

河北石家庄发现大耳菊头蝠和狭耳鼠耳蝠

陈煜 郭东革 杜建滢 王续帆 徐言言 刘森*

河南师范大学生命科学学院 新乡 453007

摘要: 2023年7月,在河北石家庄市井陘县朱砂洞村朱砂洞(38°10'48" N, 113°55'22" E, 海拔509 m)使用竖琴网捕获16只菊头蝠(*Rhinolophus* spp.)和4只鼠耳蝠(*Myotis* spp.)。测量了捕获样本的外部形态、头骨特征以及录制了回声定位声波,并扩增了COI和Cyt b基因序列。菊头蝠样本回声定位声波为调频-恒频-调频(FM-CF-FM)型,峰频(54.23 ± 0.39) kHz;前臂长(47.30 ± 0.94) mm,耳长(24.55 ± 1.26) mm,颅全长(19.01 ± 0.19) mm;COI基因和Cyt b基因序列与NCBI数据库内大耳菊头蝠(*R. macrotis*)相应序列相似度分别为100%和98.68%。鼠耳蝠样本回声定位声波为调频(FM)型,峰频(43.56 ± 3.73) kHz;前臂(59.2 ± 1.36) mm,耳长(22.57 ± 0.82) mm,颅全长(22.97 ± 0.035) mm;COI基因和Cyt b基因序列与NCBI数据库内狭耳鼠耳蝠(*M. blythii*)相应基因序列相似度为99.5%和99.91%。结合外部形态数据、头骨参数以及COI和Cyt b基因序列比对,鉴定所采集的菊头蝠为大耳菊头蝠、鼠耳蝠为狭耳鼠耳蝠。此次发现的大耳菊头蝠和狭耳鼠耳蝠均为河北省翼手目物种分布新记录种。

关键词: 翼手目; 大耳菊头蝠; 狭耳鼠耳蝠; 回声定位声波; 河北省; 分布新记录

中图分类号: Q959 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2024) 05-754-12

Big-Eared Horseshoe Bat and Lesser Mouse-Eared Myotis Found in Shijiazhuang, Hebei, China

CHEN Yu GUO Dong-Ge DU Jian-Ying WANG Xu-Fan XU Yan-Yan LIU Sen*

College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China

Abstract: During the survey conducted in Zhushadong Village (38°10'48" N, 113°55'22" E, 509 m), Jingxing County, Shijiazhuang City, Hebei Province, China in July 2023, a collective count of sixteen Horseshoe Bat (*Rhinolophus* spp.) and four Myotis (*Myotis* spp.) were successfully captured utilizing harp traps. The external morphological features, specifically the forearm length, of a total of twenty bats were quantified. Following this, a subset comprising four Horseshoe Bat specimens and two Myotis specimens were chosen for the purpose of measuring skull parameters, documenting echolocation calls, and conducting identification and phylogenetic analysis using COI and Cyt b gene sequences. The results of these measurements were reported as mean ± standard deviation. The echolocation calls emitted by the Horseshoe Bat were classified as

基金项目 国家科技基础资源调查专项 (No. 2021FY100300, 2021FY100301);

* 通讯作者, E-mail: liusen2021@htu.edu.cn;

第一作者介绍 陈煜, 女, 硕士研究生; 研究方向: 动物学; E-mail: 2204183055@stu.htu.edu.cn.

收稿日期: 2023-10-20, 修回日期: 2024-02-25 DOI: 10.13859/j.cjz.202423195

frequency modulation-constant frequency-frequency modulation type (Fig. 1a). These calls exhibited a peak frequency of 54.23 ± 0.39 kHz. The forearm lengths of the bats ranged from 45.51 to 49.23 mm (Table 1). The bats possessed large ears (Fig. 2), with lengths ranging from 22 to 26.22 mm. In the Hebei samples, the third metacarpal bone was comparatively shorter, while the fourth and fifth metacarpal bones were longer. The total length of the skull varied between 18.3 and 19.26 mm (Table 1). Additionally, the bats displayed a narrow interorbital breadth. The coronoid process of the mandible was relatively low, and the second premolar of the maxilla exhibited well-developed characteristics (Fig. 2). The external morphology and skull characteristics of the Horseshoe Bat samples were found to be consistent with those of the Big-eared Horseshoe Bat (*R. macrotis*). Additionally, the *COI* gene sequences exhibited a 100% similarity with the *R. macrotis* in NCBI database, while the *Cyt b* gene sequences exhibited a 98.68% similarity, and they formed a cluster with other *R. macrotis* specimens in the phylogenetic tree (Fig. 4). The echolocation calls of the Myotis bats were classified as frequency modulation type (Fig. 1b), with a peak frequency of 43.56 ± 3.73 kHz. The forearm lengths ranged from 57.56 to 61.28 mm (Table 2). The ears were characterized by their narrow and elongated shape (Fig. 3), measuring between 21.19 and 23.34 mm in length. Finally, the lengths of the third, fourth, and fifth metacarpal bones were also recorded. The mandibular incisors exhibited a tricuspid morphology, with the third lower incisor in close proximity to the canine tooth. Additionally, the second lower molar displayed the smallest size (Fig. 3). The external morphology and cranial characteristics of the Myotis specimens were found to be in accordance with those of the Lesser Mouse-eared Myotis (*M. blythii*). Moreover, the *COI* gene sequence demonstrated a 99.5% similarity with the *M. blythii* in NCBI database, while the *Cyt b* gene sequence exhibited a 99.9% similarity. Furthermore, these sequences formed a cluster with the *M. blythii* species in the phylogenetic tree (Fig. 5). The captured species were identified as *R. macrotis* and *M. blythii* through the examination of external morphological data, skull parameters, and *COI* and *Cyt b* gene sequences. This finding signifies a novel addition to the existing knowledge of the distribution of these species within the Chiroptera of Hebei Province, China.

Key words: Chiroptera; *Rhinolophus macrotis*; *Myotis blythii*; Echolocation calls; Hebei Province; Distributed new record

大耳菊头蝠 (*Rhinolophus macrotis*) 隶属于翼手目 (Chiroptera) 菊头蝠科 (Rhinolophidae) 菊头蝠属, 为世界自然保护联盟红色名录 (IUCN 2023) 的无危 (Least Concern, LC) 等级。国内分布于陕西、浙江、江西、四川、贵州、广西、云南、福建、重庆和广东 (蒋志刚 2015), 近几年增加了湖南 (李艳丽等 2012)、山西 (王延校等 2012) 及辽宁 (王鹏程 2020) 的分布记录。大耳菊头蝠在我国记载有两个亚种, *episcopus* 亚种模式产地四川万县 (现为重庆万州), *caldwelli* 亚种模式产地福建

尤溪 (Allen 1923, 王应祥 2003)。2008 年在江西发现了与两个亚种表型和头骨参数略有差异, 且同域共存但体型不同的两种大耳菊头蝠 (Sun et al. 2008), 将这两种分别称为大耳菊头蝠“大体型” (*R. macrotis* “large form”) 和“小体型” (*R. macrotis* “small form”)。之后 Sun 等 (2016) 将大耳菊头蝠分为三个进化支系, 支系 1 (Clade1) 为小体型, 支系 2 (Clade2) 和支系 3 (Clade3) 为大体型。Zhang 等 (2018) 提出大耳菊头蝠“小体型”与华南菊头蝠 (*R. huananus*) 为泰国菊头蝠 (*R. siamensis*) 的同

