

内蒙古扎兰屯地区发现中国林蛙 (无尾目: 蛙科)

于晴 刘鹏* 赵文阁

哈尔滨师范大学生命科学与技术学院 哈尔滨 150025

摘要: 2016年4月,采集内蒙古呼伦贝尔市扎兰屯地区的林蛙,经形态学(形态描述、体型大小)和分子生物学鉴定,确定该物种为中国林蛙(*Rana chensinensis*)。研究结果重新证实了中国林蛙在内蒙古呼伦贝尔地区的分布,扩展了对中国林蛙分布范围的认识。

关键词: 扎兰屯; 中国林蛙; 形态特征; 分子生物学

中图分类号: Q959 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2017) 01-150-05

The Chinese Brown Frog (*Rana chensinensis*) Was Found in Zhalantun, Inner Mongolia, China

YU Qing LIU Peng* ZHAO Wen-Ge

College of Life Sciences and Technology, Harbin Normal University, Harbin 150025, China

Abstract: A group of wood frog which were collected in Zhalantun, Hulunbuir City, Inner Mongolia, China in April 2016, was identified as the Chinese Brown Frog (*Rana chensinensis*) according to the morphological traits (Fig. 1, Table 1) and molecular biological analysis (Fig. 2). These evidences reconfirm that Hulunbuir, Inner Mongolia is within the distribution range of this frog species.

Key words: Zhalantun; Chinese Brown Frog, *Rana chensinensis*; Morphological traits; Molecular biology

中国林蛙(*Rana chensinensis*)隶属于脊索动物门(Chordata)两栖纲(Amphibia)无尾目(Anura)蛙科(Ranidae)林蛙属,为我国林蛙属分布最为广泛的特有种。谢锋等(1999)认为中国林蛙的东北居群应为东北林蛙(*R. dybowskii*),该观点被普遍接受(赵文阁等2008,费梁等2009),因此,将内蒙古呼伦贝

尔市最东部莫力达瓦自治旗原中国林蛙分布的记录点(旭日干2001)改为东北林蛙的分布点(费梁等2009)。目前,中国林蛙主要分布在中国的华北、华中及周边地区(李丕鹏等2014)。

最近有报道称,在内蒙古呼伦贝尔地区嫩江支流的绰尔河和雅鲁河采集到中国林蛙用于

基金项目 哈尔滨市科技创新人才研究专项资金项目(No. 2014RFQXJ169);

* 通讯作者, E-mail: liupeng111111@163.com;

第一作者介绍 于晴,女,硕士研究生;研究方向:动物学;E-mail: 414452808@qq.com。

收稿日期: 2016-08-18, 修回日期: 2016-11-29 DOI: 10.13859/j.cjz.201701019

实验(李郊 2014)。为了弄清内蒙古呼伦贝尔地区是否有中国林蛙分布, 2016年4月末, 对内蒙古呼伦贝尔市扎兰屯地区(48°04'14.7"N, 122°41'14.1"E)的林蛙进行采集和鉴定。结果表明, 该地区除黑龙江林蛙(*R. amurensis*)外, 另一种林蛙确为中国林蛙, 标本保存在哈尔滨师范大学生命科学与技术学院。

1 形态描述

扎兰屯地区的中国林蛙雌性平均体重为(27.45 ± 6.20) g ($n = 30$), 雄性平均体重为(9.99 ± 2.45) g ($n = 30$), 雌性显著大于雄性($F_{1,58} = 206.020, P < 0.05$); 雌性平均体长为(64.13 ± 4.82) mm, 雄性平均体长为(48.19 ± 3.92) mm, 雌性显著大于雄性($F_{1,58} = 197.506, P < 0.05$)。除此之外, 头长、头宽、吻长、鼻间距、眼间距、眼径、鼓膜径、前臂及手长、后肢长、胫长、足长这些形态特征也存在明显的两性异形现象(表1)。中国林蛙两性的头宽略大于头长, 眼间距小于鼻间距, 鼓膜径约为眼径的一半, 足长大于胫长(表

1)。

中国林蛙的皮肤较光滑, 背部及体侧有少而分散的小圆疣, 疣上多有红色斑点; 肩上方有“人”字斑; 背侧褶呈棕红色, 不平直, 在鼓膜上方斜向外侧; 鼓膜位于眼后的三角形黑斑正中; 四肢背面有黑褐色横纹(图1a); 后肢外侧3趾间几乎近2/3蹼, 蹼膜缺刻较深(图1b)。股内侧绿黄色, 外侧肉红色。繁殖期内, 雄蛙腹面为较浅的橙色, 雌蛙腹面为橙红色(图1c)。雄蛙第1指基部的2个大婚垫界限清晰, 有明显间距, 近腕部1团不大于指部1团(图1d), 有1对咽侧下内声囊, 有红色雄性线。

