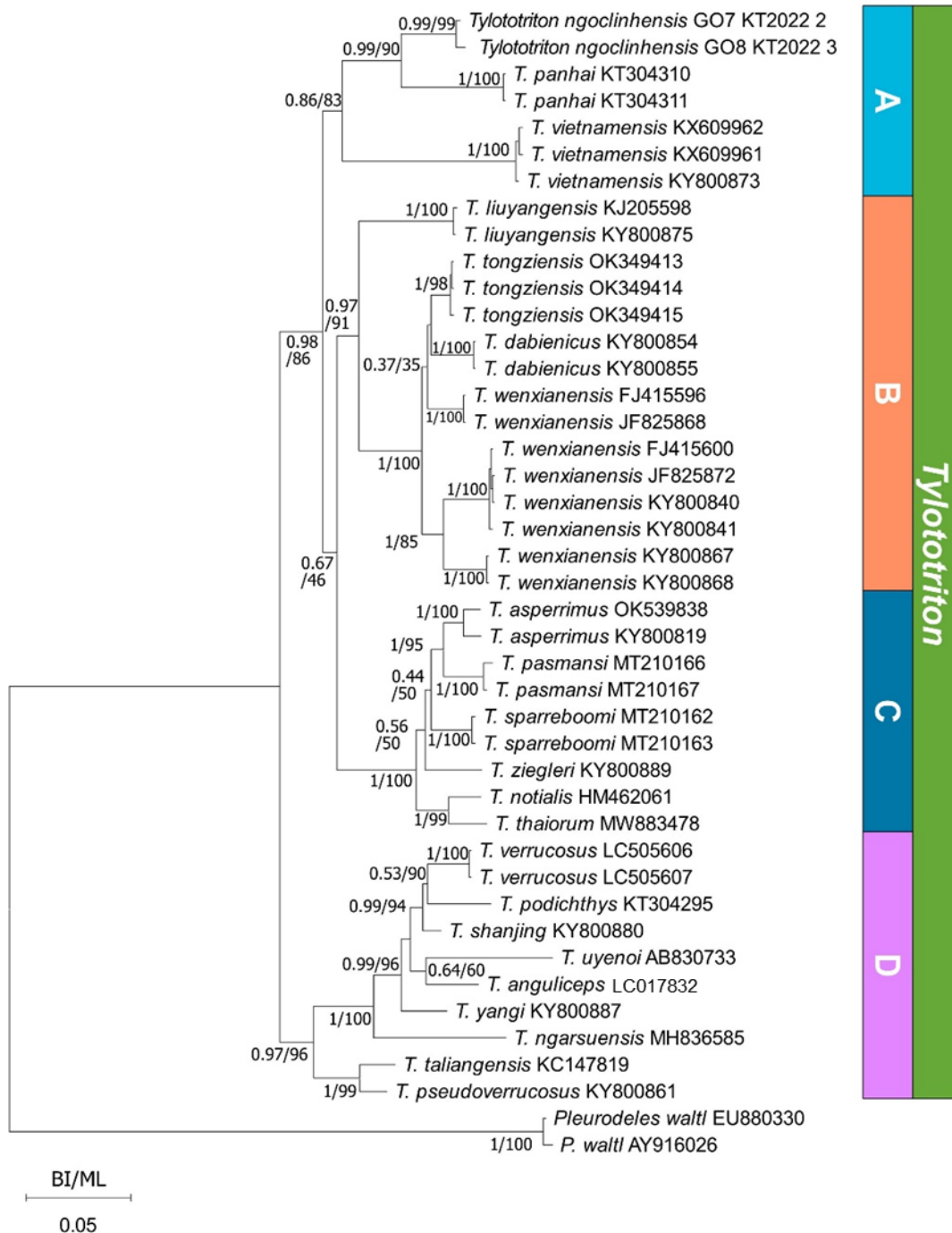
**Hình 3.14.** So sánh các đặc điểm hình thái giữa loài *P. deloustali* và *P. guangxiensis* (trái trên); Phân tích PCA mô tả khoảng biến thiên phương sai hình thái giữa 2 loài (phải trên); Phần trăm giải thích sự khác biệt phương sai của Dim 1 (trái dưới); của Dim 2 (phải dưới) trong phân tích PCA.

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

#### 3.1.4.1. 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. Cây quan hệ di truyền dạng BI được thể hiện ở Hình 3.15 và khoảng cách di truyền được trình bày ở Bảng 3.6.



**Hình 3.15.** Cây quan hệ di truyền của các loài Cá cóc thuộc giống *Tylototriton* ở Việt Nam xây dựng trên mô hình BI Giá trị xác suất hậu nghiệm thể hiện ở các gốc nhánh (ML/BI).

Kết quả phân tích 43 mẫu vật cá cóc của 7 loài thuộc giống *Tylototriton* ghi nhận ở Việt Nam cho thấy chúng cùng chung một gốc nhánh trên cây quan hệ di truyền với giá trị xác suất hậu nghiệm gốc nhánh đạt tuyệt đối 100/1.00. Đồng thời, mẫu vật của sáu loài tạo thành hai nhóm riêng biệt: Nhóm I gồm 6 loài *T. ngoclinhensis*, *T. pasmansii*, *T. sparreboomi*, *T. thaiorum*, *T. vietnamensis* và *T. ziegleri*, khoảng cách di truyền giữa các loài này từ 3,96–12,42%. Nhóm II chỉ ghi nhận duy nhất có loài *T. anguliceps*.

7 loài cá cóc thuộc giống *Tylototriton* ở Việt Nam phân thành 4 phân nhánh:

Phân nhánh A: Gồm các mẫu vật thuộc loài *T. ngoclinhensis* thu tại Ngọc Linh (Kon Tum), khoảng cách di truyền giữa các cá thể từ 0,00%, các mẫu vật thuộc loài *T. vietnamensis* khoảng cách di truyền giữa các cá thể từ 0,2–0,5%.

Phân nhánh C: Gồm các mẫu vật thuộc loài *T. pasmansii* thu từ Đà Bắc (Hòa Bình), khoảng cách di truyền nhỏ hơn 0,50%; các mẫu vật thuộc loài *T. sparreboomi* thu từ Sìn Hồ (Lai Châu), khoảng cách di truyền nhỏ hơn 0,20%; khoảng cách di truyền nhỏ hơn 0,50%; các mẫu vật thuộc loài *T. ziegleri* thu từ Quản Bạ (Hà Giang), khoảng cách di truyền nhỏ hơn 0,00–2,70%; các mẫu vật thuộc loài *T. thaiorum* thu từ VQG Pù Hoạt (Nghệ An), khoảng cách di truyền 0,00%.

Phân nhánh D: Gồm các mẫu vật thuộc loài *T. anguliceps* thu từ KBTTN Mường Nhé (Điện Biên), khoảng cách di truyền giữa các cá thể từ 0,00–1,80%.

Về sai khác di truyền giữa các loài được thể hiện ở Bảng 3.6. Khoảng cách về di truyền giữa các loài cá cóc thuộc giống *Tylototriton* ở Việt Nam đối với gen ND2 nằm trong khoảng 3,86–12,80%.

Như vậy, về khoảng cách di truyền giữa các quần thể của 7 loài: *T. ngoclinhensis*, *T. anguliceps*, *T. pasmansii*, *T. sparreboomi*, *T. thaiorum*, *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%. So với các giá trị sai khác của các loài còn lại, đây được xem là một giá trị tương đối lớn, do đó cần có nghiên cứu thêm về hình thái của mẫu vật này trong nghiên cứu tiếp theo, đồng thời tiến hành mở rộng nghiên cứu thêm để phát hiện thêm các quần thể mới của loài này hoặc có thể là ghi nhận phân loài của chúng.

**Bảng 3.6.** Khoảng cách di truyền các loài Cá cóc thuộc giống *Tylototriton* ở Việt Nam.

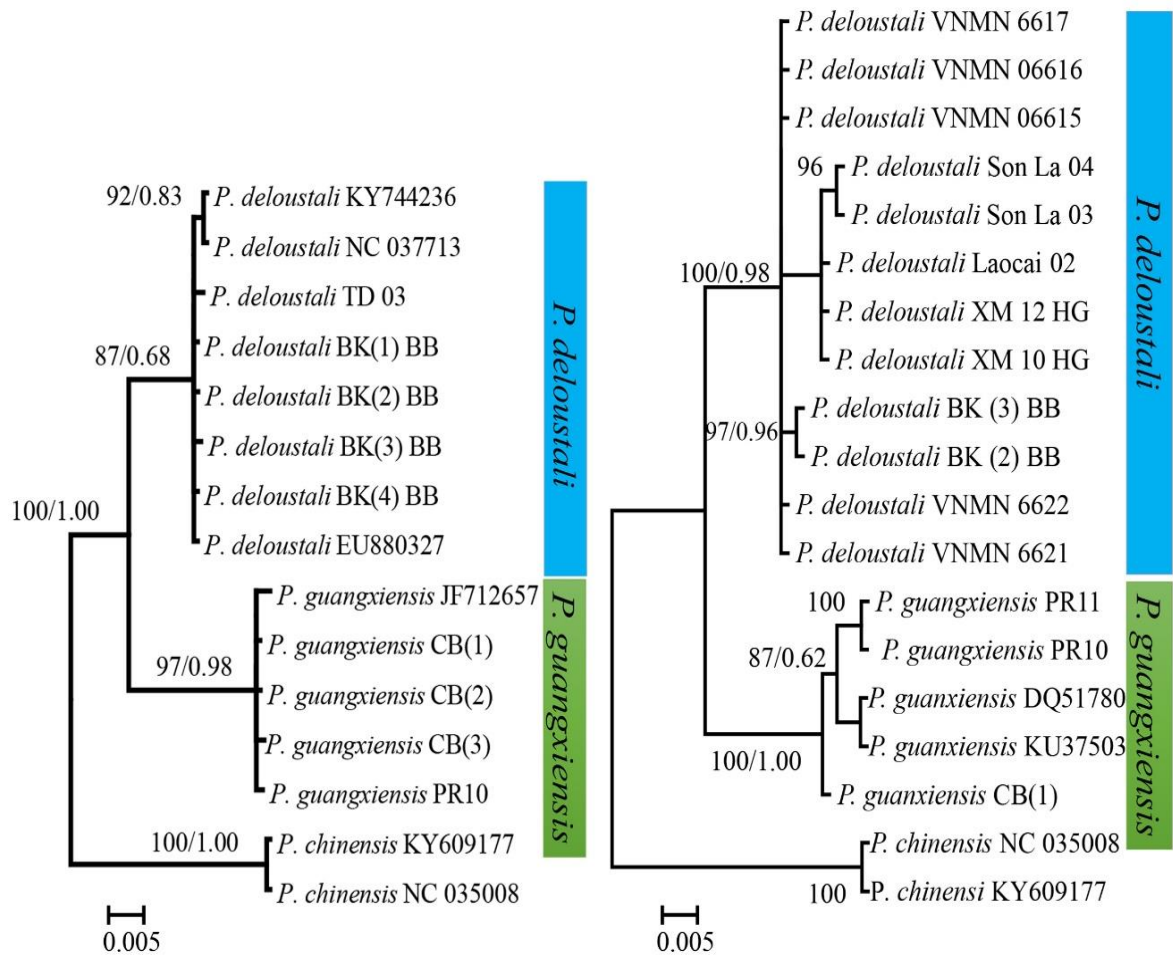
Loài	1	2	3	4	5	6	7
1. <i>T. anguliceps</i>	0,00–1,80						
2. <i>T. pasmansi</i>	11,40–12,00	0,50					
3. <i>T. sparreboomi</i>	10,70–11,50	3,96–4,26	0,20				
4. <i>T. thaiorum</i>	10,70–11,20	4,64–4,93	4,64–4,83	0,00			
5. <i>T. vietnamensis</i>	12,80–14,00	11,59–12,26	10,55–11,25	11,55–12,06	0,20–0,50		
6. <i>T. ziegleri</i>	9,30–11,08	4,39–5,99	3,86–4,77	4,83–6,21	10,94–12,42	0,00–2,70	
7. <i>T. ngoclinhensis</i>	10,80–12,76	8,64–10,33	9,72–10,03	8,64–9,12	11,11–11,85	8,95–9,72	0,00

#### 3.1.4.2. 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 và Cá cóc quảng tây 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 Cá cóc bụng hoa và Cá cóc Quảng tây (Hình 3.16). Khác biệt di truyền giữa các loài Cá cóc bụng hoa và Cá cóc quảng tây: – Trên gen 16S quần thể Cá cóc bụng hoa ghi nhận tại tỉnh Bắc Kạn, Vĩnh Phúc so với quần thể Cá cóc quảng tây ghi nhận tại tỉnh Cao Bằng khác biệt về di truyền giữa các quần thể từ 2,54–3,41% (Bảng 3.7); – Trên gen ND2 quần thể Cá cóc bụng hoa ghi nhận tại tỉnh Vĩnh Phúc, Bắc Kạn, Lào Cai, Sơn La, Hà Giang so với quần thể Cá cóc quảng tây ghi nhận tại tỉnh Cao Bằng khác biệt về di truyền giữa các quần thể từ 2,98–4,88%.

Khác biệt di truyền giữa quần thể loài Cá cóc bụng hoa và Cá cóc quảng tây: – Trên gen 16S, sai khác di truyền giữa các quần thể Cá cóc bụng hoa ghi nhận tại tỉnh Vĩnh Phúc và Bắc Kạn là 0,00–0,48%; giữa các quần thể Cá cóc quảng tây ghi nhận tại tỉnh Cao Bằng sai khác di truyền từ 0,00–0,75%. – Trên gen ND2, sai khác di truyền giữa các quần thể Cá cóc bụng hoa ghi nhận tại tỉnh Vĩnh Phúc, Bắc Kạn, Lào Cai, Sơn La, Hà Giang là 0,00–1,12%. Nghiên cứu khẳng định, quần thể ghi nhận mới của loài Cá cóc bụng hoa trước đây tại huyện Ba Chẽ, tỉnh Quảng Ninh là loài Cá cóc quảng tây (Hình 3.13). 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% (Bảng 3.8, Hình 3.16).





**Hình 3.16.** Cây quan hệ di truyền của các loài cá cóc thuộc giống *Paramesotriton* ở Việt Nam xây dựng trên mô hình BI trên đoạn gen ty thể 16S (bên trái) và ND2 (bên phải).

**Bảng 3.7.** Khoảng cách di truyền giữa các loài Cá cóc thuộc giống *Paramesotriton* ở Việt Nam dựa trên phân tích đoạn 16S.

Loài	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	15
1. <i>P. deloustali</i> TD 03														
2. <i>P. deloustali</i> EU880327	0,24													
3. <i>P. deloustali</i> KY744236	0,48	0,23												
4. <i>P. deloustali</i> NC 037713	0,48	0,23	0,00											
5. <i>P. deloustali</i> BK (1) BB	0,00	0,00	0,23	0,23										
6. <i>P. deloustali</i> BK (2) BB	0,00	0,00	0,25	0,25	0,00									
7. <i>P. deloustali</i> BK (3) BB	0,24	0,12	0,35	0,35	0,12	0,12								
8. <i>P. deloustali</i> BK (4) BB	0,24	0,00	0,23	0,23	0,00	0,00	0,12							
9. <i>P. guangxiensis</i> CB (1)	3,25	3,14	3,14	3,14	3,14	3,21	3,02	3,15						
10. <i>P. guangxiensis</i> CB (1)	2,78	2,66	2,78	2,78	2,66	2,74	2,54	2,69	0,12					
11. <i>P. guangxiensis</i> CB (1)	2,93	2,93	2,93	2,93	2,93	2,93	2,79	2,93	0,27	0,13				
12. <i>P. guangxiensis</i> PR10	3,37	3,16	3,16	3,16	3,16	3,29	2,95	3,18	0,00	0,00	0,00			
13. <i>P. guangxiensis</i> JF712657	3,41	3,18	3,19	3,19	3,04	3,13	2,99	3,19	0,23	0,46	0,75	0,00		
14. <i>P. chinensis</i> KY609177	3,88	3,46	3,46	3,46	3,50	3,69	3,36	3,53	3,63	3,51	4,00	3,80	3,19	
15. <i>P. chinensis</i> NC035008	3,88	3,46	3,46	3,46	3,50	3,69	3,36	3,53	3,63	3,51	4,00	3,80	3,19	0,00

**Bảng 3.8.** Khoảng cách di truyền giữa các loài Cá cóc thuộc giống *Paramesotriton* ở Việt Nam dựa trên phân tích đoạn ND2.

Loài	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	
1. <i>P. deloustali</i> VNMN 6617	0,00															
2. <i>P. deloustali</i> VNMN 06616	0,00															
3. <i>P. deloustali</i> VNMN 06615	0,00	0,00														
4. <i>P. deloustali</i> VNMN 6621	0,00	0,00	0,00													
5. <i>P. deloustali</i> VNMN 6622	0,00	0,00	0,00	0,00												
6. <i>P. deloustali</i> Son La 03	0,76	0,79	0,77	0,79	0,79											
7. <i>P. deloustali</i> Son La 04	0,66	0,68	0,66	0,67	0,64	0,00										
8. <i>P. deloustali</i> Laocai 02	0,47	0,49	0,47	0,48	0,47	0,23	0,23									
9. <i>P. deloustali</i> XM 12 HG	0,57	0,59	0,57	0,60	0,59	0,19	0,21	0,00								
10. <i>P. deloustali</i> XM 10 HG	0,57	0,59	0,57	0,60	0,59	0,19	0,21	0,00	0,00							
11. <i>P. deloustali</i> BK (3) BB	0,19	0,20	0,19	0,20	0,20	1,12	0,86	0,70	0,93	0,93						
12. <i>P. deloustali</i> BK (2) BB	0,19	0,20	0,19	0,20	0,20	1,12	0,86	0,70	0,93	0,93	0,00					
13. <i>P. guangxiensis</i> DQ517804	4,02	3,73	4,02	3,57	3,91	4,87	4,69	4,42	4,82	4,66	4,28	4,24				
14. <i>P. guangxiensis</i> KU375035	4,02	3,73	4,02	3,57	3,94	4,88	4,75	4,43	4,86	4,69	4,31	4,27	0,00			
15. <i>P. guangxiensis</i> CB (1)	3,44	3,14	3,45	2,98	3,35	4,32	4,10	3,73	4,30	4,13	3,75	3,71	0,56	0,56		
16. <i>P. chinensis</i> KY609177	7,46	7,47	7,47	7,14	6,64	8,05	6,61	6,98	8,35	8,19	7,81	7,75	8,62	8,72	8,16	
17. <i>P. chinensis</i> NC035008	7,46	7,47	7,47	7,14	6,64	8,05	6,61	6,98	8,35	8,19	7,81	7,75	8,62	8,72	8,16	0,00

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

#### 3.2.1. Địa điểm và số lượng lấy mẫu nấm trên các loài lưỡng cư

Nghiên cứu tiến hành khảo sát tại 106 điểm lấy mẫu thuộc 14 tỉnh khác nhau, tập trung chủ yếu ở các tỉnh phía bắc, một số tỉnh thuộc miền trung và miền nam của Việt Nam (Hình 3.17). 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 thuộc họ Cóc tía, 44 mẫu với 12 loài thuộc họ Cóc mắt, 84 mẫu với 16 loài thuộc họẾch cây và 583 mẫu với 8 loài thuộc họ Cá cóc (Bảng 3.9).

**Bảng 3.9.** Địa điểm và số lượng lấy mẫu nấm trên một số loài lưỡng cư ở Việt Nam.

Tên loài	Địa điểm thu mẫu	Số điểm lấy mẫu	Số lượng lấy mẫu nấm
<b>Họ Cóc tía</b>			
<i>Bombina microdeladigitora</i>	Lào Cai	4	<b>137</b>
<b>Họ Cóc mắt</b>			
<i>Leptobranchella nahangensis</i>	Hà Giang	1	2
<i>Leptobranchella nyx</i>	Hà Giang	2	6
<i>Leptobranchella sungi</i>	Hà Giang	1	2
<i>Leptobranchium ailaonicum</i>	Lai Châu	1	3
<i>Boulenophrys caobangensis</i>	Cao Bằng	2	5
<i>Brachytarsophrys cf. feae</i>	Cao Bằng	1	4
<i>Atympanophrys gigantea</i>	Lai Châu	1	2
<i>Ophryophryne hansii</i>	Kon Tum	2	2
<i>Boulenophrys jingdongensis</i>	Lào Cai	1	2
<i>Boulenophrys jingdongensis</i>	Lai Châu	1	2
<i>Xenophrys maosonensis</i>	Lào Cai	1	2
<i>Xenophrys maosonensis</i>	Nghệ An	1	3
<i>Ophryophryne microstoma</i>	Kon Tum	1	4
<i>Boulenophrys rubrimera</i>	Lào Cai	1	2
<i>Boulenophrys rubrimera</i>	Lai Châu	1	3
<b>HọẾch cây</b>			
<i>Gracixalus sapaensis</i>	Lai Châu	1	2
<i>Kurixalus cf. bisacculus</i>	Lai Châu	2	12
<i>Kurixalus hainanus</i>	Cao Bằng	2	12
<i>Kurixalus hainanus</i>	Hà Giang	1	2
<i>Polypedates megacephalus</i>	Cao Bằng	1	3
<i>Polypedates megacephalus</i>	Hà Giang	1	2
<i>Polypedates mutus</i>	Cao Bằng	1	3
<i>Raorchestes cf. parvulus</i>	Lai Châu	1	3
<i>Raorchestes cf. parvulus</i>	Cao Bằng	3	11

Tên loài	Địa điểm thu mẫu	Số điểm lấy mẫu	Số lượng lấy mẫu năm
<i>Rhacophorus annamensis</i>	Đồng Nai	1	1
<i>Rhacophorus helena</i>	Đồng Nai	1	4
<i>Rhacophorus kio</i>	Cao Bằng	2	6
<i>Rhacophorus kio</i>	Bắc Kạn	2	3
<i>Rhacophorus orlovi</i>	Hà Giang	1	1
<i>Rhacophorus orlovi</i>	Bắc Kạn	1	3
<i>Rhacophorus cf. napoensis</i>	Lai Châu	2	5
<i>Theلودerma hekouense</i>	Cao Bằng	1	1
<i>Zhangixalus dorsovireidis</i>	Lai Châu	1	2
<i>Zhangixalus duboisi</i>	Lai Châu	1	2
<i>Zhangixalus feae</i>	Lai Châu	1	2
<i>Zhangixalus pachyproctus</i>	Bắc Kạn	1	1
<i>Zhangixalus puerensis</i>	Lai Châu	1	3
<b>Họ Cá cóc</b>			<b>583</b>
<i>Tylototriton vietnamensis</i>	Bắc Giang	11	184
<i>Tylototriton vietnamensis</i>	Quảng Ninh	2	11
<i>Tylototriton vietnamensis</i>	Lạng Sơn	1	12
<i>Tylototriton zieglerei</i>	Bảo Lạc, Cao Bằng	4	30
<i>Paramesotriton quangxiensis</i>	Cao Bằng	4	54
<i>Tylototriton zieglerei</i>	Nguyên Bình, Cao Bằng	1	8
<i>Tylototriton zieglerei</i>	Bắc Mê, Hà Giang	2	13
<i>Tylototriton zieglerei</i>	Quản Bạ, Hà Giang	9	33
<i>Tylototriton zieglerei</i>	Bắc Quang, Hà Giang	2	26
<i>Tylototriton sparreboomi</i>	Lai Châu	4	17
<i>Tylototriton anguliceps</i>	Sơn La	1	8
<i>Tylototriton pasmansi</i>	Hòa Bình	7	46
<i>Paramesotriton deloustali</i>	Bắc Kạn	2	62
<i>Paramesotriton deloustali</i>	Lào Cai	4	61
<i>Paramesotriton deloustali</i>	Tam Đảo, Vĩnh Phúc	1	18
<b>Tổng</b>		<b>106</b>	<b>848</b>

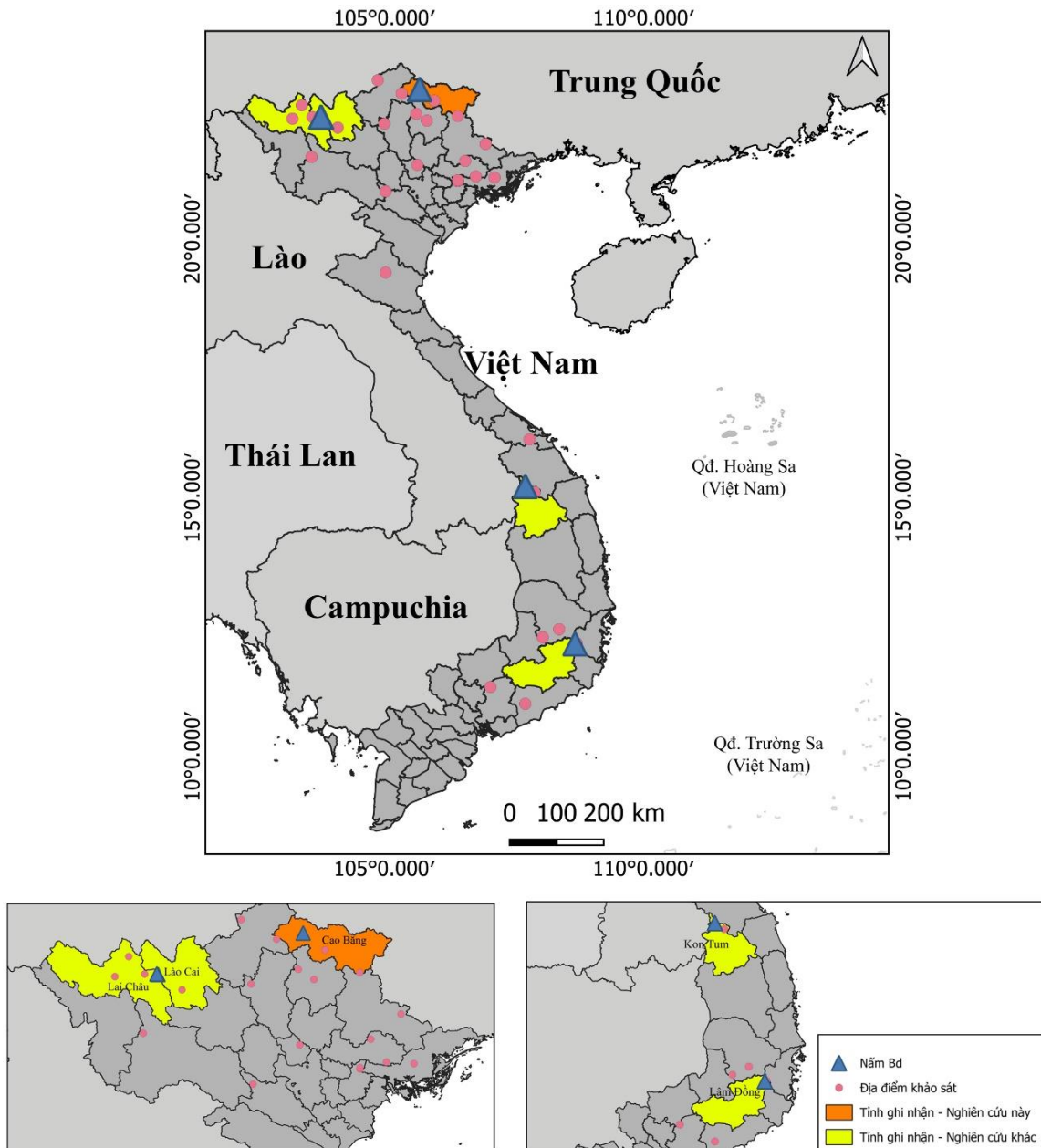
### 3.2.2. Ghi nhận của chủng nấm *Bd* tại Việt Nam

Nghiên cứu ghi nhận dương tính của chủng nấm *Bd* tại duy nhất một điểm thuộc huyện Bảo Lạc (Cao Bằng) (tọa độ: N 22.8847222, E 105.6794444; độ cao 745 m so với mực nước biển) (Hình 3.14).

