

**SỰ PHÁT TRIỂN NÒNG NỌC VÀ ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI LOÀI ẾCH NHỎ (*Limnonectes bannaensis* YE, FEI, XIE, JIANG, 2007) TRONG ĐIỀU KIỆN NUÔI Ở NGHỆ AN**

Cao Tiên Trung<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Thảo<sup>2</sup> và Đỗ Văn Thoại<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Viện Công nghệ Hóa Sinh – Môi trường, Đại học Vinh

<sup>2</sup>Viện Sư phạm tự nhiên, Đại học Vinh

<sup>3</sup>Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Đỗ Văn Thoại (email: [thoaidvbio@gmail.com](mailto:thoaidvbio@gmail.com))

**Thông tin chung:**

Ngày nhận bài: 19/08/2019

Ngày nhận bài sửa: 26/11/2019

Ngày duyệt đăng: 28/02/2020

**Title:**

Tadpoles Development and metamorphosis of the species *banna large-headed frog Limnonectes bannaensis* Ye, Fei, Xie, Jiang, 2007 in Nghe An province

**Từ khóa:**

Hình thái, *Limnonectes bannaensis*, Nghệ An, nòng nọc

**Keywords:**

*Dicroglossidae*, *Limnonectes*, Nghệ An, Tadpole, Vietnam

**ABSTRACT**

This study was conducted to investigate the development and metamorphosis of the tadpoles of the species *Limnonectes bannaensis* in captivity in Nghe An. Adult individuals were captured breeding in pairs to reproduce and then the development of tadpoles was monitored. The tadpoles of species *L. bannaensis* in Nghe An have the identifiable characteristics: body in medium size, elliptical in dorsal view, flattened above and below, eyes in medium size, small nostrils, mouth position below or anterior below, papillea on lower lip and laterals, upper lip without papillea, LTRF I(1+1)/(1+1)II, single spiracle opening on left side, the head and body are yellow gray, tail with 4 to 5 horizontal black streaks. Tadpoles in captivity take from 70 to 72 days to complete metamorphosis, the embryo period from stage 1 to 19 has the shortest time (231 hours), the larval period from stage 26 to 40 has the longest time (527 hours).

**TÓM TẮT**

Nghiên cứu được thực hiện để tìm hiểu sự phát triển, biến thái nòng nọc của loài *Limnonectes bannaensis* trong điều kiện nuôi ở Nghệ An. Các cá thể trưởng thành được nuôi theo cặp để sinh sản, sau đó theo dõi sự phát triển của nòng nọc. Nòng nọc loài *L. bannaensis* ở Nghệ An có đặc điểm nhận dạng: thân trung bình, hình elip khi nhìn từ phía trên, dẹp theo hướng trên dưới, mắt trung bình, lỗ mũi nhỏ, miệng dưới hoặc gần trước dưới, ở mép có một hàng gai thịt, môi dưới có hai hàng gai thịt, môi trên không có gai thịt, LTRF I(1+1)/(1+1)II, lỗ thở dạng đơn nằm bên trái, đầu và thân có màu vàng xám, đuôi có từ 4 đến 5 vạch đen vắt ngang. Quá trình biến thái của nòng nọc trong điều kiện nuôi kéo dài từ 70 – 72 ngày, thời kì phôi từ giai đoạn 1 đến 19 có thời gian biến thái ngắn nhất (231 giờ), thời kì ấu trùng từ giai đoạn 26 đến 40 có thời gian biến thái dài nhất (527 giờ).

Trích dẫn: Cao Tiên Trung, Nguyễn Thị Thảo và Đỗ Văn Thoại, 2020. Sự phát triển nòng nọc và đặc điểm hình thái loài ếch nhỏ (*Limnonectes bannaensis* Ye, Fei, Xie, Jiang, 2007) trong điều kiện nuôi ở Nghệ An. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 56(1A): 58-68.

## 1 GIỚI THIỆU

Giống *Limnectes* Fitzinger, 1843 được ghi nhận phân bố từ miền Nam và Đông Trung Quốc xuống khu vực Đông Dương đến Timor và New Guinea, phía Nam Nhật Bản và Philippines với tổng số 74 loài, trong đó Việt Nam ghi nhận 12 loài (Frost, 2019). *Limnectes kuhlii* complex là một nhóm phức tạp, phân bố ở nhiều địa phương (McLeod *et al.*, 2010; McLeod, 2015; Frost, 2019). Các nghiên cứu trong thời gian gần đây đã đưa ra nhận xét, tu chỉnh và tách nhiều loài mới từ nhóm này: *L. megastomias* (McLeod, 2008), *L. jarujini* và *L. taylori* (Matsui *et al.*, 2010), *L. sisikgagu* (McLeod *et al.*, 2011), *L. isanensis* (McLeod *et al.*, 2012), *L. deinodon* (Dehling, 2014), *L. larvaepartus* (Iskandar *et al.*, 2014), *L. hikidai* (Matsui and Nishikawa, 2014), *L. utara* và *L. selatan* (Matsui *et al.*, 2014a), *L. cintalubang* (Matsui *et al.*, 2014b), *L. sinuatodorsalis* (Matsui, 2015), *L. nguyendorum* (McLeod *et al.*, 2015), *L. longchuanensis* (Suwannapoom *et al.*, 2016), *L. kong* (Dehling and Dehling, 2017), *L. quangninhensis* (Pham *et al.*, 2017b) và *L. kiziriani* (Pham *et al.*, 2018). Trước năm 2007, loài *L. bannaensis* được xác định là *L. kuhlii* – một loài có vùng phân bố rộng, sau này được xác định lại là *L. bannaensis* (Ye *et al.*, 2007) phân bố ở Vân Nam, Tây Nam và Quảng Tây, Trung Quốc, kéo dài tới Lào và Việt Nam (McLeod, 2015; Frost, 2019). Ở Việt Nam, loài *L. bannaensis* được ghi nhận phân bố ở một số tỉnh phía Bắc (Gawor *et al.*, 2016; Pham *et al.*, 2017a).

Loài *L. kuhlii* được mô tả nòng nọc lần đầu tiên bởi Bourret (1942) với các đặc điểm: dài thân bằng 1,5 lần rộng thân, lỗ thở đơn bên trái, miệng nhỏ phía dưới, gai thịt ở hai bên mép và môi dưới, LTRF I(1+1)/(1+1)II. Một số loài mới khi tách ra từ nhóm *L. kuhlii* complex như *L. bannaensis* (Ye *et al.*, 2007), *L. megastomias* (McLeod, 2008), *L. utara* và *L. selatan* (Matsui *et al.*, 2014a), *L. larvaepartus* (Iskandar *et al.*, 2014; Kusriani *et al.*, 2015) đã được tác giả mô tả nòng nọc với đặc điểm nhận dạng chung là thân dạng hình elip khi nhìn từ trên xuống, dẹp theo hướng trên dưới, miệng dưới hoặc trước dưới, công thức răng sừng I(1+1)/(1+1)II (trừ loài *L. larvaepartus*), gai thịt viền hai bên mép và môi dưới. Ngoài ra, nòng nọc một số loài lưỡng cư giống *Limnectes* Fitzinger, 1843 cũng đã được mô tả như *L. nitidus* (Long and Lim, 2003), *L. dabanus* (Rowley *et al.*, 2014), *L. isanensis* (Ampai *et al.*, 2015). Tuy nhiên những nghiên cứu này chỉ dừng lại việc mô tả đặc điểm nhận dạng nòng nọc mà chưa có nghiên cứu về quá trình biến thái.

Bài báo này, mô tả đặc điểm hình thái nòng nọc và quá trình biến thái của loài *L. bannaensis* trong

điều kiện nuôi ở Nghệ An từ giai đoạn trứng đến phát triển thành con non.

