

小鲵科 (Hynobiidae) 16S rRNA 基因序列分析及其分子进化关系

李悦^{1,2} 吴敏*¹ 王秀玲³

(1. 浙江大学生命科学院, 浙江 杭州 310027; 2 濒危野生动物保护遗传与繁殖教育部重点实验室 3. 新疆师范大学生物系, 乌鲁木齐 830054)

摘要: 采用 PCR 方法扩增了新疆北鲵和秦巴北鲵的 16S 核糖体 RNA 基因片段, 并测定了其核苷酸序列。通过与巴鲵、黄斑拟小鲵和山溪鲵属各种 16S 核糖体 RNA 基因片段的同源性比较分析和分子系统学研究, 结果表明山溪鲵、无斑山溪鲵、北方山溪鲵是三个有效种; 巴鲵是有效属且与秦巴北鲵的亲缘关系比较近。黄斑拟小鲵不是秦巴北鲵的同物异名。

关键词: 小鲵科; 16S 核糖体 RNA; 分子系统学

Phylogenetic Relationships of Hynobiidae Based on Sequences of 16S ribosomal RNA Gene

LiYue^{1,2} WuMin*¹ WangXiuLing³

(1、College of Life Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029)

(2、The Key Laboratory of Conservation Genetics and Reproductive Biology for Endangered Wild Animals, Ministry of Education, Hangzhou 310029)

(3、Department of Biology, Xinjiang Normal University, Urumqi, 830054)

Abstract: The phylogeny of *Hynobiidae* remains controversial. In the paper, DNA fragments of 470bp 16S ribosomal RNA (16S rRNA) gene on mitochondrial DNA from *Ranodon sibiricus*, *Ranodon tsinpaensis* were amplified. PCR products were cloned into PMD18 T vector after purification. These sequences were determined and deposited in the GenBank (accession numbers: *Ranodon sibiricus* AY373459; *Ranodon tsinpaensis* AY372534). By comparing the nucleotide differences of 16S ribosomal RNA sequences among *Liua shihi*, *Pseudohynobius flavomaculatus* and *Batrachuperus* genus from GenBank database, the divergences and base substitution among these sequences were analyzed with the MEGA software. The molecular results support that *B. tibetanus*, *B. pinchonii* and *B. karlschmidti* are classified into three separate species. *Liua shihi* has closer phylogenetic relationship to *Ranodon tsinpaensis* than to other species. More our results reveal that *Pseudohynobius flavomaculatus* isn't a synonym of *Ranodon tsinpaensis*.

Key words: *Hynobiidae*; 16S ribosomal RNA; molecular phylogeny.

*通讯作者 (Corresponding author) E-mail: wumin@cls.zju.edu.cn

**第一作者简介 李悦, 女, 硕士研究生。研究方向: 动物分子生物学。

小鲵科 (*Hynobiidae*) 是两栖类有尾目中最原始的一个类群 (赵尔宓等, 1984)。从现有的资料看, 对小鲵科动物的研究主要集中于生态学、形态学、解剖学、胚胎发育、遗传学和生理生化等方面, 对于分子研究甚少, 尤其是关于分子系统学研究国内未见报道。小鲵科的分类、系统演化等方面在研究陆生脊椎动物的起源问题上具有重要学术研究价值。其中多个物种已被列入国际保护自然和自然资源联合会红皮书和中国濒危动物红皮书。

根据赵尔宓、张学文、赵蕙、鹰岩 2000 中国两栖纲和爬行纲动物校正名录将小鲵科分为 7 个属, 分别为山溪鲵属 (*Batrachuperus*)、小鲵属 (*Hynobius*)、巴鲵属 (*Liua*)、爪鲵属 (*Onychodactylus*)、肥鲵属 (*Pachyhyuabius*)、北鲵属 (*Ranodon*) 和极北鲵属 (*Salamandrella*)。但是对于其中的一些种是否能独立为有效属以及是否为同物异名, 分类学家一直持有异议。特别是对山溪鲵属、巴鲵属、北鲵属以及是否存在拟小鲵属 (*Pseudohynobius*) 争议较大。(费梁、叶昌援 1983; 黄永昭、费梁等 1993; 陈晓虹等 2000; 赵尔宓 1994; 徐剑 2001; 费梁等 1999; 赵尔宓、吴贯夫 1995; 黑尾正树 2001; 赵尔宓 1990)。

