

浙江鹿城发现云开脊蛇和黄家岭脊蛇

陈健^① 罗洪雨^① 钟俊杰^① 郭坤^① 马月^{②*}

① 温州大学生命与环境科学学院 温州 325035; ② 生态环境部南京环境科学研究所 南京 210042

摘要: 2022年9月和2023年4月在浙江省温州市鹿城区仰义水库分别采集到1条脊蛇属 (*Achalinus*) 物种幼体尸体标本 (标本编号分别为2022AZJLCN1和2023AZJLCN2)。形态上它们分别与黄家岭脊蛇 (*A. huangjietangi*) 和云开脊蛇 (*A. yunkaiensis*) 接近。基于线粒体 *COI* 基因片段的最大似然树结果, 两蛇样本序列分别与这两种脊蛇聚为一个支系; 2023AZJLCN2标本与云开脊蛇的遗传距离为0.10, 低于中国境内分布脊蛇属物种间的遗传距离 (0.12~0.16); 2022AZJLCN1标本与黄家岭脊蛇的遗传距离为0.09, 在黄家岭脊蛇种内遗传距离 (0.04~0.12) 范围内。综上, 鉴定2023AZJLCN2标本为云开脊蛇, 2022AZJLCN1标本为黄家岭脊蛇。此前记录云开脊蛇分布于我国广东和广西, 本次在浙江温州市鹿城区的发现为浙江蛇类新分布记录种; 黄家岭脊蛇分布于安徽和浙江, 此次在温州市鹿城区的发现是温州市首次新分布记录。这两种脊蛇的新分布记录提示它们有更广的分布范围。

关键词: 线粒体 *COI* 基因; 最大似然树; 遗传距离; 新记录

中图分类号: Q995 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2024) 02-276-06

Achalinus yunkaiensis and *A. huangjietangi* Found in Lucheng, Zhejiang, China

CHEN Jian^① LUO Hong-Yu^① ZHONG Jun-Jie^① GUO Kun^① MA Yue^{②*}

① College of life and Environmental Science, Wenzhou University, Wenzhou 325035; ② Nanjing Institute of Environmental Sciences, Ministry of Ecology and Environment of the People's Republic of China, Nanjing 210042, China

Abstract: Two specimens of genus *Achalinus* (2022AZJLCN1 and 2023AZJLCN2) were collected from Yangyi Reservoir, Lucheng District, Wenzhou City, Zhejiang Province in September 2022 and April 2023. They were similar to *A. yunkaiensis* and *A. huangjietangi* in morphology, respectively. The results of the maximum likelihood tree based on *COI* gene sequences showed that they were clustered into a clade with these two species respectively. The *p*-distance of 2023AZJLCN2 and *A. yunkaiensis* was 0.10, lower than that between *Achalinus* species ranging from 0.12 to 0.16 in China. The *p*-distance of 2022AZJLCN1 and *A. huangjietangi* was 0.09, which is not higher than that between *A. huangjietangi* ranging from 0.04 to 0.12. In the end, 2023AZJLCN2 and 2022AZJLCN1 were identified as *A. yunkaiensis* and *A. huangjietangi*. The previous record of *A. yunkaiensis* was found in Guangdong and Guangxi of China, the discovery in Lucheng

基金项目 温州市鹿城区两爬类野外调查与评估项目 (No. WZLC2022AMRR);

* 通讯作者, E-mail: mayuee12@163.com;

第一作者介绍 陈健, 男, 学士; 研究方向: 进化生态学; E-mail: chenjian20233@163.com.

收稿日期: 2023-08-28, 修回日期: 2023-11-27 DOI: 10.13859/j.cjz.202423164

District is a new record in Zhejiang Province. And *A. huangjietangi* was distributed in Anhui and Zhejiang Provinces, the discovery in Lucheng District is the first new record of its distribution in Wenzhou City. The new records of those two species suggested a wider distribution range.

Key words: Mitochondrial *COI* gene; Maximum likelihood tree; Genetic distance; New record

2022年9月13日和2023年4月13日在浙江省温州市鹿城区仰义水库旁分别采集到1条脊蛇幼体尸体，经形态特征比较和分子系统分析，前者鉴定为黄家岭脊蛇（*Achalinus huangjietangi*）后者鉴定为云开脊蛇（*A. yunkaiensis*），均隶属于闪皮蛇科（Xenodermidae）脊蛇属。黄家岭脊蛇分布于中国安徽黄山黄家岭（模式产地，Huang et al. 2021）和浙江舟山地区（陈传武等 2022）；云开脊蛇分布于中国广东西部云开山脉（模式产地，Wang et al. 2019）和广西桂林地区（喻敏等 2020）。本次在浙江省温州市鹿城区发现的云开脊蛇和黄家岭脊蛇分别为浙江省和温州市的蛇类分布新记录种。