Phân bố của chủng nấm *Bd* trước đây ghi nhận trên các loài lưỡng cư tại các tỉnh phía bắc gồm: tỉnh Lào Cai và Lai Châu thuộc dãy núi Hoàng Liên Sơn [10],

miền Trung Tây Nguyên ghi nhận tại khu vực thuộc núi Ngọc Linh (Kon Tum) và VQG Bidoup-Núi Bà (Lâm Đồng) [7] (Hình 3.17).

Ghi nhận của chủng nấm *Bd* ký sinh trên các loài lưỡng cư thu được ở sinh cảnh rừng thường xanh, ở độ cao trên 1.350 m so với mực nước biển, tại các vũng nước tù, đáy là bùn đất phủ nhiều lá cây, nhiệt độ tại vũng nước ghi nhận 16,4°C.



**Hình 3.17.** Sơ đồ phân bố của chủng nấm *Bd* trên các loài lưỡng cư tại Việt Nam.

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

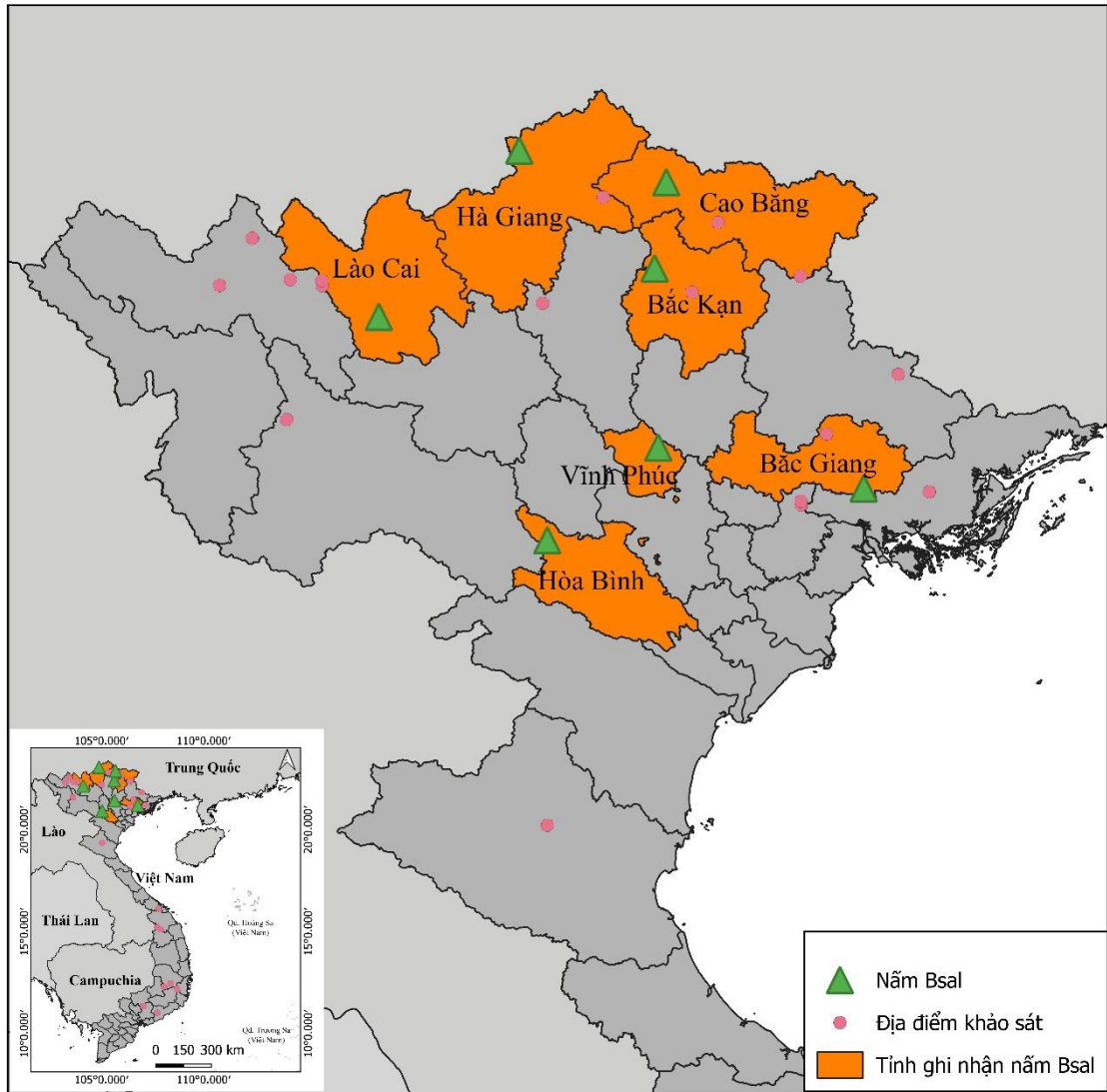
Trong nghiên cứu này ghi nhận chủng nấm *Bd* dương tính với 04 cá thể/ 30 mẫu thu được thuộc duy nhất một loài Cá cóc *Tylototriton zieglerei* tại tỉnh Cao Bằng. Trước đây, chủng nấm *Bd* được ghi nhận dương tính trên các quần thể loài lưỡng cư khác như: *Raorchestes gryllus* và *Ophryophryne* sp. ở VQG Bidoup-Núi

Bà (Lâm Đồng), Ngọc Linh (Kon Tum), KBTTN Núi Ông (Bình Thuận) [9], trong họ Megophryidae (*Leptobrachium*, *Leptolalax*, *Ophryophryne*, *Xenophrys*), Microhylidae (*Microhyla*), Ranidae (*Odorrana*) hoặc Rhacophoridae (*Gracixalus*, *Kurixalus*, *Rhacophorus*) [8] và *Bombina microdeladigitora*, *Duttaphrynus melanostictus*, *Boulenophrys fansipanensis*, *B. hoanglienensis* và *Gracixalus sapaensis* ở tỉnh Lào Cai [10].

#### **3.2.4. Ghi nhận của chủng nấm *Bsal* tại Việt Nam**

Trong nghiên cứu này lần đầu tiên ghi nhận chủng nấm *Bsal* ngoài tự nhiên ở Việt Nam trên các quần thể thuộc họ Cóc tía và 2 giống *Tylototriton*; *Paramesotriton*, cụ thể: KBTTN Tây Yên Tử (Bắc Giang) (N 21.201, E 106.765; độ cao 315 m), KBTTN Phu Canh (Hòa Bình) (N 20.915, E 105.0256; độ cao 315 m), VQG Tam Đảo (Vĩnh Phúc) (N 21.4261, E 105.635; độ cao 1.200 m), VQG Ba Bể (Bắc Kạn) (N 22.412, E 105.616; độ cao 750 m), huyện Bảo Lạc (Cao Bằng) (N 22.885, E 105.679; độ cao 1.350 m), huyện Quảng Bạ (Hà Giang) (N 23.06, E 104.872; độ cao 1.211 m), huyện Văn Bàn (Lào Cai) (N 22.144, E 104.1; độ cao 650 m), huyện Sapa (Lào Cai) (N 22.316, E 103.789; độ cao 1.230 m) (Hình 3.18).

Ghi nhận của chủng nấm *Bsal* ký sinh trên các loài lưỡng cư ở các dạng sinh cảnh trong rừng thường xanh tại các vũng và ao nước tù, suối chảy vừa và nhỏ, ở độ cao từ 300–800 m và từ 800 đến dưới 1.500 m so với mực nước biển, nhiệt độ môi trường nước tại khu vực thu mẫu dao động trong khoảng từ 16,8–26,4°C.



**Hình 3.18.** Sơ đồ ghi nhận chủng nấm *Bsal* trên các loài lưỡng cư tại Việt Nam.

### 3.2.5. 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: Họ Cóc tía và Cá cóc. Đáng chú ý, trước đây chủng nấm *Bsal* thường được ghi nhận trên một số loài thuộc họ Cá cóc. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này, đây là lần đầu tiên ghi nhận *Bsal* trên các loài thuộc 2 họ:

– Cóc tía *Bombina microdeladigitora*: Với 18 cá thể/ 137 mẫu dương tính thu tại Sapa (Lào Cai).

– Cá cóc với các loài thuộc cả 2 giống: *Paramesotriton* và *Tylototriton* tại Việt Nam. Tuy nhiên, với tỷ lệ nhiễm nấm tương đối thấp, cụ thể: giống *Paramesotriton* ghi nhận trên loài *P. deloustali* tại VQG Tam Đảo (Vĩnh Phúc) với 02 cá thể dương tính; tại VQG Ba Bể (Bắc Kạn) với 01 cá thể dương tính và Lào Cai với 04 cá thể dương tính cụ thể: Giống *Tylototriton* ghi nhận: Loài *T. vietnamensis* với 03 cá thể dương tính tại KBTTN Tây Yên Tử (Bắc Giang), loài *T.*



*pasmansi* với 03 cá thể dương tính tại KBTTN Phu Canh (Hòa Bình), loài *T. ziegleri* với 02 cá thể dương tính tại huyện Bảo Lạc (Cao Bằng) và 02 cá thể dương tính tại huyện Quán Bạ (Hà Giang) (Bảng 3.10).

**Bảng 3.10.** 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> (%)
<b>Họ Cóc tía</b>					
<i>B. microdeladigitora</i>	Lào Cai	4	137	18	<b>13,14%</b>
<b>Họ Cóc mắt</b>					
	-	18	44	-	0,00%
<b>HọẾch cây</b>					
	-	29	84	-	0,00%
<b>Họ Cá cóc</b>					
<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. ziegleri</i>	Bảo Lạc, Cao Bằng	4	30	2	<b>6,70%</b>
<i>T. ziegleri</i>	Nguyên Bình, Cao Bằng	1	8	-	0,00%
<i>T. ziegleri</i>	Bắc Mê, Hà Giang	2	13	-	0,00%
<i>T. ziegleri</i>	Quán Bạ, Hà Giang	9	33	2	<b>6,10%</b>
<i>T. ziegleri</i>	Bắc Quang, Hà Giang	2	26	-	0,00%
<i>T. sparreboomi</i>	Lai Châu	4	17	-	0,00%
<i>T. pasmansi</i>	Sơn La	1	8	-	0,00%
<i>T. pasmansi</i>	Hòa Bình	7	46	3	<b>0,65%</b>
<i>P. quangxiensis</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>	Tam Đảo, 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>

### 3.2.6. Tình trạng nhiễm nấm ở họ Cóc tía

Tổng số 137 mẫu được tiến hành để kiểm tra các mẫu nhiễm nấm trên loài thuộc họ Cóc tía tại tỉnh Lào Cai, đây là khu vực biên giới giữa Việt Nam và Trung Quốc nơi phân bố nhiều loài thuộc họ Bombina (Hình 3.19).

Kết quả nghiên cứu cho thấy đây là lần đầu tiên ghi nhận sự có mặt của chủng nấm gây bệnh *Bsal* trên loài Cóc tía *B. microdeladigitora* ngoài tự nhiên ở Việt Nam. Tuy nhiên, không ghi nhận sự xuất hiện của chủng nấm *Bd*. Theo đó, nghiên cứu trong tháng 5/2017 thực hiện thu 80 mẫu nhưng chỉ phát hiện dương tính trên 19 cá thể Cóc tía (19/80: 23,75%), với tỷ lệ thấp (14,20 GE  $\pm$  7,00). Tiếp theo, trong tháng 7/2017 nghiên cứu thực hiện lấy 57 mẫu lại không ghi nhận cá thể nào dương tính với chủng nấm *Bsal* và *Bd* (0/57: 0,00%).

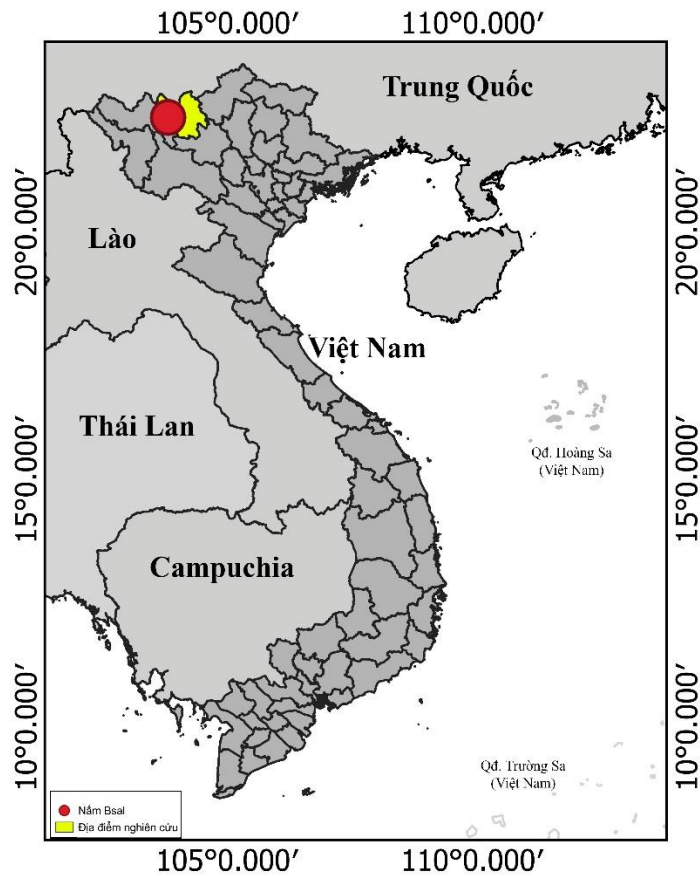
Trong chương trình hợp tác nghiên cứu, các đồng nghiệp Frank Pasmans và An Martel tại Bỉ, đã kiểm tra trên 36 cá thể *B. microdeladigitora* được buôn bán, vận chuyển tại các cửa hàng kinh doanh sinh vật cảnh ở Đức, có nguồn gốc du nhập từ Việt Nam. Kết quả cho thấy: 03 cá thể trên tổng số 36 mẫu được phát hiện dương tính với chủng nấm *Bsal* (3/36: 8,33%). Nghiên cứu gần đây của Tapley et al. (2020), kiểm tra sự nhiễm nấm của loài *B. microdeladigitora* tại khu vực khảo sát, với 13 mẫu được thu nấm. Tuy nhiên, chỉ ghi nhận 01 cá thể dương tính với chủng nấm *Bd* với tỷ lệ nhiễm nấm thấp (0,1 GE) và toàn bộ âm tính với chủng nấm *Bsal* [10].

Quá trình khảo sát thực địa, chúng tôi tiến hành quan sát bằng mắt thường và đánh giá chi tiết các biểu hiện trên bề mặt cơ thể (lưng, bụng, chi và mắt) của các cá thể Cóc tía, nhằm đánh giá ảnh hưởng của chủng nấm. Kết quả cho thấy các thể dương tính với chủng nấm *Bsal* không có biểu hiện bất thường so với các cá thể không nhiễm nấm. Cụ thể, trên bề mặt da thuộc phần lưng, mặt bụng và mắt không xuất hiện các tổn thương trên da như các vết trầy xước, khô ráp hay lở loét. Toàn bộ các cá thể Cóc tía thu ngoài tự nhiên đều có thể trạng và biểu hiện sức khỏe tốt (Hình 3.20).

Sinh cảnh sống ghi nhận các cá thể *B. microdeladigitora* nhiễm nấm ở độ cao khoảng trên 1.600 m so với mực nước biển, rừng xanh, dưới tán là cây bụi thấp, ẩm ướt, các vũng nước bùn, có thể bắt gặp các hốc cây mục đọng nước (Hình 3.19).

Nghiên cứu được coi là một trong những phát hiện mới có ý nghĩa khoa học trong nghiên cứu nguồn gốc và khả năng lây nhiễm của các chủng nấm ký sinh trên các loài lưỡng cư. Việc ghi nhận và phát hiện dương tính của loài Cóc tía này với nấm *Bsal* trong buôn bán tại các nước Châu Âu (cụ thể tại Đức), có nguồn gốc du nhập từ Việt Nam, được coi là một trong những phát hiện cảnh báo trước nguy cơ lây nhiễm và phát tán mầm bệnh nấm ký sinh trên các loài lưỡng cư thông qua

hoạt động buôn bán. Do đó, để giảm thiểu mối đe dọa dịch bệnh của chủng nấm *Bsal* và *Bd* đối với các vùng chưa bị lây nhiễm.



**Hình 3.19.** Sơ đồ ghi nhận nấm trên học Cóc tía ở Việt Nam



**Hình 3.20.** Hình ảnh các cá thể Cóc tía nhiễm nấm; (A, B) mặt lưng, (C) mặt bụng. Ảnh chụp: Nguyễn Thiên Tạo.

### 3.2.7. 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 13 loài thuộc họ Cóc mắt gồm: *Leptobrachella nahangensis* (02 mẫu), *L. nyx* (06 mẫu), *L. sungi* (02 mẫu), *Leptobrachium ailaonicum* (03 mẫu), *Boulenophrys caobangensis* (05 mẫu), *Brachytarsophrys cf. feae* (04), *Atympanophrys gigantea* (02 mẫu), *Ophryphryne hansii* (02 mẫu), *Boulenophrys ingdongensis* (04 mẫu), *Xenophrys masonensis* (05 mẫu), *Ophryphryne microstoma* (04 mẫu) và *Boulenophrys rubrimera* (05 mẫu), tại các tỉnh thành gồm: Lai Châu, Lào Cai, Hà Giang, Cao Bằng, Nghệ An và Kon Tum (Bảng 3.11, Hình 3.21).

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.

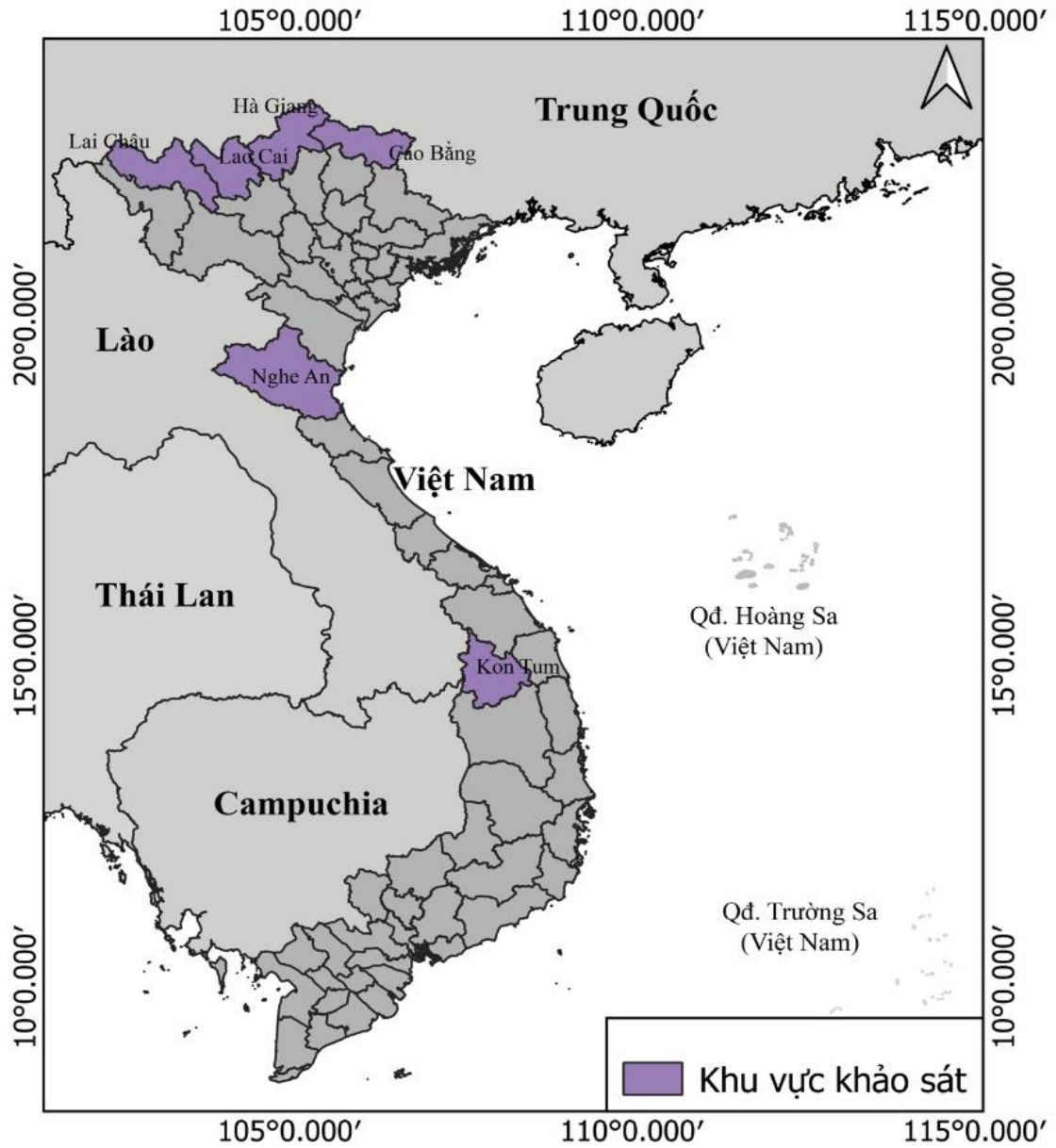
**Bảng 3.11.** Tình trạng nhiễm nấm Chytrid của một số loài lưỡng cư thuộc họ Cóc mắt tại khu vực nghiên cứu

(Ghi chú: (+) dương tính, (-) âm tính)

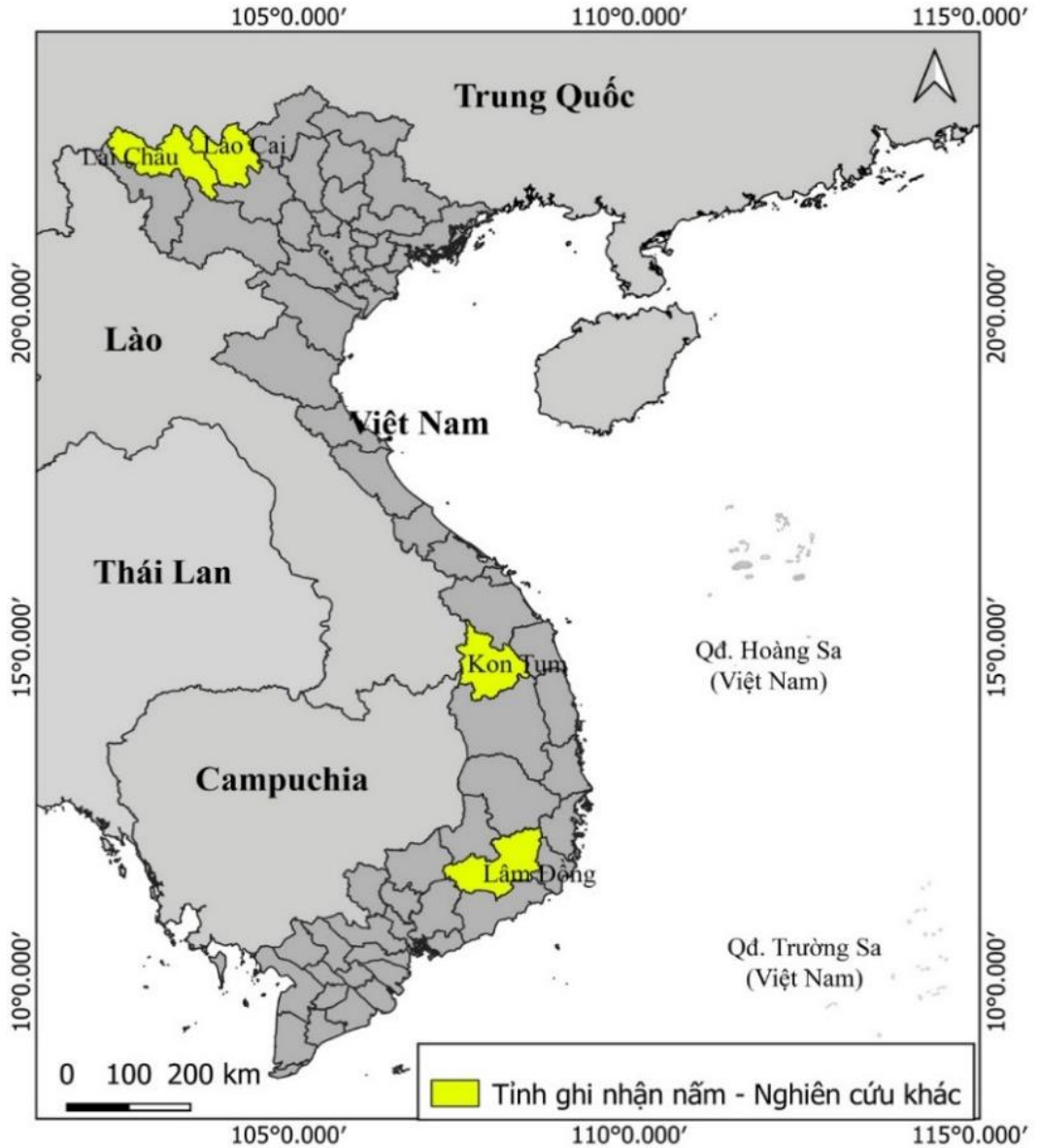
STT	Tên loài	Địa điểm	Số lượng lấy mẫu	Chủng nấm <i>Bsal</i>	Chủng nấm <i>Bd</i>
1	<i>Leptobrachella nahangensis</i>	Hà Giang	2	-	-
2	<i>Leptobrachella nyx</i>	Hà Giang	6	-	-
3	<i>Leptobrachella sungi</i>	Hà Giang	2	-	-
4	<i>Leptobrachium ailaonicum</i>	Lai Châu	3	-	-
5	<i>Boulenophrys caobangensis</i>	Cao Bằng	5	-	-
6	<i>Brachytarsophrys feae</i>	Cao Bằng	4	-	-
7	<i>Atympanophrys gigantea</i>	Lai Châu	2	-	-
8	<i>Ophryphryne hansii</i>	Kon Tum	2	-	-
9	<i>Boulenophrys jingdongensis</i>	Lào Cai, Lai Châu	4	-	-
10	<i>Xenophrys masonensis</i>	Lào Cai, Nghệ An	5	-	-
11	<i>Ophryphryne microstoma</i>	Kon Tum	4	-	-
12	<i>Boulenophrys rubrimera</i>	Lai Châu	5	-	-
<b>Tổng mẫu</b>			<b>44</b>	<b>0,00%</b>	<b>0,00%</b>

Kết quả phân tích không ghi nhận cả 2 chủng nấm *Bd* và *Bsal* trên các loài thuộc họ Cóc mắt. Trong quá trình nghiên cứu có thể nhận định do số lượng mẫu thu trên loài còn ít, chưa đủ lượng để phát hiện sự xuất hiện của chủng nấm; sự tự miễn dịch của cá thể loài đối với sự xâm nhập tác nhân gây bệnh. Theo đánh giá có thể do môi trường sinh sống trên cạn nên khả năng nguồn lây nhiễm nấm của loài sang loài là rất ít và điều kiện môi trường cũng là yếu tố lý tưởng ảnh hưởng đến sự tồn tại của chủng nấm. Dựa trên các nghiên cứu trước đây trong họ Cóc mắt, chủng nấm *Bd* được ghi nhận trên loài *Ophryphryne* sp. tại Bidoup-Núi Bà (Lâm Đồng),

với tỷ lệ nhiễm nấm 2/35 cá thể dương tính [7,9]. Nghiên cứu của Rowley. (2013) cũng có thể ghi nhận dương tính trên các giống *Leptobrachium*, *Leptolalax*, *Ophryophryne*, *Xenophrys* tại Ngọc Linh (Kon Tum) [8].



