

# 贵州黔西南发现金环蛇

陆静<sup>①</sup> 祝非<sup>①</sup> 孙恪<sup>①</sup> 张鹤<sup>②</sup> 张仁意<sup>①\*</sup>

① 贵州师范大学生命科学学院 贵阳 550025; ② 贵州省林业科学研究院 贵阳 550025

**摘要:** 2021年7月,在贵州黔西南布依族苗族自治州望谟县蔗香镇(106°09'15" E, 24°59'36" N, 海拔485 m)采集到蛇亚目(Serpentes)眼镜蛇科(Elapidae)环蛇属(*Bungarus*)物种1个体。经形态特征比较,与金环蛇(*B. fasciatus*)鉴别特征一致;基于线粒体Cyt *b*基因片段构建的环蛇属部分物种系统进化发育树显示,本次采集标本与广东和云南的金环蛇标本聚为一支(0.99/96, 贝叶斯法/最大似然法),它们之间的遗传距离为0.2%~0.9%。结合形态特征和系统发育分析比较,确定该标本为金环蛇,系贵州省蛇类分布新记录种。

**关键词:** 金环蛇; 环蛇属; 分布新记录; 贵州省

**中图分类号:** Q959 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2024) 06-955-06

## *Bungarus fasciatus* Found in Southwest Guizhou Province, China

LU Jing<sup>①</sup> ZHU Fei<sup>①</sup> SUN Ke<sup>①</sup> ZHANG He<sup>②</sup> ZHANG Ren-Yi<sup>①\*</sup>

① School of Life Sciences, Guizhou Normal University, Guiyang 550025;

② Guizhou Academy of Forestry, Guiyang 550025, China

**Abstract:** In July 2021, a snake specimen belonging to the genus *Bungarus* was collected from Zhexiang Town, Wangmo County, Guizhou Province (106°09'15" E, 24°59'36" N, altitude 485 m). After detailed morphological comparison and molecular systematic analysis, the specimen was identified as *B. fasciatus*, which is a new snake record in Guizhou Province, China. Morphologically, we mainly compared diagnosis characters and measurement data (Fig. 1). Phylogenetically, we constructed Bayesian inference (BI) and maximum likelihood (ML) phylogenetic trees based on mitochondrial Cyt *b* gene sequences. The ML and BI trees presented almost consistent topology, both showed that the new specimen from Guizhou was clustered with the *B. fasciatus* form Guangdong and Yunnan Provinces (0.99/96, BPP/BSP) (Fig. 2), and the genetic distance between them were from 0.2% to 0.9%.

**Key words:** *Bungarus fasciatus*; *Bungarus*; New record; Guizhou Province

环蛇属 (*Bungarus*), 隶属于眼镜蛇科 (Elapidae), 主要分布于中国南部、东南亚及

印度等地区, 多栖于丘陵或平原, 喜阴湿环境, 常见于河岸、鱼塘和水稻田埂的水域附近 (伍

**基金项目** 贵州师范大学学术新苗基金项目 (No. (2021) B03);

\* 通讯作者, E-mail: zhangrenyi@gznu.edu.cn;

**第一作者介绍** 陆静, 女, 硕士研究生; 研究方向: 蛇类系统进化; E-mail: lujing5678@qq.com.

收稿日期: 2023-12-26, 修回日期: 2024-04-14 DOI: 10.13859/j.cjz.202423241

律等 1985, 赵尔宓 2006, 杨大同等 2008, 魏刚等 2017)。目前, 该属已知有 16 个物种(Uetz et al. 2023), 其中中国记录有 4 个物种(赵尔宓 2006, 王凯等 2020, 黄松 2021)。贵州省境内现有记录的环蛇属物种包括银环蛇(*B. multicinctus*)和云南环蛇(*B. wanghaotingi*) (赵尔宓 2006, 魏刚等 2017, Xie et al. 2018, Chen et al. 2021)。

本课题组于 2021 年 7 月在贵州省黔东南布依族苗族自治州望谟县蔗香镇(106°09'15" E, 24°59'36" N, 海拔 485 m)公路边的排水沟内采集到环蛇属物种 1 个体。经形态特征比对和分子生物学分析, 鉴定为金环蛇(*B. fasciatus*)。该物种国内主要分布于云南、福建、广东、广西、海南、江西、香港和澳门(赵尔宓 2006), 本次发现的金环蛇为贵州蛇类分布新记录种。

