

# 湖南城步发现隐耳蟾蜍

肖蓓<sup>①</sup> 李辉<sup>①</sup> 朱乐强<sup>①</sup> 唐旭芬<sup>①</sup> 张荣华<sup>③</sup>  
兰晓明<sup>③</sup> 莫小阳<sup>①②\*</sup>

① 湖南师范大学生命科学学院脊椎动物学实验室 长沙 410081; ② 怀化学院生物与食品工程学院 怀化 418000;

③ 湖南省南山国家公园管理局 邵阳 422500

**摘要:** 2024年3月24日,在湖南省城步县南山国家公园黑山岭近溪流区(26°09'12" N, 110°09'17" E, 海拔1760 m),新采集到蟾蜍样本4号(标本号:HNNU2024032401~HNNU2024032404)。其形态特征为:雄性,耳旁腺明显,无鼓膜、无耳柱骨,背面皮肤光滑,瘰粒小而稀少,后肢较短且左右跟部不相遇,趾蹼不发达,与隐耳蟾蜍(*Bufo cryptotympanicus*)形态特征基本相符。基于16S rRNA与COI基因联合序列(1140 bp)的分子系统发育分析显示,这4号标本与模式产地隐耳蟾蜍聚为一支,遗传距离为0.2%,小于蟾蜍属(*Bufo*)平均遗传距离4.35%。确定本次所采集标本为蟾蜍科蟾蜍属的隐耳蟾蜍,为湖南省两栖动物分布新记录种。

**关键词:** 蟾蜍属; 湖南省; 分子发育分析; 分布新记录; 南山国家公园

**中图分类号:** Q959 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2025) 01-105-10

## *Bufo cryptotympanicus* Found in Chengbu, Hunan, China

XIAO Bei<sup>①</sup> LI Hui<sup>①</sup> ZHU Le-Qiang<sup>①</sup> TANG Xu-Fen<sup>①</sup> ZHANG Rong-Hua<sup>③</sup>  
LAN Xiao-Ming<sup>③</sup> MO Xiao-Yang<sup>①②\*</sup>

① Vertebrate Zoology Laboratory, College of Life Science, Hunan Normal University, Changsha 410081;

② College of Biological and Food Engineering, Huaihua University, Huaihua 418000;

③ Nanshan National Park Administration of Hunan Province, Shaoyang 422500, China

**Abstract:** In order to investigate the biodiversity of amphibian and reptile in the Nanshan National Park, Chengbu County, Hunan Province, four specimens of the *Bufo* genus were collected (specimen numbers: HNNU2024032401 - HNNU2024032404) near a stream in the Jintongshan area (26°09'12" N, 110°09'17" E, altitude 1760 m) in April 2024. The specimens were identified based on morphological characteristics described by Nihn et al. (2022) and Fei et al. (2009). Two mitochondrial genes, namely 16S ribosomal RNA gene (16S rRNA) and cytochrome C oxidase I gene (COI), were concatenated into a single sequence of 1140 bp for phylogenetic analysis. Other sequences were obtained from GenBank (Appendix 1). DNA sequences were aligned in MEGA 7 by the Clustal W algorithm with default parameters. The dataset was partitioned

\* 通讯作者, E-mail: moxiaoyang@hunnu.edu.cn;

**第一作者简介** 肖蓓,女,博士研究生;研究方向:野生动物保育与利用;E-mail: beixiao323@163.com.

收稿日期: 2024-05-21, 修回日期: 2024-09-19 DOI: 10.13859/j.cjz.202424123 CSTR: 32109.14.cjz.24123

according to genes and codons for 16S rRNA and *COI*, then tested in PhyloSuite 1.2.2, resulting in the best-fitting nucleotide substitution models of TIM2 + I + G. Sequenced data were analyzed using Bayesian inference (BI) and maximum likelihood (ML) approaches. Two independent runs were conducted in the BI analysis with 2 000 000 generations each, and sampled every 1 000 generations with the first 25% of samples discarded as burn-in. In the ML analysis, a bootstrap consensus tree was generated from 1 000 replicates. Both the ML and BI analyses yielded essentially identical topologies, pairwise distances were calculated in MEGA 7 using the uncorrected model based on 16S rRNA sequences among all species used in this study, see details in Appendix 2. The morphological measurements of these specimens were displayed in Table 1, morphological characteristics include tympanum absent, dorsal surface of head and body smooth, within small and sparse granules, heels not meeting when flexed hind-limbs to body axis, and undeveloped toe pads, which are largely consistent with *B. cryptotympanicus* (Fig. 2). Further phylogenetic analysis revealed that the specimens clustered within a branch of *B. cryptotympanicus*. Based on the uncorrected distance model of the 16S rRNA gene, the average genetic distance within *B. cryptotympanicus* is 0.2%, significantly lower than the genetic distances observed among species within the genus *Bufo*, which averaged 4.35% (Appendix 2). Combining morphological characteristics with phylogenetic analysis confirms that the newly collected specimens belong to *B. cryptotympanicus* of the family Bufonidae, making a new amphibian record for Hunan Province, China.

