



# 湖南省两栖动物新纪录——桂北琴蛙

程彦林<sup>1</sup>, 刘京<sup>1,2</sup>, 周铝<sup>1</sup>, 周军健<sup>1</sup>, 李仕泽<sup>1,2\*</sup>

1. 茅台学院资源环境系, 仁怀, 564500;
2. 贵州大学林学院, 贵阳, 550025)

## 稿件运行过程

收稿日期: 2023-10-21  
修回日期: 2023-12-04



关键词: 琴蛙属;  
桂北琴蛙;  
新纪录;  
湖南省

**Key words:** *Nidirana*;  
*Nidirana guibeiensis*;  
New record;  
Hunan Province

中图分类号: Q958.1

文献标识码: A

文章编号:

2310-1490(2024)-02-0448-08

DOI: 10.12375/ysdwxb.20240227

## 摘要

2023年5月26日,在湖南省新宁县崑山镇(26°19'40" N, 110°42'54" E;海拔441 m)进行两栖动物调查时,采集到4号琴蛙属(*Nidirana*)物种标本,经形态特征比较,与桂北琴蛙(*Nidirana guibeiensis*)相似;基于线粒体 $COI$ 基因构建的琴蛙属部分物种系统发育树显示,此次采集的琴蛙标本与桂北琴蛙聚为一支,且具有较高的支持率(1.00/99);基于Kimura双参数模型估算本次采集的琴蛙标本与模式产地(广西兴安)标本间的遗传距离为0,远小于琴蛙属物种间的遗传距离(2.7%~14.4%)。综合形态学和系统发育比较,确定此次采集的琴蛙标本为无尾目(Anura)蛙科(Ranidae)琴蛙属的桂北琴蛙,系湖南省两栖动物分布新纪录种。

## A New Amphibian Distribution Record of *Nidirana guibeiensis* in Hunan Province

CHENG Yanlin<sup>1</sup>, LIU Jing<sup>1,2</sup>, ZHOU Lü<sup>1</sup>, ZHOU Junjian<sup>1</sup>, LI Shize<sup>1,2\*</sup>

(1. Department of Resources and Environment, Moutai Institute, Renhuai, 564500, China;

2. College of Forestry, Guizhou University, Guiyang, 550025, China)

**Abstract:** During the amphibian survey in Langshan Town (26°19'40" N, 110°42'54" E; altitude 441 m), Xinning County, Hunan Province, China on 26 May, 2023, four *Nidirana* specimens were collected. We compared the specimens with the known congeners and found that the specimens from Hunan were similar to *Nidirana guibeiensis*. We further constructed the phylogenetic tree based on  $COI$  gene and calculated the genetic distances

基金项目: 国家自然科学基金项目(31960099, 32260136); 贵州省科技计划项目(黔科合基础-ZK[2022]一般540); 贵州省林业科研课题项目(黔林科合[2020]13号); 茅台学院高层次人才科研启动经费项目(mygcrc[2022]055, mygcrc[2022]067)

第一作者简介: 程彦林(1987—), 女, 副教授; 主要从事生物多样性保护研究。E-mail: 491189942@qq.com

\* 通信作者: 李仕泽, E-mail: 976722439@qq.com

between species of the genus *Nidirana* used Kimura 2-parameter model. The phylogenetic tree showed that the specimens from Hunan were clustered with the *N. guibeiensis* with a high support (1.00/99). The genetic distance between the specimens from Hunan and *N. guibeiensis* from type locality was 0, which was much lower than that between *Nidirana* species range from 2.7% to 14.4%. Based on morphological and molecular comparisons, the specimens were identified as *N. guibeiensis*, which is a new record of Hunan Province, China.

