

福建省武夷山和梅花山远盲蚓属蚯蚓四新种及其与近缘物种的遗传关系

孙静^① 蒋际宝^② 冉雨晴^① 贺晓清^① 邱江平^{②*}

① 成都工业学院材料与工程工程学院 成都 611730; ② 上海交通大学农业与生物学院 上海 200240

摘要: 福建省武夷山和梅花山国家级自然保护区地处中亚热带季风常绿阔叶林气候区, 该区域物种多样性丰富, 然而土壤动物蚯蚓的物种多样性研究相对较少。通过形态分类学方法和 DNA 条形码技术, 本文报道在福建省武夷山和梅花山采集的巨蚓科 (Megascolecidae) 远盲蚓属 (*Amynthas*) 蚯蚓新物种 4 种: 表土远盲蚓 (*A. epigenus* Sun & Qiu, sp. nov.)、梅花山远盲蚓 (*A. meihuamontis* Sun & Qiu, sp. nov.)、苔藓远盲蚓 (*A. muscosus* Sun & Jiang, sp. nov.) 和腐土远盲蚓 (*A. humatalis* Sun & Jiang, sp. nov.)。这 4 个新物种在 Sims 等 (1972) 的物种群中属于 *A. sieboldi*-group, 其受精囊孔均位于 6/7 ~ 8/9 节间。所有新种附形态学描述、图片以及与相似物种的形态学比较和提交至 GenBank 的条形码登记号。此外还通过在 GenBank 上同源性搜索, 筛选出了与新物种亲缘关系较近的蚯蚓物种, 并对其进行了遗传距离计算和分子系统发育关系的梳理。以上结果将福建省武夷山和梅花山国家级自然保护区记录的蚯蚓物种数由 4 种增加至 8 种。

关键词: 蚯蚓; 远盲蚓属; 新物种; 福建

中图分类号: Q959.193 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263 (2022) 01-069-12

Four New *Amynthas* Earthworm Species from Wuyi Mountain and Meihua Mountain of Fujian Province and the Genetic Relationships with Their Relatives

SUN Jing^① JIANG Ji-Bao^② RAN Yu-Qing^① HE Xiao-Qing^① QIU Jiang-Ping^{②*}

① School of Materials and Environmental Engineering, Chengdu Technological University, Chengdu 611730;

② School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China

Abstract: [Objectives] The Wuyi Mountain and Meihua Mountain National Nature Reserves in Fujian Province are located in the mid-subtropical monsoon evergreen broad-leaved forest climate zone. This region has high species diversity. However, there are relatively few reports on the species diversity of soil animals

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 42077028), 成都工业学院博士基金项目 (No. 2019RC008), 中国国家科技基础资源调查项目 (No. 2018FY100300);

* 通讯作者, E-mail: jpq@sjtu.edu.cn;

第一作者介绍 孙静, 女, 博士; 研究方向: 蚯蚓分类、分子系统发育和遗传进化; E-mail: sun_jing.2005@aliyun.com。

收稿日期: 2021-05-13, 修回日期: 2021-11-12 DOI: 10.13859/j.cjz.202201007

(earthworms). We thus conducted an earthworm collection in the Wuyi Mountain and Meihua Mountain National Nature Reserves. **[Methods]** Morphological taxonomy methods and DNA barcode technology were used to identify the new species. The Bootstrap and P-distance methods were used to calculate the genetic distance between species, and the Bootstrap method and Jukes-Cantor model were used to construct molecular phylogenetic NJ trees in MEGA-X. **[Results]** Four new earthworm species belonging to the family Megascolecidae and genus *Amyntas* were found: *A. epigenus* Sun & Qiu, sp. nov., *A. meihuamontis* Sun & Qiu, sp. nov., *A. muscosus* Sun & Jiang, sp. nov. and *A. humatalis* Sun & Jiang, sp. nov (Fig. 1 - 4). These four new species belong to the *A. sieboldi*-group in the species group of Sims & Easton, and their spermatheca pores are located in 6/7 - 8/9. We provided morphological descriptions, pictures, morphological comparisons with similar species, and barcode accession numbers submitted to GenBank for all the new species. In addition, we also searched out earthworm species that are closely related to the new species through BLAST on GenBank (Table 1). The genetic distance calculations show that the genetic distance between new species and related species is greater than the interspecies genetic distance (usually less than 1%), and meets the range of intraspecies genetic distance (8.3% - 13.0%, and above), so they have at least species level Genetic difference (Table 2, 3). The molecular phylogenetic relationship rebuilding result shows that the positions of the four new species in the phylogenetic tree are different from those of other species, which further proves that the four species reported in this paper are new species (Fig. 5). **[Conclusion]** In summary, the morphological and genetic evidence suggests that *A. epigenus* Sun & Qiu, sp. nov., *A. meihuamontis* Sun & Qiu, sp. nov., *A. muscosus* Sun & Jiang, sp. nov. and *A. humatalis* Sun & Jiang, sp. nov are new species. The present report has made the number of earthworm species increase from 4 to 8 in Wuyishan and Meihuashan National Nature Reserves in Fujian Province.