**Key words:** *Bufo*; Hunan Province; Molecular phylogenetic analysis; New record of distribution; Nanshan National Park

已有研究表明, 蟾蜍科 (Bufonidae, Gray 1825) 划分为 6 个属, 其中蟾蜍属 (*Bufo*, Garsault 1764) 作为单系群分布广泛, 从温带欧亚大陆及相邻岛屿一直延伸至北非和中东, 向东至日本、中国, 向南至缅甸和越南北部。共包括 25 个物种, 其中约四分之三 (19 个物种) 分布于中国 (Frost et al. 2024)。

刘承钊等 (1962) 根据来自中国广西龙胜花坪自然保护区的一系列标本描述了隐耳蟾蜍 (*B. cryptotympanicus*), 后费梁等 (2009) 研究报告了广西两个分布点 (兴安和资源), 黎振昌等 (2011) 将其分布范围扩展至中国广东 (龙门、河源和乳源) 和云南 (绿春) 以及北越 (老街和岷港), 之后, 车静等 (2020) 在研究中补充并完善了隐耳蟾蜍的分子数据。但是, 由于广东龙门的隐耳蟾蜍种群无标本凭证, Qi 等 (2023) 基于形态特征与分子发育分析, 将广东龙门南昆山采集的蟾蜍样本描述为一新种, 即广东溪蟾 (*B. exiguus*)。因此, 对于隐耳蟾蜍

在广东的分布有待进一步调查和研究。

2024 年 3 月 24 日, 本课题组在湖南南山国家公园 (国家公园体制试点区) 黑山岭溪流旁听到蟾蜍属物种求偶鸣声, 并采集到标本 4 号。此蟾蜍无鼓膜, 背部光滑且瘰粒较少, 与湖南省有文献记录的中华蟾蜍 (*B. gargarizans*) 及黑眶蟾蜍 (*Duttaphrynus melanostictus*) 形态上存在明显差异, 后续通过分子系统发育分析确认该批标本为隐耳蟾蜍, 并基于此物种原有分布区的记录 (费梁等 2009, 黎振昌等 2011, 车静等 2020, 图 1), 确定其为湖南省两栖动物分布新记录种。

## 1 材料与方法

### 1.1 形态测量

依据 Ninh 等 (2022) 与费梁等 (2005) 的测量方法, 使用电子数字游标卡尺 (德力西, 量程 150 mm, 精度 0.01 mm), 测量头体长、头长、头宽、吻长、耳旁腺长及耳旁腺宽等 14

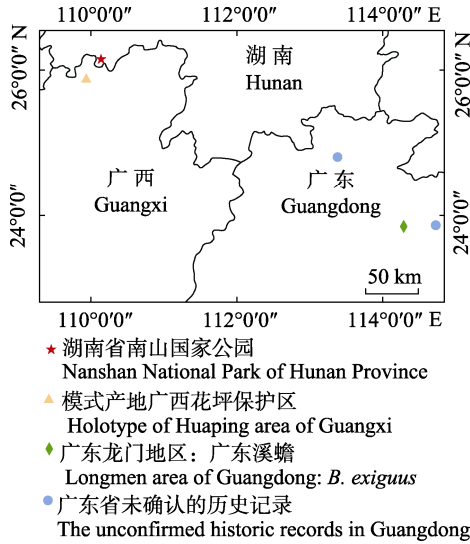


图 1 隐耳蟾蜍的地理分布

Fig. 1 Geographical distribution of the *Bufo cryptotymanicus*

地图基于自然资源部监制审图号为 GS (2023) 2767 号标准地图制作, 底图无修改。

The map is based on the standard map with approval number of GS (2023) 2767, the base map was not modified.

项形态指标。标本浸泡于 10% 福尔马林固定, 后转移至 70% 乙醇中, 保存于湖南师范大学脊椎动物学实验室。

## 1.2 系统发育分析

对采集的 4 号标本取少量肌肉组织于 95% 乙醇中, 使用天根 DNA 试剂盒提取标本 DNA。使用引物 L3975 (5'-GGT CAA CAA ATC ATA AAG AYA TYG G-3') 和 H4551 (5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAR AAY CA-3') (Y 代表 C 或 T, R 代表 A 或 G) (Meyer et al. 2005)、Chmf4 (5'-TYT CWA CWA AYC AYA AAG AYA TCG G-3') 和 Chmr4 (5'-ACY TCR GGR TGR CCR AAR AAT CA-3') (W 代表 A 或 T) (Simon et al. 1994) 分别扩增 16S rRNA 与 COI 基因片段。PCR 扩增条件参考 Lyu 等 (2023) 报道的方法。

从 NCBI 中获取蟾蜍属 16S rRNA 和 COI 序列用于系统发育分析 (附录 1), 并选取黑

眶蟾蜍、司徒蟾蜍 (*D. stuarti*) 和花背蟾蜍 (*Strauchbufo raddei*) 作为外群。用 Mega 7 的 Clustal W 算法对所获得的序列进行比对 (Kumar et al. 2016, 2018), 比对结果进行人工校正, 使用未校正距离模型 (uncorrected genetic distance, *p*-distance) 计算蟾蜍属种间的遗传距离。通过 Modelfinder (Kalyaanamoorthy et al. 2017) 基于修正赤池信息准则 (corrected Akaike information criterion) (Darriba 2012) 选择出最适合的模型 TIM2 + I + G, 使用 IQ-TREE 2 进行最大似然分析并构建分子系统发育树。