标本保存于温州大学两栖爬行动物研究实验室，云开脊蛇标本编号为2023AZJLCN2（采集地 28°04'33" N, 120°26'14" E, 海拔 531 m），黄家岭脊蛇标本编号为2022AZJLCN1（采集地 28°03'21" N, 120°33'31" E, 海拔 91 m）。

1 材料与方法

1.1 形态数据测量与分析

标本形态指标的描述参考 Wang 等（2019）、Huang 等（2021）和 Li 等（2021）。测量和计数 21 个形态指标：全长、头体长、尾长、上唇鳞、下唇鳞、颊鳞、鼻鳞、前额鳞、额鳞、头宽、头长、头高、眼长、眼宽、眶前鳞、眶后鳞、颞鳞、眶上鳞、背鳞数、腹鳞数和尾下鳞。

1.2 分子标记扩增和分析

采用 DNeasy 试剂盒（南京诺唯赞生物科技股份有限公司）提取 2 条脊蛇尸体腹部肌肉组织的 DNA。利用 Vector NTI 软件自行设计特异性引物 5'-TGC CTA AGC ATC CTC ATG

CGA ATA-3'和 5'-GGT GTT GAA ATA GGA CAG GGT CGC-3'并扩增其 *COI* 基因序列。PCR 反应设置参数为：95 °C 预热 3 min；95 °C 变性 30 s，59 °C 退火 30 s，72 °C 延伸 2 min，进行 45 个循环；最后 72 °C 延伸 10 min。PCR 产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测，条带单一且无拖带的 PCR 产物送至上海生工生物工程股份有限公司进行测序。

从 GenBank（NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>）获取脊蛇属物种同源序列（Huang et al. 2021）及其产地信息。数据集用 PhyloSuite 软件（Zhang et al. 2020）构建最大似然（maximum likelihood, ML）树。IQ-TREE 软件运行参数为 GTR + I + G4 + F 模型，超快自举值为 5 000。在 Mega X 软件（Kumar et al. 2018）中利用 *p*-distance 计算两个脊蛇标本与其他公布序列之间的遗传距离。

2 结果

2.1 形态特征描述

2023AZJLCN2 标本通体体背黑色，腹面黑色与白色相间分布，头部较干瘪回缩，身体处有部分残缺（图 1a~c）。全长 143.9 mm，尾长 25.3 mm，头长 7.66 mm，头宽 3.60 mm，头高 2.49 mm；颊鳞 1，入眶，眶前鳞 1，无眶后鳞，颞鳞呈 2 + 1 + 4 式，上唇鳞 6，从唇间向两侧逐渐增大，下唇鳞 5，鼻鳞、前额鳞、额鳞各 2，背鳞整齐排列呈 23-21-19 式，腹鳞因有残缺缺数至 138 枚，尾下鳞单行，49 枚（表 1）。

2022AZJLCN1 标本通体体背为黑色，有较为明显的黑色脊线纵贯全身，腹面为苍白色，由于是尸体，头部干瘪且尾部之上有残缺（图 1d~g）。全长 152.2 mm，尾长 31.1 mm，头长 7.57 mm，头宽 2.85 mm，头高 2.62 mm；颊鳞

1, 入眶, 眶前鳞 1, 无眶后鳞, 颞鳞呈 2 + 2 + 4 式, 上唇鳞 6, 从唇间向两侧逐渐增大, 下唇鳞 5, 鼻鳞、前额鳞、额鳞各 2, 全身覆盖披针形鳞片, 背鳞整齐排列呈 23-23-21 式, 腹鳞因有残缺仅数至 152 枚, 尾下鳞单行, 66 枚 (表 1)。

2.2 系统发育分析

2023AZJLCN2 和 2022AZJLCN1 标本分别获得有效片段长度为 497 bp 和 487 bp 的 COI

基因序列 (提交至 NCBI, 获得序列号分别为 OR484829 和 OR484828)。用本研究序列与从 GenBank 获取的脊蛇属物种同源序列 (表 2) 构建的最大似然树中, 2023AZJLCN2 标本与云开脊蛇聚在一个支系上, 2022AZJLCN1 标本与黄家岭脊蛇聚在一个支系上 (图 2)。2023AZJLCN2 标本与云开脊蛇的遗传距离为 0.10, 2022AZJLCN1 标本与黄家岭脊蛇的遗传距离为 0.09 (附录 1)。