**Hình 3.21.** Sơ đồ địa điểm khảo sát nhiễm nấm trên họ Cóc mắt tại Việt Nam.



**Hình 3.22.** Sơ đồ ghi nhận năm nghiên cứu khác trên họ Cóc mắt tại Việt Nam.

Kết quả trước đây của Tapley et al. (2020) ghi nhận 02 loài *Boulenophrys fansipanensis* và *B. hoanglienensis* dương tính với nấm tương ứng với tỷ lệ nhiễm nấm rất thấp lần lượt: 2/40 và 1/37 cá thể dương tính tại dãy núi Hoàng Liên thuộc 2 tỉnh Lào Cai và Lai Châu [10] (Hình 3.22).

Trên cơ sở này cần có những nghiên cứu tiếp theo để đánh giá ảnh hưởng của các chủng nấm trên các loài thuộc họ Cóc mắt và đánh giá nguồn lây lan của dịch bệnh này, từ đó đề xuất các biện pháp kiểm soát, ngăn chặn dịch bệnh và công tác bảo tồn loài ngoài tự nhiên ở Việt Nam.

### 3.2.8. Tình trạng nhiễm nấm ở họ Éch cây

Tổng 84 mẫu được tiến hành để kiểm tra các mẫu nhiễm nấm của 20 loài thuộc họ Éch cây gồm: *Gracixalus sapaensis* (02 mẫu), *Kurixalus cf. bisacculus* (12

mẫu), *K. hainanus* (14 mẫu), *Polypedates megacephalus* (05 mẫu), *P. mutus* (03 mẫu), *Raorchestes cf. parvulus* (14 mẫu), *Rhacophorus annamensis* (01 mẫu), *R. helenae* (04 mẫu), *R. kio* (09 mẫu), *R. orlovi* (04 mẫu), *R. cf. napoensis* (05 mẫu), *Theloderma hekouense* (01 mẫu), *Zhangixalus dorsovireidis* (02 mẫu), *Z. duboisi* (02 mẫu), *Z. feae* (02 mẫu), *Z. pachyproctus* (01 mẫu) và *Z. puerensis* (03 mẫu) tại các tỉnh gồm Lai Châu, Lào Cai, Kon Tum và Lâm Đồng (Bảng 3.12, Hình 3.23).

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*. Theo nhận định do số lượng mẫu thu còn ít, cũng như khả năng tự miễn của cá thể với nấm gây bệnh, môi trường sinh sống của các loài thuộc họẾch cây chủ yếu trên cây, đó cũng là yếu tố quan trọng để đánh giá nguồn lây truyền bệnh nấm đối với các loài thuộc họẾch cây.

Do đó chúng tôi đề xuất cần có những nghiên cứu tiếp theo để đánh giá ảnh hưởng của các chủng nấm trên các loài thuộc họẾch cây, trên cơ sở có những biện pháp ngăn chặn, phục vụ công tác bảo tồn loài ngoài tự nhiên ở Việt Nam.

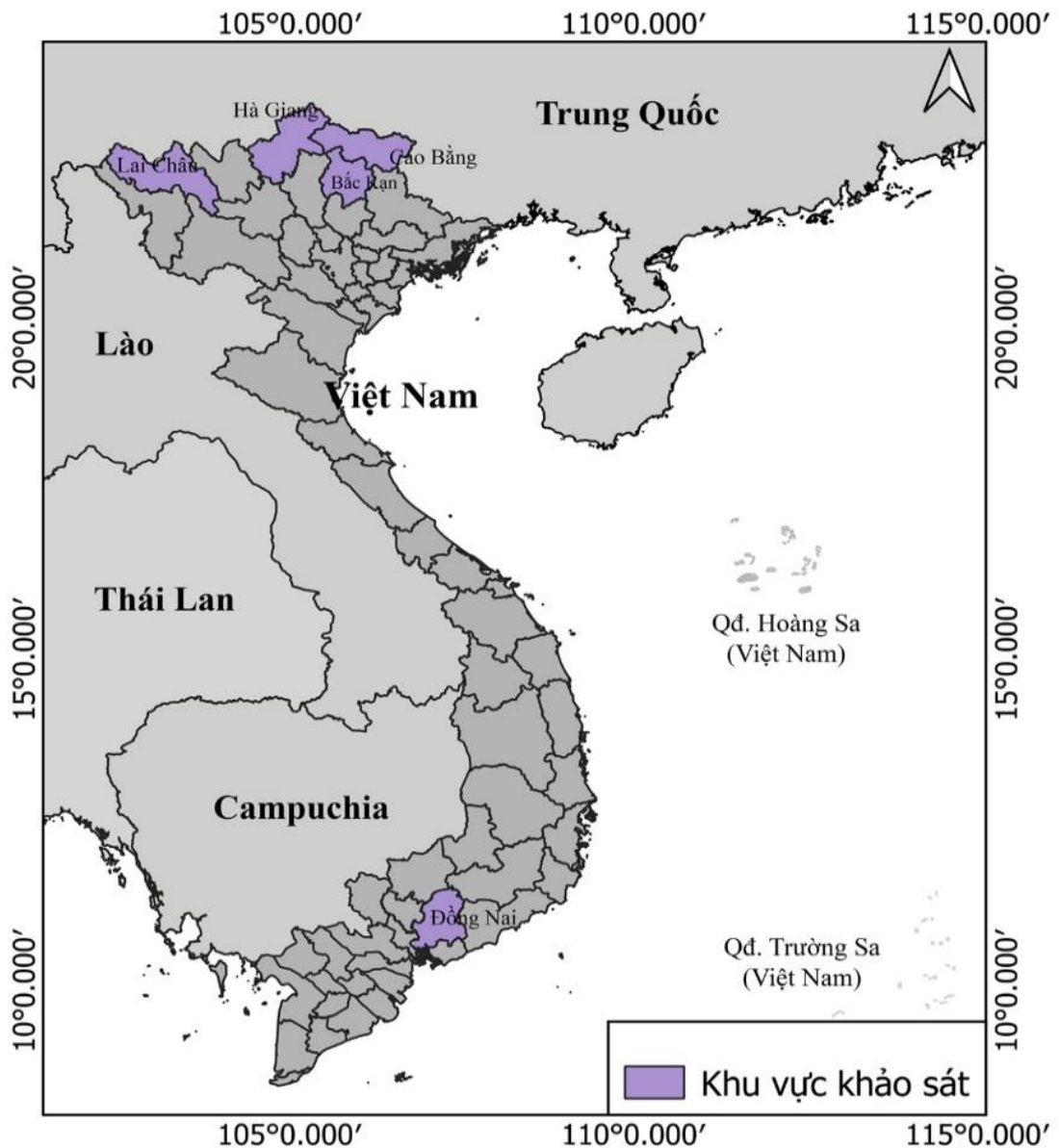
**Bảng 3.12.** Tình trạng nhiễm nấm Chytrid của một số loài lưỡng cư thuộc họẾch cây tại khu vực nghiên cứu.

*Ghi chú: (+) dương tính, (-) âm tính*

STT	Tên loài	Địa điểm	Số lượng lấy mẫu	Chủng nấm <i>Bsal</i>	Chủng nấm <i>Bd</i>
1	<i>Gracixalus sapaensis</i>	Lai Châu	2	-	-
2	<i>Kurixalus cf. bisacculus</i>	Lai Châu	12	-	-
3	<i>Kurixalus hainanus</i>	Cao Bằng, Hà Giang	14	-	-
4	<i>Polypedates megacephalus</i>	Cao Bằng	5	-	-
5	<i>Polypedates mutus</i>	Cao Bằng	3	-	-
6	<i>Raorchestes parvulus</i>	Lai Châu, Cao Bằng	14	-	-
7	<i>Rhacophorus annamensis</i>	Đồng Nai	1	-	-
8	<i>Rhacophorus helenae</i>	Đồng Nai	4	-	-
9	<i>Rhacophorus kio</i>	Cao Bằng, Bắc Kạn	9	-	-
10	<i>Rhacophorus orlovi</i>	Hà Giang, Bắc Kạn	4	-	-
11	<i>Rhacophorus rhodopus</i>	Lai Châu	5	-	-
12	<i>Theloderma hekouense</i>	Cao Bằng	1	-	-
13	<i>Zhangixalus dorsovireidis</i>	Lai Châu	2	-	-
14	<i>Zhangixalus duboisi</i>	Lai Châu	2	-	-
15	<i>Zhangixalus feae</i>	Lai Châu	2	-	-
16	<i>Zhangixalus pachyproctus</i>	Bắc Kạn	1	-	-
17	<i>Zhangixalus puerensis</i>	Lai Châu	3	-	-
	<b>Tổng mẫu</b>		<b>84</b>	<b>0,00%</b>	<b>0,00%</b>

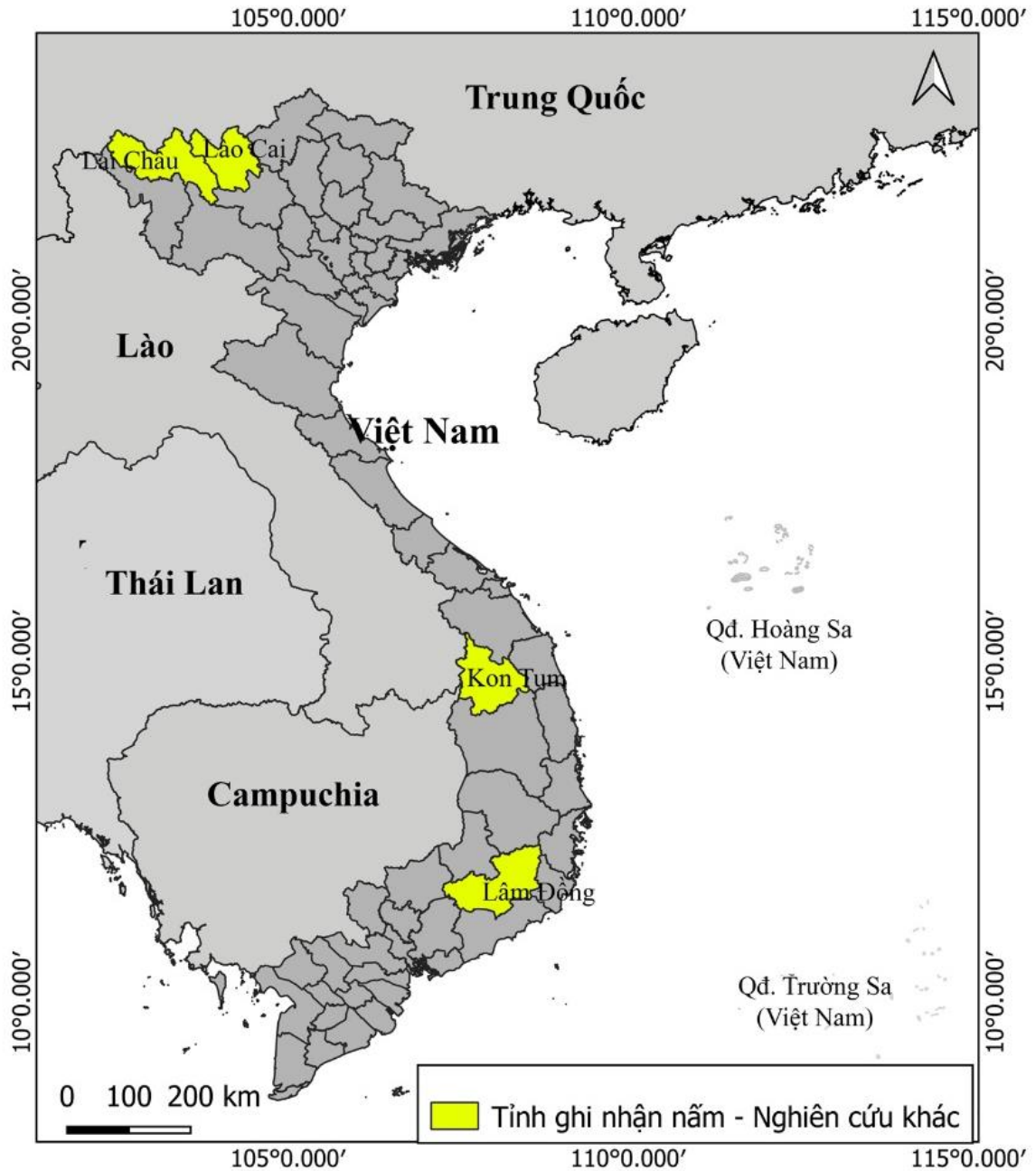
Từ kết quả không ghi nhận chủng nấm *Bsal* và *Bd* trên các loài thuộc họ Ếch cây, giả thuyết có thể do số lượng mẫu trên loài được thu với số lượng ít, điều kiện tự nhiên tại điểm thu mẫu nấm cũng ảnh hưởng đến sự tồn tại của các chủng nấm trên cá thể vật chủ và khả năng miễn dịch với các chủng nấm gây bệnh.

Theo các nghiên cứu trước đây trên họ Ếch cây, chủng nấm *Bd* được ghi nhận trên loài *Kurixalus gryllus* tại Bidoup-Núi Bà (Lâm Đồng), với tỷ lệ nhiễm nấm 5/39 cá thể dương tính [7,9]. Theo Rowley et al. (2013) ghi nhận có thể dương tính với chủng nấm trên các giống *Gracixalus*, *Kurixalus*, *Rhacophorus* tại KBTTN Ngọc Linh (Kon Tum); loài *Gracixalus sapaensis* được ghi nhận dương tính với chủng nấm, tuy nhiên tỷ lệ nhiễm nấm thấp 1/13 cá thể dương tính tại dãy núi Hoàng Liên (Lào Cai) [8] (Hình 3.24).



**Hình 3.23.** Sơ đồ địa điểm khảo sát nhiễm nấm trên họ Ếch cây tại Việt Nam.





**Hình 3.24.** Sơ đồ ghi nhận năm nghiên cứu khác trên họ Éch cây tại Việt Nam.

### 3.2.9. Tình trạng nhiễm nấm ở họ Cá cóc

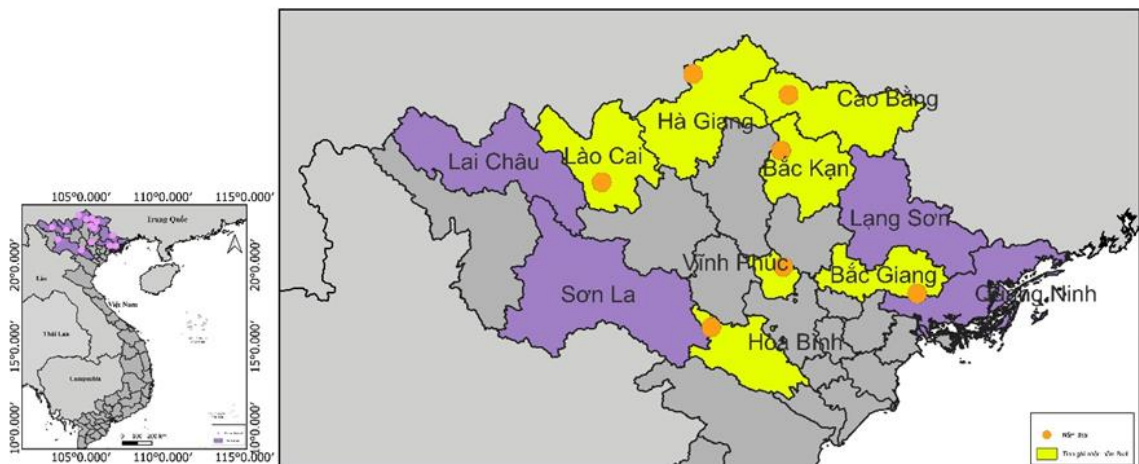
Tình trạng nhiễm nấm trên các loài thuộc giống *Paramesotriton* tại Việt Nam

Tổng cộng 195 mẫu được tiến hành để kiểm mẫu nhiễm nấm trên của 02 loài Cá cóc bụng hoa thuộc giống *Paramesotriton* gồm: *P. deloustalis* tại VQG Ba Bể (Bắc Kạn) (62 mẫu), huyện Văn Bàn (Lào Cai) (61 mẫu) và VQG Tam Đảo (Vĩnh Phúc) (18 mẫu); loài *P. quangxiensis* tại tỉnh Cao Bằng (54 mẫu) (Bảng 3.13, Hình 3.25). Kết quả nghiên cứu đều ghi nhận sự xuất hiện của chủng nấm *Bsal* và không ghi nhận chủng nấm *Bd*, tại các tỉnh khảo sát loài Cá cóc tam đảo *P. deloustalis*.

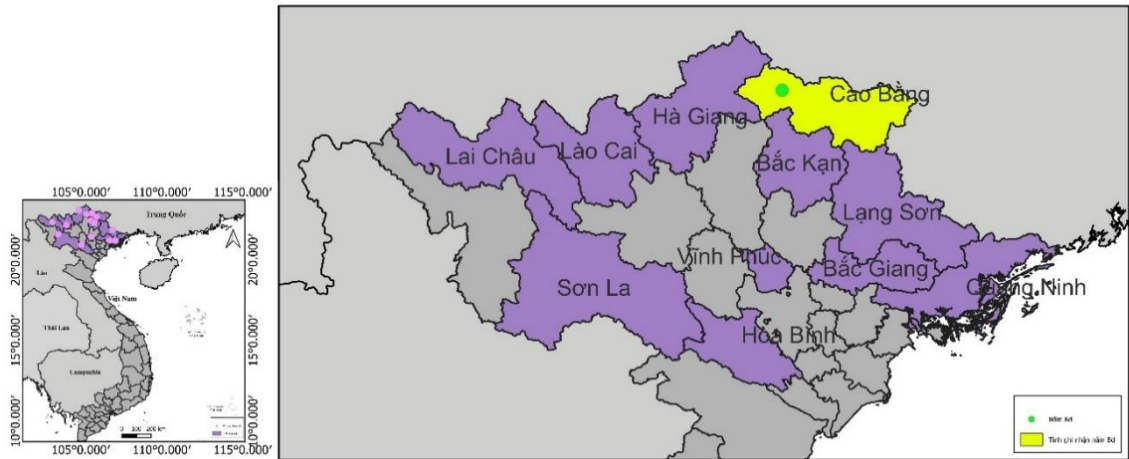
Tuy nhiên, toàn bộ mẫu nấm thu được trên loài *P. guangxiensis* đều ghi nhận âm tính với cả 2 chủng nấm *Bd* và *Bsal* (Bảng 3.13).

Theo đó, nghiên cứu ghi nhận tổng cộng 07 cá thể loài *P. deloustali* dương tính với chủng nấm *Bsal* với tỷ lệ: 1/62 (mức phổ biến 1,60%) tại quần thể thuộc tỉnh Bắc Kạn, 4/61 (mức phổ biến 6,60%) tại quần thể thuộc tỉnh Lào Cai và 2/18 (mức phổ biến 11,10%) tại quần thể thuộc tỉnh Vĩnh Phúc.

Kết quả cũng cho thấy yếu tố nhiệt độ môi trường cũng ảnh hưởng đến tỷ lệ nhiễm nấm, cụ thể: Ở nhiệt độ 18,8°C *Bsal* phổ biến 11,10%, khi nhiệt độ tăng 21,20–22,47°C thì *Bsal* phổ biến 1,60% trên cùng loài *P. deloustali*, mặc dù tại các điểm nghiên cứu khác nhau. Từ đó cho thấy khả năng nhiễm nấm sẽ giảm khi nhiệt độ môi trường tăng lên, cũng đánh giá sự tồn tại của chủng nấm. Với loài *P. guangxiensis* nhiệt độ môi trường tại điểm thu mẫu 20,60–22,97°C thì *Bsal* phổ biến 0,00%. Như vậy, cần các nghiên cứu tiếp theo đến sự ảnh hưởng và tồn tại của chủng nấm ngoài điều kiện tự nhiên, nhất là khu vực đồng bằng khi nhiệt độ tăng. Sinh cảnh ghi nhận chủng nấm *Bsal* trên loài Cá cóc *P. deloustali* tại các suối nước chảy vừa và nhỏ, trong rừng thường xanh hoặc rừng tre nứa ở dải cao khoảng từ 620 m đến dưới 1.200 m so với mực nước biển. Loài Cá cóc tam đảo được tìm thấy ở các vũng nước nông hoặc hơi sâu khoảng dưới 1m so với đáy thuộc dòng suối chảy, mặt đáy chủ yếu là đá cuội lớn và đá sỏi nhỏ pha cát. Nhiệt độ ghi nhận tại điểm thu mẫu nấm *Bsal* trong khoảng từ 18,80–22,47°C (Bảng 3.13).



**Hình 3.25.** Sơ đồ ghi nhận chủng nấm *Bsal* trên họ Cá cóc tại Việt Nam.



**Hình 3.26.** Sơ đồ ghi nhận chủng nấm *Bd* trên họ Cá cóc tại Việt Nam.

**Bảng 3.13.** 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>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%

Nghiên cứu tiến hành quan sát chi tiết các biểu hiện trên bề mặt da và mắt của các cá thể Cá cóc tam đảo, nhằm đánh giá lâm sàng các mẫu dương tính với chủng nấm. Kết quả cho thấy, các cá thể dương tính với chủng nấm *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 Cá cóc tam đảo thu ngoài tự nhiên đều có thể trạng và biểu hiện sức khỏe tốt (Hình 3.27).



**Hình 3.27.** Đặc điểm bề mặt da đầu, mặt da bụng và mặt lưng của cá thể *P. deloustali* nhiễm nấm *Bsal* và không nhiễm nấm *Bsal*. Ảnh chụp: Nguyễn Thiên Tạo, Ngô Ngọc Hải.

- Tình trạng nhiễm nấm ở giống Cá cóc *Tylototriton* tại Việt Nam

Tổng cộng 388 mẫu được tiến hành để kiểm tra nhiễm nấm trên các cá thể của 05 loài thuộc giống *Tylototriton* gồm: *T. vietnamensis* tại KBTTN Tây Yên Tử (Bắc Giang) (184 mẫu); KBTTN Đồng Sơn-Kỳ Thượng (Quảng Ninh) (11 mẫu) và tỉnh Lạng Sơn (12 mẫu); loài *T. ziegleri* tại huyện Bảo Lạc (Cao Bằng) (30 mẫu), VQG Phia Oắc-Phia Đén (Cao Bằng) (8 mẫu); huyện Bắc Mê (13 mẫu), huyện Quảng Bạ (33 mẫu) và huyện Bắc Quang (Hà Giang) (26 mẫu); loài *T. sparreboomi* thuộc huyện Sin Hồ (Lai Châu) (17 mẫu); loài *T. pasmansii* thuộc tỉnh Sơn La (08 mẫu) và loài *T. asperrimus* thuộc huyện Bảo Lạc (Cao Bằng) (46 mẫu). Kết quả nghiên cứu đều ghi nhận sự xuất hiện của chủng nấm *Bsal* và *Bd* trên một loài: *T.*

*vietnamensis*, *T. zieglerei* và *T. asperrimus*. Đáng chú ý, nghiên cứu ghi nhận chủng nấm *Bd* trên loài *T. zieglerei* tại huyện Bảo Lạc (Cao Bằng), với tỷ lệ 4/30 (tỷ lệ nhiễm bệnh 13,30%).

Chủng nấm *Bsal* ghi nhận ở nhiều loài Cá cóc tại Việt Nam với tổng cộng 10 cá thể dương tính, cụ thể: 03/184 cá thể loài *T. vietnamensis* tại tỉnh Bắc Giang (tỷ lệ nhiễm bệnh 1,60%), loài *T. zieglerei* ghi nhận 02/30 (tỷ lệ nhiễm bệnh 6,70%) cá thể tại Bảo Lạc (Cao Bằng) và 02/33 (tỷ lệ nhiễm bệnh 6,10%) cá thể tại Quảng Bạ (Hà Giang). Trong khi đó các loài cá cóc còn lại không ghi nhận xuất hiện của hai chủng nấm *Bsal* và *Bd* (Bảng 3.14).

Kết quả cũng cho thấy yếu tố nhiệt độ môi trường cũng ảnh hưởng đến tỷ lệ nhiễm nấm, cụ thể: với loài *T. vietnamensis* ở nhiệt độ 22,70–24,80°C *Bsal* phổ biến 1,60%, khi nhiệt độ tăng 23,80–24,90°C và 31,9°C thì *Bsal* phổ biến là 0,00% tại các điểm nghiên cứu khác nhau; loài *T. zieglerei* ở nhiệt độ 16,37–20,73°C *Bsal* phổ biến 6,10% mẫu thu tại Quản Bạ (Hà Giang) và nhiệt độ 16,07–22,53°C *Bsal* phổ biến 6,70%, khi nhiệt độ tăng 23,37°C thì *Bsal* phổ biến là 0,00% tại các điểm nghiên cứu khác nhau; với chủng *Bd* duy nhất ghi nhận trên loài *T. zieglerei* ở nhiệt độ 16,07–22,53°C.

Như vậy, cần các nghiên cứu tiếp theo về ảnh hưởng các yếu tố môi trường đến sự tồn tại của chủng nấm ngoài điều kiện tự nhiên, nhất là khu vực đồng bằng khi nhiệt độ tăng lên.

