

云南省发现弄岗狭口蛙

魏平凡^① 宋艳芳^① 袁智勇^① 吴军^{②*}

① 西南林业大学, 云南省高校极小种群野生动物保育重点实验室 昆明 650224;

② 生态环境部南京环境科学研究所 南京 210042

摘要: 2018年6月, 在位于云南省文山壮族苗族自治州的文山国家级自然保护区(23°21'41" N, 104°50'26" E, 海拔1300 m) 采集到无尾目(Anura) 姬蛙科(Microhylidae) 狭口蛙属(*Kaloula*) 标本3号, 包括雄性成体标本1号和雌性成体标本2号, 并对相应形态特征进行了测量, 雄性头体长为35.79 mm, 雌性头体长为48.01 mm 和 42.78 mm。根据形态特征比较发现, 该种群的标本皮肤光滑, 背部呈橄榄绿色, 有不规则的深绿色斑纹, 指端平切且具两排小乳突, 雄性胸部有小柠檬黄色斑点, 雄性全蹼, 雌性为1/3蹼, 与采集自弄岗国家级自然保护区的弄岗狭口蛙(*K. nonggangensis*) 地模标本(海拔186 m) 的形态鉴定特征基本一致, 仅体色和体型大小稍有差异。基于16S rRNA 基因片段进行系统发育分析表明, 这些标本与弄岗狭口蛙模式产地标本聚在一起, 共享同一单倍型。可以确定所采集的3号标本均为弄岗狭口蛙, 为云南省两栖纲分布新记录物种。新发现的种群分布于中高海拔处, 较地模标本的低海拔分布记录有较大的拓展。该物种的发现说明, 云南东南部与广西西南部的喀斯特地区具有相似的物种组成, 对该区域将来的生物地理学研究具有重要意义。

关键词: 姬蛙科; 文山; 喀斯特

中图分类号: Q959 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2020) 01-053-05

First Record of the *Kaloula nonggangensis* from Yunnan Province

WEI Ping-Fan^① SONG Yan-Fang^① YUAN Zhi-Yong^① WU Jun^{②*}

① Key Laboratory for Conserving Wildlife with Small Populations in Yunnan, Southwest Forestry University, Kunming 650224;

② Nanjing Institute of Environmental Sciences, Ministry of Environmental Protection of China, Nanjing 210042, China

Abstract: During the fieldworks in June 2018, an adult male and two adult females (Fig. 1 and Table 1) were collected from Wenshan National Nature Reserve (23°21'41" N, 104°50'26" E, altitude 1300 m) near the town of Fadou, Xichou County, Yunnan Province, China. Morphological measurements were taken for the three specimens. They have smooth olive dorsum with irregular dark-green marks and brown spots; tips of the fingers widely dilated and truncated; males with nearly entire webbed while female one third webbed; males with two side protuberant osseous tubercles on the tips of fingers while female absent; the chest of males beige with small lemon-colored spots, while the chest of female absent of spots with uniformly milk white. All

基金项目 生态环境部生物多样性调查、观测和评估项目(2019–2023年);

* 通讯作者, E-mail: wujun@nies.org;

第一作者简介 魏平凡, 女, 硕士研究生; 研究方向: 两栖动物多样性与保育; E-mail: wpf2973@163.com.

收稿日期: 2019-09-17, 修回日期: 2019-12-23 DOI: 10.13859/j.cjz.202001007

major morphometric characters of these specimens were found to match with the type specimen of *Kaloula nonggangensis*. Phylogenetic analysis based on 16S rRNA gene fragments showed that these specimens clustered with *K. nonggangensis* from the type locality (Fig. 2) and shared a haplotype. Therefore, we report *K. nonggangensis* as a new member of amphibian fauna of Yunnan. Morphological variation and additional natural history data of this species were described. This new record found suggestion similar animal fauna were in the karst areas from southeastern Yunnan and west eastern Guangxi.