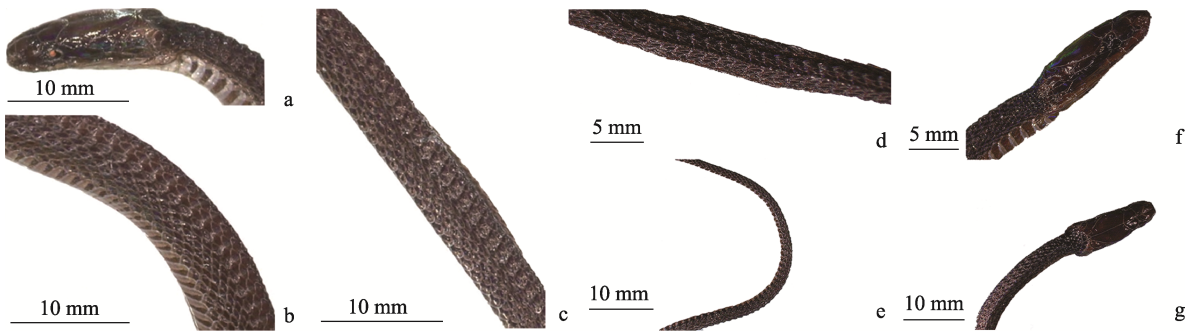


图 1 浙江温州鹿城发现的两种脊蛇部分身体形态图

Fig. 1 The partial body morphology map of two snakes of genus *Achalinus* found in Lucheng, Wenzhou, Zhejiang a ~ c. 2023AZJLCN2: a. 头部侧面; b. 躯干侧面; c. 躯干正面。d ~ g. 2022AZJLCN1: d. 躯干; e. 尾端; f. 头部侧面; g. 头部正面。a - c. 2023AZJLCN2: a. Head profile; b. Truncus profile; c. Truncus ahead. d - g. 2022AZJLCN1: d. Truncus; e. Tail; f. Head profile; g. Head front.

表 1 浙江温州鹿城发现的两种脊蛇幼体标本的形态指标

Table 1 Measurements and pholidosis of two snakes of genus *Achalinus* found in Lucheng, Wenzhou, Zhejiang

形态指标 Morphologic indexes	标本编号 Specimen number		形态指标 Morphologic indexes	标本编号 Specimen number	
	2022WZLCN1	2023WZLCN2		2022WZLCN1	2023WZLCN2
全长 Total length (mm)	152.2	143.9	颊鳞 Loreal	1	1
头体长 Snout-vent length (mm)	121.1	118.6	鼻鳞 Internasal	2	2
尾长 Tail length (mm)	31.1	25.3	前额鳞 Prefrontal	2	2
头宽 Head width (mm)	28.5	36.0	眶前鳞 Preoculars	1	1
头长 Head length (mm)	75.7	76.6	眶后鳞 Postoculars	0	0
头高 Head height (mm)	26.2	24.9	颞鳞 Temporals	2 + 2 + 4	2 + 1 + 4
眼长 Eye length (mm)	9.5	7.2	眶上鳞 Supraoculars	1	1
眼宽 Eye width (mm)	5.5	5.0	背鳞数 Dorsal scale rows	23-23-1	23-21-19
尾长/全长 Tail length/Total length (%)	25.7	21.3	腹鳞数 Ventral scales	152 + (破损 Broken)	138 + (破损 Broken)
上唇鳞 Supralabials	3-2-1	3-2-1	尾下鳞 Subcaudals	66	49
下唇鳞 Infralabials	5	5			

表 2 本研究所用的分子标本和序列信息

Table 2 Molecular samples and sequences in this study

种 Species	产地 Locality	COI 基因序列号 COI GenBank No.
本研究标本 This study	中国浙江温州 Wenzhou, Zhejiang, China	OR484828 OR484829
青脊蛇 <i>Achalinus ater</i>	中国广东 Guangdong, China	MN380334
美姑脊蛇 <i>A. meiguensis</i>	未知 Unknown	MK064943
台湾脊蛇 <i>A. formosanus</i>	中国台湾 Taiwan, China	KU529451 - KU529454
越北脊蛇 <i>A. emilyae</i>	越南北部莱州 Lai Chau, Vietnam	MK330857
黄家岭脊蛇 <i>A. huangjietangi</i>	中国安徽黄山 Huangshan, Anhui, China	MT380189 - MT380193
朱利安脊蛇 <i>A. juliani</i>	越南高平平原 Nguyen Binh, Cao Bang, Vietnam	MK330855
	越南高平下琅 Ha Lang, Cao Bang, Vietnam	MK330854
黑脊蛇 <i>A. spinalis</i>	中国湖南 Hunan, China	MN380340
棕脊蛇 <i>A. rufescens</i>	中国香港 Hong Kong, China	MN380339
	中国广东广州 Guangzhou, Guangdong, China	MN380337 - MN380338
	中国广东 Guangdong, China	MN380335 - MN380336
云开脊蛇 <i>A. yunkaiensis</i>	中国广东 Guangdong, China	MN380329 - MN380333
阿里山脊蛇 <i>A. niger</i>	中国台湾 Taiwan, China	KU529431 - KU529435
蒂姆脊蛇 <i>A. timi</i>	越南山罗顺州 Thuan Chau, Son La, Vietnam	MK330856
老挝拟须唇蛇 <i>Parafimbrios lao</i>	老挝琅勃拉邦省 Louangphabang, Laos	KP410746
须唇蛇 <i>Fimbrios klossi</i>	越南嘉莱 Gia Lai, Vietnam	KP410745