Key words: Earthworm; *Amyntas*; New species; Fujian

远盲蚓属 (*Amyntas*) 蚯蚓隶属于寡毛纲 (Oligochaeta) 单向蚓目 (Haplotaxida) 巨蚓科 (Megascolecidae)。该属物种是东洋界的典型蚯蚓, 但在古北界某些狭窄地区也有少量分布 (徐芹 1996)。在我国已报道的 357 种陆栖蚯蚓中, 远盲蚓属物种约占 57%, 且主要分布在我国南方 (Xiao 2019)。

2005 年开始在对我国南方陆栖寡毛纲物种多样性系统调查后, 很多研究人员公开报道了采集于海南岛、四川、云南、贵州、广东、福建、广西等区域的 70 余个蚯蚓新物种 (Zhang et al. 2006, Sun et al. 2009, Zhao et al. 2013, Jiang et al. 2015, 2018, Sun et al. 2018, Yuan et al. 2019)。其中, 已发表的采集于福建梅花山的蚯蚓物种有 4 种/亚种, 三星远盲蚓常腺亚种 (*A. triastriatus usualis* Dong et al. 2020)、上杭

远盲蚓 (*A. shanghangensis* Sun & Qiu, 2018)、齿状远盲蚓 (*A. dentiformis* Sun & Jiang, 2018) 和三明腔蚓 (*Metaphire sanmingensis* Sun & Jiang, 2018), 福建武夷山新物种有三明腔蚓 (Sun et al. 2018, Dong et al. 2020)。此项系统的采集工作之前, 无其他学者报道福建梅花山和武夷山的蚯蚓物种。本文是继 Sun 等 (2018) 和 Dong 等 (2020) 后第三次报道福建梅花山和武夷山的蚯蚓新物种。

1 材料与方 法

1.1 材 料

研究使用挖掘法在福建省武夷山国家级自然保护区和梅花山国家级自然保护区采集蚯蚓标本。所有活体样本在实验室内使用 10% 的酒精溶液麻醉后, 用 95% 以上的无水乙醇固定,

保存在 4 °C 的样品柜中。研究采集获得蚯蚓标本 24 头,所有无水乙醇浸渍标本均保存于上海交通大学环境生态工程实验室蚯蚓标本库中。

1.2 物种形态学鉴定

本研究使用体视显微镜 Nikon SMZ800 观察标本,参照陈义(1956)和 Sims 等(1972)对远盲蚓属蚯蚓特征的表述,详细记录 30 项外部和内部特征,包括体长、体宽、体节数、体色、体环、背中线上、口前叶、背孔、环带、刚毛式、刚毛数、雄性生殖孔、雌性生殖孔、受精囊孔、生殖乳突、隔膜、砂囊、肠、盲肠、心、精巢囊、储精囊、前列腺、前列腺管、受精囊、坛囊、坛管、盲管、纳精囊以及副性腺。同时,绘制蚯蚓的重要形态特征图。排除采集到的物种为广布种后,对比中国及周边国家远盲蚓属蚯蚓的物种特征,进行样本鉴定。

1.3 DNA 提取、PCR 和测序

DNA 提取使用软体动物 DNA 提取试剂盒(E.Z.N.A.™ Mollusc DNA kit)。线粒体 COI 基因的 PCR 扩增使用通用引物 HCO2198 和 LCO1490 (Folmer et al. 1994)。PCR 扩增条件参考文献 Sun 等(2017)。PCR 产物交华大基因公司测序,测序仪器为 ABI3730DNA 分析仪,序列人工核查后提交到 GenBank。

1.4 遗传距离计算和分子系统发育分析

通过在 GenBank 中同源性搜索分别找到与 4 个新物种线粒体 COI 条形码相似度最高的 10 个物种(表 1),以其序列作为计算遗传距离和构建分子系统发育树的原始数据集。