## 2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1 Vật liệu nghiên cứu

Tổng số 24 cá thể trưởng thành đã được thu bắt ở khe Choang và khe Búng huyện Con Cuông, tỉnh Nghệ An vào tháng 7 và 12 năm 2013, tháng 4 năm 2014. Mẫu vật sử dụng cho phân tích hình thái (n=14) được gây mê bằng ethyl-acetate (Simmons, 2002), còn 85<sup>0</sup> được sử dụng để cố định hình thái do mẫu vật có kích thước lớn và da nhiều nhớt, sau khi cố định khoảng 5 giờ, mẫu vật được chuyển sang bảo quản bằng cồn 70<sup>0</sup> và lưu giữ tại Phòng Đa dạng sinh học, Trung tâm Thực hành Thí nghiệm, Đại học Vinh.

Mẫu vật nòng nọc thu thập từ ngoài tự nhiên (n=16) và trong nuôi (n=64) được cố định và bảo quản trong hỗn hợp cồn 70% và formalin 10% (tỉ lệ 1:1) (Inthara *et al.*, 2009) để phân tích hình thái.

Hai mẫu cơ để phân tích ADN được lấy từ hai cá thể nòng nọc gồm: cá thể từ tự nhiên (TDVT0061) và cá thể từ môi trường nuôi (TDVT0062). Các mẫu cơ được bảo quản bằng cồn 70% trong ống nhựa 2 mL có nắp đậy, lưu giữ trong ngăn đá của tủ lạnh.

### 2.2 Bố trí nuôi

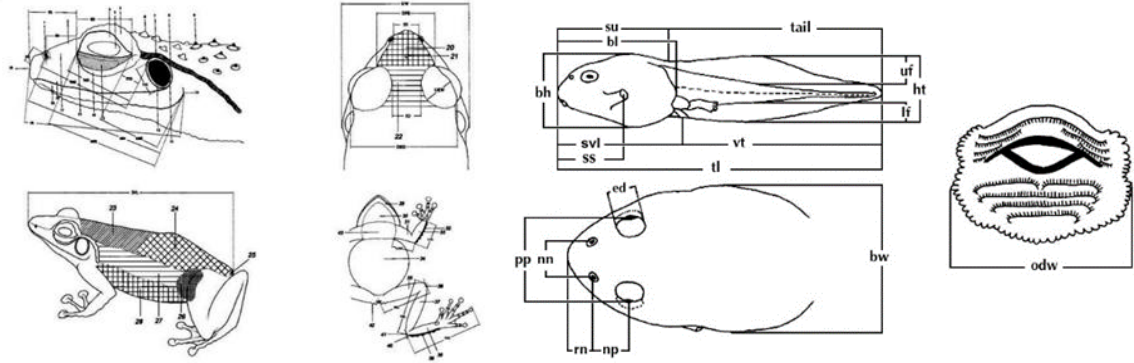
Bố trí nuôi 5 cặp ếch bố mẹ trong các bể nuôi được thiết kế dựa theo Lê Vũ Khôi *et al.* (2009). Bể nuôi kích thước 150 cm x 100 cm x 80 cm, phía trên phủ lưới (kích thước mắt lưới 1 cm) để cho ánh sáng xuyên qua, thuận tiện cho quá trình theo dõi và ngăn ếch thoát ra ngoài; đá cuội, cát lấy từ sông, cây môn ngứa, dương xỉ được bố trí bên trong bể nuôi; hai máy bơm RS Electrical 25W đối xứng để tạo dòng nước chảy, hỗ trợ việc lọc và thay thảo nước; các bể nuôi đặt bên trong nhà, có đèn, quạt trần và bể nước dự trữ. Thức ăn sử dụng trong nuôi nhốt gồm: cua đồng (*Somanniathelphusa* sp.), dế mèn (*Acheta* sp.) và sâu sấu (*Tenebrio* sp.). Trong quá trình nuôi từ năm 2014 đến 2016, ba cặp ếch bố mẹ đã sinh sản, trứng ếch đã được thu vớt và ấp nở thành nòng nọc. Nòng nọc bố trí nuôi dựa theo Ziegler *et al.* (2016). Thức ăn sử dụng trong quá trình nuôi là lòng đỏ trứng gà nấu chín và bột cá nấu chín.

### 2.3 Phân tích hình thái

Các chỉ tiêu hình thái được đo bằng thước kẹp điện tử hiện số sai số 0,01mm, các chỉ tiêu hình thái nhỏ được đo với sự hỗ trợ của kính hiển vi soi nổi Meiji EMZ-5. Cách đo dựa theo Pham *et al.* (2018) và tham khảo Manamendra-Arachchi and Pethiyagoda (2005), các chỉ số hình thái gồm: **SLV**: Dài thân; **HL**: Dài đầu; **HW**: Rộng đầu; **MN**: Khoảng cách hàm dưới đến mũi; **MFE**: Khoảng

cách hàm dưới đến trước mắt; **MBE**: Khoảng cách hàm dưới đến sau mắt; **IND**: Gian mũi; **EN**: Khoảng cách trước mắt đến mũi; **ED**: Dài mắt; **NS**: Khoảng cách mũi đến mút mõm; **RL**: Dài mõm; **IOD**: Gian mắt; **UEW**: Rộng mí mắt; **PAL**: Dài bàn tay; **UAL**: Dài ống tay; **LAL**: Dài cánh tay; **FeL**: Dài đùi; **TbL**:

Dài ống chân; **TbW**: Rộng ống chân; **FoL**: Dài bàn chân; **TL4**: Dài ngón IV chi sau; **IMT**: Dài củ bàn trong chi sau. Mô tả màng bơi theo Glaw and Vences (2007). Xác định giới tính bằng giải phẫu ổ bụng.



**Hình 1:** Cách đo hình thái lưỡng cư trưởng thành (*Manamendra-Arachchi and Pethiyagoda, 2005*) và đo hình thái nòng nọc lưỡng cư (*Grossjean, 2001*)

Các chỉ số hình thái nòng nọc theo Grossjean (2001) gồm: **bl**: Dài thân; **bh**: Cao thân; **bw**: Rộng thân; **ed**: Đường kính mắt; **ht**: Cao đuôi; **lf**: Chiều cao nếp dưới vây đuôi; **nn**: Gian mũi; **np**: Khoảng cách mắt - mũi; **odw**: Rộng đĩa miệng; **pp**: Gian mắt; **rn**: Khoảng cách mũi - mõm; **ss**: Khoảng cách lỗ thở - mõm; **su**: Khoảng cách mút mõm - nếp trên vây đuôi; **tl**: Chiều dài từ mút mõm - mút đuôi; **tail**: Chiều dài đuôi; **uf**: Chiều cao nếp trên vây đuôi; **vt**: Chiều dài bụng - mút đuôi; **tmh**: Chiều cao cơ đuôi; **tmw**: Chiều dày đuôi; **fl**: Dài chi trước; **hl**: Dài chi sau; **SVL**: Chiều dài mõm - lỗ mở hậu môn. Xác định các giai đoạn phát triển và mô tả nòng nọc theo Gosner (1960), công thức răng sừng (**LTRF**) của nòng nọc theo Dubois (1995), các thuật ngữ về hình thái nòng nọc theo Altig and McDiarmid (1999).

