哀牢山、无量山与苍山蚯蚓物种调查 及系统发育与扩散分析

高杏^{①②④} 董彦^{①②④} 袁柱^{①②④} 孙静^③ 蒋际宝^{①②④} 邱江平^{①②④*} ① 上海交通大学农业与生物学院 上海 200240; ② 农业部都市农业 (南方) 重点实验室 上海 200240; ③ 南京农业大学资源与 环境科学学院 南京 210095; ④ 国家林业局上海城市森林生态系统国家定位观测研究站 上海 200240

摘要: 哀牢山、无量山与苍山是云南省地理二级阶梯生物多样性研究的关键地区之一,但鲜有蚯蚓物种记录。为完善云南省蚯蚓多样性、系统发育与演化研究,本研究对哀牢山国家级自然保护区、无量山国家级自然保护区和苍山洱海国家级自然保护区展开蚯蚓物种野外调查、形态分类、分子系统发育与扩散分析。研究共获得蚯蚓物种 3 科 8 属 27 种,其中巨蚓科(Megascolecidae) 21 种,正蚓科(Lumbricidae) 4 种,链胃蚓科(Moniligastridae) 2 种,鉴定了 3 个新物种——无量山远盲蚓(*Amynthas jingdongensis* sp. nov.)和湖畔远盲蚓(*Amynthas lacustris* sp. nov.)。我们提取并测定样本的线粒体 *CO*I、*CO*II、12S rRNA、16S rRNA 和 *ND*I 基因序列,该地区物种间上述 5 基因联合序列的平均遗传距离为 19.6%±0.5%,种群阶元遗传距离范围为 0~2.7%; 其次,构建最大似然系统发育树和贝叶斯系统发育树,阐述了该地区蚯蚓物种的系统发育关系,再次验证了远盲蚓属与腔蚓属均不为单系群的观点;最后,依据祖先分布区域重建结果,并结合之前研究,推测该地区巨蚓科蚯蚓物种的主要扩散趋势为由南至北扩散——自哀劳山、无量山向苍山方向扩散。 关键词:云岭余脉;蚯蚓;物种多样性;系统发育分析 中图分类号: Q951 文献标识码:A 文章编号:0250-3263 (2018) 03-399-16

Species and Molecular Phylogeny of Earthworms from Mt. Ailao, Mt. Wuliang and Mt. Cang, Yunnan

GAO Xing⁰²⁴ DONG Yan⁰²⁴ YUAN Zhu⁰²⁴ SUN Jing⁸ JIANG Ji-Bao⁰²⁴ QIU Jiang-Ping⁰²⁴*

 School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240;
Key Laboratory of Urban Agriculture (South), Ministry of Agriculture, Shanghai 200240;
College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agriculture University, Nanjing 210095;
Shanghai Urban Forest Research Station, State Forestry Administration, Shanghai 200240, China

Abstract: Mt. Ailao, Mt. Wuliang and Mt. Cang are the key areas of biodiversity in Yunnan Province (Fig. 1),

基金项目 国家自然科学基金项目(No. 41471204, No. 31272265);

^{*} 通讯作者, E-mail: jpq@sjtu.edu.cn;

第一作者介绍 高杏, 女, 硕士研究生; 研究方向: 生态学; E-mail: mia@sjtu.edu.cn。

收稿日期: 2017-09-18,修回日期: 2018-01-24 DOI: 10.13859/j.cjz.201803009

China. In order to reveal the taxonomy and phylogeny of earthworms from these areas, specimens were

collected by digging and hand-sorting methods (Fan et al. 2012) in 2010, 2011 and 2016. Both morphological and phylogenetic methods were used to identify species. We analyzed both composition and *p*-distance based on either mitochondrial *CO* I, *CO* II, 12S rRNA, 16S rRNA, *ND*1 sequences or their combined genes. Phylogenetic trees and ancestral distribution area were also reconstructed with the combined genes. As results, a total of 3 families, 8 genera and 27 species of earthworm species were classified, including 21 species of Megascolecidae, 4 species of Lumbricidae, and 2 species of Moniligastridae (Table 1). Three new species were identified, and they were *Amynthas wuliangmontis* sp. nov., *Amynthas jingdongensis* sp. nov. and *Amynthas lacustris* sp. nov (Fig. 2). The mitochondrial *CO* I, *CO* II, 12S rRNA, 16S rRNA, and *ND*1 genes were sequenced, and the average inter-species *p*-distance of combined sequences was determined to be 19.6% \pm 0.5% (Table 2), while the average intra-species *p*-distance was 0 - 2.7% (Table 3). Both Maximum Likehood tree and Bayesian Inference (BI) tree showed the same phylogenetic relationship of these specimens (Fig. 3). We classified the BI tree into 7 clusters. Cluster 1 was constructed of all 4 Lumbricidae maximum Clusters.

species. However, Clusters 2 - 7 were constructed of all Megascolecidae specimens. According to Cluster 7, it was verified that *Amynthas* and *Metaphire* were in a mixed group. Moreover, we suggested that the diffusion direction of Megascolecidae was from south to north according to the reconstruction of ancestral distribution area (Fig. 4), hence species may spread from Mt. Wuliang & Mt. Ailao to Mt. Cang. This is the first attempt for taxonomy and phylogeny analysis of earthworms in extension of Yunling Mountains. Our results show the biodiversity as well as the close phylogenetic relationship of earthworm species in this region, which will be valuable for further researching earthworms in southeast China.

Key words: Extension of Yunling Mountains; Earthworm; Biodiversity; Molecular phylogeny

通常所说的"蚯蚓"是指隶属于环节动物 门寡毛纲的所有生物。截至2006年,我国有记 录的陆栖蚯蚓共9科28属306种(亚种)。云 南蚯蚓研究始于 1912 年, Stephenson 首先描述 了泛布远盲蚓云南亚种[Amynthas divergens yunnanensis (Stephenson, 1912)]和布氏腔蚓 [Metaphire browni (Stephenson, 1912)]. 1927 至 1931 年, Michaelsen (1927) 和 Gates (1932) 分别描述了2个和11个远盲蚓属物种,使得云 南蚯蚓分类研究得到发展。我国学者于 1975 年开启云南物种调查,陈义等(1975,1977) 描述了泮蚓属、槽蚓属与远盲蚓属共5种蚯蚓。 20世纪末, 仅钟远辉(1986) 与吴纪华等(1997) 再各发表1个物种。云南省有记录的蚯蚓仅4 科 5 属 30 种, 它们分别为巨蚓科远盲蚓属 21 种, 腔蚓属 6 种, 以及链胃蚓科杜拉蚓属、荆 蚓科泮蚓属和微毛蚓科槽蚓属各 1 种(陈义

1956,钟远辉等 1992,黄健等 2006)。受限于 当地极不便利的交通条件及有限的科研资源, 云南云岭山脉地区从未系统地开展过蚯蚓物种 调查工作。迄今为止,该地区仅有深沟杜拉蚓 1种记录(钟远辉 1986)。

哀牢山国家级自然保护区、无量山国家级 自然保护区与苍山洱海国家级自然保护区(以 下简称云岭余脉地区)是研究云南生物多样性 的关键地区之一(龚正达等 2001),但缺乏蚯 蚓多样性记录。该地区位于东亚、南亚、喜马 拉雅和印缅的动植物区系汇合处,主要受印度 洋季风的季节性交替影响,其兼具热带、亚热 带、温带属性的复杂生态系统类型,加之动物 南来北往,造就了该地区丰富的动植物物种多 样性。据统计,哀牢山国家级自然保护区内维 管束植物记录 1 813 种,哺乳动物、鸟类与两 栖爬行动物共 474 种(徐永椿等 1988, 厉剑

• 401 •

1988)。苍山洱海国家级自然保护区记录有种子 植物2330种,野生动物252种(穆静秋 2006)。 无量山国家级自然保护区内野生动物共计 1 243种(袁军 2010)。云岭余脉地区优越的水 热条件和原始的生态环境,亚热带与温带植物 种类繁多,土层深厚,部分地段腐殖质可厚达 4 cm(谢寿昌等 1997),为孕育多样的蚯蚓物 种提供了理想场所。因此,系统地对云南余脉 地区开展蚯蚓调查,将有力地促进我国蚯蚓物 种多样性与生物区系的研究。

3个自然保护区的经度、纬度与海拔均相 近,动物地理区划相同,但洱海与川河横亘其 间,使得该地区出现同地域异生境的独特景观, 是研究动植物系统发育关系的理想地点。Jing 等(2007)对高黎贡山、哀牢山和无量山的白 腹鼠属物种基于细胞色素 b (Cyt b) 基因进行 系统发育分析,发现哀牢山与无量山的针毛鼠 (Niviventer fulvescens) 样本亲缘关系最近。董 文鸽等(2008)对在区域和宿主分布不均匀的 革螨进行研究,得出云岭余脉地区这三部分山 脉同样优势小兽体表寄生的优势革螨种是一致 的结论。研究显示了云岭余脉地区的三部分山 脉部分动物类群较近的亲缘关系,但作为代表 性的土壤动物——蚯蚓还未有相关研究。在这 样湖泊、河流与山脉交错,且温带与亚热带植 被过度的复杂地带,蚯蚓类群的迁徙能力差, 易受地理阻限造成生殖隔离(Qiu et al. 1998, 蒋际宝 2016),形成较为复杂的生物区系,因 此有必要对其系统发育关系开展更深入的探 讨。