序列比对使用 ClustalX2 (Thompson et al. 1997)。比对后的序列调整使用 BioEdit (Hall 1999)。COI 数据集的最适核苷酸替代模型选择、遗传距离(差异位点距离, P-distance)计算和系统发育邻接树构建均使用 MEGA-X (Sudhir et al. 2018)。

遗传 P 距离计算参数设置为: Variance Estimation Method 选择“Bootstrap method”、Bootstrap 500 次、核苷酸最适替代模型选择差异位点距离(P-distance)、Gaps Data Treatment

选择 Pairwise deletion。系统发育邻接树构建参数设置为: 检验方法选择“Bootstrap method”、Bootstrap 500 次、核苷酸替代模型选择“Jukes-Cantor model”、Rates among Sites 选择“Gamma Distributed”、Gamma Parameter 根据 MEGA-X 中的模型计算结果设置为 0.50、Gaps Data Treatment 选择 Pairwise deletion、Select Codon Positions 选择 1st + 2nd + 3rd。

根据属种的分类学地位,在邻接树中指定率直洋蚓 [*Pontodrilus litoralis* (Grube, 1855)] 为环毛类 *Amyntas* 和 *Metaphire* 属物种的外群,在此处设置树根。

2 结果与讨论

2.1 形态描述

2.1.1 表土远盲蚓 (*Amyntas epigenus* Sun & Qiu, sp. nov.) (图 1)

正模: FJ201108-05A, 1 条标本, 成体, 于 2011 年 10 月 12 日采于福建省武夷山国家级自然保护区大竹岗石山水沟旁褐壤中表土层, 采样点主要植物为竹子和杉木, 海拔 997 m, 27°42'53" N, 117°39'15" E, 属中亚热带季风常绿阔叶林气候区, 年均降水量 1 500 mm。标本采集人: 孙静、蒋际宝、冯海玮、雷先德。

副模: FJ201108-05B, 4 条标本, 成体, 采集时间和地点及采集人同正模。词源: 本新种喜生活于表土层中, 以其生境特征命名。

描述

外部特征: 体长 83 mm, 环带宽 4.5 mm, 体节数 65 节。背侧黑色, 腹侧浅土黄色, 周身无体环, 背中线上清晰。口前叶 1/2 上叶式。背孔起于 11/12。环带棕色, 位于 XIV ~ XVI 节, 指环状, 光滑, 隆起, 其上无背孔和刚毛。刚毛环生, aa = 1.2ab (刚毛自腹中线向两侧依次记述为 a、b、c、d), zz = 1.5zy (刚毛自背中线向两侧依次记述为 z、y、x、w)。刚毛数: 19/III, 23/V, 50/VIII, 52/XX, 54/XXV, 雄孔间 13 (XVIII)。雄性生殖孔 1 对, 位于 XVIII 节腹侧两边, 各在一垫状凸起上, 呈圆形, 雄

表 1 GenBank 中与新物种 COI 基因序列最相似的 10 个物种

Table 1 Ten species that are most genetically similar to the new species sorted with GenBank