## 2 结果

### 2.1 形态描述

目前已知的绝大多数蟾蜍均有明显的鼓膜, 而隐耳蟾蜍鼓膜不显, 无耳柱骨, 背面皮肤光滑, 瘰疣小而稀少; 且后肢前伸贴体时胫跗关节前达肩部, 蹠突大, 后肢前伸贴体时胫跗关节前达肩部。本次采集的 4 号标本 (HNNU2024032401 ~ HNNU2024032404) 均为雄性个体, 头体长 60.78 ~ 66.45 mm, 其他部位量度见表 1。标本头宽大于头长, 吻端钝圆, 吻棱明显, 眼间距大于鼻间距, 与上眼睑约等宽, 鼓膜完全不显、无耳柱骨; 舌后端无缺刻, 耳旁腺略扁平, 前宽后窄, 长宽之比为 2 : 1; 前臂及手长约为体长之 1/2; 雄性头顶及上眼睑均散有小疣粒, 背面皮肤光滑, 瘰疣稀疏; 后肢较短, 左、右跟部不相遇, 后肢前伸贴体时胫跗关节前伸达肩部; 指间微蹼; 趾间蹼不发达, 第一、第二、第三趾外侧及第五趾内侧 1/3 蹼, 第四趾约 1/5 蹼 (图 2)。以上形态特征与模式标本基本一致。此外, 本次采集的隐耳蟾蜍与模式产地标本也存在一定的形态差异: 采集于湖南南山国家公园的雄性标本 (HNNU2024032401) 指基的关节下瘤成对, 内掌突小而窄长, 外掌突大而圆, 而模式产地标本关节下瘤不成对, 外掌突小而窄长, 内掌突大而圆。

表 1 隐耳蟾蜍标本形态量度 (单位: mm)

Table 1 Morphological measurements of *Bufo cryptotypanicus* samples (Unit: mm)

| 测量指标<br>Measurement index                   | 本研究标本 This study                  |                                   |                                   |                                   | 隐耳蟾蜍 (模式标本<br>603507, 雌性)<br><i>B. cryptotypanicus</i><br>(Holotype 603507, Adult<br>female) (刘承钊等 1962) |
|---|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|--|
|   | HNNU2024032401<br>(雄性 Adult male) | HNNU2024032402<br>(雄性 Adult male) | HNNU2024032403<br>(雄性 Adult male) | HNNU2024032404<br>(雄性 Adult male) |  |
| 头体长 Snout-vent length, SVL                  | 60.78                             | 66.45                             | 66.23                             | 65.15                             | 67.00  |
| 头长 Head length, HL                          | 18.69                             | 20.69                             | 20.41                             | 19.72                             | 22.00  |
| 头宽 Head width, HW                           | 21.52                             | 23.63                             | 23.47                             | 23.31                             | 26.50  |
| 吻长 Snout length, SL                         | 7.11                              | 8.46                              | 8.15                              | 8.08                              | 6.00   |
| 鼻间距 Internarial distance, IND               | 4.08                              | 4.46                              | 4.37                              | 4.16                              | 5.00   |
| 眼间距 Interorbital distance, IOD              | 5.07                              | 6.35                              | 6.03                              | 5.83                              | 6.00   |
| 眼径 Eye diameter, ED                         | 5.67                              | 6.54                              | 6.62                              | 6.60                              | 8.00   |
| 前臂及手长<br>Length of lower arm and hand, LAHL | 31.59                             | 30.15                             | 32.70                             | 31.88                             | 34.00  |
| 后肢长 Hindlimb length, HLL                    | 89.96                             | 92.32                             | 93.44                             | 91.23                             | 95.00  |
| 跖足长<br>Length of foot and tarsus, FTL       | 40.97                             | 41.58                             | 42.99                             | 41.21                             | 44.00  |
| 足长 Foot length, FL                          | 28.17                             | 30.05                             | 29.70                             | 29.53                             | 29.00  |
| 胫长 Tibia length, TL                         | 24.58                             | 26.95                             | 25.57                             | 26.52                             | 28.00  |
| 耳旁腺长<br>Maximum parotoid gland length, PL   | 7.98                              | 8.12                              | 8.07                              | 8.47                              | /  |
| 耳旁腺宽<br>Maximum parotoid gland width, PW    | 3.83                              | 4.21                              | 4.15                              | 3.96                              | /  |

“/” 表示未测量值。“/” indicates unmeasured values.