Key words: Microhylidae; Wenshan; Karst

弄岗狭口蛙 (*Kaloula nonggangensis*) 隶属于两栖纲 (Amphibia) 无尾目 (Anura) 姬蛙科 (Microhylidae) 狭口蛙属。该种是 Mo 等 (2013) 发表的新种, 目前仅在我国广西弄岗地区有分布记录, 为我国特有种 (中国两栖类 2019)。

2018 年 6 月, 在位于云南省文山壮族苗族自治州的文山国家级自然保护区小桥沟片区开展两栖爬行动物调查期间, 于法斗乡海拔 1 300 m 附近采集到狭口蛙标本 3 号 (标本号 SWFU 2501 ~ SWFU 2503, 表 1), 根据形态特征鉴定

为弄岗狭口蛙, 为云南省两栖动物分布新记录种 (杨大同 1991, 杨大同等 2008, 杨宇明等 2008), 标本现保存于西南林业大学。

本文参考 Mo 等 (2013) 的研究方法, 对新采集的这 3 号弄岗狭口蛙标本进行了相应形态特征测量和分子生物学鉴定, 并对新采集地的生境作了描述, 为深入探讨该种的地理分布格局提供基础研究资料。

1 形态特征

弄岗狭口蛙的各部位度量数据见表 1。身

表 1 文山国家级自然保护区所采弄岗狭口蛙标本形态量度

Table 1 Measurements on the specimens of *Kaloula nonggangensis* from Wenshan National Nature Reserve of Yunnan Province

项目 Item	SWFU 2501♀		SWFU 2502♀		SWFU 2503♂	
	数据 Value (mm)	比例 Percentage (%)	数据 Value (mm)	比例 Percentage (%)	数据 Value (mm)	比例 Percentage (%)
体长 Snout-vent length SVL	48.0	—	42.8	—	35.8	—
头长 Head length HL	15.7	32.8	14.3	33.5	13.3	37.1
头宽 Head width HW	17.7	36.9	16.8	39.3	14.2	39.7
吻长 Snout length SL	5.2	10.9	4.1	9.5	3.5	9.6
鼻间距 Internasal space INS	3.1	6.5	2.2	5.1	2.6	7.2
眼间距 Interorbital space IOS	5.2	10.8	4.3	9.9	3.4	9.4
上眼睑宽 Upper eyelid width UEW	2.8	5.9	3.2	7.4	2.6	7.3
眼径 Diameter of eye ED	3.2	6.6	3.6	8.4	3.6	10.1
鼓膜 Diameter of tympanum TD	2.4	4.9	1.9	4.5	1.0	2.9
前臂及手长 Length of lower arm & hand LAHL	23.1	48.1	21.1	49.4	17.7	49.4
前臂宽 Diameter of lower arm LAD	3.3	6.9	3.1	7.2	2.6	7.1
胫长 Tibia length TL	17.2	35.9	15.9	37.1	14.8	41.2
足长 Foot length FTL	19.9	41.5	18.3	42.7	18.5	51.8

表中比例指各形态测量值与体长的比例。

Percentage in this table means the proportion of each morphometric character to its snout-vent length.

体宽扁；头小，头宽略大于头长；吻端圆，鼓膜隐蔽；上颌无齿，犁骨完整；舌椭圆形，后端无缺刻。

前肢短，前臂及手长约为体长的一半；指细长，指间无蹼，指端平切，末端无沟；指长序为 $I < II < IV < III$ ；关节下瘤发达；内掌突呈椭圆形，外掌突大而扁平。后肢短粗，约为体长的一半；足长长于胫长；趾端钝圆，末端无沟，不膨大；趾长序为 $I < II < V < III < IV$ ；雄蛙趾间全蹼，雌蛙趾间 $1/3$ 蹼；关节下瘤发达；内蹼突大，有明显的外缘膜，外蹼突呈圆形，小而尖（图 1）。

生活状态下，全身皮肤光滑。皮肤较松弛，在单咽下内声囊处形成轻微的皮肤皱褶。雄性无婚垫。身体背面呈橄榄绿色，具暗绿色斑纹，体侧散有小柠檬黄色斑点；下颌，咽喉、喉缘和胸部呈米黄色，并夹带少数柠檬黄色斑点；腹部、前肢和后肢的腹侧部分呈乳白色（图 1）。

2 生境描述

文山国家级自然保护区属南亚热带季风气候类型，常年受太平洋东南季风控制，以暖湿气流为主(杨宇明等 2008)。年均气温 $15.9\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，年均降雨量 $1\ 200\ \text{mm}$ ，5~10 月为雨季，3~5 月为旱季。12 月至翌年 2 月，降雨量不多，相对湿度保持在 80% 以上。本次在云南省西畴县采集的 3 号弄岗狭口蛙标本，发现于海拔 $1\ 300\ \text{m}$ 左右的喀斯特石山附近的水塘内 ($23^{\circ}21'41''\ \text{N}$, $104^{\circ}50'26''\ \text{E}$)，未发现卵或者幼体。水塘周边的环境植被较为茂密，为常绿阔叶林。