物异名。刘彤 (2021) 结合 *Cyt b* 线粒体标记、核基因内含子、微卫星位点以及基因组水平单核苷酸多态性和表型参数 (外部形态参数、头骨参数、声学参数) 对大耳菊头蝠复合体及其近缘种的分类地位及演化过程进行研究, 发现大耳菊头蝠大体型物种和 *episcopus* 亚种聚成一类, 而大耳菊头蝠小体型物种与华南菊头蝠聚成一类。

狭耳鼠耳蝠 (*Myotis blythii*) 隶属于翼手目 (Chiroptera) 蝙蝠科 (Vespertilionidae) 鼠耳蝠属, 被最新的世界自然保护联盟红色名录列为无危等级。国内分布于新疆西部、陕西、内蒙、山西、广东、广西 (蒋志刚 2015)、北京 (陈卫等 2002) 及贵州 (周江等 2012)。狭耳鼠耳蝠在国内的研究较少, 阿斯姑丽·阿布都热合曼等 (2023) 对新疆布尔根河狸国家级自然保护区内狭耳鼠耳蝠的线粒体基因组全序列进行测定, 丰富了国内狭耳鼠耳蝠线粒体基因组信息。

2023 年 7 月, 本课题组于河北省石家庄市井陘县开展了翼手目物种调查, 捕捉到 16 只菊头蝠属和 4 只鼠耳蝠属蝙蝠。将河北菊头蝠样本、鼠耳蝠样本与记载的相应蝙蝠外部形态和头骨参数比较, 并通过 *COI* 和 *Cyt b* 基因序列比对, 河北菊头蝠样本被鉴定为大耳菊头蝠, 河北鼠耳蝠样本被鉴定为狭耳鼠耳蝠。两种均为河北省翼手目分布新纪录种, 进一步扩大了对这两种蝙蝠在中国分布范围的认知。

1 材料与方法

1.1 样本采集与回声定位声波录制

2023 年 7 月在河北省石家庄市井陘县朱砂洞村朱砂洞 (38°10'48" N, 113°55'22" E, 海拔 509 m), 使用竖琴网捕捉到 16 只菊头蝠属蝙蝠和 4 只鼠耳蝠属蝙蝠。选取其中 4 只菊头蝠 (标本号 HEB-2023-032、HEB-2023-033、HEB-2023-036 和 HEB-2023-038) 和 2 只鼠耳蝠 (标本号 HEB-2023-060 和 HEB-2023-061), 将个体单独放在 2.0 m × 2.3 m × 1.5 m 的蚊帐

里录制回声定位声波, 采用 UltrasoundGate 超声波采集设备 (Avisoft Bioacoustics, 德国), 录制蝙蝠发出的声波并保存, 录制声波时, 设置录音采样频率为 375 kHz, 精确度为 16 bits, 每个录音文件时长为 1 min。利用声波分析软件 Avisoft SASLab Pro (version 5.3.00, Avisoft Bioacoustics) 对录制的回声定位声波进行分析, 每个蝙蝠样本选取较好的脉冲, 取其平均值统计整体的数据变化范围。运用 SPSS v.18 统计所选脉冲各个指标的平均值和标准差 (李锋等 2016)。

1.2 形态测量

参照 Bates 等 (1997) 对蝙蝠外部形态的测量方法, 利用数显游标卡尺 (111N-102-40, 桂林广陆, 量程 200 mm, 精度为 0.01 mm) 测量 20 只蝙蝠标本前臂长、耳长等 11 项外形指标。外部形态测量后, 将不用于后续鉴定工作的 14 只蝙蝠于采集地放飞。

将录制回声定位声波的 4 只菊头蝠和 2 只鼠耳蝠脱颈处死, 分离头骨, 根据杨奇森等 (2007) 对头骨的测量方法, 用游标卡尺测量头骨标本的 13 项指标。运用 SPSS v.18 对测量数据进行平均值和标准差统计。

1.3 分子鉴定

对 4 只菊头蝠和 2 只鼠耳蝠河北样本的翼膜进行取样, 采用动物基因组提取试剂盒 [B51825, 生工生物工程 (上海) 股份有限公司] 提取翼膜组织基因组, 使用引物 *COIL* (5'-GGT CAA CAA ATC ATA AAG AYA TYG G-3', Y 为 C/T) 和 *COIH* (5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAR AAY CA-3', Y 为 C/T, R 为 A/G) 扩增 *COI* 基因 (王鹏程等 2020); 使用引物 L14724 (5'-CGA AGC TTG ATA TGA AAA ACC ATC GTT G-3') 和 H15915 (5'-AAC TGC AGT CAT CTC CGG TTT ACA AGA-3') 扩增 *Cyt b* 基因 (Irwin et al. 1991)。扩增后产物由北京擎科生物科技有限公司完成测序。

利用测得的菊头蝠 *COI* 和 *Cyt b* 基因序列结合 NCBI 数据库内的菊头蝠属蝙蝠 *COI* 和

Cyt *b* 基因序列，以大蹄蝠 (*Hipposideros armiger*) 和小蹄蝠 (*H. pomona*) 作为外群，分别基于 COI 和 Cyt *b* 基因序列构建系统发育树。利用测得的鼠耳蝠 COI 和 Cyt *b* 基因序列结合 NCBI 数据库内的 3 种鼠耳蝠属蝙蝠，COI 基因序列以白腹管鼻蝠 (*Murina leucogaster*)、金管鼻蝠 (*M. aurata*) (阿斯姑丽·阿布都热合曼等 2023) 作为外群构建系统发育树，Cyt *b* 基因序列以白腹管鼻蝠、梵净山管鼻蝠 (*M. fanjingshanensis*) 作为外群构建系统发育树。在 Mega 5.0 软件上 (Tamura et al. 2011) 进行比对，经过人工编辑将序列对齐，采用 Model Selection 功能选择通过最大似然法 (maximum likelihood, ML) 构树的最优模型，构建系统发育树，自举重复 (bootstrap replications) 1 000 次，计算节点支持度。再基于 Kimura 2-parameter (K2P) 模型计算蝙蝠种内和种间的遗传距离。

2 结果

2.1 回声定位声波特征

河北所采集菊头蝠样本的回声定位声波类型属于调频 (frequency modulated, FM) -恒频 (constant frequency, CF) -调频 (FM) 型 (图 1a)，在自由飞行状态下，脉冲大多为 3 个谐波组成，第 2 谐波能量最高，能量最高处的峰频为 (54.23 ± 0.39) kHz。带宽为 (7.42 ± 1.13) kHz，起始频率为 (50.60 ± 1.10) kHz，终止频率为 (46.82 ± 1.05) kHz，脉冲持续时间为 (28.33 ± 6.78) ms ($n = 60$)。