### 2.4 Sinh học phân tử

Thực hiện tách chiết ADN hệ gen từ mẫu cơ của hai cá thể nòng nọc (TDVT0061 và TDVT0062) bằng Kit DNeasy Blood & Tissue (Hãng Qiagen, Đức), quy trình thực hiện theo hướng dẫn của hãng. Sản phẩm tách chiết ADN hệ gen được sử dụng để thực hiện PCR bằng cặp mồi chung *16S* cho lưỡng cư (Mồi xuôi *16SAR-L*: 5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3' và mồi ngược *16SBR-H*: 5'-CCGGTCTGAACTCAGATCACGT-3') (Rockney *et al.*, 2015). PCR được thực hiện trong tổng thể tích 25  $\mu$ L (micro lít) gồm 12,5  $\mu$ L MyTaq Mix 2x (Bioline, Mỹ), 1,5  $\mu$ L mồi (nồng độ 10 micro mol), nước và 50 nano gam ADN mẫu. Phân

ứng thực hiện trong sáu bước: 95 $^{\circ}$ C, 4'; 2: 94 $^{\circ}$ C, 45"; 3: 55 $^{\circ}$ C, 30"; 4: 72 $^{\circ}$ C, 1.5'; 5: 72 $^{\circ}$ C, 6'; 6: 4 $^{\circ}$ C, 60'; bước hai, ba và bốn lặp lại 35 chu kỳ. Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng điện di trong gel agarose 1,2% với dòng điện 100V trong 40'. Quy trình được thực hiện tại Phòng thí nghiệm Công nghệ sinh học, Trung tâm Thực hành Thí nghiệm, Đại học Vinh

Trình tự nucleotide trong gen nghiên cứu của mẫu vật được giải tự động (Công ty Macrogen, Địa chỉ: 10F, 254 Beotkot-ro Geumcheongu, Seoul 08511, Rep. Of Korea), sau đó so sánh với các trình tự nucleotides tương ứng trên Ngân hàng gen thông qua chương trình Blast.

## 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1 Kết quả sinh học phân tử

Kết quả phân tích sinh học phân tử dựa trên việc khuếch đại 0,7 kb vùng gen ti thể *16S rRNA* từ mẫu ADN của hai mẫu vật TDVT0061 thu ở thực địa và TDVT0062 thu trong nuôi nhốt. Sản phẩm sau khi được tinh sạch và giải trình tự thu được trình tự gồm 537 (TDVT0062) và 539 (TDVT0063) cặp base nucleotide (Hình 2).

Trình tự nucleotide của gen *16S RNA* từ hai mẫu vật ở Nghệ An tương đồng rất cao với các trình tự của *L. bannaensis* được công bố trên Ngân hàng gen (Suwannapoom *et al.*, 2016), cho thấy mẫu nòng nọc thu từ tự nhiên và thu từ nuôi ở Nghệ An là loài *L. bannaensis* (Bảng 1).

TDVT0061	Query	7	TAGATTATGAATAAGGTCCAGCCTGCCAGTGATATTAATTTAAACGGCCGCGGTACCCT	66
	Query	67	TGACCGTGCAAAGGTAGCATAATCACTTTGTTCTCTAAATAGGGACTCGTATCAACGGC	126
	Query	127	ATCACGAGGGTTATACTCGTCTCCCCCTCTAATCAGTGAAACTGACCTCCCGTGAAGA	186
	Query	187	GGCGGGGATATTTATACAAGACGAGAAGACCCCATGGAGCTTTAAACCCAATAACAACCT	246
	Query	247	TCACCAAAAACCTTAAAAATGAAGAGGCACTGTTATTGGTTTATAGTTGGGGTGACCA	306
	Query	307	CGGAGAAAACCTAAACCTCCATGACGAAATGGACCTTAAGCCTAATCTAAGAGCCACTACT	366
	Query	367	CCAAGAACTAATAATTGACATAAATTGATCCGGCAACCGATCAACGAACTAAGTTACC	426
	Query	427	TGGGGATAACAGCGCAATCCATTTCAAGAGCCCTATCGACAAATGGGTTTACGACCTCG	486
	Query	487	ATGTTGGATCAGGGTATCCCAGTGGTGCAGCCGCTACTAAAGGTTTGT	535
	TDVT0062	Query	21	GGTCCAGCCTGCCAGTGATATAATTAACGGCCGCGGTACCCTGACCGTGCAAAGGTAG
Query		81	CATAATCACTTGTCTCTAAATAGGGACTCGTATCAACGGCATCACGAGGTTATACGT	140
Query		141	CTCCCCCTCTAATCAGTGAAACTGACCTCCCGTGAAGAGGCGGGGATATTTATACAAG	200
Query		201	ACGAGAAGACCCCATGGAGCTTTAAACCCAATAACAACCTTACCAAAAATACCTTAAAAA	260
Query		261	TGAAGAGGCACTGTTTATTGGTTTAGGTTGGGGTGACCACGGAGAAAACTAAACCTCC	320
Query		321	ATGACGAATGGA-CTTAAGCCTAATCTAAGAGCCACTACTCCAAGAATCATTAATTGAC	379
Query		380	ATAAATTGATCCGGCAACCGATCAACGAACCA-AGTTACCTTGGGGATAACAGCGCAATC	438
Query		439	CATTTCA-AGAGCCCTATCGACA-AATGGGTTTACGACCTCG-ATGTT-GGATC-AGGG	493
Query		494	TATCCC-AGTGGTGC-AGCCGCTACT-AAAGGTTTGTGTTGTTCAACA	537

Hình 2: Trình tự nucleotide gen 16S rRNA mẫu nòng nọc thu ở Nghệ An

Bảng 1: So sánh trình tự nucleotide gen 16S rRNA mẫu nòng nọc ở Nghệ An với các trình tự của loài *L. bannaensis* trên Ngân hàng Gen

Loài	Mã số trình tự	Tỉ lệ % nucleotide được so sánh của mẫu vật		Tỉ lệ % nucleotide trùng lặp của mẫu vật	
		TDVT0061	TDVT0062	TDVT0061	TDVT0062
<i>L. bannaensis</i>	KU599856.1	100%	100%	98.97%	98.80%
<i>L. bannaensis</i>	KU599855.1	100%	100%	98.97%	98.80%
<i>L. bannaensis</i>	KU599854.1	100%	100%	98.97%	98.80%

3.2 Đặc điểm hình thái cá thể trưởng thành

Mô tả hình thái của cá thể trưởng thành loài *L. bannaensis* dựa vào 14 mẫu vật thu ở VQG Pù Mát gồm: sáu cá thể đực ♂♂ (TDV0338, 0340-0342, 0344, 0346) và tám cá thể cái ♀♀ (TDV0334-0337, 0339, 0343, 0345, 0347), các mẫu vật thu ở độ cao 300 m – 600 m (Hình 3).



Hình 3: Mặt bên cá thể trưởng thành loài *L. bannaensis* (TDV0339) ở VQG Pù Mát, Nghệ An

Mẫu vật ở VQG Pù Mát, tỉnh Nghệ An có đặc điểm hình thái phù hợp mô tả của Ye *et al.*, 2007, Gawor *et al.*, 2016, Pham *et al.*, 2017a.

Kích thước trung bình đến lớn, chiều dài thân từ 42,51 – 92,73 mm (SVL: 69,24 mm). Đầu lớn, phía

trên đầu phẳng, dài đầu hơn rộng đầu (HW/HL: 0,94). Dài mõm bằng 1/3 lần dài đầu (RL/HL: 0,33). Lỗ mũi tròn, gần mắt hơn gần mũi (NS/EN: 0,76). Mắt lớn, bằng 0,26 lần dài đầu (ED/HL: 0,26) và bằng 0,28 lần rộng đầu (ED/HW: 0,28). Gian mắt hẹp, nhỏ hơn gian mũi (IOD/IND: 0,83).