主题物种代码 Subject species code	10 个最相似物种 Similar species (10 with highest percent similarity)	登录号 Accession number	相似度 Percent similarity (%)	覆盖范围 Query coverage (%)
表土远盲蚓 <i>A_epigenus_</i> KF205422	缺失远盲蚓 <i>Amyntas zonarius</i> Sun & Qiu, 2015	JQ982486.1	86.35	99
	无色远盲蚓 <i>A. stricosus</i> Qiu & Sun, 2012	JX315345.1	86.05	99
	珠串远盲蚓 <i>A. moniliatus moniliatus</i> (Chen, 1946)	KF179571.1	85.67	99
	湖北远盲蚓 <i>A. hupeiensis</i> (Michaelsen, 1895)	KF205454.1	85.71	98
	五虎山远盲蚓 <i>A. wuhumontis</i> Shen, Chang, Li, Chih & Chen, 2013	JQ936598.1	86.30	96
	泰雅远盲蚓 <i>A. tayalis</i> Tsai, Shen & Tsai, 1999	AY962185.1	92.15	78
	皮质远盲蚓 <i>A. corticis</i> (Kinberg, 1867)	MH837672.1	85.19	99
	抽头远盲蚓 <i>A. tappensis</i> (Ohfuchi, 1935)	AB542541.1	86.66	93
	吉里远盲蚓 <i>A. jiriensis</i> (Song & Paik, 1971)	KT783537.1	84.93	99
	胆囊腔蚓 <i>Metaphire vesiculata</i> (Goto & Hatai, 1899)	AB542689.1	86.77	93
梅花山远盲蚓 <i>A_meihuamontis_</i> KF205428	无色远盲蚓 <i>A. stricosus</i> Qiu & Sun, 2012	JX315345.1	86.64	99
	缺失远盲蚓 <i>A. zonarius</i> Sun & Qiu, 2015	JQ982486.1	86.05	99
	五虎山远盲蚓 <i>A. wuhumontis</i> Shen, Chang, Li, Chih & Chen, 2013	JQ936598.1	86.83	95
	曲管远盲蚓 <i>A. tortuosus</i> Qiu & Dong, 2019	MK606425.1	85.93	98
	珠串远盲蚓 <i>A. moniliatus moniliatus</i> (Chen, 1946)	KF179571.1	85.61	98
	简洁远盲蚓 <i>A. gracilis</i> (Kinberg, 1867)	MH887432.1	85.44	99
	皮质远盲蚓 <i>A. corticis</i> (Kinberg, 1867)	MH837672.1	84.71	99
	湖北远盲蚓 <i>A. hupeiensis</i> (Michaelsen, 1895)	KF205454.1	84.58	99
	张氏远盲蚓 <i>A. zhangii</i> Qiu & Sun, 2009	JX073676.1	84.76	98
	背管腔蚓 <i>M. tecta</i> (Chen, 1946)	KT252966.1	84.88	99
苔藓远盲蚓 <i>A_muscus_</i> KF205438	兜帽远盲蚓 <i>A. cucullatus</i> Hong & James, 2009	KT429012.1	88.20	100
	指状远盲蚓 <i>A. dactylicus</i> (Chen, 1946)	KF179575.1	85.76	99
	张氏远盲蚓 <i>A. zhangii</i> Qiu & Sun, 2009	JX073676.1	85.57	99
	葡萄远盲蚓 <i>A. uvaglandularis</i> Shen, Tsai & Tsai, 2003	MK251493.1	85.84	96
	对联远盲蚓 <i>A. distichus</i> (Ishizuka, 2000)	AB542470.1	86.66	93
	无色远盲蚓 <i>A. stricosus</i> Qiu & Sun, 2012	JX315345.1	85.16	99
	红叶远盲蚓 <i>A. hongyehensis</i> Tsai & Shen, 2010	JX290422.1	85.71	97
	皮质远盲蚓 <i>A. corticis</i> (Kinberg, 1867)	MH837672.1	85.04	99
	吉里远盲蚓 <i>A. jiriensis</i> (Song & Paik, 1971)	KT783537.1	84.81	100
	栉盲远盲蚓 <i>A. pectiniferus</i> (Michaelsen, 1931)	KT429018.1	84.66	100
腐土远盲蚓 <i>A_humatalis_</i> KF205417	张氏远盲蚓 <i>A. zhangii</i> Qiu & Sun, 2009	JX073676.1	85.39	98
	珠串远盲蚓 <i>A. moniliatus moniliatus</i> (Chen, 1946)	KF179571.1	84.81	100
	无色远盲蚓 <i>A. stricosus</i> Qiu & Sun, 2012	JX315345.1	85.01	99
	太武山远盲蚓 <i>A. taiwumontis</i> Shen, Chang, Li, Chih & Chen, 2013	KC897067.1	85.56	97
	皮质远盲蚓 <i>A. corticis</i> (Kinberg, 1867)	MH837672.1	84.12	99
	红叶远盲蚓 <i>A. hongyehensis</i> Tsai & Shen, 2010	JX290422.1	85.12	96
	曲管远盲蚓 <i>A. tortuosus</i> Qiu & Dong, 2019	MK606425.1	83.78	99
	变数远盲蚓 <i>A. mutabilis</i> Shen, 2012	JX290412.1	84.53	96
	缅甸腔蚓 <i>M. birmanica</i> (Rosa, 1888)	KU565263.1	84.24	97
	率直洋蚓 <i>Pontodrilus litoralis</i> (Grube, 1855)	LC018729.1	84.93	96

主题物种代码前半部分指代物种名，后半部分指代该物种 COI 基因序列 DNA 条形码在 GenBank 中的登录号。

The first half of the subject species code refers to the species name, and the second half refers to the accession number of the species' DNA barcode in GenBank.