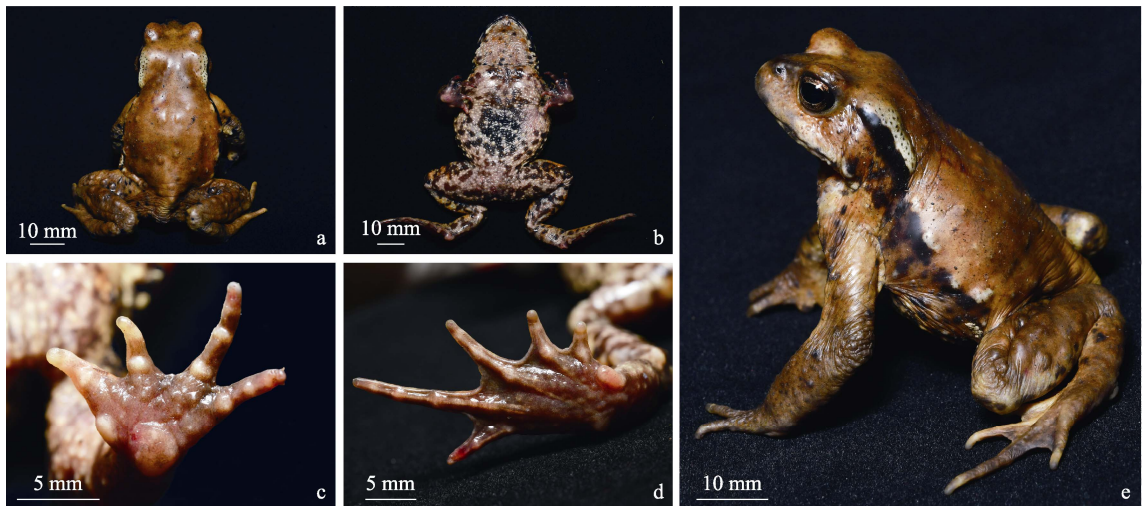


图 2 隐耳蟾蜍的形态特征 (李辉摄)

Fig. 2 Morphology of *Bufo cryptotypanicus* (Photo by LI Hui)

a. 背面; b. 腹面; c. 指腹面; d. 趾腹面; e. 侧面。

a. Dorsal view; b. Ventral view; c. Ventral view of fingers; d. Ventral view of toes; e. Lateral view.

## 2.2 系统发育关系与遗传距离

16S rRNA 和 *COI* 基因片段长度分别为 514 bp 和 626 bp, 使用 PhyloSuite 1.2.2 软件进行人工比对和拼接, 并基于最优模型 TIM2 + I + G 构建系统发育树。从南山国家公园采集的标本与隐耳蟾蜍聚为一个高支持率的单系群, 支持率达 98% (图 3)。基于 16S rRNA 基因未校正距离模型估算, 此次在南山国家公园采集的隐耳蟾蜍与车静等 (2020) 研究中标本之间的平均遗传距离为 0.2%, 相比之下, 蟾蜍属其他物种间的遗传范围为 1.7% ~ 8.0%, 其平均遗传距离为 4.35%, 与外群遗传距离则为 6.7% ~ 12.3% (附录 2)。因此, 分子系统发育分析和

遗传距离结果均表明, 南山国家公园采集的蟾蜍样本为隐耳蟾蜍。

## 3 讨论

尽管分子生物学系统研究支持蟾蜍属为单系群, 但多年来有关蟾蜍属的分类与系统发育一直存在不同观点。杨大同等 (1996) 根据蝌蚪是否具有腹吸盘, 以无棘溪蟾 (*Torrentophryne aspinia*) 为模式物种建立了溪蟾属。但 Liu 等 (2000) 的分子系统学研究表明, 溪蟾属物种与蟾蜍属嵌合在一起, 并没有明显的遗传分化, 建议将溪蟾属作为蟾蜍属的同物异名。中国有记录分布的蟾蜍属物种共 25 种, 根据沈猷慧等