Sinh cảnh ghi nhận chủng nấm *Bsal* và *Bd* trên các loài Cá cóc thuộc giống *Tylostotriton* tại các vũng nước tù trong rừng thường xanh hoặc rừng tre nứa, trong dải cao khoảng từ trên 320 m đến dưới 1.200 m so với mực nước biển. Nhiệt độ ghi nhận chủng nấm *Bsal* trong khoảng 16,07–26,43°C, chủng nấm *Bd* trong khoảng từ 16,07–22,53°C (Bảng 3.14).

**Bảng 3.14.** 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 bệnh <i>Bsal</i>	Tỷ lệ nhiễm bệnh <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>	Bắc Mê, 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	18,53–23,9	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>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>

Nghiên cứu tiến hành quan sát chi tiết các biểu hiện trên bề mặt da và mắt của các cá thể Cá cóc *Tylototriton* nhằm đánh giá lâm sàng đối với các mẫu dương tính với chủng nấm. Kết quả cho thấy, cá thể dương tính với chủng nấm *Bsal* và *Bd* trên loài *T. pasmansi*, *T. vietnamensis* và *T. zieglerei*, không có biểu hiện khác so với các cá thể không nhiễm nấm. Cụ thể, trên bề mặt da thuộc phần lưng, mặt bụng và mắt không có các biểu hiện của các tổn thương da như các vết trầy xước, khô ráp. Toàn bộ các cá thể Cá cóc thu ngoài tự nhiên đều có thể trạng và biểu hiện sức khỏe tốt (Hình 3.28, 3.29, 3.30).



**Hình 3.28.** Đặc điểm bề mặt da đầu (trên), mặt da bụng (giữa) và mặt lưng (dưới) của cá thể *Tylototriton pasmansi* nhiễm nấm (bên trái) và không nhiễm nấm (bên phải). Ảnh chụp: Nguyễn Thiên Tạo, Ngô Ngọc Hải.





**Hình 3.29.** Đặc điểm bề mặt da đầu (trên), mặt da bụng (giữa) và mặt lưng (dưới) của cá thể *Tylostotriton vietnamensis* nhiễm nấm (bên trái) và không nhiễm nấm (bên phải). Ảnh chụp: Nguyễn Thiên Tạo, Ngô Ngọc Hải.



**Hình 3.30.** Đặc điểm bề mặt da đầu (trên), mặt da bụng (giữa) và mặt lưng (dưới) của cá thể *Tylototriton zieglerei* nhiễm nấm (bên trái) và không nhiễm nấm (bên phải). Ảnh chụp: Nguyễn Thiên Tạo, Ngô Ngọc Hải.

*Tình trạng chung của dịch tễ nhiễm nấm trên họ Cá cóc tại Việt Nam*

Dựa vào kết quả khảo sát thực địa và nghiên cứu tại 11 tỉnh ở miền Bắc Việt Nam, chúng tôi tiến hành thu mẫu tại 55 điểm, với tổng số 583 cá thể từ 7 loài, thuộc hai giống *Tylototriton* và *Paramesotriton*, mẫu nấm trên các cá thể thuộc họ Cá cóc được tiến hành phân tích xác định sự có mặt của 2 chủng nấm *Bsal* và *Bd*, cũng như đánh giá tình trạng sức khỏe và dịch tễ của các loài Cá cóc.

Tổng cộng có 17 cá thể thuộc 4 loài (*Tylototriton vietnamensis*, *T. zieglerei*, *T. asperrimus* và *Paramesotriton deloustali*) được phát hiện dương tính với nấm *Bsal* dẫn đến tỷ lệ dương tính chung là 2,92% (95% CI: 1,80%, 4,65%). Nghiên cứu ghi nhận ba loài không dương tính trên kích thước mẫu nhỏ gồm: *T. anguliceps* (8 cá thể), *T. sparreboomi* (17) cá thể và *P. quangxiensis* (54 cá thể). Do đó cần tiếp tục thu thập nhiều hơn các mẫu để xác định chắc chắn xem các quần thể này có chứa

các cá thể bị nhiễm bệnh hay không. Tỷ lệ dương tính trung bình của 14 vị trí dương tính là 17,56% (SD±25,27, CI 95%: 3,06%, 32,24%). Bốn cá thể *T. zieglerei*, trong một vũng nước, được xét nghiệm dương tính với *Bd* dẫn đến tỷ lệ dương tính chung là 0,69% (CI 95%: 0,20%, 1,83%) và tỷ lệ dương tính trong các vũng dương tính là 30,77% (CI 95%: 12,35%, 57,96%).

Tỷ lệ nhiễm *Bsal* gần như không khác nhau giữa các điểm thu mẫu hoặc loài (Kiểm định chính xác của Fisher-Fisher's exact tests,  $P = 0,34$  và  $P = 0,25$ , tương ứng). Không có mối tương quan giữa cường độ lây nhiễm của *Bsal* hoặc *Bd* và chỉ số tỷ lệ khối lượng (Scaled Mass Index-SMI) đối với bất kỳ loài nào trong số 8 loài (tương quan Spearman-Spearman's correlation  $\leq \pm 0,18$ ). Độ cao, tỉnh, loài, chỉ số tỷ lệ khối lượng, nhiệt độ nước và nhiệt độ môi trường không phải là yếu tố dự báo đáng kể về cường độ lây nhiễm đối với *Bsal* (Mô hình tuyến tính tổng quát - Generalized linear model,  $P > 0,05$ ).

Nghiên cứu này cung cấp dữ liệu với quy mô lớn đầu tiên đánh giá sự lây nhiễm của chủng nấm *Bsal* trên các loài cá cóc ở Việt Nam. Chúng tôi thấy rằng *Bsal* phổ biến rộng rãi hơn nhiều trong các quần thể cá cóc ở Việt Nam so với chủng nấm *Bd*, sự xuất hiện ở 14 trong số 55 địa điểm so với chỉ có một vũng nước *Bd* được phát hiện đồng thời chứng minh cho mức độ phổ biến và sự ưa thích ký sinh của nấm *Bsal* đối với vật chủ là nhóm cá cóc [84] và cung cấp thêm bằng chứng về tỷ lệ nhiễm *Bd* thấp trên khắp Châu Á [8,9,156,157]. Chúng tôi không tìm thấy bất kỳ dấu hiệu nào của bệnh liên quan đến *Bsal* như tình trạng cơ thể suy giảm, tổn thương hoặc tử vong ở những quần thể bị nhiễm bệnh.

Tỷ lệ dương tính thấp được ghi nhận cho cả *Bsal* (2,92%) và *Bd* (0,69%), mặc dù đã có sự hiện diện của *Bsal* trong quần thể cá cóc ở Việt Nam ít nhất từ năm 2013, kết hợp với việc không có dấu hiệu bệnh chứng tỏ tính đặc hữu của cả hai loài nấm *Chytrid* trong quần thể cá cóc ở Việt Nam, bổ sung thêm bằng chứng cho giả thuyết rằng các quần thể cá cóc Đông Nam Á là nguồn gốc của ổ dịch bệnh nấm *Bsal*.

Tỷ lệ dương tính thấp tương tự nhưng sự xuất hiện rộng rãi đã được chứng minh đối với *Bd* ở những vùng mà *Bd* được coi là tồn tại khi không có dịch bệnh. Mặt khác, sự tồn tại song song không nghĩa là loại trừ ảnh hưởng tiêu cực của *Bsal* đối với quần thể Cá cóc ở Việt Nam, như đã được chứng minh đối với *Bd*, đặc biệt là do cả 2 mầm bệnh có khả năng gây tử vong cho cá thể non trong điều kiện phòng thí nghiệm [84,101].

Nhiệt độ tối ưu đối với chủng loại *Bsal* là 15–20°C [97], trong khi phần lớn các cá thể bị nhiễm bệnh mà được khảo sát ở Việt Nam sống trong các vũng nước hoặc suối có nhiệt độ nước trong khoảng 20–25°C, có thể tới 26,43°C ở một địa

điểm khảo sát dương tính với *Bsal*. Điều này có thể có ý nghĩa quan trọng vì sự thích nghi khác biệt về nhiệt độ của các chủng nấm [102] (Hình 3.24).

*Nhận xét:* 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 (Bảng 3.15).

**Bảng 3.15.** Yếu tố nhiệt độ ảnh hưởng đến khả năng nhiễm nấm các loài thuộc họ Cá cóc

<i>Paramesotriton</i>			<i>Tylototriton</i>		
Khoảng nhiệt (°C)	Tỷ lệ nhiễm <i>Bsal</i>	Tỷ lệ nhiễm <i>Bd</i>	Khoảng nhiệt (°C)	Tỷ lệ nhiễm <i>Bsal</i>	Tỷ lệ nhiễm <i>Bd</i>
20,60–22,97	0,00%	0,00%	22,70–24,80	1,67%	0,00%
21,20–22,47	1,60%	0,00%	20,07–26,43	6,05%	0,00%
20,50–22,07	6,60%	0,00%	16,37–20,73	6,10%	0,00%
18,80	11,10%	0,00%	16,07–22,53	6,70%	13,30%

*Đánh giá chung về phương thức lây nhiễm:* Từ các kết quả nghiên cứu của đề tài cho thấy yếu tố môi trường nước chính là nguồn lây lan nguồn bệnh, cụ thể là hai chủng nấm *Bd* và *Bsal* ngoài môi trường tự nhiên. Với 4 quần thể lưỡng cư họ Cá cóc tía, Cá cóc mắt,Ếch cây và Cá cóc đại diện cho 4 môi trường sinh sống khác nhau, kết quả ghi nhận phát hiện chủng nấm trên 2 quần thể Cá cóc tía và Cá cóc, từ đó cần các nghiên cứu tiếp theo trên các quần thể ngoài tự nhiên. Trong nghiên cứu này với mục tiêu kế thừa và mở ra trên đối tượng loài khác nhau, những kết quả này khẳng định rằng, cần có các biện pháp an toàn sinh học nghiêm ngặt để ngăn chặn sự lây lan thêm của chủng nấm *Bd*, *Bsal* trên các loài, nhất là các loài quý hiếm. Các giải pháp phòng trừ lây nhiễm trên cơ sở bảo tồn tại chỗ các quần thể lây nhiễm ở điều kiện tự nhiên, cũng như hướng tới việc nhân nuôi tại các khu vực cứu hộ, khu vực được cấp phép của nhà nước. Điều đáng lưu ý, qua quá trình khảo sát nghiên cứu dịch tễ các cá thể bị nhiễm nấm chưa có biểu hiện bất thường bên ngoài cơ thể, chưa bắt gặp cá thể tử vong do nhiễm nấm. Tuy nhiên rất cần sự đóng góp, giải pháp phòng trừ lây nhiễm từ các cá nhân, tổ chức, cơ quan góp phần cho công tác bảo tồn và phát triển bền vững nguồn tài nguyên thiên nhiên.

## 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 Éch cây, 8 loài thuộc họ Cá cóc.

- Mô tả và phát hiện loài mới cho khoa học: - Éch cây sần khô *Theلودerma 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 vũng 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 Éch 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. asperrimus* 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 cứu 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.

**DANH MỤC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ 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): 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): 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), 72–90.
4. **Nguyễn Văn Thịnh**, Ninh Thị Hòa, Nguyễn Thị Ngân, 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: 40-49.

## DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Preprint, 2023, The IUCN Red List of Threatened Species, *IUCN Red List of Threatened Species*, Retrieved 12/22/2023 from <https://www.iucnredlist.org/en>.
2. Preprint, Frost, Darrel R., 2023, Amphibian Species of the World: An Online Reference. Version 6.2, Retrieved 12/22/2023 from <https://amphibiansoftheworld.amnh.org/index.php>
3. Nguyen, V. S., Ho, T.C., & Nguyen, Q. T. Nguyen., 2009, *Herpetofauna of Vietnam*, Edition Chimaira, Frankfurt am Main.
4. Nguyễn Văn Sáng và Hồ Thu Cúc, 1996, *Danh lục bò sát và ếch nhái Việt Nam*, NXB Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội, tr. 264.
5. Daszak, P., Cunningham, A. A., & Hyatt, A. D., 2003, Infectious disease and amphibian population declines. *Diversity and Distributions*, 9(2), pp. 141-150.
6. Martel, A., Spitzen-van der Sluijs, A., Blooi, M., Bert, W., Ducatelle, R., Fisher, M. C., & Pasmans, F., 2013, *Batrachochytrium salamandrivorans* sp. nov. causes lethal chytridiomycosis in amphibians. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(38), pp. 15325-15329.
7. Le, T. T. D., Jodi J. L. Rowley, Hoang, D. H., 2017, Preliminary monitoring of amphibian populations at a montane site in Vietnam with the Presence of *Batrachochytrium dendrobatidis*, *Herpetological Review*, 48 (3), pp. 557-560.
8. Rowley, J. J., Hoang, H., Le, D. T. T., Dau, V. Q., Neang, T., & Cao, T. T., 2013, Low prevalence or apparent absence of *Batrachochytrium dendrobatidis* infection in amphibians from sites in Vietnam and Cambodia. *Herpetological Review*, 44(3), pp. 466-469.
9. Swei, A., Rowley, J. J., Rödder, D., Diesmos, M. L., Diesmos, A. C., Briggs, C. J., & Vredenburg, V. T., 2011, Is chytridiomycosis an emerging infectious disease in Asia. *PloS one*, 6(8), pp. 23179.
10. Tapley, B., Jarvis, P., Nguyen, L. T., Portway, C., Nguyen, C. T., Luong, H. V., & Rowley, J. J. L., 2020, Low prevalence of *Batrachochytrium dendrobatidis* detected in amphibians from Vietnam's highest mountains. *Herpetological Review*, 51, pp. 726-732.
11. Preprint, 2023, AmphibiaWeb, Retrieved from <https://amphibiaweb.org>
12. Zhao, E. M., & Adler, K., 1993, Herpetology of China. Society for the Study of Amphibians and reptiles. *Contributions to Herpetology*, 10, pp. 522.
13. Fei, L., Hu, S. Q., Ye, C. Y., & Huang, Y. Z., 2009, Fauna Sinica. Amphibia. Volume 2. Anura. *Chinese Academy of Science. Science Press, Beijing*.



14. Fei, L., Ye, C. Y., & Jiang, J. P., 2010, Colored atlas of Chinese amphibians.
15. Duckworth, J. W., Salter, R. E., & Khounbolin, K., 1999, Wildlife in Lao PDR: 1999 Status Report. IUCN-The World Conservation Union. *Wildlife Conservation Society/Centre for Protected Areas and Watershed Management, Vientiane*, 1, pp. 275.
16. Ohler, A., Swan, S. R., & Daltry, J. C., 2002, A recent survey of the amphibian fauna of the Cardomom Mountains, Southwest Cambodia with descriptions of three new species. *Raffles Bulletin of Zoology*, 50(2), pp. 465-482.
17. Stuart, B. L., Chuaynkern, Y., Chan-ard, T., & Inger, R. F., 2006, Three new species of frogs and a new tadpole from eastern Thailand. *Fieldiana Zoology*, 2006(111), pp. 1-19.
18. Grismer, L. L., Neang, T., Chav, T., & Grismer, J. L., 2008, Checklist of the amphibians and reptiles of the Cardamom region of southwestern Cambodia. *Cambodian Journal of Natural History*, 2008(1), pp. 12-28.
19. Hartmann, T., Ihlow, F., Edwards, S., Sothanin, S. O. V. A. T. H., Handschuh, M., & Boehme, W., 2013, A preliminary annotated checklist of the Amphibians and Reptiles of the Kulen Promtep Wildlife Sanctuary in Northern Cambodia. *Asian Herpetological Research*, 4(1), pp. 36-55.
20. Rowley, J., Brown, R., Bain, R., Kusriani, M., Inger, R., Stuart, B., & Phimmachak, S., 2010, Impending conservation crisis for Southeast Asian amphibians. *Biology letters*, 6(3), pp. 336-338.
21. Rowley, J. J., Shepherd, C. R., Stuart, B. L., Nguyen, T. Q., Hoang, H. D., Cutajar, T. P., & Phimmachak, S., 2016, Estimating the global trade in Southeast Asian newts. *Biological Conservation*, 199, pp. 96-100.
22. Auliya, M., Altherr, S., Nithart, C., Hughes, A., & Bickford, D., 2023, Numerous uncertainties in the multifaceted global trade in frogs' legs with the EU as the major consumer. *Nature Conservation*, 51, pp. 71-135.
23. Bourret, R., 1942, Les batraciens de l'Indochine.
24. Đào Văn Tiến, 1977, Tạp chí Sinh vật-Địa học Hà Nội, XV (2), tr. 33-40.
25. Kiên, T., Sáng, N. V., & Cúc, H. T., 1981, Kết quả điều tra cơ bản ếch nhái và bò sát miền Bắc Việt Nam (1956-1976), trong “*Kết quả điều tra cơ bản động vật miền Bắc Việt Nam*”. NXB Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.
26. Nguyễn Văn Sáng, Hồ Thu Cúc, Nguyễn Quảng Trường, 2005, *Danh lục ếch nhái và bò sát Việt Nam*, NXB Nông nghiệp, tr. 180.

27. Hoàng Văn Chung, Phạm Thế Cường, Nguyễn Thiên Tạo, 2016, Thành phần loài lưỡng cư ở Khu bảo tồn thiên nhiên Bát Xát, tỉnh Lào Cai, *Báo cáo Khoa học hội thảo Quốc gia về lưỡng cư và bò sát ở Việt Nam lần thứ 3*, tr. 41-46.
28. Phạm Thế Cường, Nguyễn Quảng Trường, Ngô Ngọc Hải, 2016, Thành phần loài lưỡng cư ở Khu bảo tồn thiên nhiên Ngọc Sơn-Ngổ Luông, tỉnh Hòa Bình, *Báo cáo Khoa học hội thảo Quốc gia về lưỡng cư và bò sát ở Việt Nam lần thứ 3*, tr. 125-132.
29. Phạm Văn Anh, Từ Văn Hoàng, Nguyễn Quảng Trường, Phạm Thế Cường, Sùng Bả Nênh, Bùi Thế Quyền, Hoàng Lê Quốc Thắng, 2016, Đa dạng loài của họ lưỡng cư chính thức (Amphibia: Anura: Dicroglossidae) ở tỉnh Sơn La, *Báo cáo Khoa học hội thảo Quốc gia về lưỡng cư và bò sát ở Việt Nam lần thứ 3*, tr. 133-139.
30. Phạm Văn Anh, Hoàng Lê Quốc Thắng, Vành Sin Khuang Kham Doy, Sùng Bả Nênh, Hà Mạnh Linh, Bùi Thị Thanh Dung, Nguyễn Quảng Trường, 2017, Thành phần loài lưỡng cư (Amphibia) và bò sát (Reptilia) ở khu vực đèo Pha Đin, tỉnh Sơn La và tỉnh Điện Biên, *Báo cáo Khoa học toàn quốc về Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật lần thứ 7*, tr. 29–36.
31. Nguyễn Quảng Trường, Hoàng Lê Quốc Thắng, Phạm Văn Anh, 2017, Thành phần loài lưỡng cư (Amphibia) và bò sát (Reptilia) ở khu vực Mường Bang, Phù Yên, Sơn La, *Báo cáo Khoa học toàn quốc về Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật lần thứ 7*, tr. 474–481.
32. Trần Văn Huy, Phạm Văn Anh, Nguyễn Quảng Trường, 2018, Ghi nhận bổ sung hai loài ếch suối ở tỉnh Lai Châu: *Odorrana jingdongensis* Fei, Ye, & Li, 2001 và *O. nasica* (Boulenger, 1903) (Amphibia: Ranidae), *Báo cáo Khoa học về nghiên cứu và giảng dạy Sinh học ở Việt Nam lần thứ 3*, tr. 271-277.
33. Phạm Văn Nhã, Vành Xin Khuong Kham Doi, Nguyễn Đặng Thùy Linh, Hoàng Lê Quốc Thắng, Phạm Văn Anh, 2018, Thành phần loài và đặc điểm phân bố của loài Lưỡng cư, Bò sát ở khu vực rừng Tông Lạnh, huyện Thuận Châu, tỉnh Sơn La, *Báo cáo Khoa học về nghiên cứu và giảng dạy Sinh học ở Việt Nam lần thứ 3*, tr. 610-618.
34. Phạm Văn Anh, Nguyễn Quảng Trường, 2019, Thành phần loài Lưỡng cư (Amphibia) và Bò sát (Reptilia) ở khu vực rừng xã Pú Bấu, huyện Sông Mã, tỉnh Sơn La, *Báo cáo Khoa học hội thảo Quốc gia về lưỡng cư và bò sát ở Việt Nam lần thứ tư*, tr. 178-184.
35. Phạm Văn Anh, Từ Văn Hoàng, Nguyễn Quảng Trường, 2019, Thành phần loài và đặc điểm phân bố theo sinh cảnh của Lưỡng cư (Amphibia) ở khu vực

- rừng xã Mường Do, huyện Phù Yên, tỉnh Sơn La, *Báo cáo Khoa học hội thảo Quốc gia về lưỡng cư và bò sát ở Việt Nam lần thứ tư*, tr. 185-191.
36. Phạm Văn Anh, Nguyễn Lâm Hùng Sơn, Lê Đức Minh, Nguyễn Thiên Tạo, Nguyễn Thị Hồng Viên, Sùng Bả Nênh, Hoàng Văn Chung, Ngô Ngọc Hải, Nguyễn Tuấn Anh, 2022, Thành phần loài lưỡng cư (Amphibia) và bò sát (Reptilia) ở khu Bảo tồn thiên nhiên Sốp Cộp, tỉnh Sơn La, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp* 5, tr. 69-75.
  37. Nguyen, T. Q., 2017, New records of tree frogs (Anura: Rhacophoridae: Rhacophorus) from Son La Province, Vietnam. *Herpetology Notes*, 10, pp. 379-386.
  38. Nguyen, T. Q., 2017, New records of amphibians and reptiles from Ha Giang Province, Vietnam. *Herpetology Notes*, 10, pp. 183-191.
  39. Lương Mai Anh, Nguyễn Thị Yên, Phan Quang Tiến, Phạm Thế Cường, Nguyễn Quảng Trường, 2019, Thành phần loài lưỡng cư và bò sát ở Khu bảo tồn thiên nhiên Thần Sa-Phượng Hoàng, tỉnh Thái Nguyên, *Báo cáo Khoa học hội thảo Quốc gia về lưỡng cư và bò sát ở Việt Nam lần thứ tư*, tr. 78-87.
  40. Pham, C. T., Do, Q. H., Ngo, H. N., Tran, T. T., Ziegler, T., & Nguyen, T. Q., 2020, First report on the anuran fauna of Hai Ha forest, Quang Ninh Province, Vietnam. *Check List*, 16(4), pp. 1025-1041.
  41. Luong, A. M., Do, Q. H., Van Hoang, C., Phan, T. Q., Nguyen, T. Q., & Pham, C. T., 2022, New records of amphibians from Bac Kan province, Vietnam. *Biodiversity Data Journal*, pp. 10.
  42. Ziegler, T., Rauhaus, A., Tran, T. D., Pham, C. T., Van Schingen, M., Dang, P. H., & Nguyen, T. Q., 2015, Die Amphibien-und Reptilienfauna der Me-Linh-Biodiversitätsstation in Nordvietnam. *Sauria*, 37(4), pp. 11-44.
  43. Lê Trung Dũng, Phạm Thăng Đạt, Lương Mai Anh, Nguyễn Hải Nam, Nguyễn Quảng Trường, 2016, Thành phần loài và đặc điểm phân bố của loài lưỡng cư và bò sát ở Khu bảo tồn thiên nhiên Đất ngập nước Vân Long, tỉnh Ninh Bình, *Báo cáo Khoa học hội thảo Quốc gia về lưỡng cư và bò sát ở Việt Nam lần thứ 3*, tr.52-59.
  44. Van Chung, H., & Truong, N. Q., 2022, Additional Records and Phylogenetic Relationships of *Fejervarya moodiei* (Taylor, 1920) (Anura: Dicroglossidae) From Vietnam. *Journal of Forestry Science and Technology*, (14), pp. 003-013.
  45. Đậu Quang Vinh, Nguyễn Kim Tiến, Nguyễn Thị Thảo, 2016, Ghi nhận phân bố mới các loài thuộc họ ếch cây (Rhacophoridae) ở KBTTN Pù Luông, tỉnh Thanh

- Hóa, *Báo cáo Khoa học hội thảo Quốc gia về lưỡng cư và bò sát ở Việt Nam lần thứ 3*, tr. 19-24.
46. Nguyen, L. T., Van, H. H., Nguyen, T. T., McCormack, T. E., & Nguyen, S. N., 2016, A collection of amphibians and reptiles from Bac Huong Hoa nature reserve, Quang Tri province, Vietnam. *Proceedings of the 3rd National Scientific Workshop "Amphibians and Reptiles in Vietnam"*.
  47. Ông Vĩnh An, Đậu Quang Vinh, Nguyễn Thị Hằng, 2016, Ghi nhận phân bố mới các loài ếch cây (Amphibia: Anura: Rhacophoridae) ở Khu bảo tồn thiên nhiên Pù Huông, tỉnh Nghệ An, *Báo cáo Khoa học hội thảo Quốc gia về lưỡng cư và bò sát ở Việt Nam lần thứ 3*, tr. 116-124.
  48. Đỗ Văn Thoại, Nguyễn Quảng Trường, Cao Tiến Trung, Lưu Trung Kiên, 2017, Ghi nhận bổ sung 2 loài lưỡng cư thuộc họ Megophryidae ở tỉnh Nghệ An, *Hội nghị Khoa học toàn quốc về Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật lần thứ 7*, tr. 413-418.
  49. Phạm Thế Cường, Ngô Ngọc Hải, Nguyễn Quảng Trường, 2019, Đa dạng loài và ghi nhận mới về bò sát và lưỡng cư ở khu RPH Động Châu, tỉnh Quảng Bình, *Báo cáo Khoa học hội thảo Quốc gia về lưỡng cư và bò sát ở Việt Nam lần thứ tư*, tr. 164-172.
  50. Nguyễn Thành Luân, Võ Đình Ba, Lê Văn Mạnh, Nguyễn Ngọc Sang, 2016, Thành phần loài giống cóc mây Leptolalax (Anura: Megophryidae) ở Vườn quốc gia Bạch Mã, Thừa Thiên-Huế, *Báo cáo Khoa học hội thảo Quốc gia về lưỡng cư và bò sát ở Việt Nam lần thứ 3*, tr. 84-91.
  51. Phạm Hồng Thái, Đinh Thị Phương Anh, Lê Nguyên Ngật, 2019, Ghi nhận mới và cập nhật danh sách các loài lưỡng cư ở Khu bảo tồn thiên nhiên Bà Nà-Núi Chúa, thành phố Đà Nẵng, *Báo cáo Khoa học hội thảo Quốc gia về lưỡng cư và bò sát ở Việt Nam lần thứ tư*, tr. 152-163.
  52. Cao Tiến Trung, Trần Thanh Tây, Đỗ Văn Thoại, 2019, Đa dạng các loài lưỡng cư thuộc họ Ranidae (Amphibia: Anura) ở KBTTN Núi Ông, tỉnh Bình Thuận, *Báo cáo Khoa học hội thảo Quốc gia về lưỡng cư và bò sát ở Việt Nam lần thứ tư*, tr. 33-39.
  53. Goodall, D., & Faithfull, S., 2010, U Minh Thuong National Park-Kien Giang Province, Vietnam Amphibian and Reptile Survey 7-21 September 2009. *Wildlife At Risk, Vietnam*.
  54. Poyarkov, N. A., & Vassilieva, A. B., 2011. Herpetodiversity of the Con Dao archipelago and a provisional list of amphibians and reptiles of Con

- Dao national park (Ba Ria-Vung Tau province, Vietnam). *Proceedings of the* (Vol. 4, pp. 286-293).
55. Gawor, A., Nguyen, T. Q., Nguyen, T. T., Schmitz, A., & Ziegler, T., 2016, The herpetofauna of the Bai Tu Long National Park, northeastern Vietnam. *Salamandra*, 52(1).
  56. Boulenger, G. A., 1905, XV. Description of a new Batrachian of the Genus Bombinator from Yunnan. *Journal of Natural History*, 15(86), pp. 188-189.
  57. Ohler, A., Marquis, O. L. I. V. I. E. R., Swan, S., & Grosjean, S. T. É. P. H. A. N. E., 2000, Amphibian biodiversity of Hoang Lien Nature Reserve (Lao Cai Province, northern Vietnam) with description of two new species. *Herpetozoa*, 13(1/2), pp. 71-87.
  58. Orlov, N. L., Poyarkov Jr, N. A., & Nguyen, T. T., 2015, Taxonomic notes on Megophrys frogs (Megophryidae: Anura) of Vietnam, with description of a new species. *Russian Journal of Herpetology*, 22(3).
  59. Wu, Y. H., Suwannapoom, C., Poyarkov Jr, N. A., Pawangkhanant, P., Xu, K., Jin, J. Q., & Che, J., 2019, A new species of the genus Xenophrys (Anura: Megophryidae) from northern Thailand. *Zoological Research*, 40(6), pp. 564.
  60. Chen, J. M., Zhou, W. W., Poyarkov Jr, N. A., Stuart, B. L., Brown, R. M., Lathrop, A., & Che, J., 2017, Corrigendum to " A novel multilocus phylogenetic estimation reveals unrecognized diversity in Asian horned toads, genus Megophrys sensu lato (Anura: Megophryidae)". [Mol. Phylogen. Evol. 106 (2017) 28-43]. *Molecular phylogenetics and evolution*, 109, pp. 466.
  61. Mahony, S., Foley, N. M., Biju, S. D., & Teeling, E. C., 2017, Evolutionary history of the Asian Horned Frogs (Megophryinae): integrative approaches to timetree dating in the absence of a fossil record. *Molecular biology and evolution*, 34(3), pp. 744-771.
  62. Mahony, S., Kamei, R. G., Teeling, E. C., & Biju, S. D., 2018, Cryptic diversity within the Megophrys major species group (Amphibia: Megophryidae) of the Asian Horned Frogs: Phylogenetic perspectives and a taxonomic revision of South Asian taxa, with descriptions of four new species. *Zootaxa*, 4523(1), pp. 1-96.
  63. Lyu, Z. T., Qi, S., Wang, J., Zhang, S. Y., Zhao, J., Zeng, Z. C., & Wang, Y. Y., 2023, Generic classification of Asian horned toads (Anura: Megophryidae: Megophryinae) and monograph of Chinese species. *Zoological Research*, 44(2), pp. 380.