琴蛙属(*Nidirana*)广泛分布于东亚和东南亚的亚热带地区,目前该属物种已报道20种<sup>[1]</sup>,中国记录分布有19种,其中,湖南省记录分布有4种,分别为弹琴蛙(*N. adenopleura*)、粤琴蛙(*N. guangdongensis*)、雷山琴蛙(*N. leishanensis*)和湘琴蛙(*N. xiangica*)<sup>[2-6]</sup>。弹琴蛙曾被记录在湖南广泛分布<sup>[5]</sup>,近年来基于整合分类学研究,琴蛙属内有多个隐存种被发现,且这些隐存种之前大多被误定为弹琴蛙,因此,弹琴蛙在湖南是否有分布还有待进一步研究<sup>[6]</sup>;粤琴蛙分布在湖南东南部八面山等地<sup>[2]</sup>;雷山琴蛙分布在湖南西部怀化、通道等地<sup>[3]</sup>;湘琴蛙分布在湖南湘江流域、湖南浏阳大围山和双牌阳明山等地<sup>[2]</sup>。

2023年5月26日,在新宁县崑山镇进行两栖动物调查时,于坪地村(26°19'40" N, 110°42'54" E;海拔441 m)采集到4号(4♂)琴蛙属成体标本。经形态学比较和系统发育分析,鉴定为桂北琴蛙(*N. guibeiensis*),为湖南省两栖动物新纪录种。本文对桂北琴蛙的形态特征及生态习性进行描述,并初步探讨其形态特征的地理变异,为琴蛙属物种的系统学和谱系地理学研究提供新信息。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

对采集的标本取少量肌肉组织存于95%的乙醇中用于提取DNA。标本浸泡于10%福尔马林溶液中,保存于茅台学院生物学标本室。本研究采集的4号标本及用于系统发育分析的部分琴蛙属物种信息见表1。

### 1.2 形态鉴定与测量

使用游标卡尺(无锡锡工量具有限公司,量程200 mm,精度0.01 mm)测量4号标本的头体长、头长和头宽等17项形态指标,并参照《中国两栖动物检索及图解》<sup>[7]</sup>、《中国两栖动物及其分布彩色图鉴》<sup>[8]</sup>和桂北琴蛙形态描述<sup>[9]</sup>进行形态鉴定。

### 1.3 分子鉴定

以高盐法提取保存于乙醇中的肌肉组织DNA。参照Che等<sup>[10]</sup>引物序列扩增COI基因部分片段并测序,选用引物Chmf4: 5'-TYTCWACWAAYCAYAAA-GAYATCGG-3'和Chmr4: 5'-ACYTCRGGRT-GRCCR-AARAATCA-3'。PCR反应扩增体系为2.50 μL 10× Buffer, 2.00 μL dNTP, 0.25 μL Taq酶,上、下游引物各1.00 μL, DNA模板1.00 μL,最后加入17.25 μL灭菌超纯水补足至终体积25.00 μL。PCR扩增反应程序:95℃预变性4 min;94℃变性40 s,48℃退火40 s,72℃延伸60 s,共35个循环;最后72℃延伸10 min。扩增产物用1%琼脂糖凝胶电泳检测大小和纯度,大小符合要求的产物交生工生物工程(上海)股份有限公司测序。所得序列上传到GenBank,登录号为OR979474~OR979477。

在GenBank中下载琴蛙属部分物种和近缘类群拇棘蛙属(*Babina*)物种的COI基因,结合本次采集标本所测序列进行系统发育分析。以琉球拇棘蛙(*Babina holsti*)和奄美拇棘蛙(*Babina subaspera*)为外群<sup>[9]</sup>。所有序列在软件Clustal X v1.8中比对<sup>[11]</sup>,采用贝叶斯法(Bayesian inference of phylogeny, BI)和最大似然法(maximum likelihood, ML)重建系统发育关系。建树前,利用软件jModelTest v2基于AIC标准选择最佳核苷酸替代模型<sup>[12]</sup>。最大似然树(ML)在软件PhyML v 3.0中完成<sup>[13]</sup>,并进行1 000次bootstrap重抽样分析,检验各节点置信度。采用MrBayes 3.2.4软件进行贝叶斯分析<sup>[14]</sup>,以随机树为起始树,在默认热值条件下同时运行4条马尔可夫链,运行1×10<sup>7</sup>代。每隔1 000代抽样一次,舍弃25%的老化树。使用Figtree软件查看结果并获得系统树的支系结构和各支系的后检验概率。最后用MEGA v6.0中的Kimura双参数模型<sup>[15]</sup>计算表1中所列琴蛙属物种间的遗传距离。

表1 本研究使用的样品采集信息、标本号和 GenBank 登录号

Tab. 1 Sample collection information, specimen number and GenBank accession number of this study