## 1 研究方法

于贵州省望谟县蔗香镇采集到 1 号雄性成体, 拍摄照片后对其进行安乐死, 取肝组织置于 95%乙醇溶液中, -20 °C 保存; 蛇体标本经 10%甲醛溶液定型, 后浸泡于 80%乙醇溶液中室温保存。蛇体标本(标本号: GS0342)及组织样本均保存于贵州师范大学生命科学学院实验室。

### 1.1 形态测量

标本鉴别特征描述及形态测量主要参考赵尔宓等(1998)、赵尔宓(2006)、杨大同等(2008)。使用卷尺对标本头体长和尾长进行测量(精度 1 mm)。对 14 项计数指标进行统计, 包括环纹、鼻鳞、颊鳞、眶上鳞、眶前鳞、眶后鳞、前颞鳞、后颞鳞、上唇鳞、下唇鳞、颌片、背鳞、腹鳞和尾下鳞。

### 1.2 分子系统发育分析

使用标准苯酚/氯仿法提取肝组织总 DNA, 选择线粒体细胞色素 *b* (Cyt *b*) 基因片段为分子标记, 基因扩增引物: L14919(5'-AAC CAC CGT TGT TAT TCA ACT-3') 和 H16064

(5'-CTT TGG TTT ACA AGA ACA ATG CTT TA-3') (Burbrink et al. 2000)。PCR 反应条件: 95 °C 5 min; 95 °C 30 s, 52 °C 30 s, 72 °C 45 s, 35 个循环; 72 °C 10 min, 4 °C 保存。PCR 产物由生工生物工程(上海)股份有限公司进行双向测序。

使用 DNA Lasergene v15.1 (Burland 1999) 对序列进行拼接, 然后使用 MEGA v7.0 (Kumar et al. 2016) 的 Clustal W (Thompson et al. 2002) 对序列进行比对校正。从 NCBI GenBank 中下载环蛇属其余物种的 Cyt *b* 序列, 以眼镜王蛇(*Ophiophagus hannah*)、舟山眼镜蛇(*Naja atra*)和棕网腹链蛇(*Hebius johannis*)为外群, 各物种具体信息和登录号见附录 1。

基于赤池信息准则 (Akaike information criterion, AIC) 利用 PartitionFinder v2.1.1 (Lanfear et al. 2017) 计算并选择最适模型。使用 MrBayes v3.2.4 (Ronquist et al. 2012) 构建贝叶斯 (Bayesian inference, BI) 进化树, 每次 3 个独立运算, 每个运算包含 4 个链独立运算 1 000 万代, 每 1 000 代对树进行取样并舍弃起始 25% 的运算结果, 用贝叶斯后验概率 (Bayesian posterior probabilities, BPP) 代表节点支持率。使用 IQ-tree v2.0 (Minh et al. 2020) 构建最大似然 (maximum likelihood, ML) 树, 运行 1 000 代使用超快自展值重复抽样检验, 采用自展支持率 (bootstrap support, BSP) 代表分支置信度。最后, 使用 MEGA v7.0 (Kumar et al. 2016) 软件中的未校正距离模型 (uncorrected genetic distance, *p*-distance) 计算附录 1 中所列物种间的遗传距离。

## 2 结果

### 2.1 形态鉴定和描述

鉴别特征: 背脊明显隆起, 横切面三棱形; 背鳞光滑, 通身 15 行, 扩大呈六边形, 通身有金黄色和黑色相间的等宽环纹; 尾末端钝圆, 尾下鳞单行; 头背面黑色, 枕和颈背有一污黄色倒“V”形斑纹。

形态描述 (图 1): 标本为雄性成体, 体形中等偏大, 体长 1 060 mm, 尾长 110 mm。通身具有黄黑相间的环纹, 黄色环纹 24 + 3 个, 环纹中间出现黑色斑纹。头部椭圆形, 略宽于颈部; 吻端钝圆, 鼻孔较大。鼻鳞 2 枚; 无颊