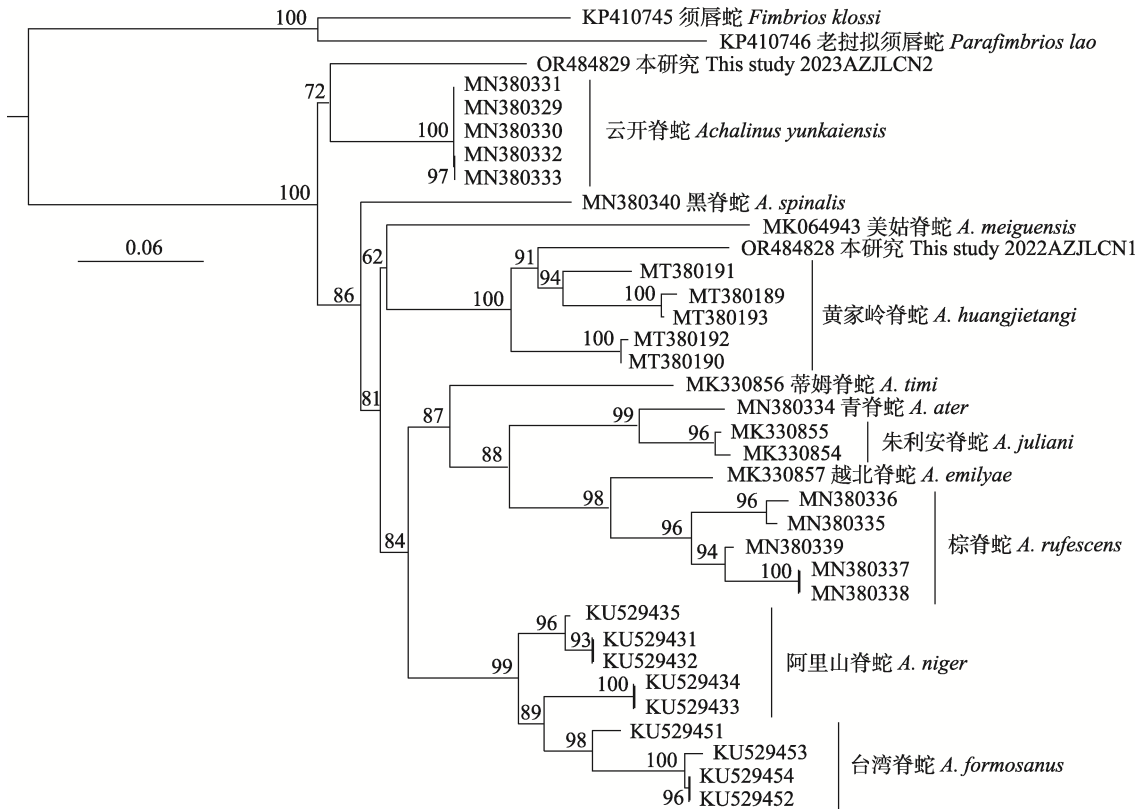


图 2 基于 COI 基因序列构建的脊蛇属部分物种最大似然树

Fig. 2 Maximum likelihood tree of genus *Achalinus* based on mitochondrial COI gene sequences

节点上的数值为自展重抽样得到的支持率；图中标尺表示序列之间的差异。

Numbers at the nodes represent bootstrap values; the scale in the figure indicates the difference between the sequences.