物种 Species	标本号 Specimen No.	采集地 Collection locality	COI GenBank 登录号 COI of GenBank accession number
本研究标本 Specimens for this study	XN20230526021	湖南新宁 Xinning Hunan	OR979474
	XN20230526022		OR979475
	XN20230526023		OR979476
	XN20230526024		OR979477
弹琴蛙 <i>Nidirana adenopleura</i>	SYS a007358	台湾台中 Taichung Taiwan	MN945201
沙巴琴蛙 <i>Nidirana chapaensis</i>	MNHN 2000. 4850	越南老街 Lao Cai Vietnam	KR087625
重庆琴蛙 <i>Nidirana chongqingensis</i>	SWU0001408	重庆黔江 Qianjiang Chongqing	OQ843905
仙琴蛙 <i>Nidirana daunchina</i>	SYS a004594	四川峨眉山 Mt. Emei Sichuan	MF807861
粤琴蛙 <i>Nidirana guangdongensis</i>	SYS a005767	广东英德 Yingde Guangdong	MN945162
广西琴蛙 <i>Nidirana guangxiensis</i>	NHMG 202007001	广西大明山 Mt. Daming Guangxi	MZ678729
桂北琴蛙 <i>Nidirana guibeiensis</i>	NNU 00917	广西兴安 Xing'an Guangxi	ON968962
海南琴蛙 <i>Nidirana hainanensis</i>	SYS a007669	海南陵水 Lingshui Hainan	MN945207
雷山琴蛙 <i>Nidirana leishanensis</i>	SYS a007908	贵州雷公山 Mt. Leigong Guizhou	MN945209
林琴蛙 <i>Nidirana lini</i>	SYS a003967	云南江城 Jiangcheng Yunnan	MF807857
孟闻琴蛙 <i>Nidirana mangveni</i>	SYS a006310	浙江大盘山 Mt. Dapan Zhejiang	MN945180
南昆山琴蛙 <i>Nidirana nankunensis</i>	SYS a005718	广东南昆山 Mt. Nankun Guangdong	MF807878
滇西琴蛙 <i>Nidirana occidentalis</i>	SYS a003775	云南高黎贡山 Mt. Gaoligong Yunnan	MF807855
琉球琴蛙 <i>Nidirana okinavana</i>	—	日本冲绳 Okinawa Japan	NC022872
滇蛙 <i>Nidirana pleuraden</i>	SYS a007858	云南昆明 Kunming Yunnan	MT932858
十万大山琴蛙 <i>Nidirana shiwandashanensis</i>	NNU00238	广西上思 Shangsi Guangxi	MZ782098
湘琴蛙 <i>Nidirana xiangica</i>	SYS a006491	湖南大围山 Mt. Dawei Hunan	MN945189
瑶琴蛙 <i>Nidirana yaoica</i>	SYS a007020	广西大瑶山 Mt. Dayao Guangxi	MK895041
叶氏琴蛙 <i>Nidirana yaeae</i>	CIB TZ20190608005	贵州桐梓 Tongzi Guizhou	MN295234
琉球拇棘蛙 <i>Babina holsti</i>	—	日本冲绳 Okinawa Japan	NC022870
奄美拇棘蛙 <i>Babina subaspera</i>	—	日本鹿儿岛 Kagoshima Japan	NC022871

## 2 结果

### 2.1 形态描述

本次采集的4号标本均为雄性个体(XN20230526021~XN20230526024), 头体长 50.38~56.15 mm, 其他部位量度见表2。标本吻端钝圆, 头长和头宽几乎相等, 瞳孔横置, 鼓膜明显, 大而圆, 边缘略突出, 舌后端有明显缺刻, 犁骨齿发达; 前臂较粗, 手指纤细, 指端略微膨大, 指长序 III > I > IV > II, 掌突2个, 呈椭圆形, 指关节下瘤明显; 左右跟部重叠明显, 胫