鳞; 眶上鳞 1 枚, 眶前鳞 1 枚, 眶后鳞 1 枚; 前颞鳞 1 枚, 后颞鳞 2 枚; 上唇鳞 7 枚, 2-2-3 式, 下唇鳞 7/6 枚, 前 3 枚切前颌片, 前颌片 2 枚, 后颌片 2 枚; 背鳞通身 15 行、腹鳞 221 + 2 枚、肛鳞完整; 尾下鳞单行 33 枚。



图 1 贵州望谟采集的金环蛇 (GS0342)

Fig. 1 *Bungarus fasciatus* from Wangmo County, Guizhou Province (GS0342)

a. 整体背面观; b. 整体腹面观; c. 头右侧面观; d. 头左侧面观; e. 头背面观; f. 头腹面观。

a. Dorsal view of body; b. Ventral view of body; c. Right lateral view of head; d. Left lateral view of head; e. Dorsal view of head; f. Ventral view of head.

### 2.2 系统发育分析

利用 MEGA v7.0 对金环蛇测序序列进行比对, 得到长度为 1 107 bp 的 *Cyt b* 基因片段并上传至 GenBank (登录号: OR972670)。利用线粒体 *Cyt b* 基因片段构建的贝叶斯树和最大似然树显示一致的拓扑结构, 所有环蛇属物种形成一个单系群, 金环蛇与云南环蛇和银环蛇为姐妹种。本次采集的金环蛇标本与其余 6 个金环蛇聚在一起, 其中, 与广东和云南的金环蛇标本聚为一支 (BPP 为 0.99, BSP

为 96) (图 2)。基于 MEGA v7.0 软件计算的遗传距离显示, 本研究采集的金环蛇标本与国内金环蛇标本的遗传距离为 0.2% ~ 0.9%, 与印度的金环蛇地模标本遗传距离为 4.3% ~ 4.8%, 与环蛇属内不同物种间的遗传距离为 16.3% ~ 16.9%, 与近缘属物种间的遗传距离为 23.7% ~ 26.1%。系统发育关系和遗传距离分析结果均支持采自贵州省黔西南布依族苗族自治州望谟县蔗香镇的蛇类标本为金环蛇。