分子系统发育分析是现在广泛应用于推断 或评估蚯蚓进化关系的遗传分类方法,其是对 传统蚯蚓形态分类方法的有效补充,综合两种 方法可以得到较为可靠的结论(孙静 2013, Marchán et al. 2014,蒋际宝 2016)。国外学者 基于线粒体基因与核基因序列对正蚯科蚯蚓的 系统发育开展研究(Pérez-Losada et al. 2005, 2009,Novo et al. 2010,Pérez-Losada et al. 2011, Fernández et al. 2012, Domínguez et al. 2015)。 而我国学者应用该方法主要对中国优势蚯蚓类 群——巨蚓科展开研究。Chang 等(2005)将 线粒体 ND1 基因序列应用于巨蚓科和正蚓科 蚯蚓的比较。Huang 等(2007)对我国四川、 河北等地蚯蚓物种的线粒体 CO I 基因序列进 行分析,肯定了 CO I 基因作为蚯蚓分类基因 条形码的作用。赵琦(2013)、孙静(2013)、 蒋际宝(2016)分别提取百余个巨蚓科物种线 粒体蛋白编码基因 CO I、CO II、ND1、12S rRNA 与 16S rRNA 基因,以及 18S 核基因等, 初步阐明了我国巨蚓科蚯蚓的系统发育关系。 研究一致显示,基于 CO I、CO II、ND1、12S rRNA 与 16S rRNA 等联合序列建立的蚯蚓分 子系统发育树可靠性显著高于单基因或少数几 个基因构树。

蒋际宝(2016)进行了中国蚯蚓物种分化 时间与扩散路径的推测,研究发现云岭余脉地 区处于蚯蚓类群整体由南向北分化与扩散的中 间关键区域。因此,本研究为了填补云岭余脉 地区蚯蚓物种多样性、系统发育与扩散研究的 空白,于2010、2011和2016年对云岭余脉地 区展开了多次蚯蚓物种调查,整理出云岭余脉 地区蚯蚓物种名录;联合线粒体基因 COI、 COII、ND1、12S rRNA和16S rRNA(以下简 称联合5基因)构建分子系统发育树并推测祖 先分布区域,对云岭余脉地区的蚯蚓物种进行 分子系统发育与演化扩散讨论。从而为云岭山 脉地区蚯蚓物种多样性研究提供基础资料,也 为横断山系等高原地带的蚯蚓物种系统发育关 系分析提供科学参考。

1 研究方法

1.1 采集方法

课题组分别于2010年、2011年和2016年 在云岭余脉地区采集蚯蚓标本。为了对蚯蚓以 及其他土壤生物的毒害作用降至最低,样本采 集使用挖掘与手拣法(范如芹等2012)。采集 范围包括哀牢山国家级自然保护区、无量山国 家级自然保护区与苍山洱海国家级自然保护区 (图 1)。在东经 99°57′~101°03′、北纬 23°26′~ 26°00′与海拔 1 000~3 000 m 的区域内,围绕 山体选择阴暗潮湿、腐殖质厚和鲜受人类活动 干扰的原始森林或草地挖掘采样。采集样本的 同时,还详细记录采集地海拔、经纬度与生境 类型等基本情况(附录)。

1.2 鉴定方法

将采集到的活体样本洗净,置于清水中, 逐滴加入95%酒精至酒精浓度达到约20%。浸 泡样本10min,直至样本受针刺无身体应答, 再将其置于95%酒精中抻直,于95%酒精中密 封保存,以待后续鉴定、实验。

形态鉴定中先使用 10×(1-6.5) 解剖镜 (Nikon SMZ800, Japan) 观察蚯蚓样本的外部 形态特征(体色、体长、体宽、体节、体环、 背中线、口前叶、背孔、环带、刚毛、雄生殖 孔、雌生殖孔、受精囊孔等)、内部解剖特征(隔 膜、砂囊、受精囊、精巢囊、储精囊、心、小 肠、雌生殖孔、受精囊孔、雄生殖孔、前列腺 与盲肠等)。然后,参照《中国蚯蚓》(陈义 1956) 和 Sims 等(1972)著作中相关物种的特征进行 详细比对。同时,也将样本的 CO I 基因序列 与 GenBank 中己有的蚯蚓物种序列进行比对。 通过形态研究与分子鉴定相结合,最终鉴定物 种。

已有物种及新种鉴定中,当符合同种蚯蚓 形态特征和基因序列的样本数目大于或等于 3 条成体时,该物种才能被确认为某特定的物种 或新种。

1.3 基因提取及测序

使用 OMEGA E.Z.N.A.[™] Mollusc DNA Kit 试剂盒提取样本尾部组织基因,再经 1%琼 脂糖凝胶电泳与紫外分光光度计进行检测。检测结果 *A*₂₆₀/*A*₂₈₀ 比值在 1.7~1.9 间的样品基因 则置于 - 20 ℃保存待用,否则重新提取,直至 符合标准。

线粒体基因 CO I、CO II、ND1、12S rRNA 和 16S rRNA 的引物分别选择为 LCO1490/CO I -E (Bely et al. 2004)、CO II -H/CO II -L (Pérez-Losada et al. 2009)、ND1-H/ND1-L、



Fig. 1 Location of the extension area of Yunling Mountains

12S-tRNA-Val-16S-LumbF1/12S-tRNA-Val-16S-LumbR1 (Pérez-Losada et al. 2009)以及 16SbrH/16SarL (Hillis et al. 1996)。

将提取所得模板 DNA、正反引物及双蒸水 配制成 50 µl 反应体系。设置 PCR 反应程序为: 94 ℃预变性 5 min; 94 ℃变性 0.5 min, 50 ℃ 退火 1 min, 72 ℃延伸 1 min, 循环 32 次; 最 后 72 ℃延伸 10 min。扩增产物经纯化后,送 华大基因(上海)有限公司进行 Sanger 法双向 测序。调查获得 27 个物种,共测序 42 个样本 的基因序列。其中 5 基因全部测序成功的有 38 个样本; 4 个样本的线粒体 16S rRNA 或 12S rRNA 基因测序失败,分别是湖畔远盲蚓(*A. lacustris* sp. nov.)、版纳腔蚓(*M. bannaensis* Qiu & Jiang, 2016)、朝鲜杜拉蚓(*Drawida koreana* Kobayashi, 1938)、日本杜拉蚓(*D. japonica japonica* Michaelsen, 1892)。所以,构建的系 统发育树只包含测序成功的 38 个样本信息。

使用软件 SeqVerter 对所测得基因序列进 行分割(Split)和重组(Merge),然后经软件 Cluster X比对,参考 GenBank 已发表全线粒 体基因组物种一一通俗腔蚓[*M. vulgaris* (Chen, 1930),GenBank 收录号:KJ137279], 统一序列方向(若序列反向,则进行反向互补 处理)。再使用软件 Mega 7 将已统一方向的比 对序列修剪整齐。最后将整齐的基因序列按客 观排列顺序(COI-COII-12S rRNA-16S rRNA-*ND*1)拼接得到每个样本的联合基因序 列,用于基因组成分析和系统发育树构建。

1.4 基因组成分析

使用 Mega 7 分析测序成功的 5 基因序列。 套用 Kimura-2 模型,进行检验次数为 1 000 的 计算,分析样本 CO I、CO II、12S rRNA、16S rRNA 和 ND1 这 5 个单基因及其联合基因中 4 种碱基的含量,以及各个分类阶元下样本间的 Pairwise 距离。

1.5 系统发育分析

用于构建最大似然(maximum likehood, ML)树和贝叶斯(Bayes, BI)树的核酸替代

模型及参数,由软件 jModelTest 2.1.4 筛选获得。 在 AIC(Akaike information criterion)(Darriba et al. 2012)标准下,筛选出 38 个样本的联合 5 基因序列最适模型为 GTR + I + G,碱基参数 分别为 freqA = 0.4049、freqC = 0.1967、freqG = 0.1059、freqT = 0.2926,碱基替换速率 R(a) [AC] = 1.2800, R(b) [AG] = 6.2262, R(c) [AT] = 1.7103, R(d) [CG] = 0.7462, R(e) [CT] = 15.6311, R(f) [GT] = 1.0000, p-inv 参数值为 0.366 0, game shape = 0.476 0。