河北所采集鼠耳蝠样本的回声定位声波类型属于调频信号 (FM) 型 (图 1b)，在自由飞行状态下，脉冲大多为 2 个谐波组成，第 1 谐波能量最高，峰频为 (43.56 ± 3.73) kHz。带宽为 (57.99 ± 4.56) kHz，起始频率为 (83.75 ± 4.34) kHz，终止频率为 (25.75 ± 2.33) kHz，脉冲持续时间为 (2.88 ± 0.25) ms ($n = 30$)。

2.2 外部形态及头骨特征

河北的菊头蝠样本体型较小，毛色棕褐，

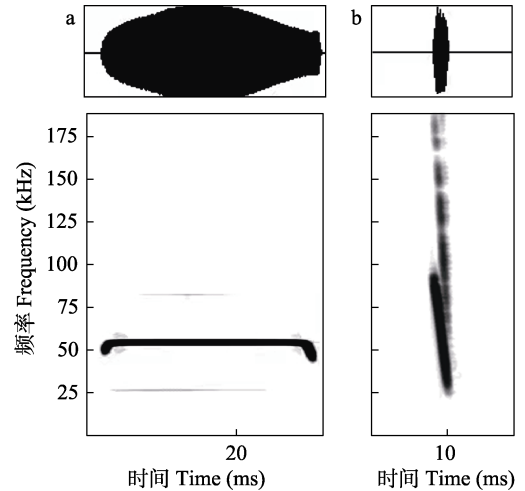


图 1 河北样本回声定位声波图

Fig. 1 Echolocation calls of Hebei specimen

a. 菊头蝠; b. 鼠耳蝠。a. *Rhinolophus* spp; b. *Myotis* spp.

基部灰白，腹毛毛色浅淡 (图 2a)，能明显与马铁菊头蝠 (*R. ferrumequinum*) 区分开。耳特大，耳长 22.00 ~ 26.22 mm，对耳屏相对较小 (图 2b, c)。第三掌骨较短，第四、第五掌骨较长。头骨狭长 (图 2d ~ g)，颅全长 18.30 ~ 19.26 mm。眶间距较小，下颌冠状突较低，上颌第二前臼齿较发达，位于齿列中，下颌小前臼齿位置偏向齿列外侧。将河北的菊头蝠样本与已报道的大耳菊头蝠的外部形态与头骨特征进行比较 (表 1)，二者形态相近。

河北的鼠耳蝠样本，体型中等，背部毛色呈黑褐色，腹部毛色呈灰白色，耳狭长，耳长 21.19 ~ 23.34 mm，对耳屏细长且直 (图 3a)。第三、第四、第五掌骨长度依次递减。头骨狭长 (图 3b ~ e)，颅全长 22.93 ~ 23 mm。听泡发达，下颌冠状突较高，上颌内门齿有两个齿尖，外门齿较小。第一、第二上臼齿较大，第三上臼齿较小。下颌门齿具三尖，第三下门齿与犬齿紧密接触，第二下臼齿最小。将河北鼠耳蝠样本测量的外部形态与头骨特征与已报道的狭耳鼠耳蝠进行对比发现，二者形态相近 (表 2)。

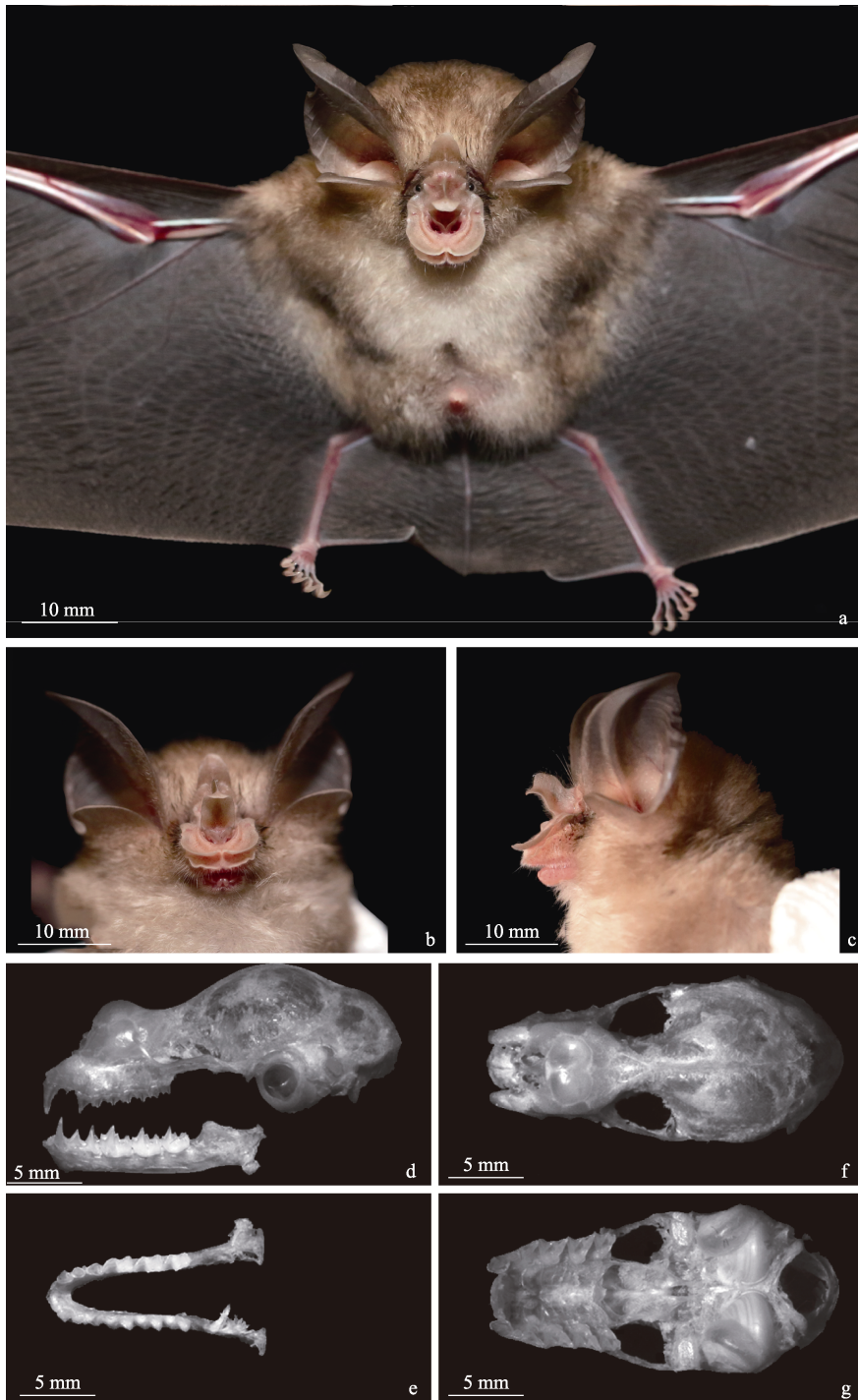


图 2 河北菊头蝠样本照片和头骨特征

Fig. 2 Photos and Skull characteristics of Hebei specimen (*Rhinolophus* spp.)

a. 头部侧面; b. 身体腹面; c. 头部正面; d. 头骨侧面; e. 下颌骨正面; f. 头骨背面; g. 头骨腹面。

a. Lateral view of head; b. Ventral view of body; c. Frontal view of head; d. Lateral view of skull; e. Frontal view of mandible; f. Dorsal view of skull; g. Ventral view of skull.