64. Smith, M. A., 1924, March, 10. New Tree- Frogs from Indo- China and the Malay Peninsula. In *Proceedings of the Zoological Society of London* (Vol. 94, No. 1, pp. 225-234). Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd.
65. Bourret, R., 1937, Notes herpétologiques sur l'Indochine française. XIV. Les batraciens de la collection du Laboratoire des Sciences Naturelles de l'Université. Descriptions de quinze especes ou variétés nouvelles. *Annexe Bull Inst publ Hanoi, 1937*, pp. 5-56.
66. Pyron, R. A., & Wiens, J. J., 2011, A large-scale phylogeny of Amphibia including over 2800 species, and a revised classification of extant frogs, salamanders, and caecilians. *Molecular phylogenetics and evolution*, 61(2), pp. 543-583.
67. Li, J. T., Li, Y., Murphy, R. W., Rao, D. Q., & Zhang, Y. P., 2012, Phylogenetic resolution and systematics of the Asian tree frogs, Rhacophorus (Rhacophoridae, Amphibia). *Zoologica Scripta*, 41(6), pp. 557-570.
68. Tao, N. T., Matsui, M., Eto, K., & Orlov, N. L., 2014, A preliminary study of phylogenetic relationships and taxonomic problems of Vietnamese Rhacophorus (Anura: Rhacophoridae). *Russian Journal of Herpetology*, 21(4).
69. Yu, G., Hui, H., Hou, M., Wu, Z., Rao, D., & Yang, J., 2019, A new species of Zhangixalus (Anura: Rhacophoridae), previously confused with Zhangixalus smaragdinus (Blyth, 1852). *Zootaxa*, 4711(2), zootaxa-4711.
70. Nguyen, T. T., Ninh, H. T., Orlov, N., Nguyen, T. Q., & Ziegler, T., 2020, A new species of the genus Zhangixalus (Amphibia: Rhacophoridae) from Vietnam. *Journal of Natural History*, 54(1-4), pp. 257-273.
71. Dubois, A., Ohler, A., & Pyron, R. A., 2021, New concepts and methods for phylogenetic taxonomy and nomenclature in zoology, exemplified by a new ranked cladonomy of recent amphibians (Lissamphibia). *Megataxa*, 5(1), pp. 1-738.
72. Nishikawa, K., Matsui, M., & Nguyen, T. T., 2013, A new species of Tylototriton from northern Vietnam (Amphibia: Urodela: Salamandridae). *Current Herpetology*, 32(1), pp. 34-49.
73. Zhang, M., Han, F., Ye, J., Ni, Q., Li, Y., Yao, Y., & Xu, H., 2018, The entire mitochondrial genome of Vietnam Warty Newt Paramesotriton deloustali (Salamandridae: Paramesotriton) with a new distribution record from China. *Conservation Genetics Resources*, 10, pp. 551-554.
74. Wang, B., Nishikawa, K., Matsui, M., Nguyen, T. Q., Xie, F., Li, C., & Jiang, J., 2018, Phylogenetic surveys on the newt genus Tylototriton sensu lato

- (Salamandridae, Caudata) reveal cryptic diversity and novel diversification promoted by historical climatic shifts. *PeerJ*, 6, pp. 4384.
75. Bernardes, M., Le, M. D., Nguyen, T. Q., Pham, C. T., Van Pham, A., Nguyen, T. T., & Ziegler, T., 2020, Integrative taxonomy reveals three new taxa within the *Tylototriton asperrimus* complex (Caudata, Salamandridae) from Vietnam. *ZooKeys*, 935, pp. 121.
  76. Poyarkov, N. A., Nguyen, T. V., & Arkhipov, D. V., 2021, A new species of the genus *Tylototriton* (Amphibia, Caudata, Salamandridae) from Central Vietnam. *Taprobanica*, 10(1), pp. 4-22.
  77. Phung, T. M., Pham, C. T., Nguyen, T. Q., Ninh, H. T., Nguyen, H. Q., Bernardes, M., & Nguyen, T. T., 2023, Southbound—the southernmost record of *Tylototriton* (Amphibia, Caudata, Salamandridae) from the Central Highlands of Vietnam represents a new species. *ZooKeys*, 1168, pp. 193.
  78. Berger, L., Speare, R., Daszak, P., Green, D. E., Cunningham, A. A., Goggin, C. L., & Parkes, H., 1998, Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rain forests of Australia and Central America. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(15), pp. 9031-9036.
  79. Tapley, B., Jarvis, P., Nguyen, L. T., Portway, C., Nguyen, C. T., Luong, H. V., & Rowley, J. J., 2021, Prevalence of *Batrachochytrium dendrobatidis* and *Batrachochytrium salamandrivorans* in thre Hoang Lien Range, northwest Vietnam.
  80. Crawford, A. J., Lips, K. R., & Bermingham, E., 2010, Epidemic disease decimates amphibian abundance, species diversity, and evolutionary history in the highlands of central Panama. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(31), pp. 13777-13782.
  81. Van Rooij, P., Martel, A., Brutyn, M., Maes, S., Chiers, K., Van Waeyenberghe, L., & Pasmans, F., 2010, Development of in vitro models for a better understanding of the early pathogenesis of *Batrachochytrium dendrobatidis* infections in amphibians. *Alternatives to laboratory animals*, 38(6), pp. 519-528.
  82. Whitfield, S. M., Kerby, J., Gentry, L. R., & Donnelly, M. A., 2012, Temporal variation in infection prevalence by the amphibian chytrid fungus in three species of frogs at La Selva, Costa Rica. *Biotropica*, 44(6), pp. 779-784.
  83. Brutyn, M., D'Herde, K., Dhaenens, M., Van Rooij, P., Verbrugge, E., Hyatt, A. D., & Pasmans, F., 2012, *Batrachochytrium dendrobatidis* zoospore secretions rapidly disturb intercellular junctions in frog skin. *Fungal Genetics and Biology*, 49(10), pp. 830-837.

84. Martel, A., Blooi, M., Adriaensen, C., Van Rooij, P., Beukema, W., Fisher, M. C., & Pasmans, F., 2014, Recent introduction of a chytrid fungus endangers Western Palearctic salamanders. *science*, 346(6209), pp. 630-631.
85. Rodriguez, D., Becker, C. G., Pupin, N. C., Haddad, C. F. B., & Zamudio, K. R., 2014, Long- term endemism of two highly divergent lineages of the amphibian- killing fungus in the Atlantic Forest of Brazil. *Molecular Ecology*, 23(4), pp. 774-787.
86. Bond, A., 2015, What is the role of impact assessment in the long term. *Journal of Environmental Assessment Policy and Management*, 17(01), 1550006.
87. Fisher, M. C., Henk, D. A., Briggs, C. J., Brownstein, J. S., Madoff, L. C., McCraw, S. L., & Gurr, S. J., 2012, Emerging fungal threats to animal, plant and ecosystem health. *Nature*, 484(7393), pp. 186-194.
88. Garner, T. W., Schmidt, B. R., Martel, A., Pasmans, F., Muths, E., Cunningham, A. A., & Bosch, J., 2016, Mitigating amphibian chytridiomycoses in nature. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 371(1709), pp. 20160207.
89. Van Rooij, P., Martel, A., Haesebrouck, F., & Pasmans, F., 2015, Amphibian chytridiomycosis: a review with focus on fungus-host interactions. *Veterinary research*, 46, pp. 1-22.
90. O'hanlon, S. J., Rieux, A., Farrer, R. A., Rosa, G. M., Waldman, B., Bataille, A., & Fisher, M. C., 2018, Recent Asian origin of chytrid fungi causing global amphibian declines. *Science*, 360(6389), pp. 621-627.
91. Byrne, A. Q., Vredenburg, V. T., Martel, A., Pasmans, F., Bell, R. C., Blackburn, D. C., & Rosenblum, E. B., 2019, Cryptic diversity of a widespread global pathogen reveals expanded threats to amphibian conservation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(41), pp. 20382-20387.
92. Laking, A. E., Ngo, H. N., Pasmans, F., Martel, A., & Nguyen, T. T., 2017, *Batrachochytrium salamandrivorans* is the predominant chytrid fungus in Vietnamese salamanders. *Scientific reports*, 7(1), 44443.
93. Sabino-Pinto, J., Bletz, M., Hendrix, R., Perl, R. B., Martel, A., Pasmans, F., & Steinfartz, S., 2015, First detection of the emerging fungal pathogen *Batrachochytrium salamandrivorans* in Germany. *Amphibia-Reptilia*, 36(4), pp. 411-416.
94. Spitzen-van der Sluijs, A., Martel, A., Asselberghs, J., Bales, E. K., Beukema, W., Bletz, M. C., & Lötters, S., 2016, Expanding distribution of lethal



- amphibian fungus *Batrachochytrium salamandrivorans* in Europe. *Emerging infectious diseases*, 22(7), pp. 1286.
95. Stegen, G., Pasmans, F., Schmidt, B. R., Rouffaer, L. O., Van Praet, S., Schaub, M., & Martel, A., 2017, Drivers of salamander extirpation mediated by *Batrachochytrium salamandrivorans*. *Nature*, 544(7650), pp. 353-356.
  96. Dalbeck, L., Düssel-Siebert, H., Kerres, A., Kirst, K., Koch, A., Lötters, S., & Wegge, J., 2018, Die Salamanderpest und ihr Erreger *Batrachochytrium salamandrivorans* (Bsal): aktueller stand in Deutschland. *Zeitschrift für Feldherpetologie*, 25(1), pp. 1-22.
  97. Blooi, M., Pasmans, F., Longcore, J. E., Spitzen-Van Der Sluijs, A., Vercammen, F., & Martel, A., 2013, Duplex real-time PCR for rapid simultaneous detection of *Batrachochytrium dendrobatidis* and *Batrachochytrium salamandrivorans* in amphibian samples. *Journal of clinical microbiology*, 51(12), pp. 4173-4177.
  98. Thomas, V., Wang, Y. U., Van Rooij, P., Verbrugghe, E., Baláz, V., Bosch, J., & Pasmans, F., 2019, Mitigating *Batrachochytrium salamandrivorans* in Europe. *Amphibia-Reptilia*, 40(3), pp. 265-290.
  99. Beukema, W., Martel, A., Nguyen, T. T., Goka, K., Schmeller, D. S., Yuan, Z., & Pasmans, F., 2018, Environmental context and differences between native and invasive observed niches of *Batrachochytrium salamandrivorans* affect invasion risk assessments in the Western Palaearctic. *Diversity and distributions*, 24(12), pp. 1788-1801.
  100. Simmons, J. E. (2002). Herpetological collecting and collections management. (*No Title*).
  101. Thien, T. N., Martel, A., Brutyn, M., Bogaerts, S., Sparreboom, M., Haesebrouck, F., & Pasmans, F., 2013, A survey for *Batrachochytrium dendrobatidis* in endangered and highly susceptible Vietnamese salamanders (*Tylostotriton* spp.). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 44(3), pp. 627-633.
  102. Yap, T. A., Koo, M. S., Ambrose, R. F., Wake, D. B., & Vredenburg, V. T., 2015. Averting a North American biodiversity crisis. *Science*, 349(6247), pp. 481-482.
  103. Ohler, A., Wollenberg, K. C., Grosjean, S., Hendrix, R., Vences, M., Ziegler, T., & Dubois, A., 2011, Sorting out *Lalos*: description of new species and additional taxonomic data on megophryid frogs from northern Indochina (genus *Leptolalax*, Megophryidae, Anura). *Zootaxa*, 3147(1), pp. 1-83.

104. Boulenger, G. A. (1908, September). A revision of the Oriental pelobatid batrachians (genus *Megalophrys*). In *Proceedings of the zoological Society of London* (Vol. 78, No. 2, pp. 407-430). Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd.
105. Smith, M. A. (1921, June). New or Little-known Reptiles and Batrachians from Southern Annam (Indo-China). In *Proceedings of the Zoological Society of London* (Vol. 91, No. 2, pp. 423-440). Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd.
106. Liu, C., 1950, Amphibians of western China.
107. EH, T., 1962, The amphibian fauna of Thailand. *Univ Kansas Sci Bull*, 43, pp. 265-599.
108. Inger, R. F., Orlov, N., & Darevsky, I., 1999, Frogs of Vietnam: a report on new collections. *Fieldiana, Zoology*, 92, pp. 1-46.
109. Ohler, A., 2003, Revision of the genus *Ophryophryne* Boulenger, 1903 (*Megophryidae*) with description of two new species. *Alytes*, 21(1/2), pp. 23.
110. Bain, R. H., & Truong, N. Q., 2004, Herpetofaunal diversity of Ha Giang Province in northeastern Vietnam, with descriptions of two new species. *American Museum Novitates*, 2004(3453), pp. 1-42.
111. Yu, G., Zhang, M., & Yang, J., 2010, A species boundary within the Chinese *Kurixalus odontotarsus* species group (Anura: Rhacophoridae): New insights from molecular evidence. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 56(3), pp. 942-950.
112. Tran, D. T. A., Le, Q. K., Le, K. V., Vu, T. N., Nguyen, T. Q., Böhme, W., & Ziegler, T., 2010, First and preliminary frog records (Amphibia: Anura) from Quang Ngai province, Vietnam. *Herpetology Notes*, 3, pp. 111-119.
113. Rowley, J. J., Dau, V. Q., Hoang, H. D., Le, D. T., Cutajar, T. P., & Nguyen, T. T., 2017, A new species of *Leptolalax* (Anura: Megophryidae) from northern Vietnam. *Zootaxa*, 4243(3), pp. 544-564.
114. Hecht, V. L., Pham, C. T., Nguyen, T. T., Nguyen, T. Q., Bonkowski, M., & Ziegler, T., 2013, First report on the herpetofauna of Tay Yen Tu nature reserve, northeastern Vietnam. *Biodiversity Journal*, 4(4), pp. 507-552.
115. Ziegler, T., Tran, D. T. A., Nguyen, T. Q., Perl, R. G. B., Wirk, L., Kulisch, M., & Vu, T. N., 2014, New amphibian and reptile records from Ha Giang Province, northern Vietnam. *Herpetology Notes*, 7, pp. 185-201.
116. Tapley, B., Cutajar, T., Mahony, S., Nguyen, C. T., Dau, V. Q., Nguyen, T. T., & Rowley, J. J., 2017, The Vietnamese population of *Megophrys kuatunensis* (Amphibia: Megophryidae) represents a new species of Asian horned frog from Vietnam and southern China. *Zootaxa*, 4344(3), pp. 465-492.

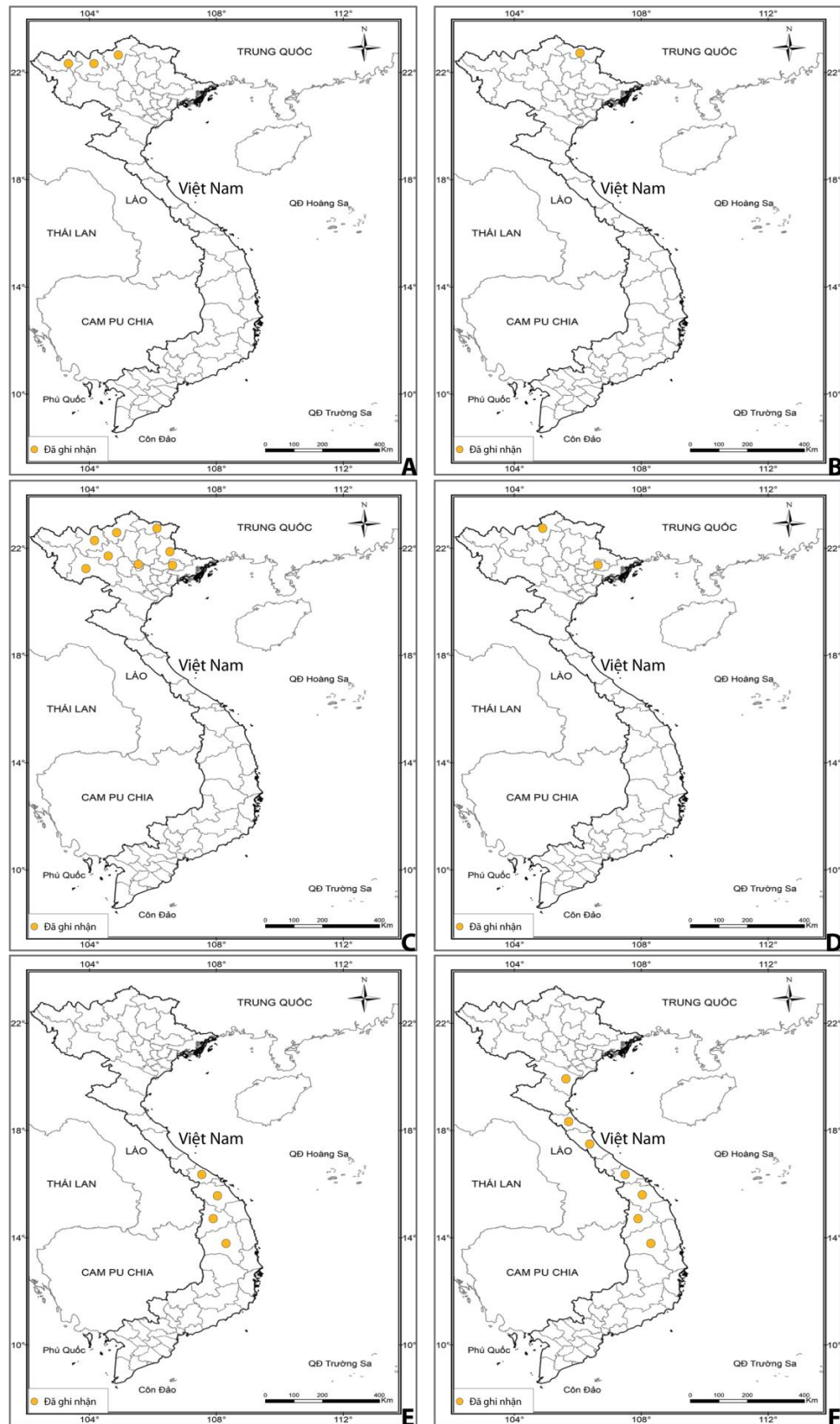
117. Nishikawa, K., Jiang, J. P., & Matsui, M., 2011, Two new species of *Pachytriton* from Anhui and Guangxi, China (Amphibia: Urodela: Salamandridae). *Current Herpetology*, 30(1), pp. 15-31.
118. RStudio Team, 2020, RStudio: Integrated Development for R, Retrieved from <http://www.rstudio.com/>.
119. Thorpe, R. S., 1975, Quantitative handling of characters useful in snake systematics with particular reference to intraspecific variation in the ringed snake *Natrix natrix* (L.). *Biological Journal of the Linnean society*, 7(1), pp. 27-43.
120. Chan, K. O., & Grismer, L. L., 2022, GroupStruct: An R package for allometric size correction. *Zootaxa*, 5124(4), pp. 471-482.
121. Kassambara, A., & Mundt, F. (2020). Factoextra: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses Retrieved from <https://CRAN.R-project.org/package=factoextra>.
122. Lê, S., Josse, J., & Husson, F., 2008, FactoMineR: an R package for multivariate analysis. *Journal of statistical software*, 25, pp. 1-18.
123. Hedges, S. B., 1994, Molecular evidence for the origin of birds. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(7), pp. 2621-2624.
124. Matsui, M., Ito, H., Shimada, T., Ota, H., Saidapur, S. K., Khonsue, W., ... & Wu, G. F., 2005, Taxonomic relationships within the Pan-Oriental narrow-mouth toad *Microhyla ornata* as revealed by mtDNA analysis (Amphibia, Anura, Microhylidae). *Zoological Science*, 22(4), pp. 489-495.
125. Matsui, M., Shimada, T., Liu, W. Z., Maryati, M., Khonsue, W., & Orlov, N., 2006, Phylogenetic relationships of Oriental torrent frogs in the genus *Amolops* and its allies (Amphibia, Anura, Ranidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 38(3), pp. 659-666.
126. Kuraishi, N., Matsui, M., Hamidy, A., Belabut, D. M., Ahmad, N., Panha, S., & Nishikawa, K., 2013, Phylogenetic and taxonomic relationships of the *Polypedates leucomystax* complex (Amphibia). *Zoologica Scripta*, 42(1), pp. 54-70.
127. Nguyen, T. T., Matsui, M., & Eto, K., 2015, Mitochondrial phylogeny of an Asian tree frog genus *Theloderma* (Anura: Rhacophoridae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 85, pp. 59-67.
128. Wilkinson, J. A., Drewes, R. C., & Tatum, O. L., 2002, A molecular phylogenetic analysis of the family Rhacophoridae with an emphasis on the Asian and African genera. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 24(2), pp. 265-273.

129. Phimmachak, S., Aowphol, A., & Stuart, B. L., 2015, Morphological and molecular variation in *Tylototriton* (Caudata: Salamandridae) in Laos, with description of a new species. *Zootaxa*, 4006(2), pp. 285-310.
130. Pomchote, P., Khonsue, W., Sapewisut, P., Eto, K., & Nishikawa, K., 2020, Discovering a population of *Tylototriton verrucosus* (Caudata: Salamandridae) from Thailand: implications for conservation. *Tropical Natural History*, 20(1), pp. 1-15.
131. Bonkowski, M., & Ziegler, T., 2017, Comparative morphometrics and ecology of a newly discovered population of *Tylototriton vietnamensis* from northeastern Vietnam including remarks on species conservation. *Salamandra*, 53(3), pp. 451-457.
132. Yang, J., Yu, L., Zhang, S., Liu, R., Chen, C., & Lin, H. D., 2017, The complete mitochondrial genome of *Paramesotriton chinensis* (Caudata: Salamandridae) and phylogenetic studies of *Paramesotriton*. *Mitochondrial DNA Part B*, 2(1), pp. 289-290.
133. Liu, S., Hou, M., & Rao, D., 2022, Confirmation of *Tylototritonziegleri* Nishikawa, Matsui & Nguyen, 2013 in China, with discussion on the relationship between *T. verrucosus* Anderson, 1871 and *T. panwaensis* Grismer, Wood, Quah, Thura, Espinoza & Murdoch, 2019 (Caudata, Salamandridae). *Biodiversity Data Journal*, pp. 10.
134. Liu, S., Hou, M., Mo, M., & Rao, D., 2020, A new species of the genus *Acanthosaura* (Squamata, Agamidae) from Yunnan, China, with comments on its conservation status. *ZooKeys*, 959, pp. 113.
135. Inger, R. F., & Stuart, B. L., 2010, Systematics of *Limnonectes* (Taylorana) Dubois. *Current Herpetology*, 29(2), pp. 51-68.
136. Wang, K., Yuan, Z., Zhong, G., Li, G., & Verrell, P. A., 2017, Reproductive biology of *Tylototriton yangi* (Urodela: Salamandridae), with suggestions on its conservation. *Amphibian & Reptile Conservation*, 11(2), pp. 33-43.
137. Weisrock, D. W., Harmon, L. J., & Larson, A., 2005, Resolving deep phylogenetic relationships in salamanders: analyses of mitochondrial and nuclear genomic data. *Systematic Biology*, 54(5), pp. 758-777.
138. Zhang, P., Papenfuss, T. J., Wake, M. H., Qu, L., & Wake, D. B., 2008, Phylogeny and biogeography of the family Salamandridae (Amphibia: Caudata) inferred from complete mitochondrial genomes. *Molecular phylogenetics and evolution*, 49(2), pp. 586-597.