中国林蛙的卵多产在河流边上的浅水处, 水底多为石砾, 水流较缓慢, 水温较低, 岸边的冰雪尚未完全融化, 周边的森林植被以兴安落叶松(*Larix gmelinii*)、樟子松(*Pinus sylvestris*)、白桦(*Betula platyphylla*)、黑桦(*B. davurica*)、蒙古栎(*Quercus mongolica*)等针阔混交林为主(图1e)。卵团近似球形, 卵数为1200粒左右(图1f)。将卵团带回实验室孵化, 蝌蚪身体颜色较深, 尾部色浅, 散有深色

表1 内蒙古扎兰屯地区中国林蛙的度量(体重单位: g, 长度单位: mm)

Table 1 Measurements of *Rana chensinensis* from Zhalantun, Inner Mongolia, China

(body weight: g, measure: mm)

	雌性 Male ($n = 30$)		雄性 Female ($n = 30$)		单因素方差分析结果 Results of one-way ANOVA
	平均值 ± 标准差 Means ± SD	范围 Range	平均值 ± 标准差 Means ± SD	范围 Range	
体重 Weight	27.45 ± 6.20	16.90 ~ 39.30	9.99 ± 2.45	6.30 ~ 14.30	$F_{1,58} = 206.020, P < 0.05$
体长 Body length	64.13 ± 4.82	54.88 ~ 75.70	48.19 ± 3.92	41.80 ~ 54.80	$F_{1,58} = 197.506, P < 0.05$
头长 Head length	16.86 ± 1.21	14.69 ~ 19.50	14.08 ± 1.13	12.14 ~ 16.32	$F_{1,58} = 84.375, P < 0.05$
头宽 Head width	18.45 ± 1.71	14.45 ~ 22.88	14.60 ± 1.44	12.55 ~ 17.43	$F_{1,58} = 89.162, P < 0.05$
吻长 Snout length	8.65 ± 0.69	7.25 ~ 9.86	6.73 ± 0.51	5.65 ~ 7.98	$F_{1,58} = 150.356, P < 0.05$
鼻间距 Internasal distance	5.28 ± 0.30	4.67 ~ 5.99	4.31 ± 0.39	3.43 ~ 5.43	$F_{1,58} = 119.105, P < 0.05$
眼间距 Interorbital distance	4.48 ± 0.38	3.79 ~ 5.23	3.83 ± 0.28	3.02 ~ 4.18	$F_{1,58} = 57.880, P < 0.05$
眼径 Eye diameter	6.30 ± 0.53	5.44 ~ 7.74	5.66 ± 0.44	4.92 ~ 6.42	$F_{1,58} = 26.528, P < 0.05$
鼓膜径 Tympanum diameter	3.65 ± 0.45	2.85 ~ 4.22	2.84 ± 0.40	1.72 ~ 3.46	$F_{1,58} = 53.905, P < 0.05$
前臂及手长 Length of forearm and hand	26.62 ± 2.09	21.32 ~ 31.66	22.83 ± 2.90	19.10 ~ 33.39	$F_{1,58} = 33.671, P < 0.05$
后肢 Hind limb length	108.33 ± 8.09	90.95 ~ 124.82	84.64 ± 7.70	70.46 ~ 100.87	$F_{1,58} = 134.946, P < 0.05$
胫长 Tibia length	32.86 ± 2.60	27.33 ~ 37.13	26.20 ± 2.47	22.20 ~ 31.55	$F_{1,58} = 103.795, P < 0.05$
足长 Foot length	34.15 ± 2.30	29.63 ~ 38.13	27.60 ± 2.79	22.10 ~ 32.80	$F_{1,58} = 98.658, P < 0.05$



图 1 内蒙古扎兰屯地区中国林蛙形态特征及生境

Fig. 1 Morphological traits and habitat of *Rana chensinensis* in Zhalantun, Inner Mongolia, China

a. 雌性的背面; b. 雌性的蹼; c. 雌性和雄性的腹面; d. 雄性的婚垫; e. 栖息生境; f. 卵团; g. 蝌蚪; h. 唇齿式。

a. Dorsal view of female; b. Foot of female; c. Ventral view of female and male; d. Nuptial pad of male; e. Habitat; f. Egg masses; g. Tadpole; h. Labial tooth formula.