表 1 河北菊头蝠样本与大耳菊头蝠外部形态及头骨特征比较

Table 1 Comparison of external and skull measurements of Hebei sample (*Rhinolophus* spp.) and *R. macrotis*

	大耳菊头蝠 <i>Rhinolophus macrotis</i>								
	河北 Hebei 本研究 This study	辽宁 Liaoning 王鹏程等 2020	湖南 Hunan 李艳丽等 2012	山西 Shanxi 王延校等 2012	贵州 Guizhou 罗蓉 1993				
外部形态参数 External measurements (mm)	<i>n</i> = 16	♂	<i>n</i> = 6	<i>n</i> = 2		<i>n</i> = 2			
前臂长 Forearm length, FA	47.30 ± 0.94	46.83	45.81 ± 2.54	45.0	47.5	47.0	44.5		
耳长 Ear length, EL	24.55 ± 1.26	20.29	23.58 ± 1.48	23.0	25.0	23.0	26.0		
耳宽 Ear width, EW	14.31 ± 0.76	—	—	—	—	—	—		
耳屏长 Tragus length, TL	11.87 ± 1.44	—	—	—	—	—	—		
耳屏宽 Tragus width, TW	7.30 ± 0.50	—	—	—	—	—	—		
足长 Hind-foot length, HF	8.65 ± 0.79	8.56	8.15 ± 0.84	—	—	—	—		
胫骨长 Tibia length, Tib	19.54 ± 0.43	18.97	18.46 ± 0.92	19.0	19.0	20.0	18.5		
第 3 掌骨 The 3rd metacarpal length, 3mt	36.10 ± 0.87	—	32.65 ± 1.25	—	—	—	—		
第 4 掌骨长 The 4th metacarpal length, 4mt	38.06 ± 0.96	—	33.54 ± 1.35	—	—	—	—		
第 5 掌骨长 The 5th metacarpal length, 5mt	37.26 ± 1.37	—	33.94 ± 1.07	—	—	—	—		
尾长 Tail length, TL	20.52 ± 1.77	17.17	19.36 ± 1.88	21.0	19.5	19.0	25.0		
头骨参数 Skull measurements (mm)	<i>n</i> = 4	—	<i>n</i> = 6	<i>n</i> = 2		<i>n</i> = 2			
颅全长 Greatest length of skull, GTL	19.01 ± 0.19	—	19.58 ± 0.41	19.9	20.3	20.4	19.5		
枕犬长 Condyllo-canine length, CCL	16.77 ± 0.04	—	16.56 ± 0.18	—	—	—	—		
颧宽 Zygomatic breadth	8.66 ± 0.10	—	8.75 ± 0.20	9.2	9.0	8.9	8.8		
颅基长 Condyllo-base length, CBL	16.92 ± 0.09	—	16.98 ± 0.13	17.6	18.1	16.8	15.7		
颅宽 Braincase breadth, BB	8.27 ± 0.12	—	7.87 ± 0.12	—	—	—	—		
颅高 Braincase height, BH	7.82 ± 0.17	—	—	—	—	—	—		
眶间宽 Interorbital breadth, IOB	2.92 ± 0.11	—	2.97 ± 0.33	2.6	2.6	2.8	2.4		
听泡长 Auditory bullae length, ABL	4.34 ± 0.12	—	—	—	—	—	—		
下颌长 Mandible length, ML	12.26 ± 0.10	—	12.20 ± 0.57	—	—	—	—		
上齿列长 Maxillary tooth row length, C ¹ -M ³	6.84 ± 0.11	—	6.35 ± 0.40	6.9	6.8	7.1	7.0		
下齿列长 Mandibular tooth row length, C ₁ -M ₃	7.10 ± 0.14	—	7.10 ± 0.10	—	—	—	—		
上犬齿宽 Upper canine width, C ¹ -C ¹	4.10 ± 0.11	—	4.23 ± 0.08	—	—	—	—		
第三上臼齿宽 Upper canine width, M ³ -M ³	6.23 ± 0.05	—	6.05 ± 0.71	—	—	—	—		

数据以平均值 ± 标准差形式给出；“—”表示缺失此数据。

The data is presented in the form of Mean ± SD; “—” indicates that data are absent.

2.3 分子鉴定

成功扩增了河北菊头蝠 4 样本 *COI* 基因序列 (657 bp, 序列号 OR664394 ~ OR664397) 和 *Cyt b* 基因序列 (1 140 bp, 序列号 OR799558 ~ OR799561), 以及鼠耳蝠 2 样本 *COI* 基因序

列 (657 bp, 序列号 OR664392 和 OR664393) 和 *Cyt b* 基因序列 (1 140 bp, 序列号 OR799562 和 OR799563)。

河北菊头蝠样本的 *COI* 基因序列与 NCBI 数据库内大耳菊头蝠相似度为 100%, 结合

NCBI 数据库内的 4 种菊头蝠和 2 种蹄蝠属物种的 *COI* 序列, 进行比对及人工编辑后, 用于分析的 *COI* 基因片段长度为 624 bp, 最优核苷酸模型为 GTR + G + I。使用最大似然法构建系统发育树, 河北样本与大耳菊头蝠个体聚为一支 (图 4a)。河北菊头蝠样本与已知大耳菊头蝠的遗传距离均小于 2%, 而与托氏菊头蝠 (*R. thomasi*) 的遗传距离大于 13.4%、与马铁菊头蝠的遗传距离大于 18.0%、与梅氏菊头蝠 (*R. mehelyi*) 的遗传距离大于 16.6% (附录 1)。河北的菊头蝠样本 *Cyt b* 基因序列与 NCBI 数据库内大耳菊头蝠相似度为 98.68%, 结合 NCBI 中大耳菊头蝠 (*episcopus* 亚种、*caldwelli* 亚种) 和华南菊头蝠进行比对、人工编辑后, 用于分析的 *Cyt b* 基因片段长度为 1 140 bp, 最优核苷酸模型为 GTR + G + I。使用最大似然法构建系统发育树, 河北样本与大耳菊头蝠 *episcopus* 亚种个体聚为一支 (图 4b), 二者间遗传距离小于与大耳菊头蝠 *caldwelli* 亚种的遗传距离, 与华南菊头蝠的遗传距离大于 4.4% (附录 2)。

河北鼠耳蝠样本的 *COI* 和 *Cyt b* 基因序列与 NCBI 数据库内狭耳鼠耳蝠对应序列相似度

分别为 99.5% 和 99.91%。结合 NCBI 数据库内的鼠耳蝠和管鼻蝠属物种的 *COI* 和 *Cyt b* 序列, 进行比对和人工编辑后, 用于分析的 *COI* 基因片段长度为 542 bp, *Cyt b* 基因片段长度为 1 051 bp, 最优核苷酸模型均为 GTR + G + I。使用最大似然法构建系统发育树, 河北样本与狭耳鼠耳蝠个体聚为一支 (图 5)。河北鼠耳蝠样本与已知狭耳鼠耳蝠的遗传距离小于 2%, 而与中华鼠耳蝠 (*M. chinensis*) 和大足鼠耳蝠 (*M. pilosus*) 的遗传距离大于 11% (附录 3, 4)。