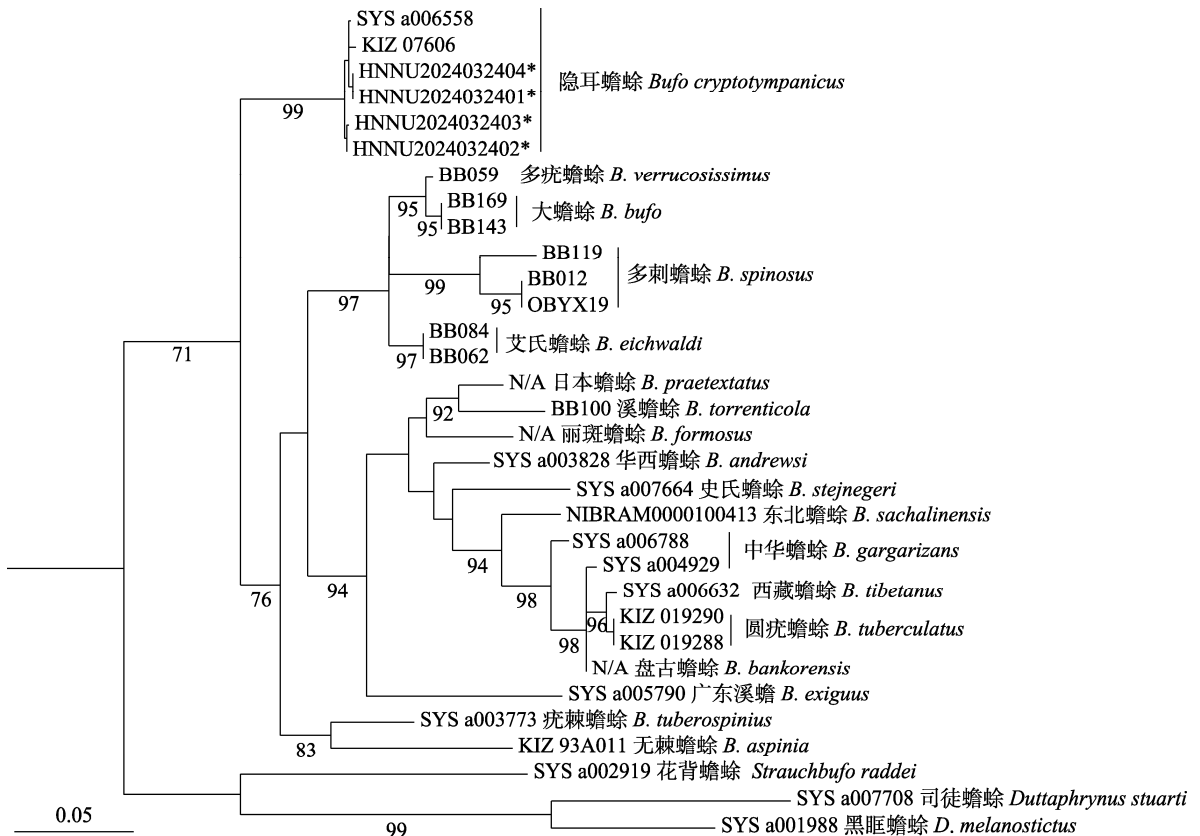


图 3 基于 16S rRNA 与 *COI* 基因联合序列 (1 140 bp) 构建的最大似然系统发育树

Fig. 3 Maximum likelihood tree based on concatenated dataset of 16S rRNA and *COI* gene sequences (1 140 bp)

节点附近的数字表示统计支持率, 标尺表示单位长度的遗传距离为 0.05, “\*”表示此次调查采集样品。

Numbers above each node indicate the Bootstrap supports (BS), bar indicates that the uncorrected *p*-distance of 0.05 units in length, \* represents the samples collected in this survey.

(2014)《湖南动物志 两栖纲》以及高志伟等(2022)记载,在湖南省分布有中华蟾蜍和黑眶蟾蜍 2 种,而此次调查发现的隐耳蟾蜍,进一步拓展了其地理分布及湖南省蟾蜍属物种多样性,该物种在形态特征及生态习性方面是否还存在其他适应性特征,仍有待进一步深入调查研究。

有研究根据近 20 年开展的中国两栖动物多样性调查结果,将全国各区域两栖爬行动物物种数量(包括已描述物种和隐存种)进行模型综合分析发现,南岭山脉物种丰富度较高(Xu et al. 2024)。南山国家公园位于湘西地区、黔东南地区以及广西西北区的交界区域,地理上同处于云贵高原向山地丘陵的过渡区域,同时处于南岭山脉西段,横跨武陵山地常绿阔叶林和长江南岸丘陵盆地常绿阔叶林两大生态地理区,拥有我国中南地区规模最大的中山泥炭藓沼泽湿地,保存着最完整的中亚热带低海拔常绿阔叶林。其独特的地理环境、气候条件和生态类型,预示着该区域可能是中国丰富的两栖动物生物多样性潜在分布区,可能存在较多的隐存种与珍稀特有物种。

## 参 考 文 献

- Darriba D, Taboada G L, Doallo R, et al. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9(8): 772.
- Frost D R. 2024. *Amphibian Species of the World: An Online Reference*. Version 6.2. [DB/OL]. [2024-07-27]. <https://amphibiansoftheworld.amnh.org/index.php>.
- Garsault FAP de. 1764. Les figures des plantes et animaux d'usage en médecine, décrits dans la Matière Médicale de Mr. Geoffroy Médecin. Paris: Mrs. Defehrt, Prevost, Duflos, Martinet & Co., [i-v] + 1-20, pl. 644-729.
- Gray J E. 1825. A synopsis of the genera of reptiles and Amphibia, with a description of some new species. *Annals of Philosophy*, 2(10): 193-217.
- Igawa T, Kurabayashi A, Nishioka M, et al. 2006. Molecular phylogenetic relationship of toads distributed in the Far East and Europe inferred from the nucleotide sequences of mitochondrial DNA genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 38(1): 250-260.
- Jeong T J, Jun J M, Han S, et al. 2013. DNA barcode reference data for the Korean herpetofauna and their applications. *Molecular Ecology Resources*, 13(6): 1019-1032.
- Kalyaanamoorthy S, Minh B Q, Wong T K F, et al. 2017. ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nature Methods*, 14(6): 587-589.
- Kumar S, Stecher G, Li M, et al. 2018. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6): 1547-1549.
- Kumar S, Stecher G, Tamura K. 2016. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33(7): 1870-1874.
- Liu W Z, Lathrop A, Fu J Z, et al. 2000. Phylogeny of East Asian bufonids inferred from mitochondrial DNA sequences (Anura: Amphibia). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 14(3): 423-435.
- Lyu Z T, Qi S, Wang J, et al. 2023. Generic classification of Asian homed toads (Anura: Megophryidae: Megophryinae) and monograph of Chinese species. *Zoological Research*, 44: 380-450.
- Meyer C P, Geller J B, Paulay G. 2005. Fine scale endemism on coral reefs: archipelagic differentiation in turbinid gastropods. *Evolution*, 59(1): 113-125.
- Ninh H T, Nguyen T T, Nguyen H Q, et al. 2022. A new species of mossy frog (Anura: Rhacophoridae) from northeastern Vietnam. *European Journal of Taxonomy*, 794: 72-90.
- Qi S, Lyu Z T, Song H M, et al. 2023. A new species of stream-living toad (Anura: Bufonidae: *Bufo*) from Guangdong, China. *Vertebrate Zoology*, 73: 677-689.
- Recuero E, Canestrelli D, Vörös J, et al. 2012. Multilocus species tree analyses resolve the radiation of the widespread *Bufo bufo* species group (Anura, Bufonidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 62(1): 71-86.
- Simon C, Frati F, Beckenbach A, et al. 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the Entomological Society of America*, 87(6): 651-701.