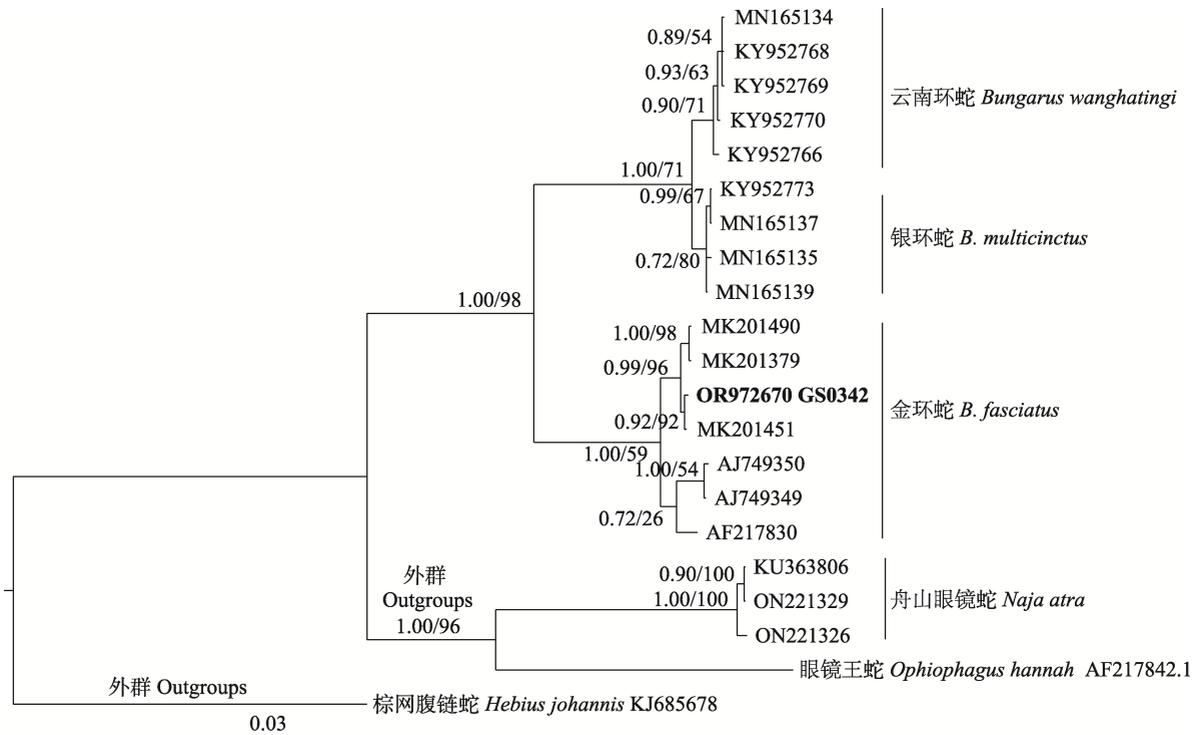


图 2 基于线粒体 *Cyt b* 序列构建的环蛇属系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree constructed based on the mitochondrial *Cyt b* sequences of genus *Bungarus*

节点附近的数字表示分支的贝叶斯后验概率值/最大似然法自展值 (BPP/BSP)。标尺代表 3% 遗传距离。加粗编号为本研究采集的标本。Numbers above each node indicate the Bayesian posterior probabilities/maximum likelihood bootstrap support value (BPP/BSP). The scale bar represents 3% genetic distance. The voucher number of specimens collected in this study are denoted as bold.

### 3 讨论

金环蛇是分布于热带及亚热带地区的一种剧毒蛇, 其模式标本产地为印度 (Russell

1796), 被《中国脊椎动物红色名录》(2016) 评定为濒危 (Endangered, EN) 等级。本次在贵州发现金环蛇使贵州省的环蛇属物种数从 2 种增加为 3 种, 采集的区域位于贵州省西南部,

处于贵州省和广西壮族自治区的结合部，同时与云南省记录的金环蛇分布地（云南省文山壮族苗族自治州富宁县）在地理位置上较为接近，在中国动物地理区划中同属于贵州高原省（张荣祖 2011）。该金环蛇标本为夜晚采集于路旁的排水沟内，这与之前所描述的喜阴湿环境以及夜行性行为基本吻合。本次在贵州省发现金环蛇扩大了对该物种分布范围的认知，为该物种的保护和动物地理学研究提供了支持。