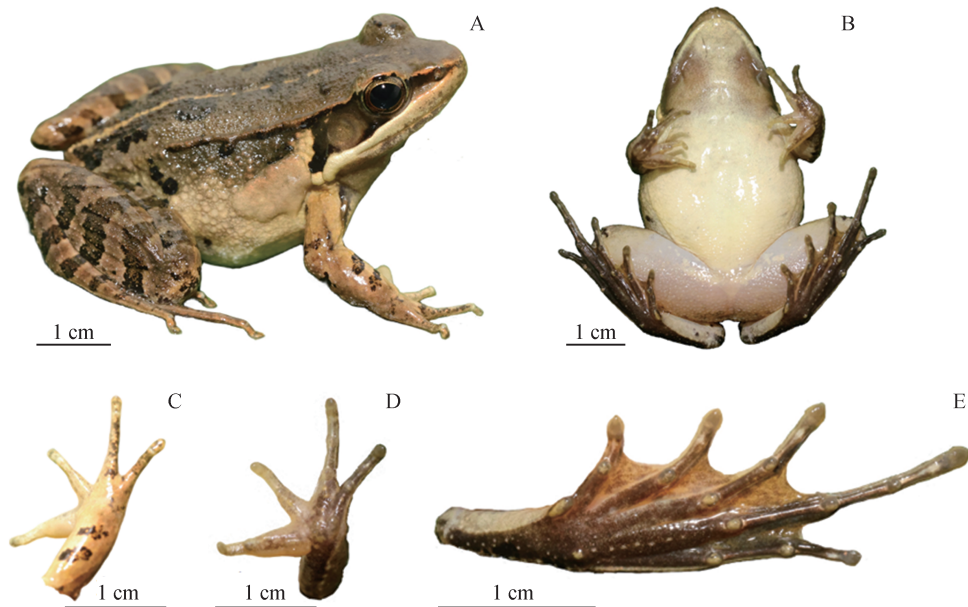
跖关节贴体前伸达眼鼻之间, 趾长序 IV > III > V > II > I, 趾端有腹侧沟, 趾间具 2/3 蹼, 蹼式为 I2-2 II 1½-3 III 2-3 IV 3+-2 V, 趾关节下瘤明显, 第IV趾上有3个, 第III、V趾上有2个, 第I、II趾上有1个; 内蹼突呈长条状, 外蹼突椭圆; 背部浅棕色, 体侧淡黄色; 背部及体侧有黑色斑; 背中线明显, 呈棕色, 四肢棕黄色; 鼓膜棕褐色; 颌腺和肩腺均为乳白色; 腹部光滑, 四肢及咽部肉色, 腹部白色; 具1对内声囊, 第I指具婚垫(图1)。

表2 桂北琴蛙成体标本形态量度对比

Tab. 2 Morphometric comparisons of adult specimens of *Nidirana guibeiensis*

mm

形态量度 Morphometric measurements	广西兴安(♂, n=13 <sup>[9]</sup> ) Xing'an in Guangxi		湖南新宁(♂, n=4) Xinning in Hunan	
	范围值 Range	平均值±标准差 Mean±SD	范围值 Range	平均值±标准差 Mean±SD
头体长 Snout-vent length	50.2~63.6	55.2±3.7	50.38~56.15	53.24±2.40
头长 Head length	18.6~22.5	19.9±1.1	16.52~18.18	17.35±0.59
头宽 Head width	18.3~23.1	20.1±1.4	16.42~18.45	17.62±0.87
吻长 Snout length	7.0~9.5	7.5±0.7	5.63~7.55	6.97±0.78
鼻间距 Internasal space	5.3~6.6	6.0±0.5	5.32~5.69	5.53±0.17
眼径 Diameter of eye	4.4~6.9	5.6±0.7	4.63~6.42	5.50±0.78
眼间距 Interorbital space	4.1~5.6	4.9±0.4	3.53~4.89	4.49±0.55
上眼睑宽 Width of upper eyelid			3.20~3.91	3.50±0.33
鼓膜径 Diameter of tympanum	4.6~6.3	5.4±0.5	3.90~5.00	4.48±0.43
前臂及手长 Length of lower arm and hand			21.64~24.40	22.79±1.09
前臂宽 Width of lower arm			3.09~3.63	3.41±0.22
后肢长 Hindlimb length			80.53~90.93	83.98±4.12
股长 Thigh length			22.39~26.56	24.07±1.73
胫长 Tibia length	25.7~29.9	28.4±1.5	23.19~29.37	26.35±2.42
胫宽 Tibia width			6.48~7.75	7.01±0.50
跗足长 Length of foot and tarsus			37.73~41.33	39.82±1.53
足长 Foot length	26.2~33.4	29.3±2.0	24.06~27.67	26.41±1.39