研究对 38 个样本的联合 5 基因序列数据 集,分别采用最大似然法(ML)和贝叶斯法(BI) 进行系统遗传推断。最大似然法推断使用软件 PhyML 3.0,将以上模型与参数代入,并设置 200 次步进值(Bootstrap),获得基于最大似然 估计的系统发育树。贝叶斯分析与马尔科夫链 蒙特卡罗(BMCMC)推理(Ronquist et al. 2003) 使用软件 MrBayes 3.2.6,将以上模型 GTR + I + G 及相关参数代入,设置马尔科夫链数目为 4;每个马尔科夫链都是从随机树开始,运行 2 × 10⁷个周期,每1000次采样一次。贝叶斯分 析结果显示收敛值(potential scale reduction factor, PSRF)为1.000,说明运算代数充分, 结果可信。

1.6 祖先分布区域重建

本研究使用 RASP 3.2 软件进行 BMCMC 分析。计算中将 3 个保护区设置为 3 个分布区 域,运算 50 000 个循环,重建该地区蚯蚓祖先 分布,从而初步推测云岭余脉地区蚯蚓物种扩 散路径。

2 结果

2.1 云岭余脉地区蚯蚓名录

经形态与分子分类鉴定,本研究共获得云 岭余脉地区蚯蚓3科8属27种(表1)。其中, 巨蚓科(Megascolecidae)物种数最多,占总数 的77.8%,包括远盲蚓属(*Amynthas*)16种, 腔蚓属(*Metaphire*)4种,环棘蚓属(*Metaphire*) 1种; 正蚓科(Lumbricidae)4种,分别隶属

毛	4/n Irh		采集地点 Location	1
Family	50 AT Spicies	哀牢山 Mt. Ailao	无量山 Mt. Wuliang	苍山 Mt. Cang
巨蚓科 Megascolecidae	1 皮质远盲蚓 Amynthas corticis (Kinberg, 1867)	3	39	31
	2 光滑远盲蚓 A. glabrus (Gates, 1932)	12	12	10
	3 简洁远盲蚓 A. gracilis (Kinberg, 1867)	18	45	16
	4 毛利远盲蚓 A. morrisi (Beddard, 1892)	7	28	23
	5 规整远盲蚓 A. regularis Qiu & Jiang, 2016	1	31	2
	6 乡村远盲蚓 A. rusticanus Qiu & Jiang, 2016	—	3	2
	7 雌生远盲蚓 A. demptus Qiu & Jiang, 2016	—	4	—
	8 尤溪远盲蚓 A. youxiensis Qiu & Jiang, 2016	—	7	—
	9 活力远盲蚓 A. actuosus Qiu & Jiang, 2016	25	—	—
	10 哀牢山远盲蚓 A. ailaomontis Qiu & Jiang, 2016	7	—	_
	11 参状远盲蚓 A. aspergillum (Perrier, 1872)	3	—	_
	12 隆起远盲蚓 A. protuberaus Qiu & Jiang, 2016	3	_	—
	13 元江远盲蚓 A. yuanjiangensis Qiu & Jiang, 2016	4	—	_
	14 无量山远盲蚓 A. wuliangmontis sp. nov.	—	3	
	15 景东远盲蚓 A. jingdongensis sp. nov.	—	3	
	16 湖畔远盲蚓 A. lacustris sp. nov.	—	—	3
	17 白颈腔蚓 Metaphire californica (Kinberg, 1867)	5	8	12
	18 大理腔蚓 M. daliensis Qiu & Jiang, 2016	8	9	2
	19版纳腔蚓 M. bannaensis Qiu & Jiang, 2016	7	—	—
	20 微隆腔蚓 M. prominula Qiu & Jiang, 2016	6	—	—
	21 掘穴环棘蚓 Perionyx excavatus Perrier, 1872	3	—	—
正蚓科 Lumbricidae	22 方尾小爱蚓 Eiseniella tetraedra Savigny, 1826	_	—	3
	23 八毛枝蚓 Dendrobaena octaedra Savigny, 1826	—	—	3
	24 神女辛石蚓 Octolasion tyrtaeum Savigny, 1826	—	—	10
	25 安德爱胜蚓 Eisenia andrei Bouché, 1972	—	—	87
链胃蚓科 Moniligastridae	26 朝鲜杜拉蚓 Drawida koreana Kobayashi, 1938	_	_	5
	27 日本杜拉朝 D <i>japonica japonica</i> Michaelsen 1892	_	6	_

表 1 云岭余脉地区蚯蚓名录 Table 1 Checklist of earthworms in Mt. Cang, Mt. Wuliang & Mt. Ailao

小爱蚓属(Eiseniella)、枝蚓属(Dendrobaena)、 辛石蚓属(Octolasion)、爱胜蚓属(Eisenia)4 属;链胃蚓科(Moniligastridae)杜拉蚓属 (Drawida)2种,分别为朝鲜杜拉蚓和日本杜 拉蚓。

在本次调查中,鉴定巨蚓科无量山远盲蚓 (A. wuliangmontis sp. nov.)、湖畔远盲蚓(A. lacustris sp. nov.) 与景东远盲蚓(A. jingdongensis sp. nov.)为新物种。无量山远盲 蚓受精囊孔 2 对,位于 6/7~7/8 节间,被划分 在 tokioensis-group 中(Sims et al. 1972),左右 前列腺发育不均衡,左侧前列腺不发达,右侧 前列腺将近退化。湖畔远盲蚓受精囊孔 2 对, 位于 5/6~6/7 节间,被划分在 morrisi-group 中 (Sims et al. 1972),雄孔 1 对,位于 X WI节腹侧 两边,为1 个圆形小突起,雄孔内侧,刚毛环 前后方各有 1 个圆形平顶小乳突,乳突及雄孔 被 2 圈浅皮褶包围。景东远盲蚓受精囊孔 2 对, 位于 7/8 ~ 8/9 节间,明显眼状,被划分在 aeruginosus-group 中,雄孔 1 对,各在 1 个不 规则月牙状突起顶部中央,突起外侧有 1 圈明 显厚皮褶。3 个新物种的部分形态特征见图 2。

2.2 碱基组成分析

使用 Clustal X 与 MEGA 7 等软件编辑 5 基因,获得基因长度分别为 CO I 671 bp, CO II 766 bp, 12S rRNA 1 086 bp, 16S rRNA 509 bp, ND1 890 bp,联合 5 基因总长 3 922 bp。使用 MEGA 7 对所获得的单个基因及联合 5 基因序 列的物种基因进行碱基整体组成,以及蛋白编 码基因 (CO I、CO II 与 ND1)的第一位点、第二位点、第三位点的碱基组成信息进行计算,结果列于表 2。

表 2 中,38 个样本的 5 基因及其联合基因 序列中(A+T)/(G+C)比值范围为 1.5~2.3, 其中 CO I 基因(A+T)/(G+C)比值最低 (1.5)。从位点来看,CO I 基因中第一位点的 (A+T)/(G+C)比最低(0.9);CO II、ND1 基因中(A+T)/(G+C)比值均是第一位点 高于第三位点,二者均高于第二位点。使用 MEGA7计算出样本间的遗传距离(表 3)。

根据表 3,使用 ND1 计算所得的平均遗传 距离最大,使用 16S 计算所得的平均遗传距离 最小,而由联合基因计算所得的平均遗传距离 与使用 CO I 基因计算所得值最为接近。本研 究中种群与物种水平的遗传距离区间完全没有 交集。皮质远盲蚓、光滑远盲蚓、简洁远盲蚓、 毛利远盲蚓、规整远盲蚓、乡村远盲蚓、白颈 腔蚓与大理腔蚓的种群间单基因和 5 基因遗传 距离均小于 2.7%。

基于单基因及联合 5 基因所得出的同一属 水平和同一属内物种水平的距离区间交集均较 大。除了 CO I 基因计算结果,其余 4 个基因 及联合 5 基因所得属内物种水平遗传距离区间 是科内属水平遗传距离区间的真子集。

2.3 分子系统发育研究与祖先分布区域重建 采用联合基因筛选出最优碱基替代模型,



图 2 新物种形态特征 Fig. 2 Characters of new species

a. 无量山远盲蚓受精囊孔; b. 无量山远盲蚓左侧前列腺; c. 无量山远盲蚓右侧前列腺; d. 湖畔远盲蚓受精囊孔; e. 湖畔远盲蚓雄孔;

- f. 景东远盲蚓受精囊孔; g. 景东远盲蚓雄孔。
- a. Spermathecal pores of Amynthas wuliangmontis; b. Left prostate gland of A. wuliangmontis; c. Right prostate gland of A. wuliangmontis;

d. Spermathecal pores of A. lacustris; e. Male pores of A. lacustris; f. Spermathecal pores of A. jingdongensis; g. Male pores of A. jingdongensis.