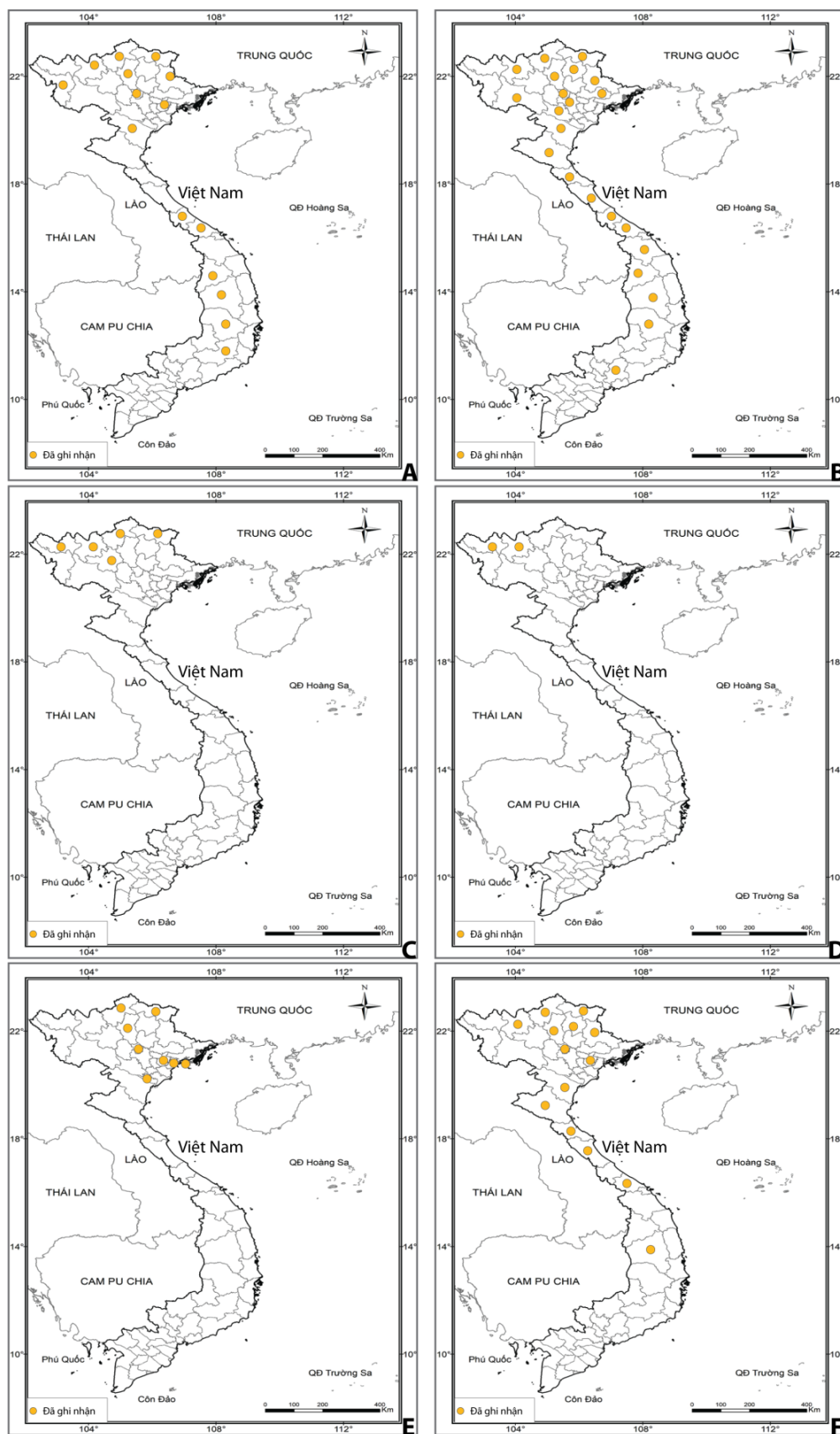
139. Tanabe, A. S., 2011, Kakusan4 and Aminosan: two programs for comparing nonpartitioned, proportional and separate models for combined molecular phylogenetic analyses of multilocus sequence data. *Molecular Ecology Resources*, 11(5), pp. 914-921.
140. Jobb, G., Von Haeseler, A., & Strimmer, K., 2004, Retracted Article: Treefinder: a powerful graphical analysis environment for molecular phylogenetics. *BMC evolutionary biology*, 4, pp. 1-9.
141. Ronquist, F., Teslenko, M., Van Der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., & Huelsenbeck, J. P., 2012, MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic biology*, 61(3), pp. 539-542.
142. Ninh, H. T., Nguyen, T. T., Nguyen, H. Q., Van Hoang, N., Siliyavong, S., Van Nguyen, T., & Ziegler, T., 2022, A new species of mossy frog (Anura: Rhacophoridae) from Northeastern Vietnam. *European journal of taxonomy*, 794, pp. 72-90.
143. Nguyen, T. V., Pham, C. T., Nguyen, T. Q., & Hoang, C. V., 2016, Redescription and new record of *Xenophrys jingdongensis* (Fei & Ye, 1983) (Anura: Megophryidae) from Ha Giang Province, Vietnam. *Proceedings of the third National Scientific Conference on Reptiles and Amphibians in Vietnam. Hanoi*.
144. Lathrop, A., Murphy, R. W., Orlov, N., & Ho, C. T., 1998, Two new species of *Leptolalax* (Anura: Megophryidae) from northern Vietnam. *Amphibia-Reptilia*, 19(3), pp. 253-267.
145. Luong, M. A., Pham, C. T., Do, Q. H., Hoang, C. V., Phan, T. Q., Nguyen, T. Q., & Le, M. D., 2021, New records and an updated checklist of amphibians from Lai Chau Province, Vietnam. *Check List*, 17(2), pp. 445-458.
146. Pham, T. C., Q. T. Nguyen, M. A. Luong, Q. T. Phan, T. D. Le, 2019, New records of cascade frog (Amphibia: Anura: Ranidae: Odorrana) from Tuyen Quang province, *Proceedings of the 4th National Scientific Conference on Amphibians and Reptiles in Vietnam*, pp. 173–177
147. Cuc, T. H., Lathrop, A., Murphy, R. W., & Orlov, N., 1999, A redescription of *Vibrissaphora ailaonica* with a new record in Vietnam. *Russian Journal of Herpetology*, 6(1), pp. 48-54.
148. Ohler, A., & Delorme, M., 2006, Well known does not mean well studied: morphological and molecular support for existence of sibling species in the

- Javanese gliding frog *Rhacophorus reinwardtii* (Amphibia, Anura). *Comptes rendus biologies*, 329(2), pp. 86-97.
149. Ziegler, T., & Köhler, J., 2001, *Rhacophorus orlovi* sp. n., ein neuer Ruderfrosch aus Vietnam (Amphibia: Anura: Rhacophoridae). *Sauria*, 23(3), pp. 37-46.
150. Zeng, Z. C., Zhang, C. Y., Yuan, Y., Lyu, Z. T., Wang, J., & Wang, Y. Y., 2017, The new record of Red-disked small treefrog (*Theloderma rhododiscus*) and its expansion of the distribution. *Chinese Journal of Zoology*, 52(2), pp. 235-243.
151. Du, L., Wang, J., Liu, S., & Yu, G., 2022, A new cryptic species in the *Theloderma rhododiscus* complex (Anura, Rhacophoridae) from China–Vietnam border regions. *ZooKeys*, 1099, pp. 123.
152. Bour, R., Ohler, A., & Dubois, A., 2009, The onomatophores of *Paramesotriton deloustali* (Bourret, 1934) (the seven errors game). *Alytes*, 26(1-4), pp. 153.
153. Fei, L., & Ye, C. (2016). *Amphibians of China:(I)*. Science Press.
154. Le, D. T., Nguyen, T. T., Nishikawa, K., Nguyen, S. L. H., Van Pham, A., Matsui, M., & Nguyen, T. Q., 2015, A new species of *Tylototriton* Anderson, 1871 (Amphibia: Salamandridae) from northern Indochina. *Current Herpetology*, 34(1), pp. 38-50.
155. Bohme, W., Schottler, T., Nguyen, T. Q., & Kohler, J. (2005). A new species of salamander, genus *Tylototriton* (Urodela: Salamandridae), from northern Vietnam. *Salamandra-Bonn*, 41(4), pp. 215.
156. Bai, C., Liu, X., Fisher, M. C., Garner, T. W., & Li, Y., 2012, Global and endemic Asian lineages of the emerging pathogenic fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* widely infect amphibians in China. *Diversity and Distributions*, 18(3), pp. 307-318.
157. Vörös, J., Satasook, C., Bates, P., & Wangkulangkul, S., 2012, First record of the amphibian chytrid fungus, *Batrachochytrium dendrobatidis* in Thailand. *Herpetology Notes*, 5, pp. 519-521.

## PHỤ LỤC

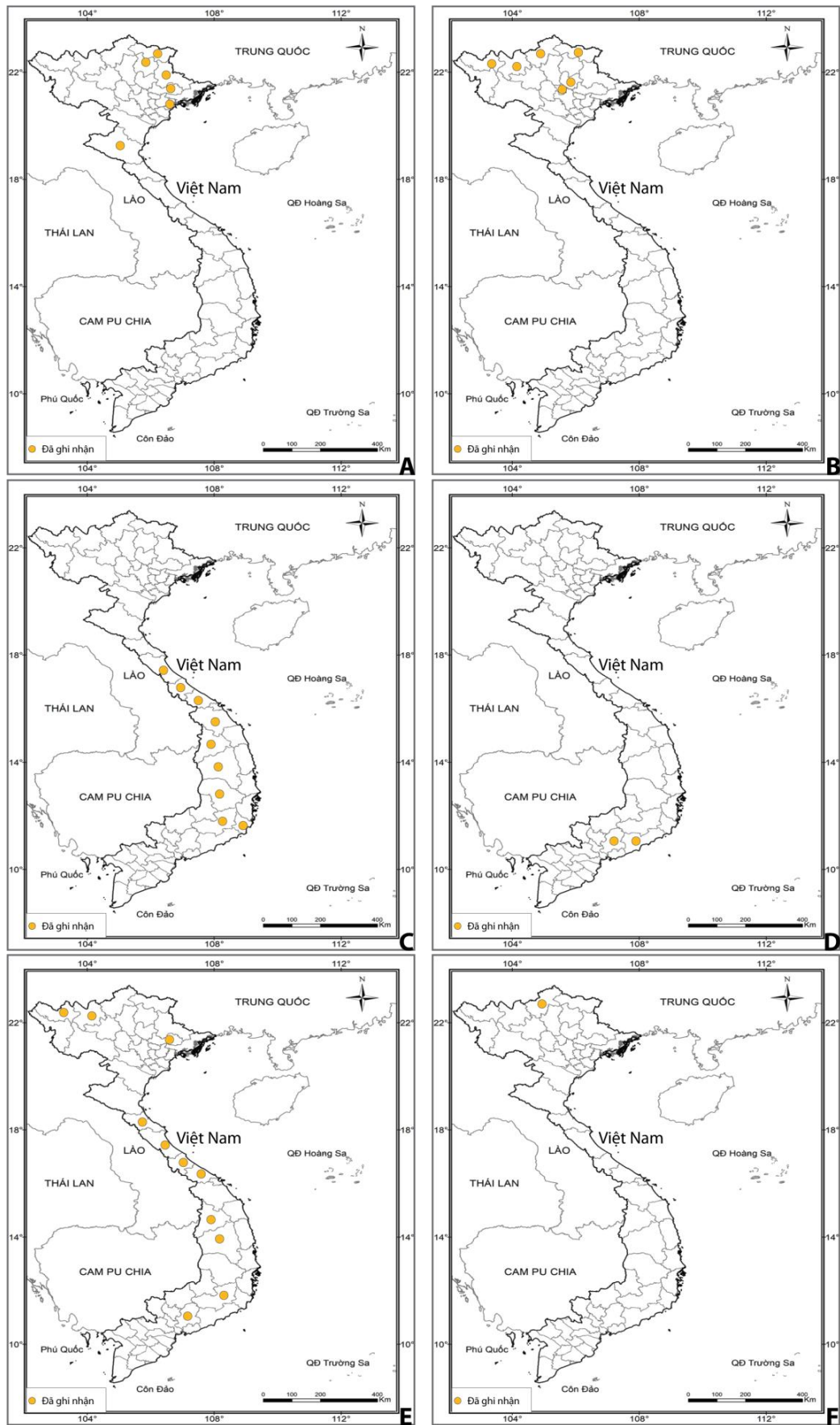


**Hình F1.** Sơ đồ phân bố: (A) *Bombina microdeladigitora*, (B) *Boulenophrys caobangensis*, (C) *Brachytarsophrys feae*, (D) *Leptobranchella nyx*, (E) *Ophryophryne gerti*, (F) *O. hansii*.

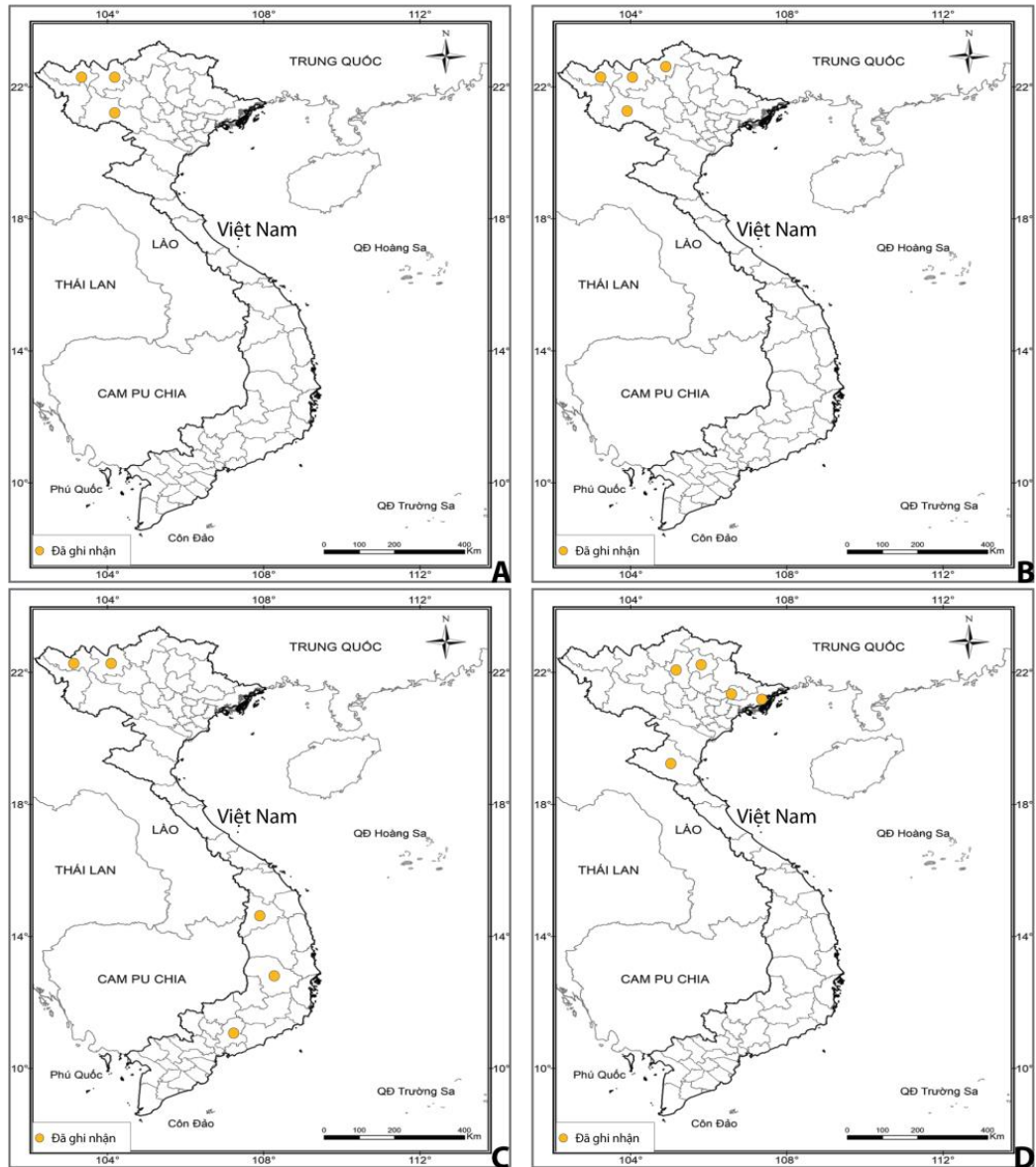


**Hình F2.** Sơ đồ phân bố: (A) *Ophryophryne microstoma*, (B) *Xenophrys maosonensis*, (C) *Gracixalus gracilipes*, (D) *G. sapaensis*, (E) *Kurixalus hainanus*, (F) *Polypedates megacephalu*.





**Hình F3.** Sơ đồ phân bố: (A) *Polypedates mutus*, (B) *Raorchestes parvulus*, (C) *Rhacophorus annamensis*, (D) *R. helenae*, (E) *R. rhodopus*, (F) *Theloderma khoii*.



**Hình F4.** Sơ đồ phân bố: (A) *Zhangixalus dorsoviridis*, (B) *Z. Duboisi*, (C) *Z. feae*, (D) *Z. pachyproctus*.

**Phụ lục T1:** Chỉ số đo các loài thuộc họ Bombina, (*B. microdeladigitora* [=*B.mi*]), Megophryidae (*Leptobranchella nahangensis* [=*L.na*], *L. nyx* [= *L.ny*], *L. sungi* [=*L.su*]).

Tên khoa học	<i>B.mi</i>		<i>L.na</i>	<i>L.ny</i>	<i>L.su</i>
Giới tính	♂ (n=7)	♀ (n=6)	♀ (n=2)	♂ (n=6)	♂ (n=2)
SVL	55,20–62,00	49,00–62,40	44,40–51,80	31,20–34,00	54,00–55,80
HW	19,50–24,70	18,90–23,40	17,40–20,70	11,30–12,10	21,20–21,40
HL	18,30–22,10	18,00–24,90	17,90–20,40	10,50–13,10	20,00–22,70
MN	15,70–20,60	16,10–18,70	15,90–17,70	9,80–11,20	17,00–19,70
MFE	12,90–17,50	12,30–15,70	13,70–14,20	7,40–8,80	12,80–15,70
MBE	7,20–11,30	7,30–10,30	6,80–7,50	2,90–4,10	8,00–8,50
SL	5,30–8,30	5,40–8,30	6,40–8,00	3,20–5,30	8,60–8,80
ED	4,70–7,00	5,20–6,50	5,80–6,80	4,30–5,20	7,30–7,50
NS	2,90–4,40	2,70–4,60	2,70–3,20	2,00–2,80	3,40–3,60
EN	4,00–6,60	2,90–5,70	3,60–4,50	2,10–3,10	4,50–4,60
TYD	–	–	2,60–3,50	1,60–2,20	2,60–3,00
TYE	–	–	2,80–2,90	0,90–1,40	1,70–1,70
UEW	3,10–5,20	3,80–4,80	5,10–5,80	2,90–3,70	5,80–5,90
IOD	1,40–5,70	1,80–4,10	3,30–5,30	2,30–3,70	4,30–5,10
IN	3,10–4,90	2,70–3,70	3,40–4,20	2,50–3,10	5,10–5,50
DAE	6,90–9,60	7,00–9,10	7,30–9,00	5,30–5,90	9,00–10,00
DPE	10,60–15,00	12,40–15,10	14,00–14,20	9,30–10,70	15,50–15,60
FLL	9,00–15,90	9,00–15,90	10,20–11,30	7,00–8,10	10,60–12,60
HAL	22,50–26,40	20,60–26,20	22,40–28,20	14,70–17,70	29,40–29,60
Finger III	10,10–14,30	11,40–14,60	8,60–10,60	4,10–6,40	8,80–10,60
IPT	3,10–4,40	3,10–3,20	2,70–2,80	1,40–2,30	3,30–3,30
OPT	1,90–2,50	2,00–2,10	–	–	–
FeL	22,60–27,10	18,20–27,70	21,60–21,80	14,50–16,80	25,50–26,30
TbL	20,50–26,20	18,90–24,20	21,10–23,60	14,30–16,60	24,80–25,40
TbW	7,60–9,80	5,90–9,00	5,20–5,20	3,10–4,20	5,40–5,80
FoL	34,10–35,60	29,80–32,70	31,80–33,30	20,20–24,40	34,40–34,60
Toes IV	21,10–31,10	16,90–21,80	20,50–20,70	12,90–15,50	21,90–24,50
IMT	–	–	–	–	–
HL/SVL	0,31–0,36	0,31–0,40	0,39–0,40	0,31–0,41	0,37–0,41
HW/SVL	0,35–0,40	0,34–0,42	0,39–0,40	0,33–0,39	0,38–0,39
HL/HW	0,82–1,02	0,83–1,14	0,99–1,03	0,91–1,12	0,95–1,06
TYD/ED	–	–	0,45–0,51	0,36–0,48	0,36–0,40
ED/SL	0,68–1,14	0,78–1,08	0,86–0,90	0,84–1,43	0,85–0,85
SL/HL	0,28–0,41	0,29–0,42	0,36–0,39	0,26–0,51	0,39–0,43
NS/EN	0,53–0,97	0,56–1,10	0,71–0,75	0,70–1,21	0,74–0,81
IOD/UEW	0,27–1,56	0,39–0,96	0,65–0,92	0,80–1,14	0,72–0,88
FeL/SVL	0,41–0,50	0,37–0,44	0,42–0,49	0,43–0,54	0,46–0,49
FLL/SVL	0,19–0,30	0,16–0,26	0,22–0,23	0,21–0,25	0,20–0,23

HAL/SVL	0,48–0,50	0,35–0,45	0,51–0,54	0,45–0,54	0,53–0,55
FoL/SVL	0,62–0,60	0,51–0,61	0,64–0,72	0,62–0,76	0,62–0,64
TbL/SVL	0,37–0,40	0,32–0,41	0,46–0,48	0,44–0,53	0,46–0,46
TbL/TbW	2,71–3,90	2,26–3,95	4,10–4,51	3,93–5,25	4,27–4,72

*Leptobrachium ailaonicum* [=L.ai], *Boulenophrys caobangensis* [=B.ca],  
*Brachytarsophrys cf. feae* [=B.fe], *Ophryophryne gerti* [=O.ge], *Atympanophrys*  
*gigantica* [=A.gi]

Tên khoa học	<i>L.ai</i>	<i>B.ca</i>	<i>B.fe</i>	<i>O.ge</i>	<i>A.gi</i>
Giới tính	♂ (n=3)	♂ (n=5)	♂ (n=4)	♂ (n=3)	♂ (n=2)
SVL	66,20–69,10	31,70–33,90	80,10–95,00	32,00–34,20	82,80–87,90
HW	26,80–29,70	11,00–12,10	36,90–44,00	9,00–9,90	32,30–35,80
HL	26,60–28,40	10,70–12,70	30,00–35,40	9,00–10,20	33,10–34,20
MN	23,90–25,10	8,10–10,00	25,10–30,20	8,10–9,00	27,70–28,40
MFE	18,80–20,90	7,50–8,90	21,70–25,70	7,10–7,40	23,60–25,20
MBE	11,10–12,50	2,90–4,80	13,60–17,50	3,60–4,00	15,60–16,10
SL	9,70–10,20	3,70–4,30	8,40–11,40	2,80–3,00	10,20–10,60
ED	8,40–9,20	3,80–4,80	7,20–8,40	3,00–3,30	9,50–10,90
NS	3,70–5,10	1,90–4,70	4,20–6,00	0,80–0,90	4,90–6,40
EN	5,00–5,80	1,70–2,60	3,40–5,60	1,60–1,90	4,80–5,00
TYD	–	1,30–1,70	2,20–4,50	2,10–2,40	–
TYE	–	1,20–1,90	1,60–7,30	1,10–2,10	–
UEW	6,20–7,90	1,00–4,00	4,70–14,20	2,50–2,80	7,70–8,60
IOD	8,60–10,20	2,70–3,70	9,10–10,30	2,60–3,20	9,60–9,90
IN	5,90–6,50	3,20–4,10	7,60–8,30	1,90–2,10	8,60–9,20
DAE	11,40–11,70	6,20–6,70	12,10–15,70	4,20–4,70	13,60–14,50
DPE	20,40–21,90	9,40–10,00	22,50–28,10	7,60–8,50	24,30–25,50
FLL	17,70–19,40	5,50–7,20	10,60–15,30	6,60–7,80	15,30–17,60
HAL	41,20–43,00	7,40–15,40	34,70–38,00	15,00–17,10	39,70–43,40
Finger III	14,50–15,40	6,90–7,60	15,90–17,30	6,60–8,00	15,70–19,80
IPT	3,50–4,00	2,20–3,10	5,90–6,10	1,20–1,50	3,80–5,20
OPT	2,80–3,40	–	–	–	–
FeL	32,60–35,10	15,00–16,80	31,90–34,80	13,70–17,90	40,00–44,90
TbL	31,10–32,90	14,90–17,50	34,20–36,00	14,80–17,60	42,90–48,90
TbW	7,60–8,50	3,40–4,10	13,90–15,90	3,00–4,20	10,00–12,6
FoL	48,30–49,30	21,40–24,80	47,60–52,60	20,90–24,20	61,70–70,30
Toes IV	31,90–32,70	13,80–15,40	32,70–37,50	12,70–16,00	39,30–45,80
IMT	3,10–3,40	–	–	1,00–1,60	3,30–4,20
HL/SVL	0,39–0,42	0,32–0,40	0,34–0,41	0,28–0,30	0,39–0,4
HW/SVL	0,39–0,45	0,35–0,37	0,42–0,49	0,28–0,29	0,39–0,41
HL/HW	0,95–1,00	0,90–1,13	0,80–0,86	1,00–1,08	0,95–1,02
TYD/ED	–	0,29–0,43	0,31–0,62	0,68–0,78	–

ED/SL	0,82–0,95	0,99–1,22	0,74–0,85	1,03–1,12	0,93–1,02
SL/HL	0,35–0,38	0,32–0,39	0,26–0,32	1,55–1,78	0,31–0,31
NS/EN	0,63–0,97	0,72–2,25	0,91–1,75	0,44–0,57	1,04–1,29
IOD/UEW	1,15–1,63	0,70–3,48	0,72–1,96	1,04–1,16	1,16–1,25
FeL/SVL	0,48–0,51	0,45–0,50	0,36–0,41	0,43–0,53	0,80–0,51
FLL/SVL	0,26–0,29	0,17–0,22	0,13–0,17	0,20–0,23	0,80–0,20
HAL/SVL	0,60–0,65	0,23–0,49	0,40–0,45	0,47–0,51	0,80–0,49
FoL/SVL	0,71–0,73	0,67–0,76	0,54–0,61	0,65–0,72	0,50–0,80
TbL/SVL	0,46–0,48	0,47–0,54	0,38–0,43	0,46–0,52	0,20–0,56
TbL/TbW	3,68–4,09	3,88–5,06	2,20–2,58	4,18–5,02	3,90–4,29