斑点 (图 1g), 蝌蚪的唇齿式多为 I : 2+2/1+1: III 和 I : 3+3/1+1: III (图 1h)。

2 分子生物学鉴定

将 95% 酒精浸泡的 1 只雌性林蛙的肌肉组织样品委托武汉转导生物技术公司进行 DNA 提取、PCR 扩增、纯化和测序, 得到 1 009 bp 的 *COX1* 基因部分序列。将该部分 *COX1* 基因片段在 GenBank 上进行 Blast 比对, 结果表明, 本采集样品与中国林蛙山西长治种群 (序列号为 KF898356.1)、中国林蛙陕西户县种群 (序列号为 JF939080.1)、高原林蛙 (*R. kukunoris*, 序列号为 JF939073.1)、桓仁林蛙 (*R. huanrenensis*, 序列号为 KT588071.1)、东北林蛙 (*R. dybowskii*, 序列号为 KF898355.1)、昆崙林蛙 (*R. kunyuensis*, 序列号为 KF840516.1) 的碱基相似性分别为 98.285%、93.714%、95.429%、94.571%、86.571% 和 85.174%。使用邻接法基于部分 *COX1* 基因构建 5 种林蛙的系统发生树, 本文样品的序列与

中国林蛙山西长治种群单独聚为一支 (图 2), 其与中国林蛙山西长治种群、中国林蛙陕西户县种群、高原林蛙、桓仁林蛙、东北林蛙、昆崙林蛙的遗传距离分别为 0.038、0.075、0.056、0.065、0.194、0.198。以上分子生物学结果证实, 本研究所采集的扎兰屯地区林蛙标本为中国林蛙, 与山西长治种群亲缘关系更近。

3 讨论

我国东北地区 (包括黑龙江、吉林、辽宁、内蒙古东北部) 林蛙资源丰富, 但该地区林蛙的分类问题一直存在较大的争议, 是我国无尾两栖类中需解决的问题之一 (谢锋等 1999, 李昂等 2005, 陆宇燕等 2005, 费梁等 2009)。本研究结果从成体、卵和蝌蚪的形态特征、栖息生境 (费梁等 2009, 夏坤等 2012) 以及分子生物学等方面证实了中国林蛙在内蒙古扎兰屯地区确有分布, 并且与黑龙江林蛙同域分布, 但二者在形态、栖息生境等方面差异显著 (赵文阁等 2008, 费梁等 2009, 余宽等 2009)。

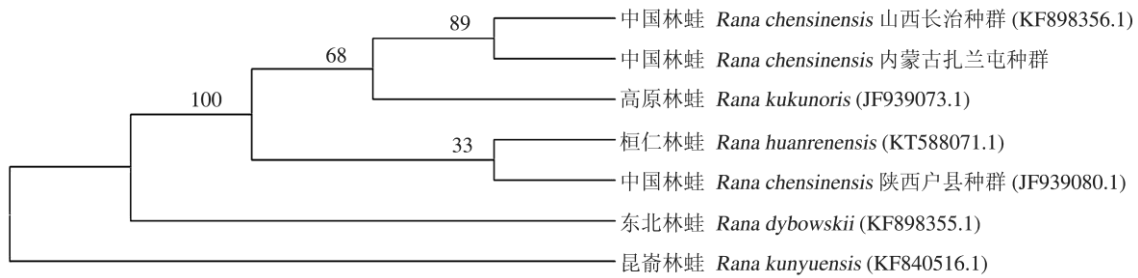


图 2 使用邻接法基于部分 *COX1* 基因 (715 bp) 构建的林蛙属物种的系统发生树

Fig. 2 Phylogenetic tree generated using the Neighbor-Joining method based on partial *COX1* genomes (715 bp) of some species in *Rana*

图中各枝节点上的数字表示自展值。Numbers on nodes denote bootstrap values.