3 讨论

河北菊头蝠样本的外部形态和头骨数据接近已报道的大耳菊头蝠 (罗蓉 1993, 李艳丽等 2012, 王延校等 2012, 王鹏程等 2020), *COI* 和 *Cyt b* 基因序列与大耳菊头蝠相似度高, 在系统发育树上与大耳菊头蝠聚为一支, 遗传距离小于 2%。一般认为同一种群内的蝙蝠遗传距离小于 2%, 同属物种的蝙蝠遗传距离大于 11% (Bradley et al. 2001)。基于形态和分子系统分析, 鉴定河北菊头蝠样本为大耳菊头蝠。大耳菊头蝠的分类较复杂, 将河北样本 *Cyt b*

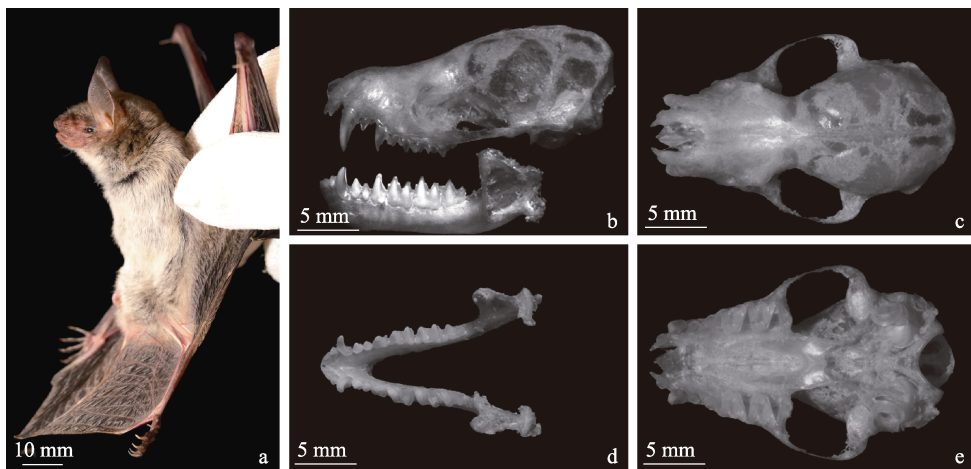


图 3 河北鼠耳蝠样本照片和头骨特征

Fig. 3 Photo and Skull characteristics of Hebei specimen (*Myotis* spp.)

a. 个体照片; b. 头骨侧面; c. 头骨背面; d. 下颌骨正面; e. 头骨腹面。

a. Photo; b. Lateral view of skull; c. Dorsal view of skull; d. Frontal view of mandible; e. Ventral view of skull.

表 2 河北样本与狭耳鼠耳蝠外部形态比较

Table 2 Comparison of external and skull measurements of Hebei sample (*Myotis* spp.) and *M. blythii*

	狭耳鼠耳蝠 <i>M. blythii</i>		
	河北 Hebei 本研究 This study	贵州 Guizhou 周江等 2012	北京 Beijing 陈卫等 2002
外部形态参数 External measurements (mm)	<i>n</i> = 4	<i>n</i> = 14	<i>n</i> = 5
前臂长 Forearm length, FA	59.20 ± 1.36	64.60 ± 1.71	59.20 ± 3.71
耳长 Ear length, EL	22.57 ± 0.82	21.67 ± 0.94	18.60 ± 1.02
耳宽 Ear width, EW	8.63 ± 0.56	—	—
耳屏长 Tragus length, TL	12.09 ± 0.49	11.36 ± 0.77	—
耳屏宽 Tragus width, TW	2.31 ± 0.16	—	—
足长 Hind-foot length, HF	12.10 ± 0.92	14.02 ± 1.19	12.40 ± 2.33
胫骨长 Tibia length, Tib	26.72 ± 0.85	29.08 ± 1.12	—
第 3 掌骨 The 3rd metacarpal length, 3mt	60.39 ± 1.67	61.45 ± 1.95	—
第 4 掌骨长 The 4th metacarpal length, 4mt	58.55 ± 1.34	60.08 ± 1.60	—
第 5 掌骨长 The 5th metacarpal length, 5mt	55.88 ± 1.17	58.52 ± 1.62	—
尾长 Tail length, TL	56.84 ± 3.63	67.99 ± 3.70	57.40 ± 5.75
头骨参数 Skull measurements (mm)	<i>n</i> = 2	<i>n</i> = 14	<i>n</i> = 5
颅全长 Greatest length of skull, GTL	22.93 23.00	24.09 ± 0.55	21.30 ± 1.44
枕犬长 Condylar-canine length, CCL	20.49 20.51	21.11 ± 0.25	—
颧宽 Zygomatic breadth	14.49 14.47	15.26 ± 0.25	13.70 ± 1.36
颅基长 Condylar-base length, CBL	21.99 21.65	20.02 ± 0.39	—
颅宽 Braincase breadth, BB	10.35 10.39	—	—
颅高 Braincase height, BH	9.43 9.54	9.60 ± 0.36	8.50 ± 0.77
眶间宽 Interorbital breadth, IOB	5.66 5.76	5.24 ± 0.16	5.00 ± 0.32
听泡长 Auditory bullae length, ABL	4.12 4.43	4.68 ± 0.22	—
下颌长 Mandible length, ML	17.48 17.24	17.92 ± 0.43	—
上齿列长 Maxillary tooth row length, C ¹ -M ³	9.13 9.26	9.59 ± 0.23	10.22 ± 0.88
下齿列长 Mandibular tooth row length, C ₁ -M ₃	9.57 10.00	10.79 ± 0.21	10.80 ± 0.68
上犬齿宽 Upper canine width, C ¹ -C ¹	6.45 6.44	5.80 ± 0.20	—
第三上白齿宽 Upper canine width, M ³ -M ³	9.40 9.51	9.56 ± 0.25	—

数据以平均值 ± 标准差形式给出；“—”表示缺失此数据。

The data is presented in the form of mean ± standard deviation; “—” indicates that data are absent.