A. 侧面观; B. 腹面观; C. 手背面观; D. 手腹面观; E. 脚腹面观。

A. Lateral view; B. Ventral view; C. Dorsal view of hand; D. Ventral view of hand; E. Ventral view of foot.

图1 桂北琴蛙(♂)形态学特征(湖南新宁)

Fig. 1 Morphological characteristics of *Nidirana guibeiensis* (Xinning County, Hunan Province)

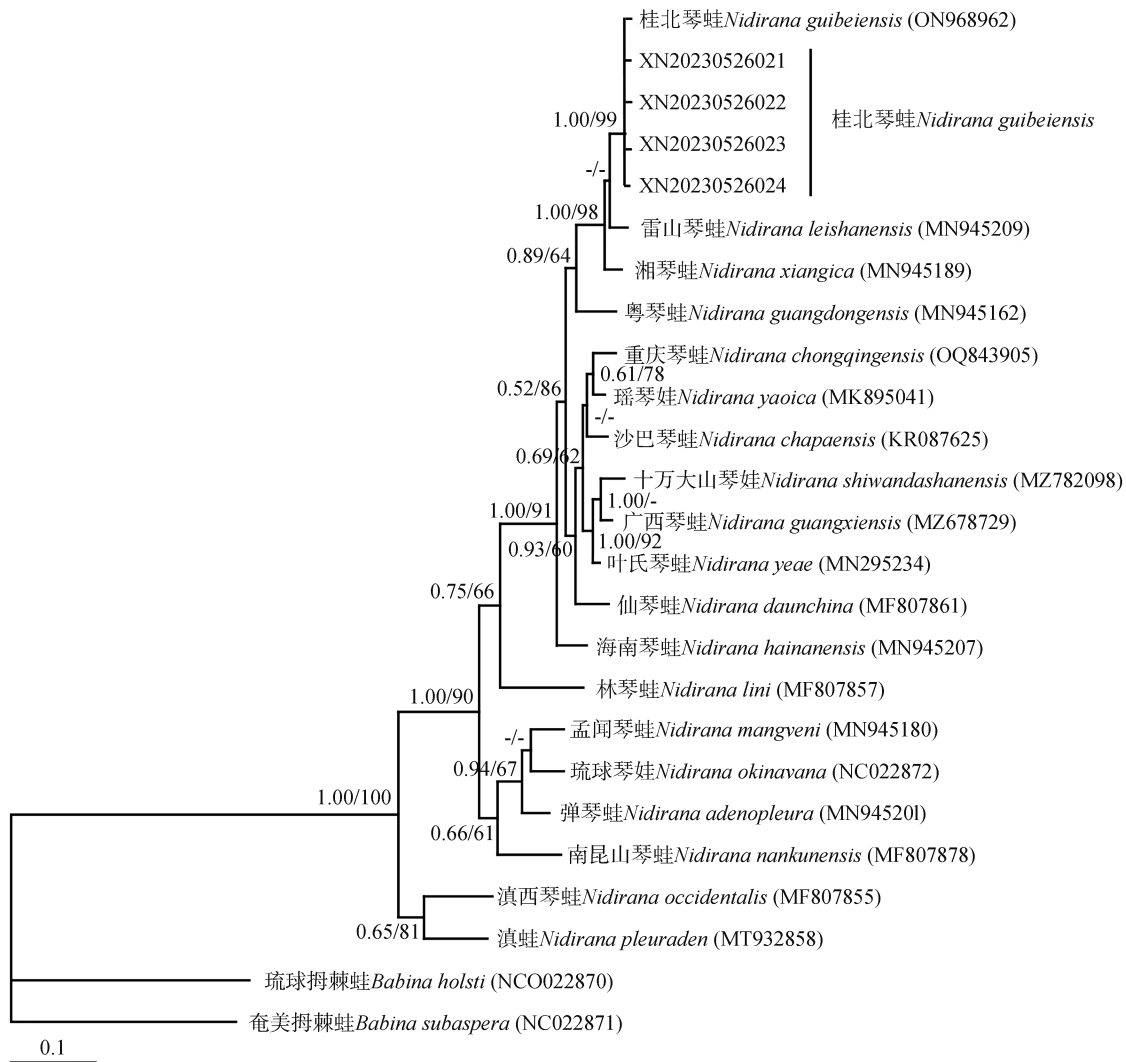
### 2.2 系统发育关系和遗传距离

PCR扩增获得的琴蛙线粒体COI基因片段长度为672 bp。在jModelTest v2软件中基于AIC标准计算了最佳核苷酸替代模型,本文用于系统发育分析的最佳核苷酸替代模型为GTR+G+I。