- Xu W, Wu Y H, Zhou W W, et al. 2024. Hidden hotspots of amphibian biodiversity in China. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 121(20): e2320674121.
- 车静, 蒋珂, 颜芳, 等. 2020. 西藏两栖爬行动物——多样性与进化. 北京: 科学出版社, 1–792.
- 费梁, 胡淑琴, 叶昌媛, 等. 2009. 中国动物志: 两栖纲 中卷. 北京: 科学出版社, 1–957.
- 费梁, 叶昌媛, 江建平, 等. 2005. 中国两栖动物检索及图解. 成都: 四川科学技术出版社, 6–18.
- 高志伟, 钱天宇, 江建平, 等. 2022. 湖南省两栖、爬行动物物种多样性及其地理分布. *生物多样性*, 30(2): 101–115.
- 黎振昌, 肖智, 刘少容. 2011. 广东两栖动物和爬行动物. 广州: 广东科技出版社.
- 刘承钊, 胡淑琴. 1962. 广西两栖爬行动物初步调查报告. *动物学报*, 14(增刊): 73–104.
- 沈猷慧, 杨道德, 莫小阳, 等. 2014. 湖南动物志: 两栖纲. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1–347.
- 杨大同, 刘万兆, 饶定齐. 1996. 中国蟾蜍类一个新类群及其生物学. *动物学研究*, 17(4): 353–359.



附录 1 用于系统发育分析的物种序列相关信息  
Appendix 1 DNA sequences of each species for phylogenetic analysis