在动物分子分类和系统进化领域, 线粒体 mtDNA 因其具有分子小、简单、演化快速、种间差异大、族群内稳定性高、母系遗传、无重组及遗传性数目多 (>350 restriction endonucleases) 等特性被广泛用作分子标记 (Brown, 1983; Avise, 1994)。已经证明线粒体 16S 核糖体 RNA 基因对于研究两栖动物的科属间关系是有用的 (Hay 等, 1995)。本文选择线粒体 16S rRNA 基因作为遗传标记, 研究小鲵科其中 10 个种之间的系统进化问题, 旨在为小鲵科的分类与演化提供一些分子水平的证据, 并对种属水平的分类研究进行初步探讨。

1. 材料和方法

1.1 材料来源

2 尾新疆北鲵 (*R sibiricus*) 样品, 冷冻组织样, 采自新疆维吾尔自治区温泉县; 3 尾秦巴北鲵 (*R tsinpaensis*) 样品, 酒精浸泡组织样, 由中国科学院成都生物研究所的曾晓茂研究员赠予。巴鲵 (*Liua shihi*, GenBank 序列号 AY028775)、黄斑拟小鲵 (*Pseudohynobius flavomaculatus*, AY028775)、山溪鲵 (*B pinchonii*, AY028750)、无斑山溪鲵 (*B karlschmidti*, AY028759) 龙洞山山溪鲵 (*B londongensis*, AY028748)、北方山溪鲵 (*B tibetanus*, AY028765) 盐源山溪鲵 (*B yenyuanensis*, AY028763)、太白山溪鲵 (*B taibaiensis*, AY028759) 的 16S rDNA 序列数据从 GenBank 上检索所得。

1.2 DNA 提取

取肌肉组织 50mg 标准酚氯法提取 (Sambrook.J 1989), 操作过程中设空白对照。

1.3 PCR 扩增

据 GenBank 已知序列，以 Primer Premier5.0 进行引物设计：S₁, 5'-CTGTTTACCAAAAACATCATCGC-3'; S₂, 5'-CCGGTCTGAACTCAGATCACG-3'。扩增反应体积 50 μ l，其中含有 0.2 mM dNTPs, 0.5 μ M 引物, 10mM Tris-HCl (pH 8.0), 1.5mM MgCl₂, 1.5 unit Taq PULS 酶，以及约 100 ng 的 DNA 模板。反应条件为 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 分钟; 94 $^{\circ}$ C 变性 60 秒, 50 $^{\circ}$ C 退火 60 秒, 72 $^{\circ}$ C 延伸 60 秒，共进行 35 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 分钟。PCR 反应在 PTC-200 型热循环仪上进行，操作过程中设空白对照。取 5 μ l 反应液在 1.0% 的琼脂糖凝胶上进行电泳检测。

1.4 PCR 产物的纯化及测序

PCR 产物经琼脂糖电泳分离后，用上海生工 (Sangon) 生产的 UNIQ10 柱式 PCR 产物回收试剂盒 (UNIQ-10 column PCR Products Purification Kit) 纯化回收。将 16S rRNA 的 PCR 纯化产物克隆到 PMD18-T 载体中 (购自宝生物工程有限公司)，鉴定阳性克隆后，对重组质粒再进行测序。测序在 Pharmacia 公司自动测序仪 Megabase 1000 上进行。