基于贝叶斯法和最大似然法构建系统发育树(图2)显示,采自湖南新宁的琴蛙标本与桂北琴蛙模式产地(广西兴安)的标本聚为一支,且有较高的支持率(1.00/99)。基于Kimura双参数模型估算本研究所采琴蛙属部分物种的遗传距离为2.7%~14.4%

(表3),平均遗传距离为7.5%。本研究所采集的琴蛙标本与桂北琴蛙模式产地(广西兴安)标本间的遗传距离为0,说明两个种群间共享同一单倍型,未出现遗传分化。通过形态比较,在新宁采集的琴蛙标本与桂北琴蛙原始文献<sup>[8]</sup>的描述吻合,系统发育分析也支持采自湖南新宁的琴蛙标本与桂北琴蛙模式产地标本聚为一支。

因此,综合形态比较与分子系统学分析,鉴定采集于湖南新宁崑山镇的琴蛙标本为桂北琴蛙,为湖南省两栖动物分布新纪录。



图中数字代表重抽样支持率,前者为贝叶斯法支持率,后者为最大似然法支持率。XN20230526021~XN20230526024为本研究采集的标本号,其余物种序列信息见表1。

The figures represent resampling support rates (BI/ML). XN20230526021-XN20230526024 are the specimen number collected in this study, and the sequence information of other species are shown in table 1.

图2 基于COI基因序列构建的琴蛙属部分物种贝叶斯和最大似然法系统发育树

Fig. 2 Bayesian inference and maximum likelihood phylogenetic tree of some species of *Nidirana* based on *COI* gene sequences

表3 基于COI基因序列估算的琴蛙属物种间Kimura双参数遗传距离

Tab. 3 Estimation of Kimura 2-parameter genetic distance among *Nidirana* species based on COI gene sequences

物种 Species	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	
1. 桂北琴蛙( <i>Nidirana guibeiensis</i> ) (Xing'an, Guangxi)																				
2. 桂北琴蛙( <i>Nidirana guibeiensis</i> ) (Xinning, Hunan)	0																			
3. 湘琴蛙 <i>Nidirana xiangica</i>	0.027	0.027																		
4. 雷山琴蛙 <i>Nidirana leishanensis</i>	0.027	0.027	0.028																	
5. 沙巴琴蛙 <i>Nidirana chapaensis</i>	0.055	0.055	0.052	0.055																
6. 瑶琴蛙 <i>Nidirana yaoica</i>	0.055	0.055	0.055	0.055	0.028															
7. 叶氏琴蛙 <i>Nidirana yeae</i>	0.055	0.055	0.055	0.059	0.030	0.023														
8. 粤琴蛙 <i>Nidirana guangdongensis</i>	0.057	0.057	0.062	0.062	0.060	0.053	0.052													
9. 重庆琴蛙 <i>Nidirana chongqingensis</i>	0.059	0.059	0.059	0.055	0.032	0.025	0.034	0.064												
10. 海南琴蛙 <i>Nidirana hainanensis</i>	0.060	0.060	0.055	0.055	0.043	0.043	0.044	0.057	0.043											
11. 仙琴蛙 <i>Nidirana daunchina</i>	0.062	0.062	0.062	0.062	0.048	0.037	0.039	0.059	0.048	0.053										
12. 十万大山琴蛙 <i>Nidirana shiwandashanensis</i>	0.064	0.064	0.071	0.060	0.043	0.039	0.027	0.068	0.039	0.053	0.048									
13. 广西琴蛙 <i>Nidirana guangxiensis</i>	0.059	0.059	0.059	0.055	0.034	0.030	0.018	0.066	0.041	0.052	0.043	0.027								
14. 弹琴蛙 <i>Nidirana adenopleura</i>	0.091	0.091	0.107	0.096	0.082	0.075	0.082	0.089	0.089	0.084	0.089	0.091	0.085							
15. 南昆山琴蛙 <i>Nidirana nankunensis</i>	0.098	0.098	0.100	0.098	0.096	0.100	0.096	0.091	0.100	0.105	0.109	0.112	0.103	0.071						
16. 林琴蛙 <i>Nidirana lini</i>	0.101	0.101	0.107	0.110	0.085	0.096	0.085	0.096	0.094	0.093	0.096	0.096	0.096	0.093	0.093					
17. 琉球琴蛙 <i>Nidirana okinawana</i>	0.101	0.101	0.109	0.107	0.085	0.089	0.089	0.093	0.101	0.094	0.094	0.096	0.089	0.046	0.071	0.103				
18. 孟闻琴蛙 <i>Nidirana mangveni</i>	0.101	0.101	0.107	0.107	0.093	0.091	0.094	0.098	0.098	0.094	0.096	0.103	0.100	0.048	0.069	0.098	0.048			
19. 滇西琴蛙 <i>Nidirana occidentalis</i>	0.128	0.128	0.126	0.132	0.110	0.117	0.121	0.126	0.123	0.117	0.112	0.114	0.125	0.112	0.125	0.114	0.114	0.112		
20. 滇蛙 <i>Nidirana pleuraden</i>	0.144	0.144	0.141	0.144	0.125	0.123	0.117	0.116	0.128	0.119	0.121	0.119	0.128	0.109	0.116	0.110	0.110	0.126	0.085	