3 讨论

本次采集的 2 号标本大部分形态特征分别与云开脊蛇和黄家岭脊蛇相近,但是由于标本干瘪皱褶且部分缺失,导致在计数过程中无法准确统计背鳞数目,存在与模式种标准形态数据的偏差。在 Wang 等 (2019) 发表的云开脊蛇和 Huang 等 (2021) 发表的黄家岭脊蛇的形态数据中背鳞数均为 23-23-23,本研究采集的 2023AZJLCN2 背鳞数 23-21-19, 2022AZJLCN1 背鳞数 23-23-1。本研究中 2023AZJLCN2 标本尾长与全长比 (21.3) 大于已报道云开脊蛇尾长与全长比 (18.5 ~ 20.0) (Wang et al. 2019); 2022AZJLCN1 标本尾长与全长比 (25.7) 大于已报道黄家岭脊蛇个体尾长与全长比 (15.0 ~ 23.0) (Huang et al. 2021)。该形态差异是个体差异还是种群间差异,还需要采集更多样本开展进一步研究。

浙江温州鹿城区森林面积 125.07 km², 森林覆盖率达 41.85%。鹿城仰义水库水域面积 12 km², 周边植被茂密, 气候条件适宜, 生物多样性较高, 未来可以加大水库周边区域调查力度, 摸清该地区的生物多样性状况。

参 考 文 献

- Huang R Y, Peng L F, Yu L, et al. 2021. A new species of the genus *Achalinus* from Huangshan, Anhui, China (Squamata: Xenodermidae). *Asian Herpetological Research*, 12(2): 178–187.
- Kumar S, Stecher G, Li M, et al. 2018. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6): 1547–1549.
- Li K, Wu Y Y, Xu R Y, et al. 2021. A new species of the *Achalinus rufescens* complex (Xenodermidae: *Achalinus*) from Fujian Province, China. *Zootaxa*, 5026(2): 239–254.
- Wang J, Li Y, Zeng Z C, et al. 2019. A new species of the genus *Achalinus* from Southwestern Guangdong Province, China (Squamata: Xenodermatidae). *Zootaxa*, 4674(4): 471–481.
- Zhang D, Gao F L, Jakovlić I, et al. 2020. PhyloSuite: an integrated and scalable desktop platform for streamlined molecular sequence data management and evolutionary phylogenetics studies. *Molecular Ecology Resources*, 20(1): 348–355.
- 陈传武, 张财文, 丁国骅, 等. 2022. 浙江蛇类新纪录——黄家岭脊蛇. *野生动物学报*, 43(4): 1149–1150.
- 喻敏, 李科, 刘芹, 等. 2020. 广西猫儿山发现云开脊蛇. *动物学杂志*, 55(6): 793–796.

附录 1 基于 COI 基因的脊蛇属物种间遗传距离

Appendix 1 The pairwise uncorrected *p*-distance of COI gene between species of genus *Achalina*

物种 Species	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1 2022AZJLCN1 (本研究 This study)														
2 2023AZJLCN2 (本研究 This study)	0.15													
3 云开脊蛇 <i>A. yunkaiensis</i>	0.13	0.10												
4 黄家岭脊蛇 <i>A. huangjielangi</i>	0.09	0.14	0.13											
5 青脊蛇 <i>A. ater</i>	0.14	0.13	0.12	0.13										
6 美姑脊蛇 <i>A. meiguensis</i>	0.18	0.17	0.16	0.16	0.16									
7 台湾脊蛇 <i>A. formosanus</i>	0.17	0.16	0.13	0.15	0.14	0.15								
8 越北脊蛇 <i>A. emilyae</i>	0.16	0.16	0.13	0.15	0.11	0.16	0.14							
9 朱利安脊蛇 <i>A. juliani</i>	0.16	0.15	0.13	0.13	0.06	0.17	0.12	0.13						
10 黑脊蛇 <i>A. spinalis</i>	0.15	0.13	0.12	0.13	0.14	0.16	0.15	0.15	0.14					
11 棕脊蛇 <i>A. rufescens</i>	0.15	0.14	0.12	0.14	0.10	0.17	0.13	0.08	0.11	0.13				
12 阿里山脊蛇 <i>A. niger</i>	0.15	0.14	0.12	0.14	0.12	0.14	0.07	0.13	0.11	0.13	0.11			
13 蒂姆脊蛇 <i>A. timi</i>	0.15	0.14	0.13	0.14	0.12	0.16	0.12	0.12	0.12	0.13	0.12	0.11		
14 老挝拟须唇蛇 <i>Parafimbrios lao</i>	0.21	0.19	0.19	0.19	0.19	0.20	0.20	0.21	0.18	0.20	0.18	0.19	0.19	
15 须唇蛇 <i>Fimbrios klossi</i>	0.22	0.21	0.22	0.21	0.20	0.24	0.22	0.22	0.20	0.21	0.20	0.22	0.21	0.16