1.5 序列分析及系统重建

采用 DNASTAR 软件包 (DNASTAR Inc, 1996) 中的 MegAlign 程序对新疆北鲩和秦巴北鲩的测定序列和 GenBank 中下载的巴鲩 (*Liua shihi*, AY028775)、黄斑拟小鲩 (*P flavomaculatus*, AY028775)、山溪鲩 (*B pinchonii*, AY028750)、无斑山溪鲩 (*B karlschm idi*, AY028759)、龙洞山山溪鲩 (*B londongensis*, AY028748)、北方山溪鲩 (*B tibetanus*, AY028765)、盐源山溪鲩 (*B yenyuanensis*, AY028763)、太白山溪鲩 (*B taibaiensis*, AY028759) 同源序列进行排列，并经人工仔细核查。在此基础上，序列输入 MEGA2.1 (Kumar *et al.*, 2001) 进行不加权配对组算术方法 (UPGMA tree)、邻接法 (Neighbor-joining) 的系统重建; 以 PHYLIP3.6 软件包 (Felsenstein, 2001) 进行最大简约法 (Maximum Parsimony) 的系统重建。在 Mega 软件包中进行转换数和颠换数数据统计并计算分枝间的遗传距离。邻接树使用 Kimura 2-parameter 法，最大简约树使用 Heuristic 功能搜寻最简约 (MP) 树。系统重建均以大鲩 (*Andrias davidianus*) 为外群，系统树各分枝的置信度由重抽样法 (Bootstrap) 1000 次重复检测，DNA 序列变异中的转换和颠换赋予相同的加权重。

2. 结果

2.1 16S rRNA 基因序列及其变异

16S rRNA 基因序列已登录 GenBank，新疆北鲩 (AY373459) 和秦巴北鲩 (AY372534)。与 Genbank 上获得的巴鲩、黄斑拟小鲩、山溪鲩属各种编码序列比较得到同源序列 470bp。其中变异位点 144 个，简约信息位点 38 个。T、C、A、G 碱基的平均含量为 27.5%、17.5%、37.5%、17.5% (见表 1)。核苷酸的替换主要以转换为主 (平均转换 / 颠换数为 22/13)。

	T(0)	C	A	G	T-1	C-1	A-1	G-1	T-2	C-2	A-2	G-2	T-3	C-3	A-3	G-3
巴鲩 (<i>Liua shihi</i>)	27.4	17.0	37.4	18.1	25.5	21.7	40.1	12.7	26.8	15.9	31.8	25.5	30.1	13.5	40.4	16.0
秦巴北鲩 (<i>Ranodon tsipaensis</i>)	26.8	18.3	36.7	18.3	25.5	22.9	37.6	14.0	26.1	17.8	31.8	24.2	28.7	14.0	40.8	16.6
新疆北鲩 (<i>Ranodon sibiricus</i>)	27.4	17.2	38.2	17.2	25.9	20.9	41.1	12.0	26.9	16.0	32.7	24.4	29.3	14.6	40.8	15.3
黄斑拟小鲩 (<i>Pseudochynobius flavomaculatus</i>)	26.7	17.5	38.2	17.7	25.5	20.4	41.4	12.7	25.6	16.7	33.3	24.4	28.8	15.4	39.7	16.0
北方山溪鲩 (<i>Batrachuperus tibetanus</i>)	27.8	17.4	37.6	17.2	26.6	21.5	39.2	12.7	26.3	16.7	34.0	23.1	30.6	14.0	39.5	15.9
山溪鲩 (<i>Batrachuperus pinchonii</i>)	27.4	17.4	37.8	17.4	25.9	21.5	39.9	12.7	26.3	16.7	34.0	23.1	29.9	14.0	39.5	16.6
无斑山溪鲩 (<i>Batrachuperus karlschmidti</i>)	27.4	17.4	37.8	17.4	25.9	21.5	39.9	12.7	26.9	16.0	34.0	23.1	29.3	14.6	39.5	16.6
龙洞山山溪鲩 (<i>Batrachuperus longdongensis</i>)	28.4	16.9	37.5	17.2	26.6	20.9	39.9	12.7	28.7	15.9	31.8	23.6	29.9	14.0	40.8	15.3
太白山溪鲩 (<i>Batrachuperus taibaiensis</i>)	27.8	17.4	37.8	17.0	25.9	21.5	39.9	12.7	26.9	16.0	34.0	23.1	30.6	14.6	39.5	15.3
盐源山溪鲩 (<i>Batrachuperus yenyuanensis</i>)	27.5	17.6	37.8	17.2	25.6	21.8	39.7	12.8	26.5	16.8	32.9	23.9	30.3	14.2	40.6	14.8
大鲩 (<i>Andria davidianus</i>)	27.8	18.0	36.1	18.0	32.5	14.9	37.0	15.6	21.4	20.8	37.0	20.8	29.6	18.4	34.2	17.8
Avg.	27.5	17.5	37.5	17.5	26.5	20.9	39.6	13.0	26.2	16.8	33.4	23.5	29.7	14.7	39.6	16.0