由此可知,我国东北地区的林蛙种类应为 4 种,即东北林蛙、黑龙江林蛙、桓仁林蛙和中国林蛙,林蛙属不同物种间的形态差异、亲缘关系及起源与演化有待于深入研究(于凤兰 2011,金莉莉等 2012,李郊 2014,李殿伟等 2015)。

中国林蛙为广布种,种群间存在形态上和遗传上的地理变异(黄通灵 2011, Zhou et al. 2012),通过形态特征比较可知,内蒙古扎兰屯地区中国林蛙雄性的大小与辽宁阜新种群相似,大于山西台怀、永济和内蒙古赤峰种群(黄通灵 2011),符合伯格曼定律;从遗传特征分析上看,内蒙古扎兰屯地区中国林蛙与山西长治种群相似(李郊 2014),而与中国林蛙模式标本产地的陕西户县种群差异较大(Zhou et al. 2012),推测内蒙古扎兰屯地区的中国林蛙与黄土高原上分布的中国林蛙种群可能为中国林蛙的隐存种。因此,应进一步开展对内蒙古东北部地区中国林蛙种群的形态大小及遗传多样性的研究,并对边缘地带、与其他林蛙重叠分布区域等不同种群样本进行收集,与模式产地标本进行比较,从而有助于隐存种的寻找以及分子系统演化方面的研究(Zhou et al. 2012,李丕鹏等 2014)。

以往认为中国林蛙与东北林蛙无重叠分布区,两者的分界线大致从戈壁经阴山山脉、燕山山脉到山海关,此界以北为东北林蛙的分布区,而中国林蛙的分布区只限于此线以西和以南的中国境内(谢锋等 1999)。后来有研究表

明,中国林蛙在辽宁的阜新(黄通灵 2011)、内蒙古东部也有分布(李郊 2014),且燕山以北区域为中国林蛙一个冰期避难所(李郊 2014)。本研究结果证实内蒙古的呼伦贝尔地区为中国林蛙分布的北限,并推测我国东北地区的辽宁西部、黑龙江西部也可能有中国林蛙分布,但是否同时存在东北林蛙有待于深入研究。因此,中国林蛙与东北林蛙的分布界限需要重新确定。

致谢 感谢哈尔滨师范大学陈辉、黑龙江生物科技职业学院夏玉国在标本采集方面的帮助。

参 考 文 献

- Zhou W W, Wen Y, Fu J Z et al. 2012. Speciation in the *Rana chensinensis* species complex and its relationship to the uplift of the Qinghai-Tibetan Plateau. *Molecular Ecology*, 21(4): 960-973.
- 费梁, 胡淑琴, 叶昌媛, 等. 2009. 中国动物志: 两栖纲 下 无尾目. 北京: 科学出版社, 1004-1018.
- 黄通灵. 2011. 不同地理分布区中国林蛙的身体特征变异. *湖南环境生物职业技术学院学报*, 17(2): 6-9.
- 金莉莉, 王磊, 杨传熙, 等. 2012. 基于 16S rRNA 和 POMC 基因序列的中国北方林蛙属动物系统发生关系. *辽宁大学学报: 自然科学版*, 39(3): 193-198.
- 李昂, 陆宇燕, 李丕鹏. 2005. 林蛙在中国的分布. *四川动物*, 24(3): 268-270.
- 李殿伟, 赵文阁, 刘鹏, 等. 2015. 黑龙江省东部两种林蛙两性异形比较研究. *黑龙江畜牧兽医*, 2015(13): 222-224.

- 李郊. 2014. 我国东北、华北地区典型林蛙谱系生物地理学研究. 北京: 北京林业大学博士学位论文.
- 李丕鹏, 陆宇燕, 李昂. 2014. 中国林蛙的分类及分布. 蛇志, 26(2): 156-158.
- 陆宇燕, 李丕鹏. 2005. 我国林蛙的研究概况和开展环渤海区域林蛙多样性研究的意义. 四川动物, 24(3): 271-275.
- 余宽, 刘鹏. 2009. 黑龙江省两种林蛙的分布及保护现状. 哈尔滨师范大学自然科学学报, 25(3): 101-103.
- 夏坤, 吴民耀, 周凤, 等. 2012. 五种蝌蚪口器及舌鳃骨的结构比较. 四川动物, 31(4): 593-597.
- 谢锋, 叶昌媛, 费梁, 等. 1999. 中国东北地区林蛙属物种的分类学研究 (两栖纲: 蛙科). 动物分类学报, 4(2): 224-232.
- 旭日干. 2001. 内蒙古动物志. 呼和浩特: 内蒙古大学出版社, 144-149.
- 于凤兰. 2011. 环渤海区域四种林蛙形态学和染色体研究. 沈阳: 沈阳师范大学硕士学位论文.
- 赵文阁, 刘鹏, 陈辉. 2008. 黑龙江省两栖爬行动物志. 北京: 科学出版社, 133-147.