3 分子数据及系统发育树构建

本研究采集了 2 号标本的肌肉组织，利用苯酚/氯仿抽提法分别提取了基因组 DNA，采用引物 L3975 (5'-CGC CTG TTT ACC AAA AAC AT-3') 和 H4551 (5'-CCG GTC TGA ACT



图 1 弄岗狭口蛙 (SWFU 2501, 雌性)

Fig. 1 *Kaloula nonggangensis* (SWFU 2501, female)

a. 背面; b. 腹面; c. 足背面; d. 手腹面。a. Dorsal view; b. Ventral view; c. Dorsal view of foot; d. Ventral view of hand.

CAG ATC ACG T-3') 对其 16S rRNA 基因进行扩增。PCR 反应程序为 95 °C 预热 5 min, 95 °C 变性 1 min, 45 °C 退火 1 min, 72 °C 延伸 1 min, 进行 35 个循环, 最后 72 °C 延伸 10 min。PCR 产物于 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 产物最后由北京擎科生物科技有限公司测序。得到的有效片段长度为 573 bp, 再将序列上传至 GenBank 数据库, SWFU 2501 (♀) 和 SWFU 2502 (♀) 16S rRNA 基因的 GenBank 编号分别为 MN856853 和 MN856854。

基于 Mo 等 (2013) 的结果, 选取 *Kaloula taprobanica* 作为外群, 用 Clustal W 2.0 进行比对 (Thompson et al. 1997)。使用 Mrbayes 3.1.2 (Ronquist et al. 2003) 进行贝叶斯分析, 并使

用 RaxML (Stamatakis et al. 2008) 构建最大似然树。使用贝叶斯分法和最大似然法得到的系统发育树的拓扑结构相同。文山所采狭口蛙标本与弄岗狭口蛙模式产地 (广西弄岗) 标本相聚构成单系 (图 2), 且支持率高达 99%。使用 MEGA v6.0 (Tamura et al. 2013) 中的 Kimura 双参数模型计算狭口蛙属物种间的遗传距离, 本研究中所采用的狭口蛙属物种间的遗传距离范围为 1.5% ~ 2.4%。云南文山的弄岗狭口蛙标本与弄岗狭口蛙模式产地广西弄岗样本共享同一单倍型, 没有遗传分化。因此, 分子系统发育分析和遗传距离结果均支持采集于云南文山的狭口蛙标本为弄岗狭口蛙。