表 1. 不同物种的碱基组成频率

Table 1 All frequencies of Nucleotide Frequencies in different species

16s RNA 碱基的组成频率, 数字 1、2、3 分别代表密码子第 1、2、3 位 (Frequencies are given by codon position for 16s RNA. No 1, 2, 3 denote 1st, 2nd and 3rd codon positions)

山溪鲩属内各种间的差异百分比为 0.3%~0.7%, 山溪鲩属各种与巴鲩、黄斑拟小鲩、新疆北鲩、秦巴北鲩的差异百分比为 1.0%~1.3%。巴鲩、黄斑拟小鲩、新疆北鲩、秦巴北鲩四者相互之

间的差异百分比为 1.0%~1.4% (见表 2)。说明黄斑拟小鲵不是秦巴北鲵的同物异名, 且这四者之间达到属的区别。这与作者根据细胞色素 b 研究的结果相同 (未发表)。

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1.巴鲵 (<i>Liua shihi</i>)		0.041	0.060	0.058	0.058	0.053	0.058	0.048	0.055	0.055	0.289
2.秦巴北鲵 (<i>Ranodon tsipaensis</i>)	0.010		0.075	0.085	0.067	0.062	0.067	0.067	0.067	0.065	0.295
3.新疆北鲵 (<i>Ranodon sibiricus</i>)	0.012	0.013		0.058	0.048	0.043	0.048	0.046	0.048	0.046	0.256
4.黄斑拟小鲵 (<i>Pseudochynobius flavomaculatus</i>)	0.012	0.014	0.012		0.050	0.046	0.046	0.053	0.050	0.048	0.272
5.北方山溪鲵 (<i>Batrachuperus tibetanus</i>)	0.012	0.013	0.011	0.011		0.004	0.011	0.016	0.013	0.007	0.285
6.山溪鲵 (<i>Batrachuperus pinchonii</i>)	0.011	0.012	0.010	0.010	0.003		0.007	0.011	0.009	0.002	0.285
7.无斑山溪鲵 (<i>Batrachuperus karlschmidti</i>)	0.012	0.013	0.011	0.010	0.005	0.004		0.018	0.016	0.009	0.288
8.龙洞山山溪鲵 (<i>Batrachuperus longdongensis</i>)	0.011	0.013	0.010	0.011	0.006	0.005	0.006		0.020	0.013	0.279
9.太白山溪鲵 (<i>Batrachuperus taibaiensis</i>)	0.011	0.013	0.011	0.011	0.005	0.004	0.006	0.007		0.011	0.291
10.盐源山溪鲵 (<i>Batrachuperus yenyuanensis</i>)	0.012	0.012	0.010	0.011	0.004	0.002	0.004	0.005	0.005		0.288
11.大鲵 (<i>Andria davidianus</i>)	0.030	0.030	0.027	0.029	0.029	0.029	0.030	0.029	0.030	0.030	