| ID | 物种<br>Species                         | 采集地<br>Localities   | 标本号<br>Voucher ID | GenBank 登录号<br>GenBank No. |          | 数据来源<br>References  |
|----|---------------------------------------|---|-------------------|----------------------------|----------|---------------------|
|    |                                       |   |                   | 16S rRNA                   | CO I     |                     |
| 1  | HNNU2024032401                        | 中国湖南南山国家公园  | HNNU2024032401    | PP838636                   | PP838714 | 本研究                 |
| 2  | HNNU2024032402                        | Nanshan National Park, Hunan, China                               | HNNU2024032402    | PP838637                   | PP838715 | This study          |
| 3  | HNNU2024032403                        |   | HNNU2024032403    | PP838638                   | PP838716 |                     |
| 4  | HNNU2024032404                        |   | HNNU2024032404    | PP838639                   | PP838717 |                     |
| 5  | 隐耳螈 <i>Bufo cryptosympanicus</i>      | 中国广西兴安县猫儿山 Mt. Mao'er, Xing'an County, Guangxi, China             | SYS a006558       | OR096260                   | OR096119 | Qi et al. 2023      |
| 6  | 隐耳螈 <i>B. cryptosympanicus</i>        | 中国广西 Guangxi, China   | KIZ 07606         | MW023951                   | /        | 车静等 2020            |
| 7  | 华耳螈 <i>B. andrewsi</i>                | 中国云南腾冲市高黎贡山 Mt. Gaoligong, Tengchong City, Yunnan, China          | SYS a003828       | OR096258                   | OR096117 | Qi et al. 2023      |
| 8  | 无棘螈 <i>B. aspinita</i>                | 中国云南漾濞彝族自治县 Yangbi Yi Autonomous County, Yunnan, China            | KIZ 93A011        | AF160787                   | /        | Liu et al. 2000     |
| 9  | 阿里山螈 <i>B. bankorensis</i>            | 中国台湾台南市罐子岭 Kuantzuling, Tainan, Taiwan, China                     | N/A               | AB159589                   | /        | Igawa et al. 2006   |
| 10 | 大螈 <i>B. bufo</i>                     | 瑞典哥德堡斯莱塔水坝 Vastra Göteborg, Sweden                                | BB169             | JN647146                   | /        | Recuero et al. 2012 |
| 11 | 大螈 <i>B. bufo</i>                     | 法国布容 Le Boujon, France  | BB143             | JN647131                   | /        |                     |
| 12 | 艾氏螈 <i>B. eichwaldi</i>               | 阿塞拜疆勒里克阿戈沙佩什塔 Agoshapeshtha, Lerik, Azerbaijan                    | BB062             | JN647240                   | /        |                     |
| 13 | 艾氏螈 <i>B. eichwaldi</i>               | 阿塞拜疆阿斯塔拉基扎巴塔利什山 Mt. Talysh, Kizhaha, Astara, Azerbaijan           | BB084             | JN647239                   | /        |                     |
| 14 | 广东螈 <i>B. exiguus</i>                 | 中国广东龙门县南昆山 Nankunshan, Longmen County, Guangdong, China           | SYS a005790       | OR096256                   | OR096115 | Qi et al. 2023      |
| 15 | 丽斑螈 <i>B. formosus</i>                | 日本北海道函馆 Hakodate, Hokkaido, Japan                                 | N/A               | AB159561                   | /        | Igawa et al. 2006   |
| 16 | 中华螈 <i>B. gargarizans</i>             | 中国四川合江县 Hejiang County, Sichuan, China                            | SYS a004929       | OR096261                   | OR096120 |                     |
| 17 | 中华螈 <i>B. gargarizans</i>             | 中国浙江宁波奉化 Fenghua, Ningbo, Zhejiang, China                         | SYS a006788       | OR096262                   | OR096121 | Qi et al. 2023      |
| 18 | 日本螈 <i>B. praetextatus</i>            | 日本京都岚山 Arashiyama, Kyoto, Japan                                   | N/A               | AB159579                   | /        | Igawa et al. 2006   |
| 19 | 东北螈 <i>B. sachalinensis</i>           | 韩国高城东海面 Donghaemyeon, Goseong, Korea                              | NIBRAM0000100413  | JQ815292                   | JQ844500 | Jeong et al. 2013   |
| 20 | 多刺螈 <i>B. spinosus</i>                | 法国圣博内昂普索 Saint Bonnet en Champsaur, France                        | OBYX19            | JN647181                   | /        | Recuero et al. 2012 |
| 21 | 多刺螈 <i>B. spinosus</i>                | 西班牙吉罗纳 Girona, Spain  | BB012             | JN647222                   | /        |                     |
| 22 | 多刺螈 <i>B. spinosus</i>                | 摩洛哥伊夫兰 Ifrane, Morocco  | BB119             | JN647215                   | /        |                     |
| 23 | 史氏螈 <i>B. stejnegeri</i>              | 中国辽宁本溪市 Benxi, Liaoning, China                                    | SYS a007664       | OR096264                   | OR096124 | Qi et al. 2023      |
| 24 | 西藏螈 <i>B. tibetanus</i>               | 中国西藏波密县 Bomé County, Xizang, China                                | SYS a006632       | OR096265                   | OR096123 | 车静等 2020            |
| 25 | 溪螈 <i>B. torrenticola</i>             | 日本奈良天川 Tenkawa, Nara, Japan                                       | BB100             | JN653292                   | /        | Recuero et al. 2012 |
| 26 | 疣棘螈 <i>B. tuberculatus</i>            | 中国四川巴塘县 Batang County, Sichuan, China                             | KIZ 019288        | MW133327                   | /        | 车静等 2020            |
| 27 | 疣棘螈 <i>B. tuberculatus</i>            |   | KIZ 019290        | MW133329                   | /        |                     |
| 28 | 疣棘螈 <i>B. tuberospinus</i>            | 中国云南腾冲市高黎贡山 Mt. Gaoligong, Tengchong City, Yunnan, China          | SYS a003773       | OR096266                   | OR096125 | Qi et al. 2023      |
| 29 | 多疣螈 <i>B. verrucosissimus</i>         | 格鲁吉亚阿布哈兹吉布峡谷瑞湖 Malaya Ritza Lake, Bzypit Gorge, Abkhazia, Georgia | BB059             | JN647227                   | /        | Recuero et al. 2012 |
| 30 | 黑眶螈 <i>Duttaphrynus melanostictus</i> | 中国广东东莞市 Dongguan City, Guangdong, China                           | SYS a001988       | OR096268                   | OR096127 | Qi et al. 2023      |
| 31 | 司徒螈 <i>D. stuarti</i>                 | 中国云南贡山县 Gongshan County, Yunnan, China                            | SYS a007708       | OR096270                   | OR096129 |                     |
| 32 | 花背螈 <i>Strauchbufo raddei</i>         | 中国河北乐亭县 Laoting County, Hebei, China                              | SYS a002919       | OR096271                   | OR096130 |                     |

N/A 表示标本信息缺失, /表示分子数据缺失。N/A indicates that voucher information was not recorded, / indicates that molecular data are not available.