*Ophryophryne hansii* [=O.ha], *Boulenophrys jingdongensis* [=B.ji], *Xenophrys maosonensis* [X.ma]

Tên khoa học	<i>O.ha</i>		<i>B.ji</i>		<i>X.ma</i>	
	♂ (n=5)	♀ (n=2)	♂ (n=3)	♀ (n=1)	♂ (n=5)	♀ (n=3)
SVL	38,20–42,60	41,80–53,30	49,80–54,40	48,80	65,10–72,40	55,70–84,00
HW	12,00–12,80	13,50–15,20	18,30–19,70	18,60	24,60–27,80	22,20–34,70
HL	11,50–12,30	12,40–15,10	18,10–20,80	18,40	23,90–28,20	21,00–33,80
MN	9,80–11,00	10,90–13,10	15,20–17,40	15,40	20,60–23,80	17,40–27,90
MFE	8,40–9,20	9,90–11,60	13,10–13,90	12,30	16,40–20,00	14,70–23,80
MBE	4,80–5,30	5,50–7,10	7,50–8,20	7,30	10,00–12,00	9,10–15,10
SL	2,50–3,50	3,80–4,00	6,30–7,00	6,70	8,80–9,90	7,00–11,50
ED	3,80–5,10	4,90–5,70	6,10–6,60	5,20	7,50–9,20	7,30–10,00
NS	1,00–1,60	1,50–1,90	2,90–3,50	2,70	3,80–4,50	3,10–6,10
EN	1,70–2,40	1,80–2,20	3,10–3,50	3,80	4,50–5,20	3,50–5,50
TYD	1,90–2,90	2,90–3,10	3,00–3,70	2,90	3,80–4,70	3,70–6,30
TYE	2,10–3,00	2,70–3,80	2,70–3,50	2,90	4,50–5,70	2,80–7,40
UEW	3,00–3,70	3,70–4,60	4,60–5,20	4,90	6,00–7,90	4,30–9,50
IOD	2,60–3,60	2,80–4,40	5,20–6,10	6,40	6,00–8,90	6,80–10,10
IN	2,10–2,40	2,90–3,20	4,40–6,00	5,30	6,60–8,00	6,20–10,50
DAE	4,60–5,50	5,60–6,40	8,70–10,20	9,40	11,70–13,40	10,50–15,70
DPE	8,40–10,30	9,50–11,50	13,50–14,70	14,20	19,20–21,20	16,30–24,80
FLL	8,30–9,60	9,20–9,80	10,80–11,00	10,90	12,30–14,30	13,10–17,70
HAL	19,00–21,70	22,00–24,20	24,40–26,60	24,90	30,10–33,10	28,70–42,10
Finger III	8,50–9,20	9,70–11,30	6,70–10,70	10,80	11,80–14,90	8,20–13,10
IPT	1,70–3,10	3,10–3,10	2,70–3,00	3,10	2,70–4,40	2,30–4,40
OPT	–	1,50–1,80	1,40–1,60	2,40	–	–
FeL	16,90–19,80	20,90–27,10	24,40–30,20	24,50	34,10–36,40	30,70–43,20
TbL	18,50–20,70	21,40–24,80	28,70–33,50	28,60	36,30–40,70	32,30–47,20
TbW	3,80–4,50	4,10–6,40	4,90–5,80	6,20	6,70–7,80	6,00–10,30
FoL	25,40–29,60	31,20–36,00	40,70–43,50	40,00	45,50–53,00	46,20–64,60

Toes IV	16,20–18,50	19,00–23,30	26,00–27,50	24,80	28,60–34,00	28,90–41,40
IMT	1,50–2,30	1,80–2,70	2,00–2,50	1,80	2,50–3,40	2,10–4,90
HL/SVL	0,29–0,31	0,28–0,30	0,36–0,39	0,38	0,35–0,40	0,38–0,40
HW/SVL	0,30–0,33	0,29–0,32	0,36–0,37	0,38	0,35–0,39	0,39–0,41
HL/HW	0,91–0,96	0,92–0,99	0,99–1,05	0,99	0,97–1,06	0,94–0,99
TYD/ED	0,44–0,59	0,54–0,59	0,46–0,59	0,56	0,41–0,63	0,51–0,63
ED/SL	1,28–1,56	1,29–1,41	0,91–1,01	0,77	0,80–0,93	0,85–1,04
SL/HL	1,10–2,02	1,72–2,21	0,33–2,07	1,77	1,67–1,97	2,00–2,09
NS/EN	0,44–0,81	0,65–1,04	0,94–1,00	0,72	0,72–0,91	0,88–1,11
IOD/UEW	0,79–1,05	0,77–0,96	1,00–1,24	1,30	0,84–1,36	0,83–1,58
FeL/SVL	0,44–0,48	0,50–0,51	0,48–0,55	0,50	0,48–0,53	0,51–0,55
FLL/SVL	0,21–0,23	0,17–0,23	0,20–0,22	0,22	0,18–0,22	0,18–0,23
HAL/SVL	0,49–0,51	0,45–0,53	0,49–0,52	0,51	0,44–0,50	0,44–0,52
FoL/SVL	0,66–0,70	0,68–0,75	0,80–0,82	0,82	0,67–0,78	0,77–0,83
TbL/SVL	0,47–0,51	0,46–0,51	0,58–0,61	0,59	0,53–0,58	0,55–0,58
TbL/TbW	4,40–5,09	3,89–5,26	5,57–6,22	4,58	4,85–5,39	4,51–5,37

*Ophryophryne microstoma* [=O.mi], *Boulenophrys rubrimera* [=B.ru], *Chirixalus nongkhorensis* [C.no], *Gracixalus gracilipes* [=G.gr]

Tên khoa học	<i>O.mi</i>		<i>B.ru</i>		<i>C.no</i>	<i>G.gr</i>	
	♂ (n=4)	♀ (n=2)	♂ (n=4)	♀ (n=1)	♂ (n=5)	♂ (n=3)	♀ (n=1)
SVL	27,80–34,00	32,00–32,10	28,00–30,8	29,30	24,00–35,80	21,00–23,90	26,30
HW	8,10–9,20	9,20–9,30	9,60–11,3	12,80	8,30–11,90	7,30–8,00	9,10
HL	8,80–9,30	9,70–9,90	10,10–11,5	13,40	7,60–11,30	7,40–7,80	10,30
MN	7,70–8,50	8,20–8,60	8,70–9,9	11,00	6,70–9,80	6,40–7,10	8,90
MFE	6,40–7,00	6,50–6,90	6,70–8,0	8,70	5,00–7,50	4,30–5,50	6,60
MBE	3,20–4,30	3,20–3,60	3,10–4,5	5,00	2,70–3,30	1,70–2,60	4,20
SL	2,70–2,90	2,90–3,00	3,70–3,9	4,80	3,50–4,80	3,40–3,50	4,30
ED	3,00–3,40	3,40–3,70	2,80–3,9	4,10	3,10–4,10	2,60–3,20	3,40
NS	0,70–1,30	1,00–1,30	1,50–1,9	2,20	1,20–2,30	1,40–1,60	1,70
EN	1,50–2,00	1,60–1,70	1,70–2,2	2,50	1,30–3,40	1,00–2,50	2,90
TYD	2,10–2,70	2,40–2,50	1,50–2,2	2,00	0,70–1,90	1,00–1,30	1,80
TYE	1,70–2,40	2,00–2,20	1,20–1,7	1,70	0,90–2,90	1,20–1,70	1,30
UEW	2,20–2,40	3,00–3,20	2,30–2,9	3,60	3,00–4,00	1,80–3,00	2,00
IOD	2,60–3,00	2,70–2,90	2,30–3,6	4,10	2,00–3,70	2,30–3,70	3,90
IN	1,60–2,50	2,20–2,20	3,10–3,4	3,80	2,00–5,10	2,50–3,40	3,00
DAE	3,60–5,10	4,00–4,10	5,00–5,7	5,70	4,40–6,50	4,70–4,80	5,60
DPE	7,10–7,80	7,80–7,80	8,30–8,50	9,40	7,20–10,90	7,30–7,80	8,30
FLL	5,10–6,70	7,50–7,70	5,30–7,00	7,40	4,30–6,80	3,80–5,90	7,70
HAL	12,00–16,00	15,40–16,30	14,00–16,30	20,50	10,30–15,30	11,60–12,20	13,90
Finger III	5,90–6,70	6,30–6,70	5,50–7,00	8,50	5,80–9,70	6,90–7,50	8,80

IPT	1,10–2,30	1,80–2,00	1,40–1,80	1,50	–	1,00–2,50	2,20
OPT	–	–	0,90–1,20	–	–	–	–
FeL	13,20–16,30	14,40–16,20	14,10–15,30	18,30	10,50–16,50	11,60–11,80	13,70
TbL	12,40–15,80	14,30–15,80	14,50–17,00	21,70	12,90–18,60	12,00–12,90	14,80
TbW	2,60–3,30	2,90–3,00	2,30–2,80	3,10	1,80–4,10	2,30–2,50	2,40
FoL	18,60–22,30	21,70–22,60	20,50–23,90	32,70	15,10–23,9	15,30–16,40	19,40
Toes IV	11,00–12,70	13,00–13,70	12,20–15,70	22,20	8,80–14,4	8,70–10,70	12,30
IMT	1,00–1,90	1,80–2,00	1,40–1,40	2,00	–	1,00–1,50	1,50
HL/SVL	0,27–0,32	0,30–0,31	0,350–0,37	0,46	0,31–0,39	0,31–0,37	0,39
HW/SVL	0,27–0,29	0,29–0,29	0,33–0,37	0,44	0,32–0,38	0,32–0,36	0,35
HL/HW	0,99–1,08	1,06–1,07	1,02–1,06	1,05	0,92–1,11	0,92–1,07	1,13
TYD/ED	0,68–0,85	0,65–0,75	0,40–0,78	0,49	0,19–0,58	0,38–0,46	0,53
ED/SL	1,06–1,23	1,13–1,25	0,71–1,06	0,85	0,81–1,01	0,75–0,91	0,79
SL/HL	1,41–1,85	1,69–1,91	0,32–2,26	0,36	0,37–0,48	0,43–0,46	0,41
NS/EN	0,41–0,82	0,58–0,85	0,77–0,97	0,88	0,59–1,56	0,54–1,52	0,58
IOD/UEW	1,13–1,36	0,89–0,90	1,00–1,25	1,12	0,66–1,17	0,77–2,04	1,96
FeL/SVL	0,47–0,50	0,45–0,51	0,48–0,52	0,62	0,43–0,52	0,49–0,56	0,52
FLL/SVL	0,18–0,22	0,23–0,24	0,18–0,23	0,25	0,18–0,19	0,16–0,27	0,29
HAL/SVL	0,43–0,50	0,48–0,51	0,50–0,53	0,70	0,40–0,45	0,48–0,56	0,53
FoL/SVL	0,66–0,70	0,67–0,71	0,73–0,80	1,11	0,63–0,69	0,68–0,73	0,74
TbL/SVL	0,45–0,49	0,45–0,50	0,50–0,55	0,74	0,50–0,55	0,54–0,57	0,56

*Polypedates mutus* [=P.mu], *Raochestes cf. parvulus* [=R.pa], *Rhacophorus annamensis* [=R.an], *Rhacophorus helenae* [=R.he], *Rhacophorus kio* [=R.ki], *Rhacophorus orlovi* [=R.or]

Tên khoa học	<i>P. mu</i>	<i>R. pa</i>	<i>R. an</i>	<i>R. he</i>	<i>R. ki</i>	<i>R. or</i>
Giới tính	♂ (n=3)	♂ (n=14)	♂ (n=1)	♂ (n=4)	♂ (n=9)	♂ (n=4)
SVL	50,60–68,40	16,80–22,40	70,10	65,40–70,20	61,60–71,80	41,70–48,10
HW	17,00–24,10	5,50–7,80	22,80	22,50–24,40	21,00–23,80	15,30–18,70
HL	16,80–25,30	5,40–7,60	22,40	21,60–22,70	21,80–24,20	14,80–18,10
MN	15,50–22,70	4,10–6,80	18,80	18,10–19,80	17,30–20,80	12,80–16,10
MFE	11,30–16,70	2,60–5,40	13,60	12,90–15,20	13,30–16,20	9,90–12,40
MBE	6,00–9,30	0,70–2,70	6,50	6,10–8,80	5,60–13,30	5,70–6,00
SL	8,90–11,20	0,70–3,40	11,00	10,50–11,40	8,20–12,10	6,40–8,30
ED	6,10–8,80	1,50–3,60	9,20	8,10–8,80	7,40–9,20	4,90–6,70
NS	2,80–3,90	0,30–2,60	5,20	4,40–5,00	3,50–5,40	2,60–3,90
EN	5,40–7,50	1,20–4,10	6,20	6,20–7,60	5,10–7,40	4,50–5,00
TYD	4,10–4,60	0,90–1,70	4,50	4,30–5,00	3,20–5,80	2,00–3,40
TYE	1,00–2,30	0,60–1,70	1,00	1,50–2,10	1,30–6,00	0,80–1,50
UEW	3,80–5,90	1,50–2,80	6,00	5,50–7,70	4,20–7,70	3,80–5,80
IOD	5,00–7,30	1,50–3,20	5,50	5,90–8,20	5,30–9,40	5,50–6,70

IN	3,90–5,80	1,50–2,50	5,80	5,00–6,30	5,40–6,70	3,50–4,20
DAE	10,20–14,20	3,30–4,20	12,70	12,90–13,40	11,70–14,10	8,20–10,30
DPE	14,90–20,30	4,80–7,10	19,40	19,40–22,30	17,40–21,90	13,40–15,10
FLL	10,10–13,70	2,80–5,90	12,80	12,30–14,70	10,50–15,30	6,90–11,20
HAL	22,20–34,50	7,30–10,80	32,00	30,40–34,40	28,70–34,50	19,80–25,50
Finger III	11,70–21,10	3,70–6,30	21,70	18,60–21,20	19,80–22,30	12,30–16,60
IPT	3,40–4,50	0,80–1,90	–	4,10–5,00	4,10–5,60	2,10–3,40
OPT	–	–	–	–	–	–
FeL	24,40–33,00	5,50–10,20	32,30	29,50–32,60	28,30–33,2	20,70–24,50
TbL	25,20–36,90	7,30–10,80	34,60	30,70–35,30	30,10–33,4	22,90–28,50
TbW	4,90–8,70	0,90–9,60	6,30	5,10–6,60	4,90–7,2	5,10–5,40
FoL	32,80–49,20	10,90–14,40	46,30	43,20–49,70	40,90–48,7	28,40–36,10
Toes IV	19,30–32,10	5,00–8,80	30,40	27,40–35,10	29,10–34,9	16,60–23,90
IMT	–	0,70–0,70	–	–	–	–
HL/SVL	0,33–0,37	0,31–0,38	0,32	0,31–0,33	0,30–0,36	0,35–0,38
HW/SVL	0,33–0,35	0,32–0,42	0,32	0,33–0,35	0,32–0,35	0,36–0,39
HL/HW	0,99–1,06	0,85–1,03	0,99	0,90–0,97	0,92–1,07	0,91–1,05
TYD/ED	0,46–0,72	0,30–0,67	0,49	0,52–0,59	0,40–0,69	0,38–0,59
ED/SL	0,69–0,79	0,75–2,10	0,84	0,73–0,82	0,76–0,94	0,76–0,90
SL/HL	0,45–0,53	0,13–0,54	0,49	0,47–0,52	0,34–0,55	0,37–0,48
NS/EN	0,46–0,66	0,15–2,13	0,83	0,58–0,81	0,50–1,00	0,56–0,79
IOD/UEW	1,09–1,31	1,00–1,64	0,91	0,76–1,44	0,69–2,23	1,12–1,60
FeL/SVL	0,48–0,48	0,32–0,55	0,46	0,44–0,46	0,43–0,51	0,50–0,51
FLL/SVL	0,20–0,21	0,16–0,34	0,18	0,19–0,21	0,16–0,25	0,16–0,24
HAL/SVL	0,44–0,51	0,39–0,54	0,46	0,44–0,49	0,44–0,53	0,47–0,53
FoL/SVL	0,65–0,72	0,58–0,69	0,66	0,62–0,71	0,64–0,71	0,67–0,75
TbL/SVL	0,50–0,54	0,39–0,54	0,49	0,47–0,50	0,46–0,54	0,55–0,60
TbL/TbW	5,13–5,45	1,07–8,25	5,54	5,11–6,13	4,36–6,55	4,52–5,63

*Gracixalus jinxiuensis* [=G.ji], *Gracixalus sapaensis* [=G.sa], *Kurixalus* cf. *bisacculus* [=K.bi], *Kurixalus hainanus* [=K.ha], *Polypedates megacephalus* [=P.me]

Tên khoa học	<i>G.ji</i>	<i>G.sa</i>	<i>K.bi</i>		<i>K.ha</i>	<i>P.me</i>	
Giới tính	♂ (n=2)	♂ (n=2)	♂ (n=6)	♀ (n=6)	♂ (n=14)	♂ (n=4)	♀ (n=1)
SVL	26,50–27,90	27,70–27,90	32,70–44,20	33,50–47,5	29,60–37,00	52,90–61,50	69,50
HW	10,50–10,70	10,10–10,40	11,00–15,60	10,90–16,8	10,00–14,00	18,00–21,50	23,70
HL	10,20–10,40	9,60–9,80	11,20–14,80	11,30–15,8	10,00–13,30	18,70–21,50	22,90
MN	7,40–7,50	8,40–8,50	9,30–11,00	5,50–13,3	6,70–12,70	16,90–19,30	21,20
MFE	7,30–7,40	6,40–6,50	6,90–10,40	4,80–11,5	5,20–9,30	11,80–13,50	15,20
MBE	3,50–4,20	3,60–4,00	3,10–6,00	2,40–6,60	1,80–4,70	7,10–7,90	7,60
SL	3,80–5,50	4,10–4,20	4,70–5,50	4,90–6,80	3,10–6,00	8,40–11,50	10,00
ED	4,50–4,60	3,50–3,50	4,30–6,00	5,20–6,20	3,90–5,80	6,30–11,10	6,50



NS	2,10–3,80	1,50–2,40	1,90–2,60	2,10–3,30	1,90–2,90	2,50–8,00	2,80
EN	4,30–4,40	2,40–2,70	2,80–3,40	2,90–4,50	2,30–4,20	3,10–7,10	7,20
TYD	2,80–3,30	1,80–1,80	1,90–3,50	2,10–4,20	1,40–2,90	3,50–5,10	3,80
TYE	1,10–1,50	1,80–1,80	1,10–1,70	1,20–1,80	0,50–1,90	1,10–1,80	2,20
UEW	2,20–2,80	2,20–2,60	3,10–3,60	3,10–5,40	2,20–4,40	4,90–6,60	6,30
IOD	3,00–3,10	3,40–3,50	3,00–4,90	3,40–5,30	2,40–4,50	4,70–8,20	6,90
IN	3,10–3,20	3,10–3,50	3,20–4,10	2,90–4,00	2,50–3,30	3,10–5,00	5,80
DAE	4,40–6,40	4,50–5,20	5,30–7,00	5,70–8,40	5,50–7,00	10,10–13,10	13,60
DPE	8,90–9,60	8,90–9,20	10,00–13,50	10,00–14,50	8,60–11,40	15,90–19,60	21,10
FLL	7,40–7,70	5,50–5,90	7,80–11,30	8,50–13,80	4,50–9,70	10,70–13,40	10,50
HAL	13,90–14,50	13,30–15,30	15,80–19,90	15,90–22,80	14,50–18,00	26,80–32,60	47,00
Finger III	5,60–6,60	8,10–9,20	7,40–10,20	7,40–14,10	6,90–11,60	15,80–19,00	18,40
IPT	2,40–4,70	2,00–2,10	2,80–3,60	2,10–3,10	1,80–3,50	2,80–4,90	3,90
OPT	–	–	–	–	–	–	–
FeL	10,50–11,60	12,20–12,40	14,50–20,90	15,20–21,00	13,40–16,70	26,00–33,70	31,80
TbL	12,70–14,30	13,20–13,90	15,50–22,90	17,10–22,80	14,80–17,60	29,60–36,50	34,50
TbW	3,20–3,70	2,30–2,80	3,00–4,90	3,00–5,50	2,90–4,20	4,90–6,30	6,30
FoL	17,40–18,20	17,60–21,80	21,20–30,10	22,60–30,90	18,40–24,00	36,10–42,40	30,30
Toes IV	10,40–11,00	11,10–13,30	13,50–16,30	14,6–20,40	12,20–16,40	21,90–25,40	31,60
IMT	–	1,30–1,30	1,40–2,00	2,00–3,30	–	–	–
HL/SVL	0,37–0,39	0,34–0,35	0,33–0,38	0,28–0,38	0,33–0,39	0,35–0,38	0,33
HW/SVL	0,38–0,40	0,36–0,37	0,33–0,35	0,32–0,39	0,33–0,41	0,33–0,35	0,34
HL/HW	0,97–0,98	0,94–0,95	0,95–1,13	0,86–1,05	0,93–1,10	1,00–1,10	0,97
TYD/ED	0,63–0,72	0,51–0,52	0,43–0,59	0,36–0,68	0,32–0,63	0,46–0,56	0,58
ED/SL	0,82–1,20	0,83–0,87	0,80–1,10	0,82–1,15	0,79–1,58	0,70–0,97	0,66
SL/HL	0,37–0,54	0,43–0,43	0,37–0,44	0,42–0,44	0,24–0,47	0,44–0,53	0,44
NS/EN	0,47–0,88	0,61–0,88	0,60–0,84	0,64–0,96	0,59–1,00	0,35–2,57	0,38
IOD/UEW	1,08–1,41	1,32–1,60	0,93–1,39	0,90–1,32	0,76–1,64	0,93–1,25	1,10
FeL/SVL	0,40–0,41	0,44–0,45	0,43–0,47	0,38–0,51	0,41–0,49	0,48–0,56	0,46
FLL/SVL	0,28–0,28	0,20–0,21	0,24–0,30	0,19–0,33	0,15–0,29	0,20–0,24	0,15
HAL/SVL	0,52–0,52	0,48–0,55	0,45–0,53	0,45–0,55	0,44–0,53	0,51–0,54	0,68
FoL/SVL	0,65–0,66	0,63–0,78	0,63–0,71	0,64–0,73	0,53–0,69	0,67–0,74	0,44
TbL/SVL	0,48–0,51	0,48–0,50	0,46–0,53	0,37–0,55	0,44–0,50	0,55–0,59	0,50
TbL/TbW	3,44–4,49	4,73–6,06	4,07–5,65	4,09–5,74	4,05–5,50	5,79–6,07	5,46

*Rhacophorus napoensis* [=R.na], *Theioderma albopunctatum* [T.al], *Theioderma hekouense* [=T.rh], *Zhangixalus dorsovirens* [Z.do]

Tên khoa học	R.na		T.al	T.he	Z.do	
	♂ (n=3)	♀ (n=2)	♂ (n=1)	♂ (n=3)	♂ (n=1)	♀ (n=1)
SVL	31,80–39,70	50,80–54,40	29,50	19,90–24,50	38,80	44,80
HW	11,80–14,10	17,30–18,30	10,40	7,00–7,80	13,70	14,10
HL	12,00–13,70	18,50–19,00	12,10	6,80–9,10	14,10	13,00
MN	10,10–11,80	15,30–15,30	8,90	5,60–8,00	9,70	10,10
MFE	7,60–9,00	11,20–11,50	7,50	4,30–5,70	7,00	8,40
MBE	4,10–5,30	6,50–6,80	4,40	1,60–2,60	3,80	5,10
SL	5,50–6,20	7,80–8,50	4,00	3,00–3,80	6,80	6,40
ED	4,10–4,40	4,90–5,60	3,70	2,70–3,10	5,90	5,00
NS	2,80–3,00	3,90–3,90	1,90	1,40–1,70	2,40	2,90
EN	3,00–3,30	4,30–4,60	4,10	1,80–2,70	3,20	2,40
TYD	2,20–3,10	3,20–3,30	2,80	1,00–2,60	2,60	3,50
TYE	1,00–1,50	1,30–1,40	0,70	0,90–1,20	1,20	3,30
UEW	2,60–3,10	4,00–4,40	2,40	1,60–2,20	2,70	2,00
IOD	3,70–4,50	6,30–6,70	2,40	2,20–3,60	4,00	2,50
IN	2,90–3,80	4,50–4,80	3,30	1,80–2,20	2,70	4,60
DAE	6,10–7,30	8,60–9,10	5,60	3,80–4,40	6,60	7,50
DPE	10,30–12,00	14,30–14,60	8,90	6,50–6,80	11,70	13,00
FLL	7,00–8,70	11,10–12,20	5,00	2,70–5,20	15,70	20,70
HAL	17,30–20,90	25,30–26,40	11,30	8,50–12,50	17,60	21,90
Finger III	10,60–12,10	15,60–17,10	9,40	5,70–8,80	8,50	11,20
IPT	2,10–2,60	3,30–3,90	–	–	3,30	2,90
OPT	–	–	–	–	–	–
FeL	14,60–17,40	21,90–24,10	14,40	9,90–12,20	14,50	18,10
TbL	16,10–19,50	24,20–25,30	14,40	9,40–14,10	14,50	19,00
TbW	2,50–3,10	3,40–3,90	3,40	1,90–2,40	3,90	5,70
FoL	24,40–28,00	35,70–36,80	20,30	11,70–17,70	20,50	26,20
Toes IV	14,90–17,30	23,50–24,60	13,10	7,60–12,00	13,60	13,00
IMT	1,60–1,90	1,40–2,30	–	–	–	–
HL/SVL	0,35–0,38	0,35–0,36	0,41	0,34–0,39	0,36	0,29
HW/SVL	0,34–0,37	0,34–0,34	0,35	0,31–0,35	0,35	0,31
HL/HW	0,98–1,03	1,04–1,07	1,16	0,97–1,18	1,03	0,93
TYD/ED	0,54–0,70	0,59–0,66	0,76	0,38–0,94	0,43	0,71
ED/SL	0,68–0,74	0,62–0,67	0,92	0,74–0,91	0,87	0,77
SL/HL	0,45–0,47	0,42–0,45	0,33	0,42–0,43	0,48	0,50
NS/EN	0,85–1,02	0,85–0,90	0,46	0,62–0,81	0,76	1,19
IOD/UEW	1,43–1,45	1,42–1,67	1,00	0,98–2,24	1,47	1,26
FeL/SVL	0,42–0,46	0,43–0,44	0,49	0,40–0,53	0,37	0,40
FLL/SVL	0,21–0,22	0,22–0,23	0,17	0,14–0,23	0,40	0,46
HAL/SVL	0,53–0,54	0,49–0,50	0,38	0,41–0,54	0,45	0,49
FoL/SVL	0,71–0,77	0,68–0,70	0,69	0,59–0,77	0,53	0,59
TbL/SVL	0,49–0,51	0,47–0,48	0,49	0,47–0,61	0,37	0,42
TbL/TbW	5,53–7,29	6,16–7,43	4,24	4,91–7,51	3,72	3,33