基因序列结合 NCBI 数据库里的大耳菊头蝠 (*episcopus* 亚种、*caldwelli* 亚种) 和华南菊头蝠构建系统发育树, 并计算遗传距离, 河北样

本与 *episcopus* 亚种亲缘关系更接近, 遗传距离更小, 所以将河北样本鉴定为大耳菊头蝠 *episcopus* 亚种。河北大耳菊头蝠样本的回声定

位声波与在云南省记载的大耳菊头蝠回声定位声波[峰频为 (57.3 ± 0.61) kHz, 带宽为 (7.4 ± 1.59) kHz, 脉冲持续时间 (25.3 ± 6.37) ms]相近 (张喜臣 2006), 带宽较短, 脉冲持续时间较长, 因此其捕食环境应不复杂, 声波为 FM-CF-FM 型且峰频中等偏低, 可能是捕食中等大小的昆虫 (冯江 2001, 陈敏 2003)。

河北鼠耳蝠样本的外部形态和头骨数据与已报道的狭耳鼠耳蝠相近 (陈卫等 2002, 周江等 2012), *COI* 和 *Cyt b* 基因序列与狭耳鼠耳

蝠相似度高, 在系统发育树上与狭耳鼠耳蝠聚为一支, 遗传距离小于 2%。结合以上结果, 鉴定河北鼠耳蝠样本为狭耳鼠耳蝠。

此前大耳菊头蝠记载的最北端为辽宁省 (王鹏程等 2020), 次北端为山西省 (王延校等 2012), 狭耳鼠耳蝠已在陕西、山西和北京等地被发现 (蒋志刚 2015), 但两种均未在河北省被报道。因而此次两种在河北省的发现, 使得两种在国内的分布范围变得更加连贯。

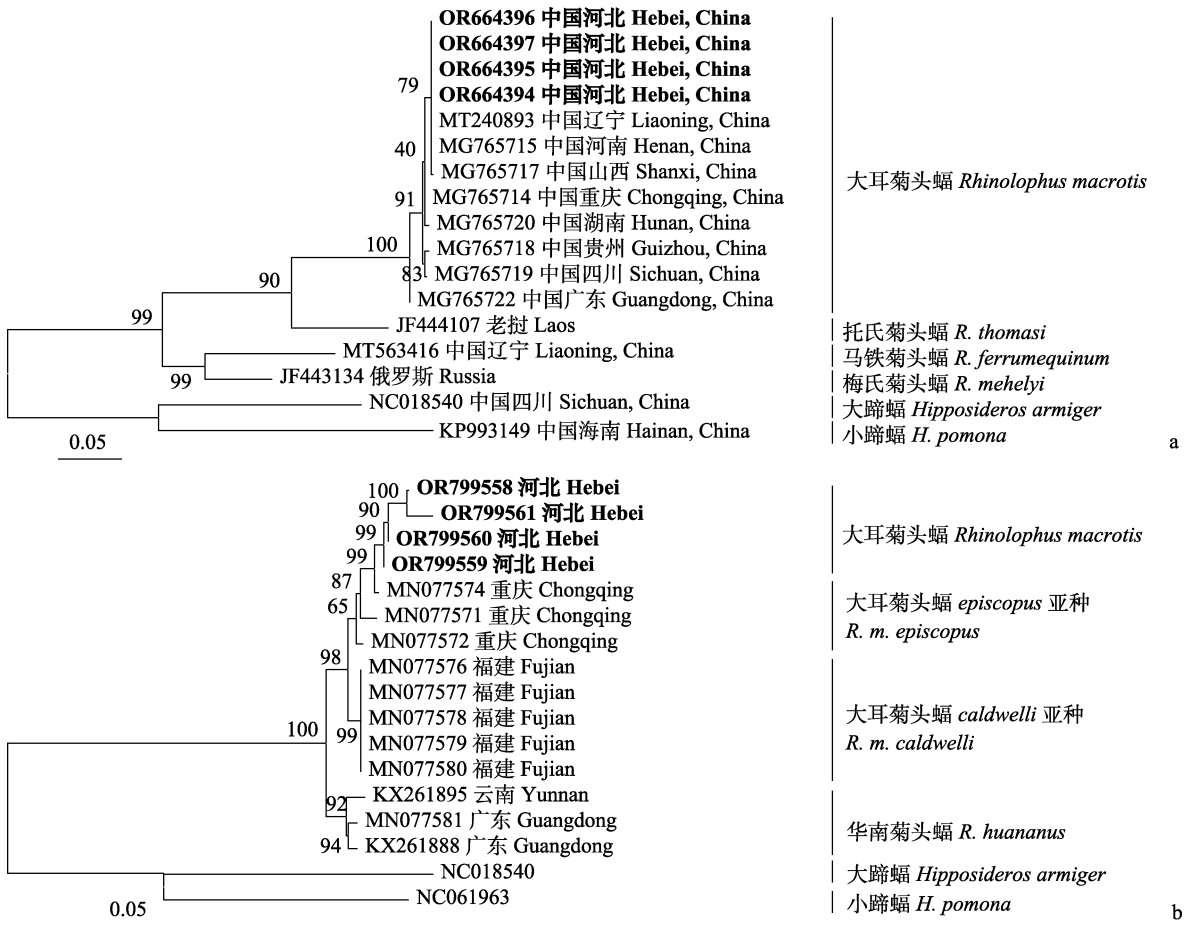


图 4 基于 *COI* (a) 和 *Cyt b* (b) 基因部分序列构建的菊头蝠属部分物种最大似然树

Fig. 4 Maximum likelihood trees for some species of *Rhinolophus* spp. based on the partial sequences of *COI* (a) and *Cyt b* (b) genes

加粗字体为本研究新采集样本。各支上的数值代表节点支持率; 标尺为遗传距离。

The newly collected samples in this study are in bold. The values on the tree represent the support rate of the node; the scale shows the genetic distance.