续附录 2

| 物种 Species                                  | 1    | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9    | 10   | 11   | 12   | 13   | 14   | 15   | 16   | 17   | 18   | 19   | 20   | 21   | 22   | 23   | 24   | 25   | 26   | 27   | 28   | 29   | 30  | 31  |  |
|---|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-----|-----|--|
| 21 多刺蟪蛛<br><i>B. spinosus</i>               | 5.6  | 5.6  | 5.6  | 5.6  | 5.6  | 5.8  | 6.3  | 7.5  | 6.5  | 3.4  | 3.4  | 3.4  | 3.4  | 8.0  | 7.1  | 6.7  | 5.8  | 6.9  | 6.7  | 0.0  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |     |  |
| 22 多刺蟪蛛<br><i>B. spinosus</i>               | 6.3  | 6.3  | 6.3  | 6.3  | 6.3  | 6.5  | 6.0  | 7.1  | 5.8  | 3.2  | 3.2  | 3.7  | 3.7  | 7.3  | 6.0  | 6.0  | 5.6  | 5.8  | 6.5  | 2.6  | 2.6  |      |      |      |      |      |      |      |      |     |     |  |
| 23 史氏蟪蛛<br><i>B. stejnegeri</i>             | 5.6  | 5.6  | 5.6  | 5.6  | 5.6  | 5.8  | 1.9  | 6.0  | 3.4  | 5.4  | 5.4  | 6.0  | 6.0  | 4.7  | 3.9  | 3.7  | 3.2  | 2.6  | 3.4  | 7.3  | 7.3  | 6.3  |      |      |      |      |      |      |      |     |     |  |
| 24 西藏蟪蛛<br><i>B. tibetanus</i>              | 5.2  | 5.2  | 5.2  | 5.2  | 5.2  | 5.4  | 3.2  | 6.5  | 0.6  | 4.7  | 4.7  | 5.4  | 3.9  | 3.4  | 0.9  | 1.3  | 4.7  | 3.0  | 6.3  | 6.3  | 5.6  | 4.1  |      |      |      |      |      |      |      |     |     |  |
| 25 溪蟪蛛<br><i>B. torrenticola</i>            | 7.1  | 7.1  | 7.1  | 7.1  | 7.1  | 7.3  | 3.9  | 7.5  | 5.0  | 5.6  | 5.6  | 6.7  | 6.7  | 5.4  | 4.1  | 5.2  | 5.2  | 3.0  | 5.4  | 6.5  | 6.5  | 6.7  | 3.9  | 5.6  |      |      |      |      |      |     |     |  |
| 26 圆疣蟪蛛<br><i>B. tuberculatus</i>           | 5.2  | 5.2  | 5.2  | 5.2  | 5.2  | 5.4  | 3.2  | 6.0  | 0.6  | 4.7  | 4.7  | 5.4  | 5.4  | 3.9  | 3.4  | 0.9  | 1.3  | 4.7  | 3.0  | 6.3  | 6.3  | 5.6  | 4.1  | 0.4  | 5.6  |      |      |      |      |     |     |  |
| 27 圆疣蟪蛛<br><i>B. tuberculatus</i>           | 5.2  | 5.2  | 5.2  | 5.2  | 5.2  | 5.4  | 3.2  | 6.0  | 0.6  | 4.7  | 4.7  | 5.4  | 5.4  | 3.9  | 3.4  | 0.9  | 1.3  | 4.7  | 3.0  | 6.3  | 6.3  | 5.6  | 4.1  | 0.4  | 5.6  | 0.0  |      |      |      |     |     |  |
| 28 缺疣蟪蛛<br><i>B. tuberospininus</i>         | 3.9  | 3.9  | 3.9  | 3.9  | 3.9  | 4.1  | 5.8  | 4.5  | 6.7  | 6.3  | 6.3  | 6.3  | 6.3  | 7.1  | 6.5  | 6.9  | 6.7  | 7.3  | 6.7  | 7.3  | 7.3  | 7.5  | 6.5  | 6.9  | 7.5  | 6.9  | 6.9  |      |      |     |     |  |
| 29 多疣蟪蛛<br><i>B. verrucosissimus</i>        | 4.5  | 4.5  | 4.5  | 4.5  | 4.5  | 4.7  | 5.2  | 6.7  | 4.7  | 0.4  | 0.4  | 1.7  | 1.7  | 6.0  | 6.0  | 5.0  | 4.5  | 5.4  | 5.2  | 3.4  | 3.4  | 3.2  | 5.2  | 5.0  | 5.4  | 5.0  | 5.0  | 6.3  |      |     |     |  |
| 30 黑眶蟪蛛<br><i>Dutaphrynus melanostictus</i> | 11.0 | 11.0 | 11.0 | 11.0 | 11.0 | 11.2 | 10.6 | 11.4 | 9.7  | 10.6 | 10.6 | 10.1 | 10.1 | 11.0 | 10.8 | 9.7  | 9.7  | 11.9 | 10.6 | 10.1 | 10.1 | 11.2 | 11.6 | 9.9  | 10.6 | 9.9  | 9.9  | 11.4 | 10.8 |     |     |  |
| 31 司徒蟪蛛<br><i>D. stuarti</i>                | 10.3 | 10.3 | 10.3 | 10.3 | 10.3 | 10.6 | 10.8 | 11.2 | 10.1 | 10.8 | 10.8 | 11.0 | 11.0 | 11.6 | 11.2 | 10.1 | 10.6 | 10.8 | 11.0 | 10.8 | 10.8 | 11.4 | 11.4 | 10.3 | 10.6 | 10.3 | 10.3 | 12.3 | 10.8 | 5.8 |     |  |
| 32 花背蟪蛛<br><i>Strauchbifo raddei</i>        | 6.7  | 6.7  | 6.7  | 6.7  | 6.7  | 6.9  | 9.3  | 9.1  | 8.6  | 9.3  | 9.3  | 9.3  | 9.3  | 11.0 | 10.1 | 8.6  | 8.2  | 10.3 | 9.7  | 8.8  | 8.8  | 9.7  | 10.1 | 8.4  | 11.0 | 8.8  | 8.8  | 8.2  | 9.3  | 8.8 | 8.6 |  |

在 MEGA7 中使用未校正模型计算遗传距离, 对于缺失数据的处理采用完全删除法, 考虑到碱基替代的不同类型使用过渡和翻转选项, 确保数据分析中序列完整及结果的可靠性。Pairwise distances were calculated in MEGA7 using the uncorrected model, the complete-deletion option was used in Gaps/Missing Data Treatment, substitutions to include the d: Transitions + Transversions option, to ensure the integrity of data and the reliability of the results.