### 2.3 生境描述

本次桂北琴蛙标本的采集地位于湖南省新宁县崑山镇坪地村海拔441 m的农田附近,发现时雄蛙正在鸣叫(图3)。与其同域分布的两栖类还有中华

湍蛙(*Amolops sinensis*)、阔褶水蛙(*Hylarana latouchii*)、泽陆蛙(*Fejervarya multistriata*)、三港雨蛙(*Hyla sanchiangensis*)、斑腿泛树蛙(*Polypedates megacephalus*)和饰纹姬蛙(*Microhyla fissipes*)等。



图3 湖南新宁桂北琴蛙生境

Fig. 3 Habitat of *Nidirana guibeiensis* in the Xinning County, Hunan Province

### 3 讨论

琴蛙属物种在中国南方广泛分布,大多数物种间形态较为相似,因此据形态特征很难对其进行鉴定<sup>[8]</sup>。近年来,随着分子生物学的发展,采用形态比较结合分子系统学分析对物种进行鉴定的方法已被广泛应用。

本研究通过下载已有报道的琴蛙属部分物种的COI序列,构建系统发育树,计算遗传距离,发现本研究采标本和湖南省记录分布的弹琴蛙、湘琴蛙、粤琴蛙和雷山琴蛙的遗传距离分别为9.1%、2.7%、5.7%和2.7%,和模式产地(广西兴安)的桂北琴蛙遗传距离为0,远小于其他琴蛙属的遗传距离。

采自湖南新宁的琴蛙标本与湖南已记载的4种琴蛙属物种在形态上存在一定差异<sup>[2-3,5,9]</sup>。桂北琴蛙头长与头宽几乎相等,区别于湘琴蛙、粤琴蛙和雷山琴蛙的头长大于头宽;无雄性线,区别于弹琴蛙的有雄性线;掌突2个,区别于弹琴蛙、湘琴蛙、粤琴蛙和雷山琴蛙的3个掌突;有弱的颞褶,区别于弹琴蛙、湘琴蛙、粤琴蛙和雷山琴蛙的无颞褶。本次采集的桂北琴蛙和模式产地(广西兴安)标本在形态上也

存在一些差异,新宁桂北琴蛙后肢贴体前伸达眼中部,不同于模式产地桂北琴蛙的达鼻眼之间。但由于本次所采桂北琴蛙样本数量有限,上述差异是否为适应不同环境而导致的形态变异,还有待进一步论证。