*Zhangixalus duboisi* [Z.du], *Zhangixalus feae* [=Z.fe], *Zhangixalus pachyproctus* [=Z.pa], *Zhangixalus puerensis* [=Z.pu]

Tên khoa học	Z.du	Z.fe	Z.pa	Z.pu
Giới tính	♂ (n=2)	♂ (n=2)	♂ (n=1)	♂ (n=6)
SVL	54,00–59,00	101,30–106,80	75,70	38,00–62,10
HW	18,50–19,60	33,00–34,10	26,00	15,40–22,70
HL	18,90–20,20	35,30–37,60	25,60	15,40–22,80
MN	15,80–17,50	31,10–32,30	21,10	12,40–18,70
MFE	11,80–13,20	21,10–25,70	16,80	10,30–14,70
MBE	6,60–6,80	12,20–14,40	9,10	5,30–7,50
SL	8,00–9,30	15,60–16,90	11,30	5,30–9,60
ED	6,40–7,00	10,50–11,00	9,20	4,40–8,80
NS	4,00–4,50	5,80–7,40	5,90	2,80–5,00
EN	4,50–5,30	9,20–10,70	6,20	2,90–5,80
TYD	4,80–4,90	5,20–5,60	3,80	1,40–6,30
TYE	1,00–1,60	1,60–3,20	2,60	1,40–3,10
UEW	4,50–4,90	8,00–8,60	6,60	3,70–5,90
IOD	5,70–7,10	8,70–9,80	7,30	3,70–6,60
IN	5,20–5,50	7,40–8,30	7,20	3,00–6,50
DAE	10,00–10,60	17,90–19,00	14,80	6,20–12,00
DPE	15,50–16,90	28,00–29,00	21,30	11,40–19,30
FLL	11,30–13,50	19,10–20,50	12,40	11,50–20,90
HAL	29,70–34,00	52,40–53,40	38,10	14,90–34,40
Finger III	17,60–21,40	33,70–33,90	23,60	10,00–22,60
IPT	2,90–3,90	4,60–7,10	–	3,10–4,90
OPT	–	–	–	–
FeL	26,70–28,30	46,10–48,90	33,30	15,40–30,60
TbL	26,40–28,90	49,90–50,90	34,60	15,00–33,00
TbW	4,10–4,80	10,80–13,40	8,20	5,10–6,80
FoL	36,70–40,80	58,50–64,00	48,20	20,40–44,20
Toes IV	24,70–27,70	33,00–45,50	31,50	13,50–30,00
IMT	1,80–2,20	–	–	–
HL/SVL	0,34–0,35	0,35–0,35	0,34	0,32–0,41
HW/SVL	0,33–0,34	0,32–0,33	0,34	0,33–0,41
HL/HW	1,02–1,03	1,07–1,10	0,99	0,98–1,00
TYD/ED	0,70–0,75	0,50–0,51	0,41	0,27–0,71
ED/SL	0,76–0,80	0,65–0,67	0,81	0,72–1,59
SL/HL	0,42–0,46	0,42–0,48	0,44	0,28–0,47
NS/EN	0,76–0,99	0,63–0,69	0,94	0,49–1,09
IOD/UEW	1,16–1,58	1,01–1,23	1,11	0,91–1,39
FeL/SVL	0,48–0,49	0,45–0,46	0,44	0,34–0,51
FLL/SVL	0,21–0,23	0,19–0,19	0,16	0,19–0,54
HAL/SVL	0,55–0,58	0,49–0,53	0,50	0,39–0,56
FoL/SVL	0,68–0,69	0,58–0,60	0,64	0,54–0,74
TbL/SVL	0,49–0,49	0,47–0,50	0,46	0,34–0,55
TbL/TbW	6,06–6,39	3,79–4,61	4,21	2,85–4,84

**Phụ lục T2:** Chỉ số đo loài Éch cây sần khô

<b>Chỉ số (mm)</b>	♂ (n=1)	♀ (n=1)	<b>Chỉ số (mm)</b>	♂ (n=1)	♀ (n=1)
SVL	52,20	59,40	TYD	3,70	4,00
HW	19,70	20,70	TYE	2,40	2,60
HL	19,70	21,50	FLL	13,20	14,70
MN	18,50	19,40	HAL	15,10	19,60
MFE	13,10	14,00	TFL	3,540	5,54
MBE	8,80	8,70	fd3	3,20	4,20
SNL	8,500	9,50	FeL	25,60	27,10
ED	4,60	5,60	TbL	27,30	29,60
UEW	4,50	5,70	TbW	6,00	7,00
IN	3,70	3,60	FoL	25,30	27,20
IOD	6,10	5,50	FTL	25,10	26,90
DAE	10,10	11,80	SNL/SVL	16,30%	16,00%
DPE	16,30	17,70	ED/SNL	54,60%	58,90%
NS	3,00	2,90	TYE/TYD	65,10%	63,60%
EN	6,10	6,20	fd3/TYD	83,10%	76,50%

**Phụ lục T3:** Chỉ số đo các loài thuộc họ Salamandridae

*Paramesotriton deloustali* [=P.de], *Paramesotriton quangxiensis* [=P.gu], *Tylototriton sparreboomi* [=T.sp], *Tylototriton vietnamensis* [=T.vi], *Tylototriton zieglerei* [=T.zi]

Tên khoa học	<i>P.de</i>		<i>P.gu</i>		<i>T.sp</i>	<i>T.vi</i>	<i>T.zi</i>
Giới tính	♂ (n=14)	♀ (n=10)	♂ (n=8)	♀ (n=9)	♂ (n=15)	♂ (n=13)	♂ (n=17)
Mass	18,8–32,5	15,3–38,7	10,3–21,5	14,4–21,5	7,3–11,8	7,5–11,5	7,4–14,2
SVL	77,3–91,4	70,4–95,2	70,6–81,8	77,6–83,7	60,1–77,7	59,0–68,7	66,6–74,5
TL	61,9–87,2	69,9–102,0	62,3–72,7	71,9–80,5	50,2–77,8	62,9–76,3	66,7–85,1
L	5,9–10,9	6,8–10,3	7,4–25,0	7,0–10,3	7,0–11,0	6,8–9,1	5,9–10,8
HL	23,2–30,1	23,4–29,8	19,3–25,6	23,7–26,3	18,1–21,2	17,1–19,8	18,9–21,8
HW	17,9–23,4	18,2–23,4	16,3–19,9	16,7–19,2	15,5–19,1	16,3–18,6	15,7–19,3
HH	9,1–11,8	9,0–113,6	7,9–10,7	8,4–10,3	6,2–10,8	6,2–7,7	6,2–8,0
MW	15,9–21,1	17,1–23,1	15,4–17,6	16,4–19,0	14,4–17,0	14,0–15,3	14,6–16,6
JL	14,9–17,9	12,7–18,2	13,1–15,4	12,7–15,0	10,6–13,7	11,0–13,0	12,5–14,5
SE	6,4–9,5	6,8–9,7	7,3–8,4	7,3–8,6	3,9–6,3	4,6–5,5	4,9–7,0
EE	3,3–5,8	4,1–5,5	4,6–5,0	4,2–5,6	3,1–4,3	3,1–3,9	3,5–4,7
OD	11,8–15,6	13,6–17,9	10,8–13,8	12,3–14,8	10,7–13,0	9,8–12,1	10,6–13,8
ED	10,3–13,7	10,0–13,8	9,7–11,4	10,2–16,2	8,0–9,9	8,7–10,1	9,0–10,6
Fol	23,1–30,8	18,9–30,7	21,3–24,9	23,4–27,2	20,1–24,9	19,6–25,2	21,0–25,1
Hil	22,8–29,7	23,5–31,8	22,3–26,9	23,5–28,9	19,4–22,8	20,3–25,4	20,6–25,0
AG	39,8–51,9	38,4–51,5	37,2–42,4	38,4–48,3	34,6–41,1	35,3–41,9	35,1–43,6

**Phụ lục T4:** Thông tin các mẫu thuộc họ Cóc tía, Cóc mắt, Éch cây và Cá cóc.

STT	Mã mẫu	Giới tính	Địa điểm lưu giữ	Ghi chú
<i>Bombina microdeladigitora</i>				
1	TĐ.LC.2020.175	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
2	TĐ.LC.2020.177	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
3	TĐ.LC.2020.178	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
4	TĐ.LC.2020.174	♀	IEBR	Mẫu lưu giữ
5	TĐ.LC.2020.176	♀	IEBR	Mẫu lưu giữ
6	VNMN.06723	♀	VNMN	Mẫu lưu giữ
7	VNMN.06716	♀	VNMN	Mẫu lưu giữ
8	VNMN.06717	♀	VNMN	Mẫu lưu giữ
9	VNMN.06718	♀	VNMN	Mẫu lưu giữ
10	VNMN.06250	♀	VNMN	Mẫu lưu giữ
11	VNMN.06710	♀	VNMN	Mẫu lưu giữ
12	VNMN. 06247	♂	VNMN	Mẫu lưu giữ
13	VNMN. 06720	♂	VNMN	Mẫu lưu giữ
14	VNMN. 06243	♂	VNMN	Mẫu lưu giữ
15	VNMN. 06242	♂	VNMN	Mẫu lưu giữ
16	VNMN. 06725	♂	VNMN	Mẫu lưu giữ
17	VNMN. 06246	♂	VNMN	Mẫu lưu giữ
<i>Leptobranchella nahangensis</i>				
18	HG.2019.1	♀	IEBR	Mẫu thực địa
19	HG.2019.80	♀	IEBR	Mẫu thực địa
<i>Leptobranchella nyx</i>				
20	HG.2019.5	♂	IEBR	Mẫu thực địa
21	HG.2019.12	♂	IEBR	Mẫu thực địa
22	HG.2019.4	♂	IEBR	Mẫu thực địa
23	HG.2019.11	♂	IEBR	Mẫu thực địa
24	HG.2019.2	♂	IEBR	Mẫu thực địa
25	HG.2019.3	♂	IEBR	Mẫu thực địa
<i>Leptobranchella sungi</i>				
26	HG.2019.79	♂	IEBR	Mẫu thực địa
27	HG.2019.100	♂	IEBR	Mẫu thực địa
<i>Leptobranchium ailaonicum</i>				
28	TĐ.LC.2020.88	♂	IEBR	Mẫu thực địa
29	TĐ.LC.2020.89	♂	IEBR	Mẫu thực địa
30	TĐ.LC.2020.90	♂	IEBR	Mẫu thực địa
<i>Megophrys caobangensis</i>				
31	CB.2020.124	♂	IEBR	Mẫu thực địa
32	CB.2020.100	♂	IEBR	Mẫu thực địa
33	CB.2020.102	♂	IEBR	Mẫu thực địa
34	CB.2020.103	♂	IEBR	Mẫu thực địa

STT	Mã mẫu	Giới tính	Địa điểm lưu giữ	Ghi chú
35	CB.2020.101	♂	IEBR	Mẫu thực địa
	<i>Megophrys feae</i>			
36	Cb.2020.107	♂	IEBR	Mẫu thực địa
37	Cb.2020.104	♂	IEBR	Mẫu thực địa
38	Cb.2020.105	♂	IEBR	Mẫu thực địa
39	Cb.2020.106	♂	IEBR	Mẫu thực địa
	<i>Megophrys gerti</i>			
40	CYS.2012.3	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
41	CYS.2012.18	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
	<i>Megophrys gigantea</i>			
42	TĐ.LC.2020.64	♂	IEBR	Mẫu thực địa
43	TĐ.LC.2020.87	♂	IEBR	Mẫu thực địa
44	KKK.2012.25	♀	IEBR	Mẫu lưu giữ
	<i>Megophrys hansii</i>			
45	KKK.2012.32	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
46	KKK.2012.75	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
47	VN.2018.099	♂	IEBR	Mẫu thực địa
48	VN.2018.015	♂	IEBR	Mẫu thực địa
49	VN.2018.014	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
50	VNMN.03613	♀	IEBR	Mẫu lưu giữ
51	VNMN.03612	♀	IEBR	Mẫu lưu giữ
	<i>Megophrys jingdongensis</i>			
52	YTY.2018.12	♂	IEBR	Mẫu thực địa
53	VNMN.1480	♂	VNMN	Mẫu thực địa
54	TĐ.LC.2020.21	♂	IEBR	Mẫu thực địa
55	TĐ.LC.2020. 22	♂	IEBR	Mẫu thực địa
	<i>Megophrys maosonensis</i>			
56	VP.2017.5	♂	IEBR	Mẫu thực địa
57	KBS.07120434	♀	VNMN	Mẫu thực địa
58	TĐ.2014.01	♀	VNMN	Mẫu thực địa
59	TAO.823	♂	VNMN	Mẫu thực địa
60	VNMN.1479	♀	VNMN	Mẫu thực địa
61	NAP.05527	♂	VNMN	Mẫu lưu giữ
62	NAP.05526	♂	VNMN	Mẫu lưu giữ
63	NAP.05765	♂	VNMN	Mẫu lưu giữ
	<i>Megophrys microstoma</i>			
64	VNMN.08000	♂	VNMN	Mẫu thực địa
65	VNMN.07901	♂	VNMN	Mẫu thực địa
66	LO.237	♀	VNMN	Mẫu thực địa
67	VNMN.06928	♀	VNMN	Mẫu thực địa
68	VNMN. 010052	♂	VNMN	Mẫu lưu giữ
69	VNMN.06969	♀	VNMN	Mẫu lưu giữ

STT	Mã mẫu	Giới tính	Địa điểm lưu giữ	Ghi chú
<i>Megophrys rubrimera</i>				
70	TĐ.LC.2020.49	♂	IEBR	Mẫu thực địa
71	TĐ.LC.2020.19	♂	IEBR	Mẫu thực địa
72	TĐ.LC.2020.68	♀	IEBR	Mẫu thực địa
73	YTY.2018.1	♂	IEBR	Mẫu thực địa
74	YTY.2018.2	♂	IEBR	Mẫu thực địa
<i>Chirixalus nongkhorensis</i>				
75	ĐN.2020.166	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
76	ĐN.2020.59	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
77	ĐN.2020.164	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
78	ĐN.2020.62	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
79	ĐN.2020.66	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
<i>Gracixalus gracilipes</i>				
80	SH.LC.2020.73	♂	IEBR	Mẫu thực địa
81	SH.LC.2020.76	♂	IEBR	Mẫu thực địa
82	SH.LC.2020.75	♀	IEBR	Mẫu thực địa
83	CB.2020.78	♂	IEBR	Mẫu thực địa
<i>Gracixalus jinxiuensis</i>				
84	TĐ.LC.2020.74	♂	IEBR	Mẫu thực địa
85	TĐ.LC.2020.36	♂	IEBR	Mẫu thực địa
<i>Gracixalus cf. sapaensis</i>				
86	TĐ.LC.2020.20	♂	IEBR	Mẫu thực địa
87	TĐ.LC.2020.35	♂	IEBR	Mẫu thực địa
<i>Kurixalus bisacculus</i>				
88	SH.LC.2020.39	♂	IEBR	Mẫu thực địa
89	SH.LC.2020.18	♂	IEBR	Mẫu thực địa
90	SH.LC.2020.22	♂	IEBR	Mẫu thực địa
91	SH.LC.2020.17	♂	IEBR	Mẫu thực địa
92	SH.LC.2020.23	♂	IEBR	Mẫu thực địa
93	SH.LC.2020.16	♂	IEBR	Mẫu thực địa
94	SH.LC.2020.38	♀	IEBR	Mẫu thực địa
95	SH.LC.2020.39	♀	IEBR	Mẫu thực địa
96	SH.LC.2020.15	♀	IEBR	Mẫu thực địa
97	SH.LC.2020.20	♀	IEBR	Mẫu thực địa
98	SH.LC.2020.21	♀	IEBR	Mẫu thực địa
99	SH.LC.2020.19	♀	IEBR	Mẫu thực địa
<i>Kurixalus hainanus</i>				
100	CB.2020.85	♂	IEBR	Mẫu thực địa
101	CB.2020.83	♂	IEBR	Mẫu thực địa
102	CB.2020.86	♂	IEBR	Mẫu thực địa
103	CB.2020.84	♂	IEBR	Mẫu thực địa
104	CB.2020.82	♂	IEBR	Mẫu thực địa



STT	Mã mẫu	Giới tính	Địa điểm lưu giữ	Ghi chú
105	CB.2020.81	♂	IEBR	Mẫu thực địa
106	TK.CB.2019.35	♂	IEBR	Mẫu thực địa
107	TK.CB.2019.26	♂	IEBR	Mẫu thực địa
108	TK.CB.2019.27	♂	IEBR	Mẫu thực địa
109	TK.CB.2019.49	♂	IEBR	Mẫu thực địa
110	TK.CB.2019.48	♂	IEBR	Mẫu thực địa
111	PO.2018.16	♂	VNMN	Mẫu thực địa
112	HG.2019.39	♂	IEBR	Mẫu thực địa
113	HG.2019.54	♂	IEBR	
<i>Polypedates megacephalus</i>				
114	TK.CB.2019.63	♂	IEBR	Mẫu thực địa
115	TK.CB.2019.2	♂	IEBR	Mẫu thực địa
116	TK.CB.2019.10	♀	IEBR	Mẫu thực địa
117	HG.2019.32	♂	IEBR	Mẫu thực địa
118	HG.2019.36	♂	IEBR	Mẫu thực địa
<i>Polypedates mutus</i>				
119	TK.CB.2019.11	♂	IEBR	Mẫu thực địa
120	TK.CB.2019.12	♂	IEBR	Mẫu thực địa
121	TK.CB.2019.13	♂	IEBR	Mẫu thực địa
<i>Raorchestes parvulus</i>				
122	TĐ.LC.2020.126	♂	IEBR	Mẫu thực địa
123	TĐ.LC.2020.144	♂	IEBR	Mẫu thực địa
124	TĐ.LC.2020.145	♂	IEBR	Mẫu thực địa
125	CB.2020.53	♂	IEBR	Mẫu thực địa
126	CB.2020.60	♂	IEBR	Mẫu thực địa
127	CB.2020.55	♂	IEBR	Mẫu thực địa
128	CB.2020.59	♂	IEBR	Mẫu thực địa
129	CB.2020.57	♂	IEBR	Mẫu thực địa
130	CB.2020.51	♂	IEBR	Mẫu thực địa
131	CB.2020.56	♂	IEBR	Mẫu thực địa
132	CB.2020.52	♂	IEBR	Mẫu thực địa
133	CB.2020.54	♂	IEBR	Mẫu thực địa
134	CB.2020.35	♂	IEBR	Mẫu thực địa
135	PO.2018.58	♂	VNMN	Mẫu thực địa
<i>Rhacophorus annamensis</i>				
136	ĐN.2020.20	♂	IEBR	Mẫu thực địa
<i>Rhacophorus helenae</i>				
137	ĐN.2020.177	♂	IEBR	Mẫu thực địa
138	ĐN.2020.172	♂	IEBR	Mẫu thực địa
139	ĐN.2020.179	♂	IEBR	Mẫu thực địa
140	ĐN.2020.176	♂	IEBR	Mẫu thực địa
<i>Rhacophorus kio</i>				

STT	Mã mẫu	Giới tính	Địa điểm lưu giữ	Ghi chú
141	TK.CB.2019.43	♂	IEBR	Mẫu thực địa
142	TK.CB.2019.47	♂	IEBR	Mẫu thực địa
143	TK.CB.2019.42	♂	IEBR	Mẫu thực địa
144	TK.CB.2019.44	♂	IEBR	Mẫu thực địa
145	TK.CB.2019.46	♂	IEBR	Mẫu thực địa
146	TK.CB.2019.45	♂	IEBR	Mẫu thực địa
147	BK.2020.24	♂	IEBR	Mẫu thực địa
148	BK.2020.26	♂	IEBR	Mẫu thực địa
149	BK.2020.25	♂	IEBR	Mẫu thực địa
<i>Rhacophorus orlovi</i>				
150	HG.2019.64		IEBR	Mẫu thực địa
151	BK.2020.07		IEBR	Mẫu thực địa
152	BK.2020.08		IEBR	Mẫu thực địa
153	BK.2020.63		IEBR	Mẫu thực địa
<i>Rhacophorus rhodopus</i>				
154	SH.LC.2020.81	♂	IEBR	Mẫu thực địa
155	SH.LC.2020.80	♂	IEBR	Mẫu thực địa
156	SH.LC.2020.82	♂	IEBR	Mẫu thực địa
157	SH.LC.2020.78	♀	IEBR	Mẫu thực địa
158	SH.LC.2020.79	♀	IEBR	Mẫu thực địa
159	PO.2018.30	♂	VNMN	Mẫu thực địa
160	CB.2020.12	♂	IEBR	Mẫu thực địa
161	CB.2020.58	♂	IEBR	Mẫu thực địa
<i>Zhangixalus dorsovireidis</i>				
162	SH.LC.2020.72	♂	IEBR	Mẫu thực địa
163	SH.LC.2020.71	♀	IEBR	Mẫu thực địa
<i>Zhangixalus duboisi</i>				
164	Sh.LC.2020.83	♂	IEBR	Mẫu thực địa
165	Sh.LC.2020.84	♂	IEBR	Mẫu thực địa
<i>Zhangixalus feae</i>				
166	SH.LC.2020.31	♂	IEBR	Mẫu thực địa
167	TĐ.LC.2020.27	♂	IEBR	Mẫu thực địa
<i>Zhangixalus pachyproctus</i>				
168	BK.2020.50	♂	IEBR	Mẫu thực địa
<i>Zhangixalus puerensis</i>				
169	TĐ.LC.2020.56	♂	IEBR	Mẫu thực địa
170	TĐ.LC.2020.57	♂	IEBR	Mẫu thực địa
171	TĐ.LC.2020.58	♂	IEBR	Mẫu thực địa
172	CB.2015.15	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
173	WAR.CB.22	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
174	WAR.CB.21	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
<i>Paramesotriton deloustali</i>				

STT	Mã mẫu	Giới tính	Địa điểm lưu giữ	Ghi chú
175	SL.2017.1	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
176	SL.2017.4	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
177	SL.2017	♀	IEBR	Mẫu lưu giữ
178	SL.2017.2	♀	IEBR	Mẫu lưu giữ
<i>Paramesotriton quangxiensis</i>				
179	PD.1	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
180	PD.2	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
181	PD.4	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
182	PD.5	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
183	PD.10	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
184	PD.14	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
185	PD.15	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
186	PD.17	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
187	PD.3	♀	IEBR	Mẫu lưu giữ
188	PD.6	♀	IEBR	Mẫu lưu giữ
189	PD.7	♀	IEBR	Mẫu lưu giữ
190	PD.8	♀	IEBR	Mẫu lưu giữ
191	PD.9	♀	IEBR	Mẫu lưu giữ
192	PD.11	♀	IEBR	Mẫu lưu giữ
193	PD.12	♀	IEBR	Mẫu lưu giữ
194	PD.13	♀	IEBR	Mẫu lưu giữ
195	PD.16	♀	IEBR	Mẫu lưu giữ
<i>Tylototriton anguliceps</i>				
196	ML.55.LC	♀	IEBR	Mẫu lưu giữ
197	ML.SL.58	♀	IEBR	Mẫu lưu giữ
198	ML.SL.80	♀	IEBR	Mẫu lưu giữ
<i>Tylototriton sparreboomi</i>				
199	LC.2015.3	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
200	ML.53.LC	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
201	LC.2015.5	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
202	SH.LC.2022.92	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
203	SH.LC.2020	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
204	SH.LC.2020.91	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
<i>Tylototriton vietnamensis</i>				
205	SD.1	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
206	SD.2	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
207	SD.3	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
208	SD.4	♀	IEBR	Mẫu lưu giữ
209	SD.5	♀	IEBR	Mẫu lưu giữ
<i>Tylototriton zieglerei</i>				
210	TQ 2018.93	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
211	TQ 2018.91	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ

STT	Mã mẫu	Giới tính	Địa điểm lưu giữ	Ghi chú
212	TQ.2018.92	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
213	CB.2020.76	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
214	CB.2016.88	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
215	CB.2020.75	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
216	CB.2020.77	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
217	CB.2016.86	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
218	HG 1/15	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
219	CB.2016.78	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
220	QB-HG2013.1	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
221	HG20.4.51	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
222	BL.CB	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
223	QB.HG	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
224	BL.CB	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
225	HG2014.45	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
226	BL.CB	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
227	BL-CBANG	♀	IEBR	Mẫu lưu giữ
228	BL-CB 07/13	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
	<i>Tylototriton pasmansi</i>			
229	JJLR01195	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
230	VNMN03015	♂	VNMN	Mẫu lưu giữ
232	VNMN03014	♂	VNMN	Mẫu lưu giữ
232	JJLR01194	♂	IEBR	Mẫu lưu giữ
233	VNMN012757	♂	VNMN	Mẫu lưu giữ
234	VNMN012758	♀	VNMN	Mẫu lưu giữ

## MỘT SỐ HÌNH ẢNH TRONG QUÁ TRÌNH NGHIÊN CỨU



**Hình F1:** Một số hình ảnh khảo sát thực địa tại vùng nghiên cứu. (A) Tam Đường, Lai Châu; (B) Tràng Định, Lạng Sơn; (C) Vịnh Hạ Long, Quảng Ninh; (D) Quán Bạ, Hà Giang; (E) Mê Linh, Vĩnh Phúc. Ảnh chụp: Tập thể đồng nghiệp.



**Hình F2.** Sinh cảnh một số loài: (A) *Bombina microdeladigitora*, Lào Cai; (B) *Leptobranchella nahangensis*, Hà Giang; (C) *Tylototriton zieglerei*, Cao Bằng; (D) *Theلودerma khoii*, Hà Giang; (E) *Leptobranchium ailaonicum*, Lai Châu; (F) *Tylototriton vietnamensis*, Bắc Giang. Ảnh chụp: (A, B, D, E) Nguyễn Văn Thịnh, (C, F) Ngô Ngọc Hải.



**Hình F3.** Hình ảnh tác động đến môi trường: (A) Chặt phá rừng tại Hà Giang; (B) Chăn thả gia súc tại Lào Cai; (C) Sử dụng đất rừng làm ruộng bậc thang tại Lai Châu; (D) Cháy rừng tại Sơn La; (E) Khai thác gỗ trái phép tại Yên Bái; (F) Làm đường tại Quảng Ninh. Ảnh chụp: (A, B, C, D) Ngô Ngọc Hải, (E, F) Nguyễn Quốc Huy.



**Hình F4:** Hình ảnh thu mẫu thực địa và phân tích trong phòng thí nghiệm: (A) Đo pH nước tại điểm thu mẫu; (B) Thu mẫu nấm ngoài thực địa; (C) Tủ lưu trữ mẫu nghiên cứu; (D, E, F) Phân tích trong phòng thí nghiệm. Ảnh chụp: Nguyễn Quốc Huy, Ninh Thị Hòa, Nguyễn Văn Thịnh.