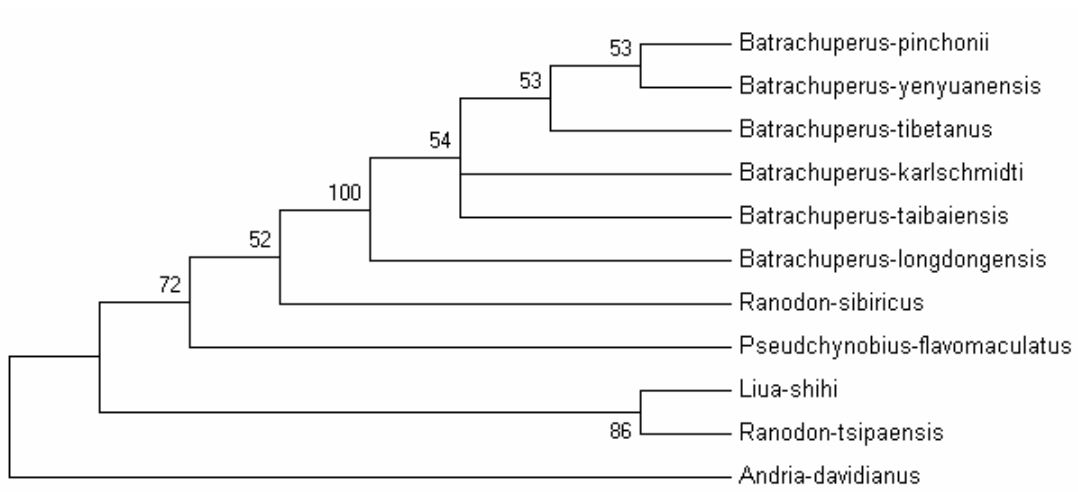
表 2. 各物种间的标准误 (左下角) 和遗传距离 (Kimura 2-parameter 模型, 含转换与颠换, 右上角)

Table 2 Standard Errors (lower-left matrix) and Genetic distances (Kimura 2-parameter model , transition +transversion, upper-right matrix) for different species

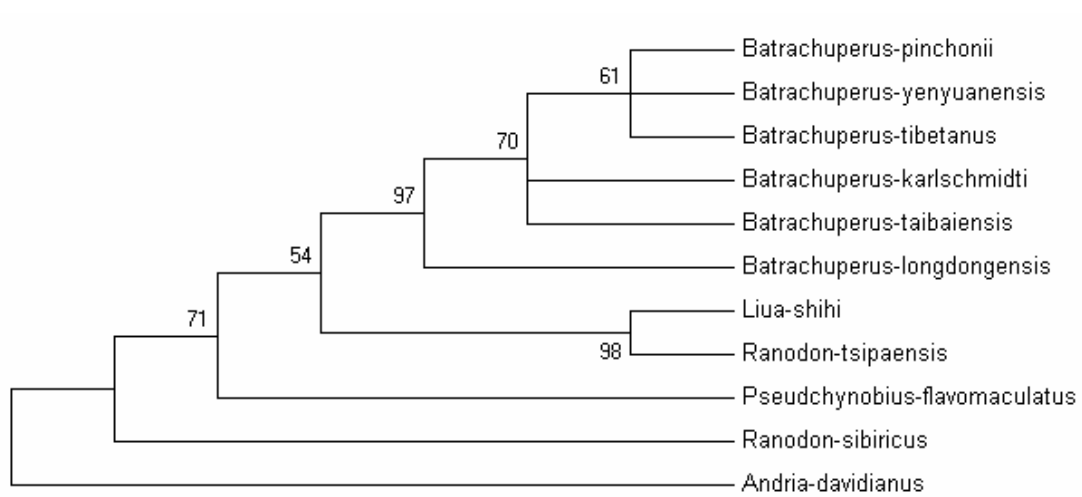
2.2 系统进化树

基于小鲵科 10 个种的 16S rRNA 部分序列以 NJ、ME、MP 法构建的系统树基本相同。

A:



B:



C:

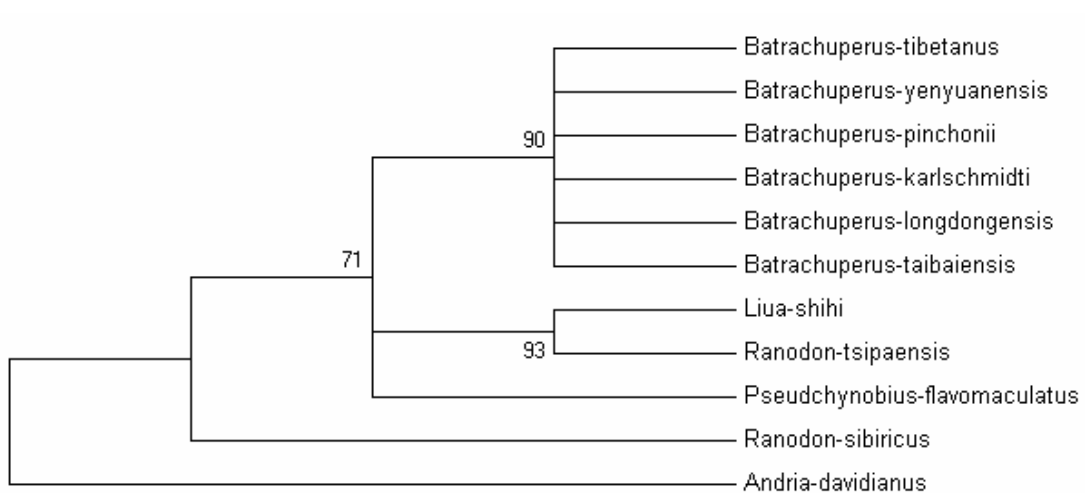


图 3. 基于 16s RNA 构建小鲵科不同物种的分子系统树

Figure 3. Molecular Phylogenetic tree of different species in Hynobiidae based on 16s RNA sequences data with Bootstrap test (1000 replications)

图中数字为自举置信水平 Bootstrap 值, 1000 次重复检测, 若 Bootstrap 值小于 50, 结点不显示 (The values of bootstrap confidence level of the nodes from 1000 replications were indicated. Numbers of Bootstrap < 50, node not been display) a. 不加权配对组算法方法 (UPGMA tree); b. 邻近法树 (N-J tree); c. 最大简约法树 (Maximum Parsimony tree)

3. 讨论

3.1 山溪鲵属有效种的讨论

一度认为北方山溪鲵 (*B. tibetanus*) 是山溪鲵 (*B. pinchoni*) 的同物异名 (张孟闻, 1936), 无斑山溪鲵 (*B. karlschmidt*) 也曾被认为是 *B. pinchoni* 的同物异名 (田婉淑, 江耀明, 1986)。本文根据对 16S rRNA 基因的比较认为山溪鲵、无斑山溪鲵、北方山溪鲵是三个有效种, 其中山溪鲵与北方山溪鲵聚为姊妹群, UPGMA 树置信度为 53%, NJ 树置信度为 61%。山溪鲵属中山溪鲵、盐源山溪鲵、北方山溪鲵首先类聚, 然后与无斑山溪鲵、太白山溪鲵类聚, 最后与山溪鲵属中比较特殊的龙洞山溪鲵类聚。与赵尔宓、徐剑根据形态学、发育学研究结果一致。

3.2 巴鲵、秦巴北鲵的分类地位讨论

巴鲵与秦巴北鲵在 3 种系统构建树中都类聚, 且置信度均大于 85%, 与黑尾正树等 (2001) 得出的结论相符。黑尾正树在比较了巴鲵、秦巴北鲵和黄斑拟小鲵三者后认为巴鲵与秦巴北鲵虽然在形态学上差异显著, 但是根据高频度反复 DNA 及核型分析结果, 这两种之间关系较近, 甚至认为巴鲵与秦巴北鲵应为同一属。

本实验中得到山溪鲵属内各种间的差异百分比为 0.3%~0.7%, 巴鲵与秦巴北鲵、新疆北鲵的差异百分比为 1.0% 和 1.2%, 达到了山溪鲵属与其他属的 1.0%~1.3% 的差异百分比。因此认为巴鲵、秦巴北鲵、新疆北鲵之间达到了属级差别。与赵尔宓、徐剑认为巴鲵与新疆北鲵存在唇褶、梨骨齿列等形态上的明显不同, 将巴鲵单独作为一有效属的观点相同, 但与其将秦巴北鲵与新疆北鲵同属北鲵属观点不一致。