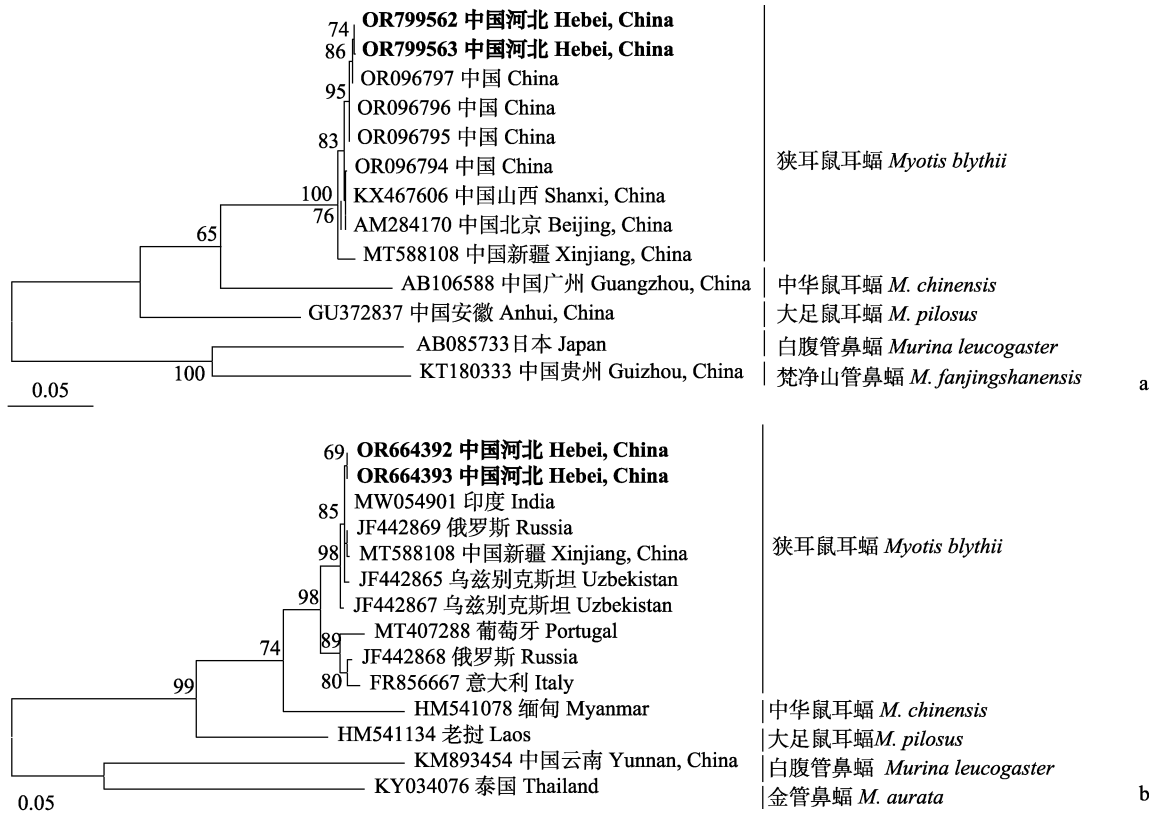


图 5 基于 *Cyt b* (a) 和 *COI* (b) 基因部分序列构建的狭耳鼠耳蝠属物种最大似然树

Fig. 5 Maximum likelihood trees for some species of *Myotis* spp. based on the partial sequences of *Cyt b* (a) and *COI* (b) genes

加粗字体为本研究新采集样本。各支上的数值代表节点支持率；标尺为遗传距离。

The newly collected samples in this study are in bold. The values on the tree represent the support rate of the node; the scale shows the genetic distance.

参 考 文 献

- Allen G M. 1940. The Mammals of China and Mongolia. New York: The American Museum of Natural History, 268–270.
- Bates P J J, Harrison D L. 1997. Bats of the Indian Subcontinent. Sevenoaks: Harrison Zoological Museum of Publication.
- Bradley R D, Baker R J. 2001. A test of the genetic species concept: cytochrome-*b* sequences and mammals. *Journal of Mammalogy*, 82(4): 960–973.
- Irwin D M, Kocher T D, Wilson A C. 1991. Evolution of the cytochrome *b* gene of mammals. *Journal of Molecular Evolution*, 32(2): 128–144.
- IUCN. 2022. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2022-2. [EB/OL]. [2023-10-18]. <https://www.iucnredlist.org>.
- Sun K P, Feng J, Jiang T L, et al. 2008. A new cryptic species of *Rhinolophus macrotis* (Chiroptera: Rhinolophidae) from Jiangxi Province, China. *Acta Chiropterologica*, 10(1): 1–10.
- Sun K P, Kimball R T, Liu T, et al. 2016. The complex evolutionary history of big-eared horseshoe bats (*Rhinolophus macrotis* complex): insights from genetic, morphological and acoustic data. *Scientific Reports*, 6: 35417.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, et al. 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28(10): 2731–2739.
- Zhang L, Sun K P, Liu T, et al. 2018. Multilocus phylogeny and species delimitation within the *philippinensis* group (Chiroptera: Rhinolophidae). *Zoologica Scripta*, 47(6): 655–672.

- 阿斯姑丽·阿布都热合曼, 初雯雯, 戚英杰, 等. 2023. 新疆布尔根河狸国家级自然保护区狭耳鼠耳蝠线粒体基因组研究. *野生动物学报*, 1-8. (2023-08-14). <https://kns.cnki.net/kcms/detail/23.1587.S.20230814.1014.008.html>.
- 陈敏. 2003. 七种蝙蝠回声定位行为生态研究. 长春: 东北师范大学硕士学位论文, 31-32.
- 陈卫, 高武, 傅必谦. 2002. 北京兽类志. 北京: 北京出版社, 68-70.
- 冯江. 2001. 蝙蝠回声定位行为生态研究. 长春: 吉林科学技术出版社, 58-83, 128-133.
- 蒋志刚. 2015. 中国哺乳动物多样性及地理分布. 北京: 科学出版社, 81, 96.
- 李锋, 余文华, 吴毅, 等. 2016. 广东发现泰坦尼亚彩蝠及其回声定位声波特征. *动物学杂志*, 51(1): 14-21.
- 李艳丽, 张佑祥, 刘志霄, 等. 2012. 湖南省翼手目新纪录——大耳菊头蝠. *四川动物*, 31(5): 825-827.
- 刘彤. 2021. 大耳菊头蝠物种复合体的分类界定与物种形成研究. 长春: 东北师范大学博士学位论文, 5-46.
- 罗蓉. 1993. 贵州兽类志. 贵阳: 贵州科技出版社, 109-112.
- 王鹏程, 刘高鸣, 朱平芬, 等. 2020. 辽宁省翼手目分布新记录种大耳菊头蝠. *动物学杂志*, 55(5): 647-650.
- 王延校, 王芳, 高伶俐, 等. 2012. 山西省菊头蝠科 1 新纪录——大耳菊头蝠 *Rhinolophus macrotis*. *河南师范大学学报: 自然科学版*, 40(2): 147-148.
- 王应祥. 2003. 中国哺乳动物种和亚种分类名录与分布大全. 北京: 中国林业出版社, 35, 43.
- 杨奇森, 夏霖, 冯祚建, 等. 2007. 兽类头骨测量标准 V: 食虫目、翼手目. *动物学杂志*, 42(2): 56-62.
- 张喜臣. 2006. 大耳菊头蝠回声定位声波与夏季捕食策略研究. 长春: 东北师范大学硕士学位论文, 10-17.
- 周江, 杨天友. 2012. 贵州省鼠耳蝠属一新纪录——狭耳鼠耳蝠. *四川动物*, 31(1): 120-122, 177.

附录 1 基于 COI 基因序列的河北菊头蝠样本与不同菊头蝠种内和种间 K2P 遗传距离

Appendix 1 Genetic distances of COI gene of Hebei sample (*Rhinolophus* spp.) and different *R. spp.* based on Kimura 2-parameter model