Chi trước ngắn, mập, củ khớp dưới ngón tròn, nổi rõ, công thức lồi củ khớp dưới ngón ở chi trước I.1-II.1-III.2-IV.2. Chi trước không có màng bơi. Các ngón tay ngắn, không có đĩa bám, đầu các ngón tù hay tròn, tương quan chiều dài các ngón tay I<II<IV<III. Chi sau ngắn, mập, củ bàn trong dài, không có củ bàn ngoài, củ khớp dưới ngón lồi rõ, công thức lồi củ khớp dưới ngón ở chi sau I.1-II.1-III.2-IV.3-V.2. Các ngón chân ngắn, mắt các ngón hơi phình to, tròn, tương quan chiều dài các ngón chân I<II<III<V<IV. Các ngón chân có màng bơi gần hoàn toàn.

Da trơn, nhẵn (trừ phần ống chân có các nốt sần nhỏ). Nếp da sau màng nhĩ kéo dài từ phía sau mắt qua khu vực màng nhĩ đến phía trên vai. Mí mắt trên có các nốt sần. Khi còn sống, lưng có màu nâu sẫm hoặc nâu vàng đến hơi đỏ, có những vệt màu đen trên lưng và hai bên sườn, một dải màu đen ở gian mắt. Mặt trên chi sau có những vệt màu đen vắt ngang. Mặt bụng và dưới các chi có màu trắng hoặc vàng rất nhạt, ngực và họng có màu trắng xám nhạt, nhiều sọc trắng dọc ở môi trên và môi dưới.

**Bảng 5: Chỉ số hình thái loài *L. bannaensis* ở Nghệ An (kí hiệu do xem phần phương pháp)**

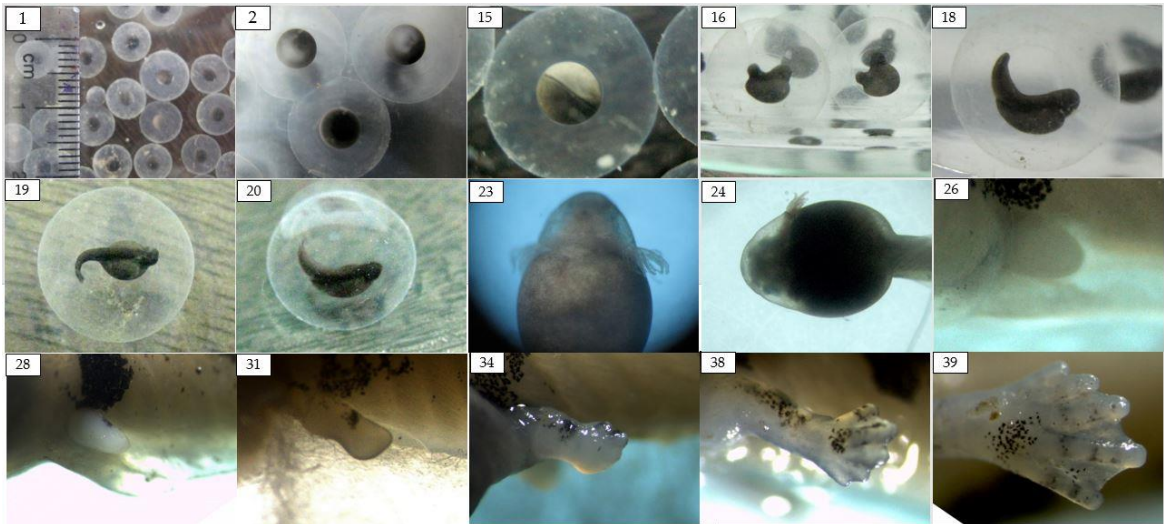
Chỉ số	♀ (n=8)			♂ (n=6)		
	Nhỏ nhất	Lớn nhất	Trung bình±SD	Nhỏ nhất	Lớn nhất	Trung bình±SD
SVL	42,51	92,73	70,30±14,53	44,21	81,74	67,82±12,78
HL	17,90	45,47	30,79±7,57	20,58	39,38	29,04±6,80
HW	16,61	42,93	28,75±7,36	18,09	36,78	27,29±6,07
MN	16,17	32,50	22,13±5,01	15,19	28,04	20,83±4,12
MFE	11,55	25,36	16,15±4,56	12,06	20,67	15,36±2,91
MBE	8,10	16,71	10,81±3,03	7,66	14,42	10,11±2,34
IND	4,13	9,69	6,58±1,73	4,66	7,62	6,22±1,28
IOD	4,30	6,40	5,45±0,62	2,90	5,47	4,70±1,04
EN	3,54	7,58	5,77±1,26	3,57	7,53	5,38±1,27
ED	5,50	9,30	7,98±1,20	5,66	8,48	7,44±1,00
NS	2,62	7,84	4,46±1,48	3,04	4,34	3,91±0,49
RL	5,59	12,81	9,75±2,06	6,75	12,71	9,82±1,93
UEW	3,68	9,23	5,75±1,67	3,13	7,47	5,22±1,38
UAL	10,14	22,31	16,09±3,47	11,37	20,88	16,10±3,02
LAL	6,33	22,48	14,26±4,59	9,97	17,83	13,93±2,84
PAL	4,67	10,56	7,66±1,78	5,40	9,45	7,58±1,34
FeL	21,18	45,64	33,38±6,91	22,24	40,40	32,73±6,11
TbL	19,28	43,85	31,97±6,82	21,41	39,84	30,96±5,90
TbW	7,67	17,76	13,03±2,83	8,25	22,86	14,79±5,03
FoL	20,14	45,03	32,19±6,90	22,38	38,02	31,21±5,12
TL4	3,81	19,55	14,74±5,10	13,11	21,74	17,40±2,78
IMT	2,87	6,69	4,88±1,13	3,67	5,61	4,47±0,71

**3.3 Sự phát triển nòng nọc trong điều kiện nuôi tại phòng thí nghiệm**

Quá trình biến thái nòng nọc loài *L. bannaensis* gồm 46 giai đoạn tính từ khi trứng được thụ tinh đến khi biến thái hoàn toàn, kéo dài từ 1.680h đến 1.728h (70 đến 72 ngày) gồm: thời kì phôi (giai đoạn 1-19) kéo dài 231 giờ, thời kì mới nở (giai đoạn 20-25) kéo dài 448 giờ, thời kì ấu trùng (giai đoạn 26-40) kéo dài 527 giờ và thời kì biến thái (giai đoạn 41-46) kéo dài 372 giờ.

Trứng ếch khi mới đẻ có màu trắng sữa (đường kính 1,5-2,5 mm), được bảo vệ bởi màng nhầy trong suốt đường kính 5-10mm. Trứng tách riêng từng quả và chìm xuống đáy bể nuôi ngay sau khi đẻ, trứng được thụ tinh dần chuyển sang màu xám đen. Có thể quan sát bằng mắt thường sự phân cắt tế bào diễn ra rất nhanh ở giai đoạn 3 đến 5 (10h sau thụ tinh). Giai đoạn 16, phôi đã có hình dạng “nòng nọc” với phần

đầu, thân và đuôi, mang ngoài xuất hiện màu xám đen (4 ngày sau thụ tinh). Quan sát được màu đỏ và nhịp đập của tim từ mặt bụng từ giai đoạn 19 (8 ngày sau thụ tinh). Các sắc tố đen ở đuôi tạo thành sọc từ giai đoạn 23 (18 ngày sau thụ tinh), nòng nọc có thể tồn tại ở bên ngoài màng nhầy, nhưng chúng chủ động thoát ra ngoài từ cuối giai đoạn 24 khi mang ngoài đã ẩn hoàn toàn vào bên trong. Nòng nọc xuất hiện thêm đặc điểm biến thái mà chi tăng kích thước khoảng 5 ngày tiếp theo (ngày 25 đến 30 sau thụ tinh). Chi sau hình thành và hoàn thiện trong 20 ngày từ giai đoạn 26 đến 40 (ngày 30 đến 50 sau thụ tinh), cũng trong thời gian này chi trước hình thành phía bên trong thân. Khoảng 20 đến 22 ngày cuối cùng, nòng nọc ngừng dinh dưỡng từ môi trường ngoài, chi trước lộ ra ngoài, đuôi tiêu giảm, miệng biến đổi cấu trúc từ dinh dưỡng dưới nước sang dinh dưỡng trên cạn. Đặc điểm biến thái của nòng nọc ở các giai đoạn xem Bảng 1, Bảng 2 và Hình 4.