表 2 CO I、CO II、12S rRNA、16S rRNA、ND1 及其联合基因碱基组成

其田 Gama		整体 All Samp	les	1 st p	第一位) position of	点 f codon	2 nd p	第二位点 osition of	i codon	3 rd po	第三位点 osition of	i codon
坐回Gene	A + T (%)	G + C (%)	(A + T)/ (G + C)	A + T (%)	G + C (%)	(A + T)/ (G + C)	A + T (%)	G + C (%)	(A + T)/ (G + C)	A+T (%)	G + C (%)	(A+T)/ (G+C)
CO I	59.8	40.2	1.5	47.7	52.3	0.9	60.8	39.2	1.6	70.9	29.1	2.4
COII	64.1	35.9	1.8	76.5	23.5	3.2	50.4	49.6	1.0	65.5	34.5	1.9
ND1	65.9	34.1	1.9	72.8	27.2	2.7	61.3	38.7	1.6	63.6	36.4	1.7
12S rRNA	69.7	30.3	2.3									
16S rRNA	62.5	37.5	1.7									
联合 5 基因 Combined genes	65.0	35.0	1.9									

Table 2 The composition based on CO I, CO II, 12S rRNA, 16S rRNA, ND1 and their combined genes

表 3 CO I、CO II、12S rRNA、16S rRNA、ND1 及其联合基因遗传距离

Table 3	The <i>p</i> -distance of	f species based o	on <i>CO</i>	1, <i>CO</i> II	, 12S rRNA, 16	S rRNA, <i>ND</i> 1	and their	combined genes
---------	---------------------------	-------------------	--------------	-----------------	----------------	---------------------	-----------	----------------

		遗传	专距离区间 <i>p</i> -distance(%))	
基因 Gene	平均值 Average	科水平 Family	属水平 Genus	物种水平 Species	种群水平 Population
CO I	19.9 ± 1.1	$19.9\sim29.0$	$16.6 \sim 25.3$	$14.0 \sim 24.3$	0~2.0
CO II	17.2 ± 1.1	$22.2 \sim 30.7$	$11.4\sim24.0$	11.6 ~ 19.2	0~1.3
12S rRNA	22.7 ± 1.9	$36.4 \sim 46.3$	$11.0 \sim 31.7$	12.2 ~ 22.9	$0 \sim 1.5$
16S rRNA	12.8 ± 1.0	$16.0 \sim 26.3$	$5.3\sim19.8$	$5.8 \sim 12.6$	0~2.7
ND1	23.8 ± 1.0	25.8 ~ 39.3	$14.2 \sim 35.7$	$15.9 \sim 26.8$	$0 \sim 2.4$
联合 5 基因 Combined genes	19.6 ± 0.5	28.3 ~ 32.5	12.2 ~ 28.1	12.8 ~ 20.9	0~1.9

在 PhyML 3.0 和 MrBayes 3.2.6 分别构建最大似 然树和贝叶斯树。所得两个系统发育树的拓扑 结构一致。由于贝叶斯树整体枝间支持率较最 大似然树高,树形更可信,因此本文以贝叶斯 树进行物种亲缘关系的讨论(图 3)。

根据"顺序协定"(sequencing convention)(Cracraft 1974),可将系统发育树上的样本划分为7个主要的类群(Cluster)。其中,正蚓科八毛枝蚓、安德爱胜蚓、神女辛石 蚓与方尾小爱蚓最先被划分出,聚成树根部的 单系群类群 1。其余巨蚓科物种全被划分在另一大类群类群 2~7。

巨蚓科蚯蚓中最先划分出的掘穴环棘蚓 (类群 2)为本研究中记录的巨蚓科环棘蚓属唯 一蚯蚓物种,这里由 100%后验概率(PP)和 200 的步进值(BP)支持其与远盲蚓属和腔蚓 属分离,可见环棘蚓属与巨蚓科中的这2属亲 缘关系明确且较远,也符合环棘蚓属与另2属 形态特征差异较大的事实(Perrier 1872)。类群 3 枝也是由单物种(哀劳山远盲蚓)组成。接 着,后验概率>90%条件下,一方面强烈支持 划分出类群4—一分布于哀劳山的隆起远盲蚓 和分布于无量山的景东远盲蚓;另一方面分化 出类群5和类群6~7。单系类群5在后验概率 32%的情况下划分出姐妹枝。枝间支持率不高 的情况下分化出类群6和类群7,这可能是由 于其中包含的物种亲缘关系较近。但是树梢部 分支持率基本都高于80%,强烈支持物种间和



蚯蚓物种贝叶斯系统发育树

Fig. 3 Bayesian inference tree for earthworms based on concatenated dataset of combined gene sequences 枝上数值表示后验概率 (PP), 枝下数值表示步进值 (BP), 标尺表示遗传距离标度。

The numbers above the branches are the bootstrap values of Bayesian Inference tree. Bootstrap values of Maximum Likehood tree are shown under the branches. Scale shows *p*-distance.

种群内的关系。

种群水平上,总体系统发育关系较为明确 (PP>80%,BP>75),种群内的亲缘关系表现 出一定的地域特点。光滑远盲蚓、规整远盲蚓 及简洁远盲蚓中,苍山与无量山种群的基因差 异更小;大理腔蚓的苍山种群与哀牢山种群差 异更小;皮质远盲蚓的无量山种群与哀牢山种 群差异更小;白颈腔蚓、乡村远盲蚓与毛利远 盲蚓等全国性广布物种,可能由于其较强的扩 散能力,使得种群内基因交换机会大,进而使 其在该地区的系统发育关系较难厘清。

属水平上,巨蚓科祖先先分化出环棘蚓属

和远盲蚓属, 腔蚓属起源较晚, 3 个腔蚓属物 种全部出现在树梢(图 4)。在类群 7 中, 大理 腔蚓种群是先与参状远盲蚓聚为一枝, 两者再 与白颈腔蚓聚成枝, 然后三者与微隆腔蚓相聚, 最后包含 3 个腔蚓属物种的该枝与尤溪远盲蚓 相聚。由此可见, 该地区的腔蚓属与远盲蚓属 物种均不为单系群,腔蚓属具有多起源的特性。

从祖先分布区域结果看(图4),类群2~6 下各主要类群的祖先可能起源于哀牢山(后验 概率多大于92.14%)。而类群7及以下无量山 远盲蚓与乡村远盲蚓祖先则分布于哀牢山与无 量山之间地区(或无量山)。由于正蚓科物种只





Fig. 4 Ancestral distribution of earthworms from the extension area of Yunling Mountains, Yunnan

分布区域概率用同比例饼图显示于节点前,不同颜色代表不同区域,标尺表示遗传距离标度。

Probability values are shown by pie chart before nodes. Different colors stand for different locations. Scale shows p-distance.

在苍山采集得到,缺乏足够地理分布信息,所 以在此暂且不对类群1的祖源作深入讨论。

3 讨论

本研究调查云岭余脉地区共记录 27 个蚯 蚓物种,巨蚓科蚯蚓为优势蚯蚓物种,符合中 国蚯蚓科阶元优势物种情况(陈义 1956); 伴 有的少量起源于其他国家地区的正蚓科和链胃 蚓科物种。巨蚓科、正蚓科、链胃蚓科蚯蚓形 态特征差异明显,本研究中鉴定所得已知物种 形态特征符合已有的相关物种形态特征记录 (Michaelsen 1928, 陈义 1959)。巨蚓科蚯蚓环 生刚毛,受精囊孔靠前,环带常占XIV~XVI 节,雄孔位于第XWI节,一般具有前列腺,且 受精囊有纳精囊(Michaelsen 1900, Stephenson 1930),本研究也发现1个例外——雌生远盲蚓 (Amynthas demptus Qiu & Jiang, 2016) 无雄孔, 且前列腺退化。正蚓科蚯蚓刚毛成对排列,有 肾孔, 雄孔位于第XV节, 受精囊孔可位于第 Ⅵ节到第XXⅠ节,马鞍状环带始于第XIX节 后,具有嗉囊和钙腺,无前列腺(Qiu et al. 1998)。链胃蚓科刚毛对生,每节4对;环带指 环状,有节间沟和刚毛;精巢囊与精漏斗位于 隔膜上,无储精囊:受精囊在隔膜后方,附有 长输精管(陈义 1956)。

这之中,尤溪远盲蚓、方尾小爱蚓、八毛 枝蚓、神女辛石蚓、朝鲜杜拉蚓与日本杜拉蚓 为首次在云南被记录,掘穴环棘蚓为首次在中 国大陆被记录。发现无量山远盲蚓(*A. wuliangmontis* sp. nov.)、景东远盲蚓(*A. jingdongensis* sp. nov.)与湖畔远盲蚓(*A. lacustris* sp. nov.)3个新物种(已投稿 Journal of Natural History)。从采集地看,三个地区的蚯 蚓各具特色:哀牢山蚯蚓物种多样性程度最高, 共15个巨蚓科物种;苍山次之,但蚯蚓的科数 最多,包括巨蚓科、正蚓科及链胃蚓科3科; 无量山蚯蚓多样性最少,共13种,但其中1 种隶属链胃蚓科。至此,云南地区记录的蚯蚓 物种达到了5科10属70种,位于全国第5位, 仅次于广西、台湾、海南、四川(蒋际宝 2016)。