桂北琴蛙为2022年新发表的两栖动物新物种,此前在我国仅分布于广西兴安县和猫儿山国家级自然保护区,栖息在海拔300~1 300 m的稻田、静水塘旁<sup>[9]</sup>。此次在湖南省新宁县崑山镇坪上村(海拔441 m)发现桂北琴蛙,不仅丰富了其分布信息,也将桂北琴蛙的分布区域向北扩展至湖南中南部。结合已有的报道,本研究推测桂北琴蛙可能沿资江流域分布,因此,建议在该区域进行全面详细地调查,以了解桂北琴蛙确切的分布范围及种群状况。

#### 参考文献:

- [1] FROST D R. Amphibian species of the world: an online reference: version 6.0 [DB/OL]. [2023-09-20]. <https://amphibian-softheworld.amnh.org/>.
- [2] LYU Z T, DAI K Y, LI Y, *et al.* Comprehensive approaches reveal three cryptic species of genus *Nidirana* (Anura, Ranidae) from China[J]. *ZooKeys*, 2020, 914: 127-159.

- [3] 刘京, 程彦林, 周铝, 等. 湖南通道发现雷山琴蛙[J]. 动物学杂志, 2022, 57(1): 105-111.  
LIU J, CHENG Y L, ZHOU L, *et al.* *Nidirana leishanensis* found in Tongdao, Hunan [J]. Chinese Journal of Zoology, 2022, 57(1): 105-111.
- [4] 中国科学院昆明动物研究所. “中国两栖类”信息系统[DB/OL]. [2023-09-20]. <http://www.amphibiachina.org/>. Kunming Institute of Zoology. The database of Chinese amphibian [DB/OL]. [2023-09-20]. <http://www.amphibiachina.org/>.
- [5] 沈猷慧, 杨道德, 莫小阳, 等. 湖南动物志: 两栖纲[M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 2014: 236-240.  
SHEN Y H, YANG D D, MO X Y, *et al.* Fauna Hunan: Amphibia [M]. Changsha: Hunan Science and Technology Press, 2014: 236-240.
- [6] 高志伟, 钱天宇, 江建平, 等. 湖南省两栖、爬行动物物种多样性及其地理分布[J]. 生物多样性, 2022, 30(2): 97-111.  
GAO Z W, QIAN T Y, JIANG J P, *et al.* Species diversity and distribution of amphibians and reptiles in Hunan Province, China [J]. Biodiversity Science, 2022, 30(2): 97-111.
- [7] 费梁, 叶昌媛, 黄永昭, 等. 中国两栖动物检索及图解[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 2005: 6-13; 119-121.  
FEI L, YE C Y, HUANG Y Z, *et al.* An illustrated key to Chinese amphibians [M]. Chengdu: Sichuan Publishing House of Science and Technology, 2005: 6-13; 119-121.
- [8] 费梁, 叶昌媛, 江建平. 中国两栖动物及其分布彩色图鉴[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 2012: 344-345.  
FEI L, YE C Y, JIANG J P. Colored atlas of Chinese amphibians and their distributions [M]. Chengdu: Sichuan Publishing House of Science & Technology, 2012: 344-345.
- [9] CHEN W C, YE J P, PENG W X, *et al.* A new species of *Nidirana* (Anura, Ranidae) from northern Guangxi, China [J]. ZooKeys, 2022, 1135: 119-137.
- [10] CHE J, CHEN H M, YANG J X, *et al.* Universal *COI* primers for DNA barcoding amphibians [J]. Molecular Ecology Resources, 2012, 12(2): 247-258.
- [11] THOMPSON J D, GIBSON T J, PLEWNIAC F, *et al.* The CLUSTAL\_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools [J]. Nucleic Acids Research, 1997, 25(24): 4876-4882.
- [12] POSADA D. jModelTest: phylogenetic model averaging [J]. Molecular Biology and Evolution, 2008, 25(7): 1253-1256.
- [13] GUINDON S, DUFAYARD J F, LEFORT V, *et al.* New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0 [J]. Systematic Biology, 2010, 59(3): 307-321.
- [14] RONQUIST F, HUELSENBECK J P. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models [J]. Bioinformatics, 2003, 19(12): 1572-1574.
- [15] TAMURA K, STECHER G, PETERSON D, *et al.* MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0 [J]. Molecular Biology and Evolution, 2013, 30(12): 2725-2729.