**Hình 4: Một số đặc điểm hình thái ở các giai đoạn phát triển nòng nọc *L. bannaensis* ở Nghệ An**

(1: Trứng đã thụ tinh; 2: Xoay cực; 15: Ống thần kinh; 16: Yên ngựa; 18: cơ đuôi; 19: Phân hóa đầu-thân-đuôi; 20: Nếp vây đuôi; 23: Mang ngoài; 24: Mang ngoài tiêu biến bên trái trước; 26&28: Mầm chi sau; 31: Cù bàn chân; 34: Phân tách ngón 3,4,5; 38: Phân biệt các ngón chân; 39: Khớp dưới ngón chân và màng bơi)

**Bảng 1: Đặc điểm biến thái ở các giai đoạn phát triển thời kì phôi và mới nở của nòng nọc *L. bannaensis* trong điều kiện nuôi ở tỉnh Nghệ An**

GD	Đặc điểm phát triển	t/g
<b>Thời kì phôi (231 giờ)</b>		
1	Trứng màu trắng sữa đường kính 1,5 – 2,5 mm, bên ngoài bọc vỏ glucoprotein, bắt đầu xoay cực và chuyển sang màu đen ở một nửa.	6
2	Kết thúc xoay cực. Cực động vật bên trên, cực thực vật bên dưới. Xuất hiện khuyết lưới liềm ở phần tiếp giáp cực thực vật và cực động vật	3
3-9	Phân cắt tế bào đối xứng không hoàn toàn	26
10	Hình thành miệng lung. Nếp gấp miệng lung ở vùng cực thực vật	6
11	Phôi giữa: Miệng lung phôi vị tăng kích thước và dịch chuyển vị trí tới vị trí đối diện	13
12	Miệng phôi thu nhỏ kích thước, màu trắng ở phía ngoài noãn hoàng	8
13	Máng thần kinh ở vị trí cao nhất của phôi vị, tăng dần kích thước.	16
14	Bờ máng thần kinh nhô cao thành hai cung thần kinh và nếp gấp thần kinh	20
15	Phôi xoay vòng trong bao nang, ống thần kinh hình thành do hai nếp thần kinh khép lại.	22
16	Phôi ngừng xoay, ống thần kinh hoàn thiện. Mang ngoài hình thành. Phôi có dạng hình yên ngựa, phần đầu lớn, phần đuôi nhỏ hơn.	21
17	Mầm đuôi xuất hiện. Phôi kéo dài.	26
18	Các rãnh mang hình thành, chia mang ngoài thành những nếp mang riêng biệt. Cơ đuôi bắt đầu phân hóa	28
19	Tim gần hoàn thiện, có thể quan sát thấy nhịp đập phía trong cơ thể. Phôi phân hóa thành các phần đầu, thân và đuôi nòng nọc.	36
<b>Thời kì mới nở (448 giờ)</b>		
20	Các phần cơ thể phân biệt, nếp vây đuôi hình thành, các tấm mang phân biệt.	76
21	Nòng nọc có hình thái ngoài gần hoàn thiện	48
22	Đuôi gần hoàn thiện. Lỗ mũi được hình thành	78
23	Đuôi hoàn thiện. Hoa văn trên thân nòng nọc hình thành. Đĩa miệng hoàn thiện cấu trúc.	56
24	Nắp mang hình thành, mang ngoài tiêu biến. Đĩa miệng hoàn thiện	90
25	Hình thái hoàn chỉnh, kiếm ăn từ môi trường ngoài, tăng trưởng kích thước.	100
n=10	hl 4,85mm (3,78-6,26 mm), tl= 14,64 mm (12,03-17,93mm)	

**Bảng 2: Đặc điểm biến thái ở các giai đoạn phát triển thời kỳ ấu trùng và biến thái của nòng nọc *L. bannaensis* trong điều kiện nuôi ở tỉnh Nghệ An**

GD	Đặc điểm phát triển	bl	tl	hl	t/g
<b>Thời kỳ ấu trùng (527h)</b>					
26 n=32	Xuất hiện mầm chi sau, hình nón.	4,25-6,90 5,52	14,32-20,36 16,68	0,10-0,57 0,22	24
27 n=2	Chiều dài mầm chi sau lớn hơn hoặc bằng 1/2 chiều rộng.	5,95-6,61 6,28	18,34-19,54 18,94	0,24-0,38 0,31	32
28 n=1	Chiều dài mầm chi sau lớn hơn hoặc bằng chiều rộng.	8,9	24,9	0,68	68
29 n=1	Chiều dài mầm chi sau lớn hơn hoặc bằng 1,5 lần chiều rộng.	7,12	19,81	0,94	79
31 n=3	Hình thành củ bàn chân ở vị trí 2/3 từ gốc chi. Nòng nọc màu vàng xám.	7,03-9,81 8,85	21,94-29,88 26,78	1,42-1,68 1,55	90
34 n=2	Các ngón 5, 4, 3 phân tách ở củ bàn chân.	6,70-7,34 7,02	22,17-22,78 22,48	1,05-1,74 1,40	102
35 n=1	Các ngón chân phân biệt nhau, chi dạng năm ngón điển hình.	6,48	22,77	1,18	50
38 n=1	Màng bơi ở giữa các ngón chân, các ngón chân phân biệt nhau.	7,89	26,15	3,72	28
39 n=3	Khớp dưới ngón chân hình thành, chia ngón chân thành các đốt.	7,64-8,38 8,05	25,53-27,72 26,33	3,51-5,28 4,44	18
40 n=1	Củ bàn trong chi sau xuất hiện. Mầm chi trước ẩn dưới da.	8,49	26,3	4,23	36
<b>Thời kỳ biến thái (372h)</b>					
41 n=1	Chi trước lớn, lồi ra ở hai bên thân. Miệng biến đổi, răng sừng tiêu biến.	8,08	28,55	7,76	168
42 n=2	Chi trước hoàn thiện và lộ ra ở bên trái. Đuôi tiêu giảm. Miệng kéo dài tới trước mũi, răng sừng tiêu biến.	8,66-8,79 8,73	22,42-23,93 23,18	8,87-8,95 8,91	64
43 n=8	Lưỡi xuất hiện, hình tròn. Miệng lớn, kéo dài tới trước mắt.	7,05-13,22 9,72	13,06-27,01 19,29	6,87-19,49 12,43	72
44 n=7	Miệng kéo dài tới giữa mắt, biến thái gần hoàn thiện.	10,52-14,91 12,82	15,07-17,77 16,26	16,25-21,38 18,87	42
46 n=2	Nòng nọc hoàn thiện biến thái, chuyển sang sống trên cạn.	12,03-14,21 13,13	15,91-15,91 15,91	18,29-20,00 19,15	26

(GD: Theo Gosner 1960; t/g: thời gian (tính bằng giờ), các kí hiệu bl, tl, hl xem phần phương pháp)

Quá trình sinh sản của loài *L. bannaensis* diễn ra dưới nước, trứng tách rời từng quả, sau khi đẻ, chìm xuống đáy bể nuôi. So với một số loài trong giống đã được nghiên cứu, *L. bannaensis* có hình thức sinh sản giống với loài *L. poilani* (Lê Thị Quý và ctv., 2011), *L. megastomias* (McLeod, 2008), *L. utara* và *L. selatan* (Matsui et al., 2014) nhưng khác với loài *L. dabanus* (Rowley et al., 2014) sinh sản trong tổ dưới đất hay loài *L. larvaepartus* (Iskandar et al., 2014; Kusrini et al., 2015) thụ tinh trong và đẻ trực tiếp ra nòng nọc.