本研究基于线粒体 *CO*I、*CO*II、12S rRNA、16S rRNA、*ND*1与联合5基因,计算 所得蚯蚓脱氧核糖核酸序列组成(A+T)/(G +C)比值均大于1,符合环节动物线粒体控制 区多出现A、T重复的事实(Shen et al. 2009, Zhang et al. 2016),并且符合前人研究结果 (Boore et al. 1995,蒋际宝 2016)。

基于单基因及联合基因计算所得的物种间 遗传距离区间, 在种群水平、物种水平和科水 平与现行的形态分类系统(Sims et al. 1972, Qiu et al. 1998)的分类阶元结果一致性较好。 得出的种群水平区间为0~2.7%,略低于全国 范围内蚯蚓物种种群平均遗传距离为 3%的结 论(蒋际宝 2016),该区间为较小地理区域的 蚯蚓物种种群研究提供了一个更为精确的平均 遗传距离参考范围。但是,样本的 CO I 基因 平均遗传距离(19.9% ± 1.1%)高于 Huang (2007)提出的 15%、孙静(2013)提出的 16.6% 及蒋际宝(2016)提出的18.9%±1.9%;而联 合 5 基因的平均遗传距离值,也高于蒋际宝 (2016)讨论的中国巨蚓科物种间遗传距离 (17.2% ± 0.7%); 其原因在于,本研究中涉及 到2个链胃蚓科和4个正蚓科物种,且4个正 蚓科物种分属于不同属,由此提高了总体样本 间遗传距离的平均值。

但使用计算物种间 *p* 距离的方法无法厘清 本研究中物种属阶元的划分。表 3 显示的科内 属阶元与属内种阶元的遗传距离区间交叉严 重。可见单一使用计算遗传距离的分子分类方 法并不能有效揭示该地区物种以上阶元的分类 关系。因此,本研究采用了分子系统发育方法 解决该问题。基于联合基因构建的最大似然系 统发育树与贝叶斯系统发育树,明确地展示该 地区蚯蚓的科、属、种及种群各个阶元的系统 发育关系,解决了基于遗传距离无法厘清该地 区蚯蚓种属阶元划分的问题。

系统发育研究中构建所得最大似然树与贝 叶斯树树形一致,所得 38 个样本的系统发育关 系可信度高,可总结云岭余脉地区蚯蚓系统发 育关系具有以下特点。

1)本研究系统发育研究支持形态分类结果 ——正蚓科与巨蚓科分别为单系群。正蚓科与 巨蚓科均是寡毛纲生物中高等类群的代表(陈 义 1956),其中巨蚓科蚯蚓是我国蚯蚓中的优 势类群,且各地土著种众多;我国暂时并未发 现正蚓科土著种,并且我国已知的正蚓科物种 数也较少。但近年来,正蚓科养殖业的发展促 进了其在全国范围的分布,因此,有必要提高 对正蚓科蚯蚓物种多样性和种群扩散等问题的 关注程度。

2) 在巨蚓科中, 掘穴环棘蚓系统发育地位 清晰, 基因信息支持远盲蚓属与腔蚓属 2 属合 并。本研究无论是通过计算遗传距离的方法, 还是构建系统发育树的方法, 两属物种并无法 完全分离为单系群。尽管大部分远盲蚓属物种 和腔蚓属物种分别有明显聚类, 在本研究中的 3 个腔蚓物种——微隆腔蚓、白颈腔蚓、大理 腔蚓仍与参状远盲蚓在系统发育树中聚为一单 系群,可见腔蚓属起源较远盲蚓属晚且多起源, 系统发育树仍表现的是两属并不在各自的群内 单独进化。在基于更多的蚯蚓物种的系统分类 研究中, 这一现象也得到揭示 (James et al. 2005, Chang et al. 2008, 孙静 2013, 蒋际宝 2016)。

3)由物种和种群的发育关系初步推测云岭 余脉地区的巨蚓科蚯蚓扩散方向有由南至北趋 势。本研究中,哀劳山物种掘穴环棘蚓和哀牢 山远盲蚓最靠近发育树根部,接着分化出采自 哀劳山的隆起远盲蚓,和采自无量山地区景东 县(靠近哀劳山)的景东远盲蚓,而采集自苍 山地区的蚯蚓物种全部划分在在发育树端部。 同时,从祖先分布区域重建的结果看出,云岭 余脉地区巨蚓科蚯蚓类群的祖先分布于哀牢 山,部分类群向北迁徙至无量山等地。

此前, Michaelsen (1929)提出中国蚯蚓 起源东南亚的学说; 孙静(2013)推测中国巨 蚓科蚯蚓起源中南半岛, 受精囊孔 4 对的物种 沿云贵川方向扩散;蒋际宝(2016)通过祖先 特征重建我国西南蚯蚓物种扩散路线,认为云 南是我国蚯蚓由南向北扩散的重要区域。结合 这些研究成果与祖先分布区域重建结果,推测 云岭余脉地区巨蚓科蚯蚓起源自东南亚,途径 南部哀牢山、无量山地区,继而向北方苍山地 区扩散。由于湖泊或河流的地理隔离,蚯蚓各 类群祖先又在三个地区分别演化形成新的物 种。同时,研究中广布物种不同种群的扩散也 是表现出由南至北的趋势。

本研究初步展现了云岭余脉地区蚯蚓物种 多样性,但由于整个云岭地区地质类型多样、 生态系统多样性丰富、水热条件优越,可能孕 育着更丰富的蚯蚓物种。因此,未来可以在该 区域开展更系统的样本采集工作,争取获得更 为丰富的蚯蚓科属种。在更多样本的基础上, 还建议结合云南西双版纳等地的物种,重建更 为客观的分子系统发育树和祖先分布区域,从 而为探究我国西南部地区的蚯蚓系统发育关系 提供基础,为完善我国蚯蚓物种分化与扩散研 究提供资料。

参考文献

- Beddard F E. 1892. The earthworms of the Vienna Museum. Annals and Magazine of Natural History, 9: 113–134.
- Bely A E, Wray G A. 2004. Molecular phylogeny of naidid worms (Annelida: Clitellata) based on cytochrome oxidase I . Molecular Phylogenetics and Evolution, 30(1): 50–63.
- Boore J L, Brown W M. 1995. Complete sequence of the mitochondrial DNA of the annelid worm *Lumbricus terrestris*. Genetics, 141(1): 305–319.
- Bouché M B. 1972. Lombriciens de France: écologie et Systématique. Paris: Institut National de la Recherche Agronomique, 122–132.
- Chang C H, Lin S M, Chen J H. 2008. Molecular systematics and phylogeography of the gigantic earthworms of the *Metaphire formosae* species group (Clitellata, Megascolecidae). Molecular Phylogenetics and Evolution, 49(3): 958–968.

Chang C, Chuang S, Chen Y, et al. 2005. NADH Dehydrogenase

Subunit 1 gene of the earthworm *Amynthas gracilis* (Kinberg, 1867) (Oligochaeta: Megascolecidae), with the discussion on inferring the megascolecid phylogeny using DNA sequences. Taiwania, 50(2): 71.

- Cracraft J. 1974. Phylogenetic models and classification. Systematic Biology, 23(1): 71–90.
- Darriba D, Taboada G L, Doallo R, et al. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. Nature Methods, 9(8): 772–772.
- Domínguez J, Aira M, Breinholt J W, et al. 2015. Underground evolution: new roots for the old tree of lumbricid earthworms. Molecular Phylogenetics and Evolution, 83: 7–19.
- Fernández J, Etxeberria A, Ugartemendia J M, et al. 2012. Effects of chain microstructures on mechanical behavior and aging of a poly (L-lactide-co-ε-caprolactone) biomedical thermoplastic-elastomer. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, 12(6): 29–38.
- Gates G E. 1932. The earthworms of Burma. III, The Megascolecinae. Records of the Indian Museum, 34(4): 357–549.
- Hillis C M, Mable B K. 1996. Molecular Systematics. Systematic Biology, 45(4): 607–609.
- Huang J, Xu Q, Sun Z J, et al. 2007. Identifying earthworms through DNA barcodes. Pedobiologia, 51(4): 301–309.
- James S W, Shih H T, Chang H W. 2005. Seven new species of *Amynthas* (Clitellata: Megascolecidae) and new earthworm records from Taiwan. Journal of Natural History, 39(14): 1007–1028.
- Jing M, Yu H T, Wu S H, et al. 2007. Phylogenetic relationships in genus *Niviventer* (Rodentia: Muridae) in China inferred from complete mitochondrial cytochrome b gene. Molecular Phylogenetics and Evolution, 44(2): 521–529.
- Kinberg J G H. 1867. Om Amphinomernas systematik. Öfversigt Kongl. Vetensk-Akad. Förhandlingar, 24(3): 83–91.
- Kobayashi S. 1938 Earthworms of Korea I. Science Report of the Tohoku Imperial University, 13(2): 89–170.
- Marchán D F, Fernández R, Novo M, et al. 2014. New light into the hormogastrid riddle: morphological and molecular description of *Hormogaster joseantonioi* sp. n. (Annelida, Clitellata,

Hormogastridae). ZooKeys, 414: 1-17.