物种 Species	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1 大耳菊头蝠 <i>Rhinolophus macrotis</i> (中国河北 Hebei, China; 本研究 This study)		0.000	0.000	0.002	0.003	0.004	0.004	0.004	0.005	0.016	0.020	0.019
2 大耳菊头蝠 <i>R. macrotis</i> (中国辽宁 Liaoning, China) MT240893	0.000		0.000	0.002	0.003	0.004	0.004	0.004	0.005	0.016	0.020	0.019
3 大耳菊头蝠 <i>R. macrotis</i> (中国河南 Henan, China) MG765715	0.000	0.000		0.002	0.003	0.004	0.004	0.004	0.005	0.016	0.020	0.019
4 大耳菊头蝠 <i>R. macrotis</i> (中国山西 Shanxi, China) MG765717	0.002	0.002	0.002		0.003	0.004	0.004	0.004	0.005	0.016	0.020	0.018
5 大耳菊头蝠 <i>R. macrotis</i> (中国重庆 Chongqing, China) MG765714	0.005	0.005	0.005	0.007		0.002	0.003	0.003	0.004	0.016	0.020	0.019
6 大耳菊头蝠 <i>R. macrotis</i> (中国湖南 Hunan, China) MG765720	0.008	0.008	0.008	0.010	0.003		0.004	0.004	0.004	0.016	0.020	0.019
7 大耳菊头蝠 <i>R. macrotis</i> (中国贵州 Guizhou, China) MG765718	0.012	0.012	0.012	0.010	0.007	0.010		0.003	0.005	0.016	0.019	0.019
8 大耳菊头蝠 <i>R. macrotis</i> (中国四川 Sichuan, China) MG765719	0.010	0.010	0.010	0.008	0.005	0.008	0.005		0.004	0.016	0.019	0.019
9 大耳菊头蝠 <i>R. macrotis</i> (中国广东 Guangdong, China) MG765722	0.017	0.017	0.017	0.015	0.012	0.012	0.015	0.014		0.015	0.019	0.018
10 托氏菊头蝠 <i>R. thomasi</i> (老挝 Laos) JF444107	0.134	0.134	0.134	0.132	0.132	0.132	0.136	0.134	0.117		0.019	0.016
11 马铁菊头蝠 <i>R. ferrumequinum</i> (中国辽宁 Liaoning, China) MT563416	0.180	0.180	0.180	0.177	0.177	0.177	0.170	0.177	0.168	0.166		0.016
12 梅氏菊头蝠 <i>R. mehelyi</i> (俄罗斯 Russia) JF443134	0.166	0.166	0.166	0.164	0.173	0.173	0.171	0.168	0.169	0.146	0.114	

下三角为遗传距离, 上三角为标准误差。Below diagonal is genetic distance, above diagonal is the standard error (SE).

附录 2 基于 *Cyt b* 基因序列的河北菊头蝠样本与不同菊头蝠种内和种间 K2P 遗传距离Appendix 2 Genetic distances of *Cyt b* gene of Hebei sample (*Rhinolophus* spp.) and different *R.* spp. based on Kimura 2-parameter model

物种 Species	1	2	3	4	5	6	7
1 大耳菊头蝠 <i>Rhinolophus macrotis</i> (中国河北 Hebei, China; 本研究 This study)		0.004	0.004	0.005	0.005	0.006	0.006
2 大耳菊头蝠 <i>episcopus</i> 亚种 <i>R. m. episcopus</i> (中国重庆 Chongqing, China) MN077574	0.015		0.003	0.004	0.004	0.005	0.005
3 大耳菊头蝠 <i>episcopus</i> 亚种 <i>R. m. episcopus</i> (中国重庆 Chongqing, China) MN077571	0.025	0.013		0.004	0.004	0.005	0.005
4 大耳菊头蝠 <i>caldwelli</i> 亚种 <i>R. m. caldwelli</i> (中国福建 Fujian, China) MN077576	0.029	0.017	0.016		0.000	0.005	0.005
5 大耳菊头蝠 <i>caldwelli</i> 亚种 <i>R. m. caldwelli</i> (中国福建 Fujian, China) MN077577	0.029	0.017	0.016	0.000		0.005	0.005
6 华南菊头蝠 <i>R. huananus</i> (中国云南 Yunan, China) KX261895	0.045	0.031	0.032	0.028	0.028		0.003
7 华南菊头蝠 <i>R. huananus</i> (中国广东 Guangdong, China) MN077581	0.044	0.030	0.031	0.025	0.025	0.012	

下三角为遗传距离, 上三角为标准误差。Below diagonal is genetic distance, above diagonal is the standard error (SE).

附录 3 基于 *Cyt b* 基因序列的河北鼠耳蝠样本与不同鼠耳蝠种内和种间 K2P 遗传距离Appendix 3 Genetic distances of *Cyt b* gene of Hebei sample (*Myotis* spp.) and different *Myotis* spp. based on Kimura 2-parameter model

物种 Species	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 狭耳鼠耳蝠 <i>Myotis blythii</i> (中国河北 Hebei, China; 本研究 This study)		0.002	0.003	0.003	0.003	0.010	0.010	0.017	0.017
2 狭耳鼠耳蝠 <i>M. blythii</i> (印度 India) MW054901	0.002		0.002	0.003	0.003	0.010	0.010	0.017	0.017
3 狭耳鼠耳蝠 <i>M. blythii</i> (俄罗斯 Russia) JF442869	0.004	0.002		0.002	0.003	0.010	0.010	0.017	0.017
4 狭耳鼠耳蝠 <i>M. blythii</i> (中国新疆 Xinjiang, China) MT588108	0.006	0.004	0.002		0.004	0.010	0.010	0.017	0.018
5 狭耳鼠耳蝠 <i>M. blythii</i> (乌兹别克斯坦 Uzbekistan) JF442865	0.006	0.004	0.006	0.008		0.010	0.010	0.017	0.017
6 狭耳鼠耳蝠 <i>M. blythii</i> (葡萄牙 Portugal) MT407288	0.050	0.048	0.050	0.052	0.052		0.007	0.016	0.018
7 狭耳鼠耳蝠 <i>M. blythii</i> (意大利 Italy) FR856667	0.047	0.045	0.047	0.050	0.050	0.031		0.015	0.018
8 中华鼠耳蝠 <i>M. chinensis</i> (缅甸 Myanmar) HM541078	0.110	0.112	0.115	0.117	0.112	0.109	0.102		0.018
9 大足鼠耳蝠 <i>M. pilosus</i> (老挝 Laos) HM541134	0.133	0.135	0.138	0.140	0.130	0.135	0.135	0.135	

下三角为遗传距离, 上三角为标准误差。Below diagonal is genetic distance, above diagonal is the standard error (SE).

附录 4 基于 *COI* 基因序列的河北鼠耳蝠样本与不同鼠耳蝠种内和种间 K2P 遗传距离Appendix 4 Genetic distances of *COI* gene of Hebei sample (*Myotis* spp.) and different *Myotis* spp. based on Kimura 2-parameter model

物种 Species	1	2	3	4	5	6
1 狭耳鼠耳蝠 <i>Myotis blythii</i> (中国河北 Hebei, China; 本研究 This study)		0.002	0.002	0.004	0.014	0.013
2 狭耳鼠耳蝠 <i>M. blythii</i> (中国山西 Shanxi, China) KX467606	0.007		0.000	0.004	0.013	0.014
3 狭耳鼠耳蝠 <i>M. blythii</i> (中国北京 Beijing, China) AM284170	0.007	0.000		0.004	0.013	0.014
4 狭耳鼠耳蝠 <i>M. blythii</i> (中国新疆 Xinjiang, China) MT588108	0.019	0.014	0.014		0.013	0.014
5 中华鼠耳蝠 <i>M. chinensis</i> (中国广州 Guangzhou, China) AB106588	0.134	0.135	0.135	0.136		0.014
6 大足鼠耳蝠 <i>M. pilosus</i> (中国安徽 Anhui, China) GU372837	0.135	0.136	0.136	0.139	0.153	

下三角为遗传距离, 上三角为标准误差。Below diagonal is genetic distance, above diagonal is the standard error (SE).