**3.4 Mô tả nòng nọc *L. bannaensis* ở Nghệ An**

Đặc điểm nhận dạng: kích thước trung bình; thân đẹp, hình elip khi nhìn từ phía trên; mắt trung bình, nhìn rõ từ phía trên; lỗ mũi nhỏ, gian mũi nhỏ hơn gian mắt; miệng dưới hoặc gần trước dưới, hai bên mép có một hàng gai thịt, môi dưới có hai hàng gai

thịt; lỗ thở đơn, ở bên trái; đầu và thân có màu vàng xám, đuôi màu nhạt màu hơn, có từ 4 đến 5 vạch màu đen vắt ngang đuôi, vạch đầu tiên ở gốc đuôi; công thức răng sừng I(1+1)/(1+1)II.

Mô tả nòng nọc loài *L. bannaensis* dựa vào 10 mẫu vật ở giai đoạn 25 (Hình 6a), các chỉ tiêu hình thái gồm (nhỏ nhất-lớn nhất; trung bình±độ lệch chuẩn): bl: 3,78-6,26 (4,85±0,88); bh: 2,05-3,6 (2,61±0,45); bw: 2,57-5,15 (3,56±0,95); ed: 0,49-0,87 (0,68±0,12); ht: 1,96-3,89 (2,58±0,75); lf: 0,52-0,98 (0,72±0,15); nn: 0,54-0,95 (0,79±0,13); np: 0,47-0,95 (0,75±0,19); odw: 0,5-2,2 (1,12±0,63); pp: 1,38-2,72 (1,86±0,49); rn: 0,15-0,58 (0,37±0,13); ss: 1,51-5,15 (3,06±1,42); su: 3,82-6,2 (4,75±0,78); tl: 12,03-17,93 (14,64±2,18); tail: 8,3-12,25 (9,88±1,30); uf: 0,72-1,28 (0,96±0,20); vt: 7-11,07 (8,89±1,39); tmh: 0,98-

2,69 (1,66±0,58); t<sub>mw</sub>: 0,61-1,76 (1,08±0,46); svl: 4,57-8,06 (5,95±0,95).

Thân trung bình, hình elip khi nhìn từ mặt trên, hơi dẹp, cao thân bằng 0,55 lần dài thân (bh/bl: 0,45 – 0,71), rộng thân bằng 0,73 lần dài thân (bw/bl: 0,62 – 0,90). Mắt trung bình, nhìn thấy từ phía trên và phía bên, dài mắt bằng 0,20 lần rộng thân (ed/bw: 0,16 – 0,24) và bằng 0,14 lần dài thân (ed/bl: 0,12 – 0,18). Gian mắt lớn, bằng 0,52 lần rộng thân (pp/bw: 0,44 – 0,61). Lỗ mũi nhỏ, khoảng cách từ mũi đến mõm nhỏ hơn khoảng cách từ mũi đến mắt (rn/np: 0,48; 0,32 – 0,61). Gian mũi hẹp, bằng 0,51 lần gian mắt (nn/pp: 0,38 – 0,57). Lỗ thở đơn, bên trái, mở hướng về phía sau và gần lỗ huyết hơn nút mõm, khoảng cách từ lỗ thở đến nút mõm bằng 0,52 lần

khoảng cách từ nút mõm đến lỗ huyết (ss/svl: 0,33 – 0,76).

Đuôi hơi mảnh, nút đuôi nhọn, dài đuôi bằng 0,68 lần tổng chiều dài (tail/tl: 0,64 – 0,76), cao đuôi bằng 0,26 dài đuôi (ht/tail: 0,21 – 0,34). Vây đuôi bao phủ phía ngoài cơ đuôi, nếp vây trên từ sát gốc đuôi đến nút đuôi, chiều cao nếp trên vây đuôi bằng 0,37 cao thân (uf/bh: 0,25 – 0,44), nếp vây dưới vây đuôi từ lỗ huyết đến nút đuôi, chiều cao nếp dưới vây đuôi bằng 0,28 lần cao thân (lf/bh: 0,19-0,33). Cơ đuôi hình chữ “V”, đỉnh hướng về phía trước, chiều cao lớn nhất cơ đuôi bằng 0,63 lần cao thân (tmh/bh: 0,44 – 0,84).

Thân màu vàng xám nhạt, đuôi nhạt màu hơn có từ 4-5 vạch màu đen, kéo dài từ nếp trên vây đuôi xuống nếp dưới vây đuôi.

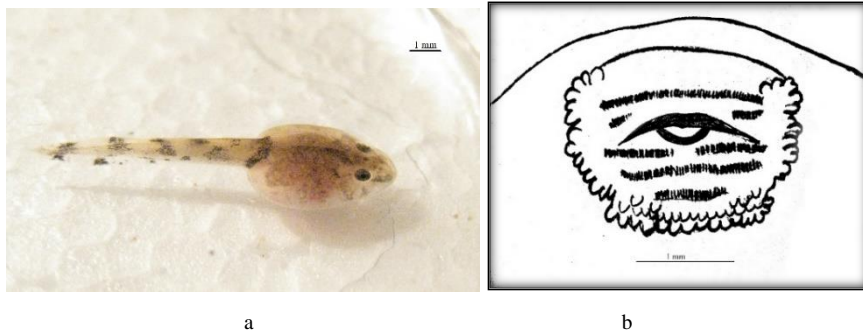
**Bảng 3: Chỉ tiêu hình thái nòng nọc loài *L. bannaensis* ở Nghệ An (n=80)**

	bl	bh	bw	ed	ht	lf
Nhỏ nhất	3,78	1,32	2,57	0,42	1,88	0,15
Lớn nhất	14,91	5,93	6,7	2,41	4,89	1,42
Trung bình	7,28	3,23	3,99	1,18	2,66	0,68
	nn	np	odw	pp	rn	ss
Nhỏ nhất	0,15	0,47	0,5	0,76	0,15	0,54
Lớn nhất	2,64	2,71	5,12	5,88	1,97	5,87
Trung bình	1,34	1,27	1,71	2,75	0,77	3,29
	su	tl	tail	uf	vt	
Nhỏ nhất	2,94	12,03	4,65	0,19	1,91	
Lớn nhất	18,82	29,88	20,37	1,91	18,87	
Trung bình	6,64	18,63	12,33	0,91	10,40	
	tmw	fl	hl	svl	tmh	
Nhỏ nhất	0,19	2,65	0,1	4,57	0,71	
Lớn nhất	3,15	8,75	21,38	16,5	215	
Trung bình	1,39	5,74	5,03	8,58	4,82	

(Kí hiệu các phép đo trình bày ở phần phương pháp)

Miệng dưới hoặc gần trước dưới, nhỏ, gần tròn, rộng miệng bằng 0,30 lần rộng thân (odw/bw: 0,16 – 0,46). Gai thịt hình nón bao quanh môi dưới và hai bên mép của môi trên. Bao hàm trên hình vòng cung, lớn hơn bao hàm dưới hình chữ “V” (Hình 6b). Công thức răng sừng (LTRF) I(1+1)/(1+1)II, tổng số 5

hàng: môi trên có hai hàng răng sừng, hàng A1 nguyên và dài, hàng A2 chia và ngắn hơn; môi dưới có ba hàng răng sừng, hàng P1 chia và phân tách nhau một đoạn nhỏ ở giữa; hàng P2 và P3 nguyên, ngắn hơn hàng P1, các hàng răng sừng P1 đến P3 gần song song (Hình 6b).