- Michaelsen W. 1892. Polychaeten von Ceylon. Archiv Fur Naturgeschichte, 1(13): 209–261.
- Michaelsen W. 1900. Oligochaeta. Berlin: R. Friedländer und Sohn, 120-419.
- Michaelsen W. 1927. Oligochäten aus Yün-nan gesammelt von Prof. F. Silvestri. Bollettino del Laboratorio di zoologia generale e agraria della R. Scuola superiore d'agricultura in Portici, 21: 84–90.
- Michaelsen W. 1928. Miscellanea Oligochaetologica. Arkiv för Zoologi, 20(2): 1–15.
- Michaelsen W. 1929. The oligochaete fauna of China. Lingnan Science Journal, 8: 157–166.
- Novo M, Almodóvar A, Fernández R, et al. 2010. Cryptic speciation of hormogastrid earthworms revealed by mitochondrial and nuclear data. Molecular Phylogenetics and Evolution, 56(1): 507–512.
- Pérez-Losada M, Breinholt J W, Porto P G, et al. 2011. An earthworm riddle: systematics and phylogeography of the Spanish lumbricid *Postandrilus*. PLoS One, 6(11): 28153.
- Pérez-Losada M, Eiroa J, Mato S, et al. 2005. Phylogenetic species delimitation of the earthworms *Eisenia fetida* (Savigny, 1826) and *Eisenia andrei* Bouché, 1972 (Oligochaeta, Lumbricidae) based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. Pedobiologia, 49(4): 317–324.
- Pérez-Losada M, Ricoy M, Marshall J C, et al. 2009. Phylogenetic assessment of the earthworm *Aporrectodea caliginosa* species complex (Oligochaeta: Lumbricidae) based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. Molecular Phylogenetics and Evolution, 52(2): 293–302.
- Perrier E. 1872. Recherches pour servir à l'histoire des *lombriciens terrestres*. Bouvier, 1: 56–58.
- Qiu J P, Bouché M B. 1998. Révision des taxons supraspécifiques de Lumbricoidea. Documents Pédozoologiques et Intégrologiques, 3: 179–216.
- Ronquist F, Huelsenbeck J P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. Bioinformatics, 19(12): 1572–1574.
- Shen X, Ma X, Ren J, et al. 2009. A close phylogenetic relationship

between Sipuncula and Annelida evidenced from the complete mitochondrial genome sequence of *Phascolosoma esculenta*. BMC Genomics, 10(1): 136.

- Sims R W, Easton E G. 1972. A numerical revision of the earthworm genus *Pheretima auct*. (Megascolecidae: Oligochaeta) with the recognition of new genera and an appendix on the earthworms collected by the Royal Society North Borneo Expedition. Biological Journal of the Linnean Society, 4(3): 169–268.
- Stephenson J. 1930. The Oligochaeta. Gloucestershire: Clarendon Press, 818–863.
- Zhang L, Sechi P, Yuan M, et al. 2016. Fifteen new earthworm mitogenomes shed new light on phylogeny within the *Pheretima* complex. Scientific Reports, 6(3): 20096.
- 陈义. 1956. 中国蚯蚓. 北京: 科学出版社, 1-28.
- 陈义. 1959. 中国动物图谱环节动物(附多足类). 北京: 科学出版社, 1-17.
- 陈义,许智芳. 1977. 中国陆栖寡毛类几个新种的记述Ⅱ. 动物学报,23(2):175-181.
- 陈义,许智芳,杨潼,等. 1975. 中国陆栖寡毛类几个新种的记述. 动物学报,21(1): 89-99.
- 董文鸽, 郭宪国, 门兴元, 等. 2008. 中国云南洱海周边小兽体表 革螨多样性. 昆虫学报, 51(11): 1177-1186.
- 范如芹, 张晓平, 梁爱珍, 等. 2012. 不同蚯蚓采样方法对比研究. 生态学报, 32(12): 4154-4159.
- 龚正达, 吴厚永, 段兴德, 等. 2001. 云南横断山区小型兽类物种

多样性与地理分布趋势. 生物多样性, 9(1): 73-79.

- 黄健,徐芹,孙振钧,等. 2006. 中国蚯蚓资源研究: I. 名录及分 布. 中国农业大学学报, 11(3): 9-20.
- 蒋际宝. 2016. 中国巨蚓科蚯蚓分类学与系统发育研究. 上海:上 海交通大学博士学位论文, 339-458.
- 厉剑. 1988. 哀牢山自然保护区综合考察报告集. 云南: 云南民族 出版社, 6-15.
- 穆静秋. 2006. 大理苍山生物多样性现状与保护措施. 林业调查规 划, 31(1): 79-82.
- 孙静. 2013. 中国远盲属蚯蚓分类学及分子系统发育研究. 上海: 上海交通大学博士学位论文, 114-158.
- 吴纪华, 孙希达. 1996. 中国远环蚓属蚯蚓(寡毛纲: 巨蚓科) 一 新种. 四川动物, 16(1): 3-5.
- 谢寿昌,盛才余,李寿昌. 1997. 哀牢山中山湿性常绿阔叶林主要 树种的物候研究. 生态学报, 17 (1): 51-60.
- 徐永椿,姜汉桥. 1988. 哀牢山自然保护区综合报告集. 云南: 云 南民族出版社, 1-4.
- 袁军. 2010. 无量山国家级自然保护区生物多样性及保护对策研 究. 福建林业科技, 37(3): 131-135.
- 赵琦.2013. 中国海南岛环毛类蚯蚓分类学、系统发育学和古生物 地理学研究. 上海: 上海交通大学博士学位论文, 55-126.
- 钟远辉. 1986. 云南杜拉属蚯蚓一新种(链胃目:链胃科). 动物 分类学报,11(1): 28-31.
- 钟远辉,邱江平. 1992. 中国蚯蚓名录补遗. 贵州科学, 10(4): 38-43.