3.3 黄斑拟小鲵的分类地位

学术界对是否存在拟小鲵属有争议。费梁与叶吕媛认为黄斑拟小鲵与秦巴北鲵应该共属拟小鲵属, 新疆北鲵单独为北鲵属, 而赵尔宓、吴贯夫则认为黄斑拟小鲵是秦巴北鲵的异名, 因此只存在新疆北鲵与秦巴北鲵共属北鲵属。黄斑拟小鲵与巴鲵、秦巴北鲵、新疆北鲵的遗传距离分别为 5.8%、8.5%、5.8% 说明黄斑拟小鲵与秦巴北鲵的关系较与巴鲵和新疆北鲵远, 不是秦巴北鲵的同物

异名。有尾类因四肢较弱、运动能力不强，其地理分布有一定的地域性。巴鲵分布于河南、陕西、四川、湖北，黄斑拟小鲵分布于四川、贵州、湖北、湖南，秦巴北鲵分布于陕西、四川，新疆北鲵仅分布于新疆温泉县（陈晓虹，崔文元，2000；王秀玲，1998）。本试验依据最大简约（MP）树和邻近树（NJ）系统构建，认为黄斑拟小鲵与巴鲵、秦巴北鲵关系较近，而与新疆北鲵相对远，与地理分布特征相符。

3.4 小鲵科系统进化关系

小鲵科与大鲵的遗传距离 25.6%~29.5%，迄今在欧洲发现的最早的小鲵化石约在 500 万年前，也就是中新世（Miocene）（Venczel, M. 1997）。UPMGA、NJ、MP 进化树均显示山溪鲵属为较进化的类型。NJ、MP 进化树显示新疆北鲵为较原始的类型。从形态特征上看，山溪鲵属的趾只有 4，而巴鲵、秦巴北鲵、黄斑拟小鲵、新疆北鲵都是 5；新疆北鲵的犁骨和犁骨齿形态是小鲵科中较原始者（赵尔宓,1994, 1995）。推测山溪鲵属为小鲵科中较进化属，新疆北鲵较原始。因本试验只涉及小鲵科 10 个种，因此完全了解小鲵科的系统进化还待研究。

参考文献(References)

- Avice, J.C. 1994. *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. Chapman & Hall. New York. London. pp511.
- Brown, W.M. 1983. Evolution of animal mitochondrial DNA. In: Nei, M. and R.K.Kocher, eds. *Evolution of genes and proteins*. Sunderland: Sinauer Associates Inc. 62~86.
- Chen Xiao-hong, Cui Wen-yuan, 2000. Current Studies on the Urodeles (Amphibia: Caudata) in China. [J]. *Journal of Henan Normal University(Natural Science)*, **28** (1): 66—71 [陈晓虹, 崔文元. 我国现存有尾类及研究现状分析. 河南师范大学学报, 2000, **28** (1): 66—71]
- Felsenstein, J. 2001. PHYLIP (phylogeny inference package). Version 3.6c University of Washington.
- Fei, L. 1999. *Atlas of Amphibians of China*. [M]. Henan Publishing House of Science & Technology, Zhengzhou. 1—432. [费梁. 1999. 中国两栖动物图鉴. 郑州: 河南科技出版社 316—337]
- Frost, D. R., 2000: *Amphibian species of the World: An Online Reference*.—iNet: American Museum of Natural History, Department of Herpetology
<http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>
- Hay, J. M et al, 1995. Phylogenetic relationships of amphibian families inferred from DNA sequences of