**致谢** 感谢贵州师范大学学生冉一雄在标本采集及形态测量中提供的帮助。

## 参 考 文 献

- Burbrink F T, Lawson R, Slowinski J B. 2000. Mitochondrial DNA phylogeography of the polytypic North American rat snake (*Elaphe obsoleta*): a critique of the subspecies concept. *Evolution*, 54(6): 2107–2118.
- Burland T G. 1999. DNASTAR's lasergene sequence analysis software. *Bioinformatics Methods and Protocols*, 132(5): 71–91.
- Chen Z N, Shi S C, Vogel G, et al. 2021. Multiple lines of evidence reveal a new species of Krait (Squamata, Elapidae, *Bungarus*) from Southwestern China and Northern Myanmar. *ZooKeys*, 14(1025): 35–71.
- Kumar S, Stecher G, Tamura K. 2016. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33(7): 1870–1874.
- Lanfear R, Frandsen P B, Wright A M, et al. 2017. PartitionFinder 2: new methods for selecting partitioned models of evolution for molecular and morphological phylogenetic analyses. *Molecular Biology and Evolution*, 34(3): 772–773.
- Minh B Q, Schmidt H A, Chernomor O, et al. 2020. IQ-TREE 2: new models and efficient methods for phylogenetic inference in the genomic era. *Molecular Biology and Evolution*, 37(5): 1530–1534.
- Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, et al. 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, 61(3): 539–542.
- Russell P. 1796. *An Account of Indian Serpents, Collected on the Coast of Coromandel: Containing Descriptions and Drawings of Each Species; Together with Experiments and Remarks on Their Several Poisons*. London: W. Bulmer and Company.
- Thompson J D, Gibson T J, Higgins D G. 2002. Multiple sequence alignment using ClustalW and ClustalX. *Current Protocols in Bioinformatics*, Chapter 2: Unit 2.3.
- Uetz P, Freed P, Hošek J. 2023. The reptile database. [DB/OL]. [2023-12-03]. <http://www.reptile-database.org>.
- Xie Y L, Wang P, Zhong G H, et al. 2018. Molecular phylogeny found the distribution of *Bungarus candidus* in China (Squamata: Elapidae). *Zoological Systematics*, 43(1): 109–117.
- 黄松. 2021. 中国蛇类图鉴. 福州: 海峡书局, 240–244.
- 蒋志刚, 江建平, 王跃招, 等. 2016. 中国脊椎动物红色名录. 生物多样性, 24(5): 500–551.
- 王凯, 任金龙, 陈宏满, 等. 2020. 中国两栖、爬行动物更新名录. 生物多样性, 28(2): 189–218.
- 魏刚, 张维勇, 郭鹏. 2017. 梵净山两栖爬行动物. 贵阳: 贵州科技出版社, 287–288.
- 伍律, 李德俊, 刘积琛. 1985. 贵州爬行类志. 贵阳: 贵州人民出版社, 295–299.
- 杨大同, 饶定齐. 2008. 云南两栖爬行动物. 昆明: 云南科技出版社, 344–347.
- 张荣祖. 2011. 中国动物地理. 北京: 科学出版社, 207–212.
- 赵尔宓. 2006. 中国蛇类 (上). 合肥: 安徽科学技术出版社, 291–293.
- 赵尔宓, 黄美华, 宗愉. 1998. 中国动物志: 爬行纲 第三卷 有鳞目 蛇亚目. 北京: 科学出版社, 334–341.

附录 1 构建系统发育树使用的 *Cyt b* 序列信息Appendix 1 Information of *Cyt b* gene sequences used for constructing the phylogenetic tree

物种 Species	采集地 Collection locality	标本号 Voucher number	GenBank 登录号 GenBank accession number
金环蛇 <i>Bungarus fasciatus</i>	中国贵州望谟 (本研究) Wangmo, Guizhou, China (This study)	GS0324	OR972670
	中国广东内伶仃 Neilingding, Guangdong, China	CHS647	MK201451
	中国云南西双版纳 Xishuangbanna, Yunnan, China	CHS285	MK201379
	中国云南勐腊 Mengla, Yunnan, China	CHS727	MK201490
	印度尼西亚爪哇岛 Java, Indonesia	UK H9	AJ749349
	印度尼西亚爪哇岛 Java, Indonesia	UK B24	AJ749350
	缅甸伊洛瓦底 Ayeyarwadi, Myanmar	CAS 207988	AF217830
云南环蛇 <i>B. wanghaotingi</i>	中国贵州从江 Congjiang, Guizhou, China	GP 2387	KY952768
	中国广西苍梧 Cangwu, Guangxi, China	GP 4463	KY952769
	中国广西北流 Beiliu, Guangxi, China	CIB 104227	MN165134
	中国广西防城港 Fangchenggang, Guangxi, China	GP 3473	KY952770
	中国云南西双版纳 Xishuangbanna, Yunnan, China	GP 3375	KY952766
银环蛇 <i>B. multicinctus</i>	中国江西南丰 Nanfeng Jiangxi, China	GP 877	KY952773
	中国广西南宁 Nanning, Guangxi, China	CIB 104228	MN165137
	中国海南 Hainan, China	SYNU R180305	MN165135
	中国福建 Fujian, China	CIB DL18090210	MN165139
舟山眼镜蛇 <i>Naja atra</i>	中国安徽黄山 Huangshan, Anhui, China	HS15041	KU363806
	中国广东广州 Guangzhou, Guangdong, China	CIB CR430	ON221329
	中国浙江舟山岛 Zhoushandaο, Zhejiang, China	GXNU 2021070801	ON221326
眼镜王蛇 <i>Ophiophagus hannah</i>	缅甸伊洛瓦底江 Ayeyarwadi, Myanmar	CAS 206601	AF217842
棕网腹链蛇 <i>Hebius johannis</i>	中国云南 Yunnan, China	GP 1569	KJ685678