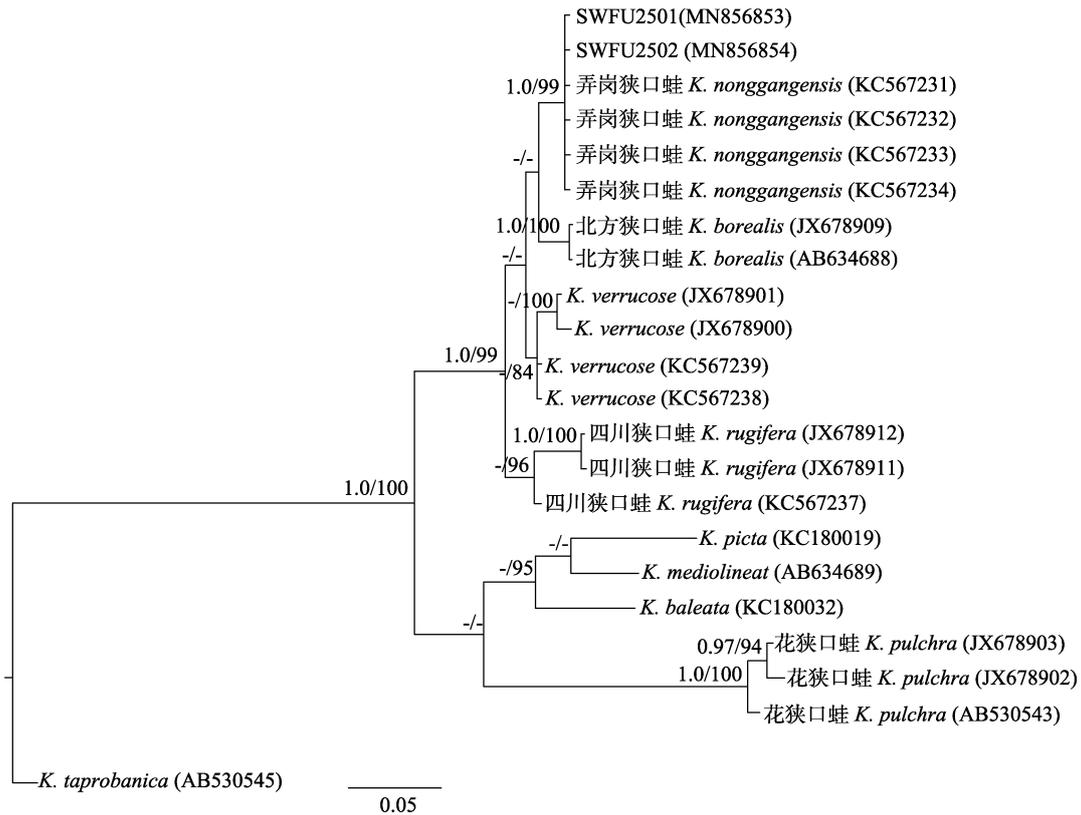


图 2 基于线粒体 16S rRNA 狭口蛙属的贝叶斯树

Fig. 2 Bayesian inference tree of *Kaloula* derived from 16S RNA sequences

图中斜线前后的数字分别表示贝叶斯后验概率和自展值支持率, 低于 0.95/70% 的用符号“-”表示。括号中为 GenBank 序列号。

Numbers denote the Bayesian posterior probabilities (BPP) and bootstrap support (BS), respectively. Only high support by Bayesian posterior probabilities (BPP \geq 95%), and bootstrap support (BS \geq 70%) presented. GenBank numbers followed each species.

4 讨论

弄岗狭口蛙云南文山的标本与模式产地广西弄岗的标本相比，在外部形态上基本一致 (Mo et al. 2013)，但体型和体色存在一些差异：云南文山的弄岗狭口蛙标本较模式产地标本的体型小(雌性体长：42.8 mm 和 48.0 mm vs. 52.2 mm；雄性体长：35.8 mm vs. 41.4 ~ 52.7 mm)，但头长与体长比例(雌性：32.8%和 33.5% vs. 25.5%；雄性：37.1% vs. 24.8%)以及头宽与体长比例(雌性：36.9%和 39.3% vs. 32.2%；雄性：39.7% vs. 31.9%)相对较大；且云南文山的弄岗狭口蛙背部体色及斑纹颜色均较浅。

弄岗狭口蛙之前仅发现于我国广西弄岗的喀斯特地貌地区 (Mo et al. 2013)，此次在云南省西畴县境内的文山国家级自然保护区发现有该物种的分布，提示云南东南部与广西西南部的喀斯特地区具有相似的物种组成，对生物地理学方面的研究具有重要意义。另外，之前记录该种的分布点海拔为 160 ~ 186 m (Mo et al. 2013, 中国两栖类 2019)，此次发现地点的海拔为 1 300 m 左右，至少说明该种的分布范围在 160 ~ 1 300 m 之间，并非完全的低海拔分布。

致谢 感谢西南林业大学贺艳红同学在分子鉴定方面给予的帮助。

参 考 文 献

- Mo Y, Zhang W, Zhou S, et al. 2013. A new species of *Kaloula* (Amphibia: Anura: Microhylidae) from southern Guangxi, China. *Zootaxa*, 3710(2): 165–178.
- Ronquist F, Huelsenbeck J P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19(12): 1572–1574.
- Stamatakis A, Hoover P, Rougemont J, et al. 2008. A rapid bootstrap algorithm for the RAxML web servers. *Systematic Biology*, 57(5): 758–771.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, et al. 2013. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30(12): 2725–2729.
- Thompson J D, Gibson T J, et al. 1997. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 25(24): 4876–4882.
- 杨大同. 1991. 云南两栖类志. 北京: 中国林业出版社, 1–259.
- 杨大同, 绕定齐. 2008. 云南两栖爬行动物. 昆明: 云南科技出版社, 1–411.
- 杨宇明, 田昆, 和世钧. 2008. 中国文山国家级自然保护区科学考察研究. 北京: 科学出版社, 354–359.
- 中国两栖类. 2019. “中国两栖类”信息系统. 中国, 云南省, 昆明: 中国科学院昆明动物研究所. [DB/OL]. [2019-08-01]. <http://www.amphibiachina.org/>.