**Hình 6: Nòng nọc *L. bannaensis* (TDVT0062, GD 25) ở Nghệ An (a) hình thái ngoài (b) đĩa miệng**



So sánh nòng nọc loài *L. bannaensis* với mẫu vật thu ở Nghệ An với nòng nọc của một số loài trong giống *Limnonectes* đã được mô tả (Bảng 4) thấy rằng: nòng nọc *L. bannaensis* trong cùng giai đoạn phát triển có kích thước nhỏ hơn hầu hết các loài còn lại nhưng lớn hơn nòng nọc loài *L. dananus* và tương đương với loài *L. larvaepartus*; Nòng nọc các loài *L. bannaensis*, *L. poilani*, *L. utara* và *L. selanta* tạo

thành một nhóm với các đặc điểm: thân hình elip hoặc oval, gai thịt liền lạc ở hai bên mép và môi dưới, trên đuôi có các vạch màu xám hay đen vắt ngang đuôi. Các loài còn lại *L. megastomias*, *L. nitidus*, *L. dabanus* và *L. larvaepartus* tạo thành một nhóm với đặc điểm: thân hình bầu dục hay hình trứng, gai thịt ở hai bên mép và môi dưới có thể liền lạc hoặc không, trên đuôi không có các vạch màu vắt ngang.

**Bảng 4: So sánh nòng nọc loài *L. bannaensis* với nòng nọc một số loài trong giống *Limnonectes***

Loài (giai đoạn)	bl	tl	Thân	Sọc màu ở đuôi	LTRF	Gai thịt	Nguồn
<i>L. bannaensis</i> (25)	4,85	14,64	Elip, dẹp	Có (4-5)	I(1+1)/ (1+1)II	Mép và môi dưới	Nghiên cứu này
<i>L. bannaensis</i> (32-35)	-	39,0	-	Không	I(1+1)/ (1+1)II	Mép và môi dưới	Ye <i>et al.</i> , 2007
<i>L. poilani</i> (25)	8,44	22,62	Dẹp	Có	I(1+1)/ (1+1)II	Mép và môi dưới	Lê Thị Quý và <i>ctv.</i> , 2011
<i>L. megastomias</i> (40)	14,4	42,4	Oval	Không	I(1+1)/ (1+1)II	Mép, môi dưới (khuyết ở giữa)	McLeod, 2008
<i>L. utara</i> (35-36)	13,8	39,6	Oval	Có (3-4)	I(1+1)/ (1+1)II	Mép và môi dưới	Matsui <i>et al.</i> , 2014a
<i>L. selanta</i> (40)	16,1	46,4	Oval	Có (3-4)	I(1+1)/ (1+1)II	Mép và môi dưới	Matsui <i>et al.</i> , 2014a
<i>L. nitidus</i> (25)	4,9	18,2	Trứng	Không	I(1+1)/ (1+1)II	Mép và môi dưới	Long and Lim, 2003
<i>L. dabanus</i> (31)	9,4	21,2	Dẹp	Không	I(1+1)/ (1+1)II	Mép và môi dưới	Rowley <i>et al.</i> , 2014
<i>L. larvaepartus</i> (31-34)	8,7- 9,2	28,2- 29,4	Oval	Không	I(1+1)/ III	Môi (khuyết ở giữa)	Kusrini <i>et al.</i> , 2015

So với nòng nọc loài *L. bannaensis* ở Trung Quốc (Ye *et al.*, 2007), mẫu vật ở Nghệ An nhỏ hơn; miệng nhỏ có hai hàng gai thịt ở môi dưới, hai bên mép chỉ có một hàng gai thịt, gai thịt ở môi dưới dài hơn gai thịt ở hai bên mép; đuôi có 3-5 vạch đen (mẫu vật ở Trung Quốc trên đuôi không có vạch màu).

**4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT**

Lần đầu tiên mô tả chi tiết đặc điểm hình thái, các giai đoạn biến thái của nòng nọc loài *L. bannaensis* ở Nghệ An. Nòng nọc có kích thước trung bình, thân hình elip khi nhìn từ phía trên, dẹp theo hướng trên dưới, mắt trung bình, lỗ mũi nhỏ, miệng dưới hoặc gần trước dưới, ở mép có một hàng gai thịt, môi dưới có hai hàng gai thịt, môi trên không có gai thịt, LTRF I(1+1)/(1+1)II, lỗ thở dạng đơn nằm bên trái, đầu và thân có màu vàng xám, đuôi có từ 4 đến 6 vạch đen vắt ngang, vạch đầu tiên ở gốc đuôi. Nòng nọc có kích thước nhỏ, biến thái trong khoảng thời gian 70 đến 72 ngày.

Giống *Limnonectes* nói chung, trong đó có nhóm *L. kuhlii* complex là một nhóm lưỡng cư phức tạp, phân bố rộng, được nghiên cứu và phân chia thành

nhều loài mới trong thời gian gần đây, trong đó có Việt Nam. Do đó, cần tiếp tục nghiên cứu ở những địa phương khác để xác định các loài và sự phân bố của chúng ở Việt Nam.

**LỜI CẢM ƠN**

Chúng tôi gửi lời cảm ơn đến cán bộ Kiểm lâm Trạm quản lý bảo vệ rừng khe Bu, khe Choang, Cò Phạt và người dân địa phương ở đây đã hỗ trợ trong quá trình thu mẫu. Cảm ơn anh Lưu Trung Kiên, anh Cao Tiến Dũng đã hỗ trợ thu mẫu. Nghiên cứu này được sự đồng ý cho phép của Ban quản lý VQG Pù Mát và hỗ trợ kinh phí bởi Đề tài Cấp Bộ B2018-TDV-11.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

Altig, R. and McDiarmid, R.W., 1999. Bodyplan: Development and morphology (Tadpoles: The biology of anuran larvae). University of Chicago press, Chicago and London, 24-51.  
 Ampai, N., Rujirawan, A., Arkajag, J., McLeod, D. S. and Aowphol, A., 2015. Description of the tadpoles of two endemic frogs: The Phu Luang cascade frog *Odorrana aureola* (Anura: Ranidae) and the Isan big-headed frog