- mitochondrial 12s and 16s ribosomal RNA genes. *Molecular Biology & Evolution*, **12**(5): 928—937.
- Knight, A and D.P.Mindell. 1993. Substitutions bias, weighting of DNA sequence evolution, and the phylogenetic position of fea's viper. [J]. *Systematic Biology*, **41** (2): 18—31
- Kumar, S., Tamura, K and Nei M. 1993. MEGA:Molecular Evolutionary Genetics Analysis, version1.0. The Pennsylvania State University, University Park
- Sambrook,J, E. Fitch and T. Maniatis. 1989. Molecular cloning, a laboratory manual. 2nd edn. [M] . New York; Clod Spring Harbour Laboratory Press
- Venczel, M. & Hír, J. 1997 . in *Abstracts of the Third World Congress of Herpetology* (eds Rocek, Z. & Hart, S.) 218-219, (Third World Congress of Herpetology, Prague, 1997)
- Wang Xiuling, 1998, The Stusts of Ranodon Sibiricus Kessler Populations in China and Conservation Strategy. [J]. *Sichuan Journal of Zoology*, **17**(2): 55[王秀玲, 1998,新疆北鲵的种群现状及保护对策. 四川动物. **17**(2): 55]
- Xu jian,2001,Study on some taxonomic problems of the Batrachuperus, Liua and Hynobius. [J]. *Sichuan Journal of Zoology*, **20** (4): 177—180 [徐剑, 我国有尾动物分类中几个问题的研究. 四川动物, **20** (4): 177—180]
- Yang Y ,1990, Karyotypic studies on nine species of Chinese salamanders. In: Zhao E, ed. From Water onto Land. Chengdu:Chinese Society for the Study of Amphibians and Reptiles, [M] . Beijing: China Forestry Publishing House ,150—158 [杨玉华. 1990. 中国有尾两栖类九个种的核型研究. 见:赵尔宓主编. 从水到陆——刘承钊教授诞辰九十周年纪念文集. 北京:中国林业出版社, 150~158.]
- Ye, C—Y, Fei, L and Hu, S—Q. 1993. Rare and Economic Amphibians of China.[M] .Sichuan Publishing House of Science & Technology, Chengdu, 1-142[叶吕媛, 费 梁, 胡椒琴, 1993. 中国珍稀及经济两栖动物, 成都: 四川科学技术出版社. 1—142]
- Zhao, Ermi ,Hu qi-xiong. 1984. Studies on Chinese Salamanders. [M] . Sichuan technology press. Chengdu, 33 — 157 [赵尔宓、胡其雄, 1984. 中国有尾两栖动物的研究, 成都: 四川科技出版社. 33 — 157]
- Zhao, Ermi . 1994. A study on vomerine teeth patiern of the genus Liua, with revised diagnoses of Liua and Ranodon (CADATA: HYNObIIDAE). [J] . *Sichuan Journal of Zoology*. **13**(4): 162—165 [赵尔宓. 1994. 巴鲵属犁骨齿列形态的研究及其与北鲵属属征的订正. 四川动物, **13**(4): 162—165.]
- Zhao, Ermi and Wu Guanfu. 1995. Taxonomic status of ranodon tsinpaensis Liu and HU, 1966, with

- adiscussion on *Pseudohynobius flavmaculatus*(FEI AND YE, 1982)as its synonym. [J] . *Sichuan Journal of Zoology* . **14**(1): 20—23 [赵尔宓, 吴贯夫. 秦巴北鲵的分类地位. 兼论黄斑拟小鲵是它的异名. 四川动物. **14**(1): 20—23]
- Zhao, Er-mi, Hsuen-wen Chang and Hui Zhao. 2000. Taxonomic bibliography of Chinese Amphibia and Reptilia Including Karyological Literature. [M] . Kaohsiung Fu-Wen Publishing, Taiwan., 21 5—238 [赵尔宓,张学文,赵惠. 2000. 《蛇蛙研究丛书》之十一中国两栖纲和爬行纲动物分类学文献 ,包括核学文献. 复文图书出版社, 台湾, 21 5—238]
- 费梁,叶昌媛. 小鲵科的分类探讨, 包括一新属. 两栖爬行动物学报, 1983, 2(4): 31—37
- 黄永昭,费梁,叶昌媛. 关于巴鲵属 *Liuia* 分类问题的探讨. 两栖爬行动物研究 第 1、2 辑,贵阳: 贵州科技出版社, 1993, 1-2: 53—57,
- 田婉淑, 江耀明. 中国两栖爬行动物鉴定手册[M]. 北京. 科学出版社, 1986; 34—41
- 张孟闻. 徐锡藩. 1932, 四川两栖类略记; 中国科学社生物研究丛刊. **8**(5): 142—145
- 黑尾正树. 2001. 高頻度反復DNA及び核型を指標としたサンショウウオ科3種の系統関係の推定. 日本遗传学会第73回大会会旨