采科点 地名 经货 特货 所数 生地路 編号 Location Location Longitude Latitude Altitude Altitude Description of h YN201101 菜年山国家级自然保护区 E101°51'5" N.23°39'5" 2096 麻桃村玉満鶴 YN201101 菜年山国家级自然保护区 E101°45'3" N.23°39'5" 2096 麻桃村玉満鶴 YN201103 菜年山国家级自然保护区 E101°45'3" N.23°33'0" 649 香熊桃丁湯 YN201103 菜年山国家级自然保护区 E100°35'9" N.24°45'3" 2040 葡萄糖的蛋茄 YN201601 元垂山国家级自然保护区 E100°35'9" N.24°45'3" 1490 亜热带简叶林下箭 YN201603 元垂山国家级自然保护区 E100°35'9" N.24°45'3" 1377 塑造物管放车 YN201604 元垂山国家级自然保护区 E100°35'9" N.24°45'3" 1377 塑造水管放车 YN201604 元垂山国家级自然保护区 E100°35'9" N.24°45'3" 1277 塑造水管放车 YN201604 元垂山国家级自然保护区 E100°35'9" N.24°45'9" 1277 ブ湾水 ジャ YN201605 元垂山国家级自然保护区				1
YN201101 浜牢山国家级自然保护区 E101~515" N 23°409" 854 红墨林小溪旁褐色 YN201102 浜牢山国家级自然保护区 E101~554" N 23°330" 649 香蕉树下黑褐雉 YN201103 浜牢山国家级自然保护区 E101~554" N 23°330" 649 香蕉树下黑褐雉 YN201601 无量山国家级自然保护区 E100~31'10" N 24°46'24" 2 040 麵混結黃雉 YN201603 无量山国家级自然保护区 E100~35'9" N 24°45'3" 1 490 亚热带阔叶林下院 YN201603 无量山国家级自然保护区 E100~35'13" N 24°45'32" 1 490 亚热带阔叶林下院 YN201603 无量山国家级自然保护区 E100~3'5'1" N 24°45'32" 1 257 河边為中覆盖商 YN201604 无量山国家级自然保护区 E100~3'5'1" N 24°45'2" 1 257 河边為中覆盖商 YN201605 无量山国家级自然保护区 E100~3'5'1" N 24°45'2" 1 257 河边為中覆声 YN201606 无量山国家级自然保护区 E100°3'5'1" N 24°45'3" 1 257 河边边着下层下 YN201608 无量山国家级自然保护区 E100°3'5'1" N 24°5'3'1" 1 257 河边达中 YN201603 无量山国家级自然保护 E100°3'5'1" <th>名 经度 纬度 ation Longitude Latitude</th> <th>海拔 (m) Altitude</th> <th>生境描述 Description of habitat</th> <th>物种 Species</th>	名 经度 纬度 ation Longitude Latitude	海拔 (m) Altitude	生境描述 Description of habitat	物种 Species
YN201102 其年山国家级自然保护区 E101°4628" N 23°3953" 2096 麻桃柄下黄海雉 YN201103 其年山国家级自然保护区 E101°554" N 23°330" 649 香蕉树下馬蟲雉 YN2011601 无量山国家级自然保护区 E101°554" N 24°4573" 649 香蕉树下馬蟲城 YN201603 无量山国家级自然保护区 E100°359" N 24°4573" 1490 亚热带阔叶林下粽 YN201603 无量山国家级自然保护区 E100°359" N 24°4573" 1490 亚热带阔叶林下粽 YN201603 无量山国家级自然保护区 E100°359" N 24°4571" 1370 亚热带阔叶林下粽 YN201603 无量山国家级自然保护区 E100°31'15" N 24°4571" 1370 亚热带阔叶林下粽 YN201605 无量山国家级自然保护区 E100°31'15" N 24°4571" 1257 河湾处或沙干器盖腐雾 YN201608 无量山国家级自然保护区 E100°3231" N 24°4571" 1720 厚落叶覆盖下黄葉 YN201603 无量山国家级自然保护区 E100°3531" N 24°4550" 1720 厚落叶餐店 YN201620 无量山国家级自然保护区 E100°3531" N 24°4550" 1720 厚落叶茶 YN201621 无量山国家级自然保护区 E100°3535"	自然保护区 E 101°51'5" N 23°40'9"	854	红星林小溪旁褐色沙壤	参状远盲蜗、光滑远盲蚓、筒洁远盲蚓、隆起远盲蚓、毛利远盲蚓、 皮质远盲蚓、元江远盲蚓、微隆腔蚓、版纳腔蚓
YN201103	自然保护区 E101°46'28" N 23°39'53"	2 096	麻栎树下黄褐壤	哀牢山远盲蚓、规整远盲蚓、活力远盲蚓、 白颈腔蚓、掘穴环棘 蚓
YN201601 无量山国家级自然保护区 E100°3110" N 24°4624" 2040 亚热带阔叶林下薄 YN201602 无量山国家级自然保护区 E100°359" N 24°4533" 1490 亚热带阔叶林下粽 YN201603 无量山国家级自然保护区 E100°359" N 24°4533" 1490 亚热带阔叶林下粽 YN201603 无量山国家级自然保护区 E100°3513" N 24°5873" 1370 亚热带阔叶林下粽 YN201605 无量山国家级自然保护区 E100°3115" N 24°5872" 1277 河湾处黄沙土 YN201606 无量山国家级自然保护区 E100°3115" N 24°5872" 1277 河湾处黄沙虫 YN201606 无量山国家级自然保护区 E100°3531" N 24°4529" 1257 河湾处黄沙白紫海 YN201608 无量山国家级自然保护区 E100°3531" N 24°4057" 1500 厚落叶覆盖市残堆 YN201620 无量山国家级自然保护区 E100°3531" N 24°4057" 1500 磨芯小鹰航街东东东 YN201621 无量山国家级自然保护区 E100°3231" N 24°4057" 1500 磨芯小鹰旗街东 YN201621 无量山国家级自然保护区 E100°3231" N 24°5372" 1150 磨芯小鹰航街东 YN201625 无量山国家级自然保护区 E100°3253"	自然保护区 E101°55'4" N 23°33'0"	649	香蕉树下黑褐壤	大理腔蚓
YN201602 天量山国家级自然保护区 E100°359" N 24°45'33" 1 490 亚热带阔叶林下标 YN201603 无量山国家级自然保护区 E100°3513" N 24°45'1" 1 370 亚热带阔叶林下标 YN201604 无量山国家级自然保护区 E100°35'8" N 24°45'1" 1 370 亚热带阔叶林下标 YN201605 无量山国家级自然保护区 E100°31'15" N 24°45'20" 1 257 河湾处黄沙土 YN201606 无量山国家级自然保护区 E100°52'41" N 24°52'21" 1 180 亚热带阔叶林下鼎 YN201608 无量山国家级自然保护区 E100°52'41" N 24°45'20" 1 257 河湾处黄沙土 YN201608 无量山国家级自然保护区 E100°52'41" N 24°45'50" 1 500 厚落叶霞盖方壤 YN201621 无量山国家级自然保护区 E100°52'41" N 24°45'50" 1 720 厚落叶霞盖方壤 YN201621 无量山国家级自然保护区 E100°52'3" N 24°45'50" 2 000 路边腐强而下雨下下 YN201621 无量山国家级自然保护区 E100°52'3" N 24°45'50" 1 720 磨茄小霞茄小霞盖所案 YN201623 无量山国家级自然保护区 E100°52'3" N 24°53'2" 1 440 驱热带窗所小香港 YN201625 无量山國家委自然保护	自然保护区 E100°31'10" N 24°46'24"	2 040	亚热带阔叶林下薄土层 潮湿棕黄壤	皮质远盲蚓
YN201603 无量山国家级自然保护区 E100°3813" N 24°43'1" 1370 亚热带阔叶林下标 YN201604 无量山国家级自然保护区 E100°43'58" N 24°38'22" 1 277 河边恭叶覆盖腐务 YN201605 无量山国家级自然保护区 E100°43'58" N 24°58'20" 1 257 河湾处黄沙土 YN201605 无量山国家级自然保护区 E100°51'15" N 24°46'29" 1 257 河湾处黄沙土 YN201606 无量山国家级自然保护区 E100°55'1" N 24°40'57" 1 130 亚热带阔叶林下鼎 YN201620 无量山国家级自然保护区 E100°55'31" N 24°40'57" 1 500 厚落叶覆盖下黄壤 YN201620 无量山国家级自然保护区 E100°55'31" N 24°40'57" 1 720 厚落叶覆盖下黄蟾 YN201621 无量山国家级自然保护区 E100°55'31" N 24°40'50" 2 000 磨边腐酷所下黄蟾 YN201622 无量山国家级自然保护区 E100°52'3" N 24°45'50" 1 540 屬小齿鷹馬所 馬 YN201625 无量山国家级自然保护区 E100°55'3" N 24°25'2" 1 540 屬小齿鷹所 第 YN201626 无量山国家级自然保护区 E100°55'3" N 24°25'2" 1 440 亚热带	自然保护区 E100°35'9" N24°45'33"	1 490	亚热带阔叶林下棕黄壤	大理腔蚵
YN201604 无量山国家级自然保护区 E100°43'58" N 24°38'22" 1 277 河边落叶覆盖腐残 強権 YN201605 无量山国家级自然保护区 E100°51'15" N 24°46'29" 1 257 河湾处黄沙土 YN201606 无量山国家级自然保护区 E100°52'41" N 24°46'29" 1 257 河湾处黄沙土 YN201606 无量山国家级自然保护区 E100°52'41" N 24°40'57" 1 180 亜热带阔叶林下鼎: YN201608 无量山国家级自然保护区 E100°55'31" N 24°40'57" 1 500 厚落叶覆盖下黄壤 YN201620 无量山国家级自然保护区 E100°55'31" N 24°40'57" 1 720 厚落叶覆盖下黄蟾 YN201621 无量山国家级自然保护区 E100°50'31" N 24°45'0" 2 000 路边腐殖质下黄蟾 YN201624 无量山国家级自然保护区 E100°52'5" N 24°53'12" 1 150 路边商商质下黄蟾 YN201625 无量山国家级自然保护区 E100°52'5" N 24°53'2" 1 440 亚热带随所下拆下 YN201626 无量山国家级自然保护区 E100°57'16" N 24°50'5" 1 440 亚热带随所下拆下 YN201627 无量山国家级自然保护区 E100°57'15" N 24°20'5" 1 440 亚热带随所下标下 YN201627 无量山国家级自然保护区	自然保护区 E100°38'13" N 24°43'1"	1 370	亚热带阔叶林下棕黄壤中	雌生远盲蚓、光滑远盲蚓
YN201605无量山国家级自然保护区E100°31'15"N24°46'20"1257河湾处黄沙土YN201606无量山国家级自然保护区E100°55'31"N 24°45'7"1180亚热带阔叶林下黑YN201608无量山国家级自然保护区E100°36'31"N 24°40'7"1500厚落叶覆盖下黄壤YN201620无量山国家级自然保护区E100°36'31"N 24°40'7"1720厚落叶覆盖下黄壤YN201621无量山国家级自然保护区E100°32'20"N 24°40'7"1720厚落叶覆盖下黄壤YN201621无量山国家级自然保护区E100°32'3"N 24°40'7"1720厚洛小腐殖质下黑壤YN201625无量山国家级自然保护区E100°30'48"N 24°33'12"1150路边腐殖质下黑YN201626无量山国家级自然保护区E100°35'15"N 24°33'12"1440亚热带阔叶林下黄YN201626无量山国家级自然保护区E100°35'15"N 24°20'5"1440亚热带阔叶林下黄YN201627无量山国家级自然保护区E100°35'15"N 24°20'5"1440亚热带阔叶林下黄YN201627无量山国家级自然保护区E100°35'15"N 24°20'5"1860小瀑布旁黑齿沙壤YN201627无量山国家级自然保护区E100°35'15"N 24°20'5"1860小瀑布旁黑齿沙堆	自然保护区 E100°43'58" N 24°38'22"	1 277	河边落叶覆盖腐殖质下棕 黄壤	皮质远盲蚓、简洁远盲蚓、毛利远盲蚓、光滑远盲蚓、白颈腔蚓
YN201606 无量山国家级自然保护区 E100°5241" N 24°2571" 1180 亚热带阔叶林下黑 YN201608 无量山国家级自然保护区 E100°3631" N 24°4057" 1500 厚落叶覆盖下黄壤 YN201620 无量山国家级自然保护区 E100°3631" N 24°4057" 1500 厚落叶覆盖下黄壤 YN201621 无量山国家级自然保护区 E100°3048" N 24°4650" 2 000 路边腐殖质下黑堆 YN201621 无量山国家级自然保护区 E100°3048" N 24°450" 2 000 路边腐殖质下黑堆 YN201624 无量山国家级自然保护区 E100°3048" N 24°4510" 2 000 路边腐殖质下黄壤 YN201625 无量山国家级自然保护区 E100°5715" N 24°5312" 1150 路边腐殖质下黄壤 YN201626 无量山国家级自然保护区 E100°5716" N 24°5372" 1540 溪水边腐殖质下黄 YN201626 无量山国家级自然保护区 E100°5715" N 24°20" 1440 亚热带筒时林下黄 YN201627 无量山国家级自然保护区 E100°57" N 24°20" 1860 小暴带弯的操	自然保护区 E100°31'15" N24°46'29"	1 257	河湾处黄沙土	光滑远盲蚓、简洁远盲蚓、毛利远盲蚓、白颈腔蚓
YN201608无量山国家级自然保护区E100°36'31"N 24°40'57"1 500厚落叶覆盖下黄壤YN201620无量山国家级自然保护区E100°32'20"N 24°40'50"1 720厚落叶唇下黄壤YN201621无量山国家级自然保护区E100°32'3"N 24°45'0"2 000路边腐殖质下黑堆YN201624无量山国家级自然保护区E100°32'5"N 24°33'12"1150路边腐殖质下黑堆YN201625无量山国家级自然保护区E100°36'13"N 24°33'12"1 140運热带阔叶林下黄YN201626无量山国家级自然保护区E100°37'16"N 24°20'5"1 440亚热带阔叶林下黄YN201627无量山国家级自然保护区E100°37'16"N 24°20'5"1 440亚热带阔叶林下黄YN201627无量山国家级自然保护区E100°37'16"N 24°20'5"1 440亚热带阔叶林下黄	自然保护区 E100°52'41" N 24°25'21"	1 180	亚热带阔叶林下黑壤	毛利远盲蚓、雌生远盲蚓、乡村远盲蚓、白颈腔蚓
YN201620无量山国家级自然保护区E100°32'20"N 24°49'7"1 720厚落叶层下黄壤YN201621无量山国家级自然保护区E100°30'48"N 24°45'0"2 000路边腐殖质下黑壤YN201624无量山国家级自然保护区E100°32'3"N 24°33'12"1150路边腐殖质下黄ェYN201625无量山国家级自然保护区E100°35'13"N 24°33'12"1 140逐水边腐殖质下黑YN201626无量山国家级自然保护区E100°35'16"N 24°20'5"1 440亚热带阔叶林下黄YN201627无量山国家级自然保护区E100°37'16"N 24°20'5"1 440亚热带阔叶林下黄YN201627无量山国家级自然保护区E100°35'13"N 24°20'5"1 860小瀑布旁黑色沙壤	自然保护区 E100°36'31" N 24°40'57"	1 500	厚落叶覆盖下黄壤	简洁远盲蚓、毛利远盲蚓、皮质远盲蚓、规整远盲蚓
YN201621无量山国家级自然保护区E100°30'48"N 24°46'50"2 000路边腐殖质下黑壤YN201624无量山国家级自然保护区E100°32'3"N 24°33'12"1150路边腐殖质下黄塘YN201625无量山国家级自然保护区E100°36'13"N 24°25'22"1 540溪水边腐殖质下黑YN201626无量山国家级自然保护区E100°37'16"N 24°20'5"1 440亚热带阔叶林下黄YN201627无量山国家级自然保护区E100°45'33"N 24°16'20"1 860小瀑布旁黑色沙壤	自然保护区 E100°32'20" N 24°49'7"	1 720	厚落叶层下黄壤	简洁远盲蚓、毛利远盲蚓、白颈腔蚓
YN201624 无量山国家级自然保护区 E100°323" N 24°33'12" 1150 路边腐殖质下黄壤 YN201625 无量山国家级自然保护区 E100°36'13" N 24°25'22" 1 540 溪水边腐殖质下黑 YN201626 无量山国家级自然保护区 E100°36'13" N 24°25'22" 1 540 溪水边腐殖质下黑 YN201626 无量山国家级自然保护区 E100°37'16" N 24°20'5" 1 440 亚热带阔时林下黄 YN201627 无量山国家级自然保护区 E100°45'33" N 24°16'20" 1 860 小瀑布旁黑色沙壤	自然保护区 E100°30'48" N 24°46'50"	2 000	路边腐殖质下黑壤	皮质远盲蚓、光滑远盲蚓、无量山远盲蚓、规整远盲蚓、大理腔蚓
YN201625 无量山国家级自然保护区 E100°36'13" N 24°25'22" 1 540 溪水边腐殖质下黑 YN201626 无量山国家级自然保护区 E100°37'16" N 24°20'5" 1 440 亚热带阔叶林下黄 YN201627 无量山国家级自然保护区 E100°45'33" N 24°16'20" 1 860 小瀑布旁黑色沙壤	自然保护区 E100°32'3" N24°33'12"	1 150	路边腐殖质下黄壤	毛利远盲蚓、简洁远盲蚓、尤溪远盲蚓、大理腔蚓
YN201626 无量山国家级自然保护区 E100°37'16" N 24°20'3" 1 440 亚热带阔叶林下黄 YN201627 无量山国家级自然保护区 E100°45'33" N 24°16'20" 1 860 小瀑布旁黑色沙壤	自然保护区 E100°36'13" N 24°25'22"	1 540	溪水边腐殖质下黑壤	皮质远盲蚓、光滑远盲蚓、景东远盲蚓、规整远盲蚓、大理腔蚓
YN201627 无量山国家级自然保护区 E100°4533" N 24°16'20" 1 860 小瀑布旁黑色沙壤	自然保护区 E100°37'16" N 24°20'5"	1 440	亚热带阔叶林下黄壤	皮质远盲蚓、乡村远盲蚓、尤溪远盲蚓
	自然保护区 E100°45'33" N 24°16'20"	1860	小瀑布旁黑色沙壤	皮质远盲蚓、规整远盲蚓、大理腔蚓
YN201628 无量山国家级自然保护区 E100°4736" N 24°197" 2 400 路边腐殖质黄壤	自然保护区 E100°47'36" N 24°19'7"	2 400	路边腐殖质黄壤	日本社拉蚵
YN201003 苍山洱海国家级自然保护区 E100°527" N 25°55'10" 1 975 洱海岸边杂草下	级自然保护区 E100°527" N 25°55'10"	1 975	洱海岸边杂草下	毛利远盲蚓