- Limnonectes isanensis* (Anura: Dicroglossidae) from northeastern Thailand. *Zootaxa*, 3981(4): 508-520.
- Bourret, R., 1942. Les Batraciens de l'Indochine. Gouv. Gén. Indoch, Hanoi. 517 pages.
- Dehling, J. M., 2014. Eine neue Fangzahnfroschart der Gattung *Limnonectes* (Anura: Dicroglossidae) vom Gunung Lawit, Malaiische Halbinsel. *Sauria*, Berlin. 36(4): 17-30.
- Dehling, J. M., and Dehling, D. M., 2017. A new wide-headed Fanged Frog of the *Limnonectes kuhlii* group (Anura: Dicroglossidae) from western Borneo with a redescription of *Rana conspicillata* Günther, 1872. *Zootaxa*. 4317(2): 291-309.
- Dubois, A., 1995. Keratodont formulae in anuran tadpoles: proposals for a standardization. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*. 33: 1-15.
- Frost, D.R., 2019. Amphibian Species of the World 6.0, an Online Reference. Darrel Frost and The American Museum of Natural History (accessed 30 July 2019) from: <http://research.amnh.org/vz/herpetology/amphibia/>
- Gawor, A., Pham, C. T., Nguyen, T. Q., Nguyen, T. T., Schmitz, A. and Ziegler, T., 2016. The herpetofauna of the Bai Tu Long National Park northeastern Vietnam. *Salamandra*. 52(1) : 23-41.
- Glaw, F., and Vences, M., 2007. A field guide to the amphibians and reptiles of Madagascar. 3<sup>rd</sup> Edition. FroschVerlag, Cologne, 496 pages.
- Gosner, K. L., 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*. 16: 183-190.
- Grosjean, S., 2001. The tadpole of *Leptobrachium* (Vibrissaphora) *echinatum* (Amphibia, Anura, Megophryidae), *Zoosystema*. 23(1): 143-156.
- Inthara, C., Chuaynkern, Y., Duengkae, P., Grosjean, S., 2009. The tadpole of *Quasipaa fasciculispina* (Inger, 1970) from southeastern Thailand, with the description of its buccal anatomy. *Alytes*. 26(1-4): 86-96.
- Iskandar, D. T., Evans, B. J. and McGuire, J. A., 2014. A novel reproductive mode in frogs: a new species of fanged frog with internal fertilization and birth of tadpoles. *PLoS ONE*. 9(12): 1-14. doi:10.1371/journal.pone.0115884.
- Kusrini, M. D., Rowley, J. J. L., Khairiunnisa, L. R., Shea, G. M., Altig, R., 2015. The Reproductive Biology and Larvae of the First Tadpole-Bearing Frog, *Limnonectes larvaepartus*. *PLoS ONE*. 10(1): 1-9.
- Lê Thị Quý, Hoàng Ngọc Thảo, Hoàng Xuân Quang và Hoàng Thị Kim Oanh, 2011. Đặc điểm hình thái nòng nọc loài ếch poilan *Limnonectes poilani* (Bourret, 1942) ở Vườn Quốc gia Bạch Mã. Hội nghị khoa học toàn quốc về sinh thái và tài nguyên sinh vật lần thứ 4, ngày 21/10/2011, Hà Nội, Nhà xuất bản Nông Nghiệp, Hà Nội: 306-310.
- Lê Vũ Khôi, Đặng Tất Thế, Hà Thị Tuyết Nga (2009), Những dẫn liệu về sự sinh trưởng và phát triển của chàng xanh đốm *Polypedates dennysi* (Blanford, 1881) trong điều kiện nuôi nhốt. Báo cáo khoa học hội thảo Quốc gia về lưỡng cư bò sát ở Việt Nam lần thứ nhất, ngày 28/11/2009, Huế, NXB Đại học Huế, Huế: 276-285.
- Leong, T. M. and Lim, K. K. P., 2003. Herpetofaunal records from Fraser's Hill, Peninsular Malaysia, with larval descriptions of *Limnonectes nitidus* and *Theioderma asperum* (Amphibia: Ranidae and Rhacophoridae). *The Raffles Bulletin of Zoology*. 51(1): 123-136.
- Manamendra-Arachchi, K. and Pethiyagoda, R., 2005. The Sri Lankan hrb-frogs of the genus *Philautus* Gistel, 1848 (Ranidae: Rhacophoridae), with description of 27 new species. *The Raffles Bulletin of Zoology* 2005 Supplement, 12: 123-136.
- Matsui, M., 2015. A New Species of *Limnonectes* from the Border of East Kalimantan and Sarawak, Borneo Island (Anura, Dicroglossidae). *Current Herpetology*, 34(2): 120-127, doi 10.5358/hj.34.120.
- Matsui, M., Panha, S., Khonsue, W. and Kuraishi, N., 2010. Two new species of the "kuhlii" complex of the genus *Limnonectes* from Thailand (Anura: Dicroglossidae). *Zootaxa*. 2015: 1-22.
- Matsui, M. and Nishikawa, K., 2014. Description of a new species of *Limnonectes* from Sarawak, Malaysian Borneo (Dicroglossidae, Anura). *Current Herpetology*. 33(2): 135-147, doi 10.5358/hj.33.135.
- Matsui, M., Belabut, D. M. and Ahmad, N., 2014a. Two new species of fanged frogs from Peninsular Malaysia (Anura: Dicroglossidae). *Zootaxa*. 3881(1): 75-93.
- Matsui, M., Nishikawa, K., Eto, K., 2014b. A new burrow-utilising fanged frog from Sarawak, East Malaysia (Anura: Dicroglossidae). *Raffles Bulletin of Zoology*. 62: 679-687.
- McLeod, D. S., 2008. A new species of big-headed, fanged dicroglossine frog (Genus: *Limnonectes*) from Thailand. *Zootaxa*. 1807: 26-46.
- McLeod, D. S., 2010. Of Least Concern? Systematics of a cryptic species complex: *Limnonectes kuhlii* (Amphibia; Anura: Dicroglossidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 56: 991-1000.
- McLeod, D. S., Horner S. J., Husted C., Barley A. and Iskandar D. T., 2011. "Same-same, but different": an unusual new species of the *Limnonectes kuhlii* Complex from West Sumatra (Anura: Dicroglossidae). *Zootaxa*. 2883: 52-64.
- McLeod, D. S., Kelly, J. K. and Barley, A., 2012. "Same-same but different": Another new species

- of the *Limnectes kuhlii* complex from Thailand (Anura: Dicroglossidae). Russian Journal of Herpetology. 19(3): 261-274.
- McLeod, D.S., Kurlbaum, S. and Hoang, N. V., 2015. More of the same: a diminutive new species of the *Limnectes kuhlii* complex from northern Vietnam (Anura: Dicroglossidae). Zootaxa. 3947(2): 201-204.
- Pham, C.T., An, H.T., Herbst, S., Bonkowski, M., Ziegler, T. and Nguyen, T. Q., 2017a. First report on the amphibian fauna of Ha Lang karst forest, Cao Bang Province, Vietnam. Bonn zoological Bulletin. 66(1): 37-53.
- Pham, C. T., Le, M. D., Nguyen, T. T., Ziegler, T., Wu, Z. J., Nguyen, T. Q., 2017b. A new species of *Limnectes* (Amphibian: Anura: Dicroglossidae) from Vietnam. Zootaxa. 4269(4): 545-558.
- Pham, C. T., Le, M. D., Ngo, H. T., Ziegler, T. and Nguyen, T. Q., 2018. A new species of *Limnectes* (Amphibia: Anura: Dicroglossidae) from Vietnam. Zootaxa. 4508(1): 115-130.
- Rockney, H. J., Ofori-Boateng, C., Porcino, N., Leaché, A. D., 2015. A comparison of DNA barcoding markers in West African frogs. African Journal of Herpetology. 64(2): 135-147
- Rowley, J. J. R., Le, D. T. T., Hoang, H. D. and Altig, R., 2014. The breeding behaviour, advertisement call and tadpole of *Limnectes dabanus* (Anura: Dicroglossidae). Zootaxa. 3881(2): 195-200.
- Simmons, J. E., 2002. Herpetological collecting and collections management. Revised edition. Society for the Study of Amphibians and Reptiles. Herpetological Circular. 31: 1-153.
- Suwannapoom, C., Yuan, Z., Chen, M., *et al.*, 2016. Taxonomic revision of the Chinese *Limnectes* (Anura, Dicroglossidae) with the description of a new species from China and Myanmar. Zootaxa. 4093(2), 181-200.
- Ye, C., Fei, L., Xie F. and Jiang, J., 2007. A New Ranidae Species from China - *Limnectes bannaensis* (Ranidae: Anura). Zoological Research. 28(5): 545-550.
- Ziegler, T., Rauhaus, A., Mutschmann, F., Dang, P. H., Pham, C. T. and Nguyen T. Q., 2016. Building up of keeping facilities and breeding projects for frogs, newts and lizards at the Me Linh Station for Biodiversity in northern Vietnam, including improvement of housing conditions for confiscated reptiles and primates. Der Zoologische Garten N. F. 85: 91-120