云岭余脉地区采祥点信息 附录

į - <u>/</u> ં • ÷ 高杏等: 哀牢山、无量山与苍山蚯蚓物种调查及系统发育与扩散分析

• 413 •

3 期

						续附录
采样点 编号 Number	港名 Location	经度 Longitude	纬度 Latitude	海拔 (m) Altitude	生境描述 Description of habitat	物种 Species
YN201004	苍山洱海国家级自然保护区	E 100°5'20"	N 25°55'41"	2 280	杂草丛早地红壤	光滑远盲蚓
YN201005	苍山洱海国家级自然保护区	E 100°9'18"	N 25°57'42"	1 994	湿地黑壤	白颈腔蚓
YN201006	苍山洱海国家级自然保护区	E 100°9'56"	N 25°56'43"	$2\ 010$	潮边玉米地	大理腔蚓、简洁远盲蚓
YN201610	苍山洱海国家级自然保护区	E 100°5'34"	N 25°57'34"	1 980	薄土层黄沙壤	毛利远盲蚓、简洁远盲蚓、安德爱胜蚓
YN201615	苍山洱海国家级自然保护区	E 100°6'15"	N 25°50'43"	2 060	亚热带阔叶林下褐黄壤	毛利远盲蚓、简洁远盲蚓、皮质远盲蚓、乡村远盲蚓、规整远盲蚓、 方尾小爱蚓、八毛枝蚓、神女辛石蚓
YN201617	苍山洱海国家级自然保护区	E 100°7'60"	N 25°41'53"	2 240	茶园附近褐壤	皮质远盲蚓、简洁远盲蚓、白颈腔蚓、神女辛石蚓
YN201619	苍山洱海国家级自然保护区	E 100°9'58"	N 25°43'56"	1 966	洱海旁肥沃黑壤	毛利远盲蚓、皮质远盲蚓、湖畔远盲蚓、白颈腔蚓、朝鲜杜拉蚓