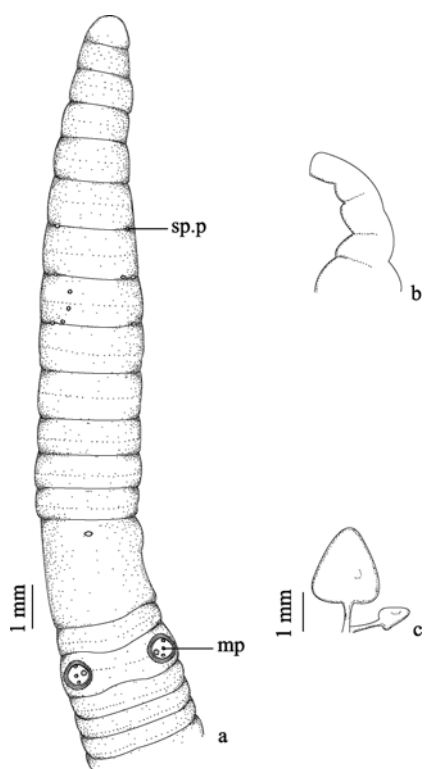


图 1 表土远盲蚓, 正模

Fig. 1 *Amynthus epigenus* Sun & Qiu, sp. nov., holotype

a. 腹面; b. 盲肠; c. 受精囊。

a. Ventral view; b. Intestinal caecum; c. Spermathecae.

sp.p. 受精囊孔; mp. 雄孔 sp.p. Spermathecal pores; mp. Male pores

孔上下各有一个小乳突, 内侧有一个较大乳突, 雄孔和 3 个乳突共同被 3 圈皮褶包围, 雄孔间距 $1/3$ 节周长 (图 1a)。雌性生殖孔 1 个, 位于 XIV 节腹侧中央, 圆形, 乳白色。受精囊孔 3 对, 位于 $6/7 \sim 8/9$ 节间, 眼状, 孔间距约为 $1/3$ 节周长, 左受精囊孔内侧第 VIII 节有 3 个不规则排布的小乳突, 右受精囊孔内侧第 VII 节有 1 个小乳突。

内部解剖: 隔膜 $5/6 \sim 7/8$ 厚, 肌肉质, $10/11 \sim 12/13$ 较厚, $8/9$ 和 $9/10$ 缺。砂囊桶状, 位于 IX ~ X 节。肠自 XV 节开始逐渐膨大。盲肠介于单式和复式之间, 起于 XXVII 节, 向前伸至 XXII 节, 背缘光滑, 腹缘有 4 个缺刻 (图 1b)。XV 节以后血管环清晰。心 4 对, 位于 X ~ XIII,

后 3 对发达, 在背侧连于食道上血管, 第 1 对细长, 连于背血管。精巢囊 2 对, 位于 X、XI 节, 第 2 对较发达, 左右叶在腹部均相连。储精囊 2 对, 位于 XI、XII 节, 左右叶在腹侧均相连。前列腺 1 对, 发达, 位于 XV ~ XXII, 厚, 块状分叶, 前列腺管“U”形。受精囊 3 对, 位于 VII ~ IX 节内, 主体长 3.0 mm, 坛囊心形, 坛管约为坛囊的 $1/2$ 长, 盲管长约 1.6 mm, 末端 $1/2$ 膨大为纳精囊, 第 3 对受精囊比前两对发达 (图 1c)。

DNA 条形码: GenBank 登录号 KF205422 (FJ201108-05A, 正模)。

评论: Sims 等 (1972) 建立的分类系统和依据受精囊孔位置和对数等重要特征命名的物种群目前被广泛应用于巨蚓科蚯蚓分类中。表土远盲蚓在 Sims 等 (1972) 的物种群中属于 *Amynthus sieboldi*-group, 该物种群的主要特征是受精囊孔位于 $6/7 \sim 8/9$ 节间。

新种与分布于贵州梵净山、四川峨眉山和湖北的物种指状远盲蚓 [*A. dactylicus* (Chen, 1946)] 相似, 均有 3 对受精囊孔, 位于 $6/7 \sim 8/9$, 环带占据完整的 3 节且光滑无刚毛, 雄孔间距均为 $1/3$ 节周长, 且周围均分布有乳突, 此外, 受精囊及其盲管形态相似 (徐芹等 2011)。但新种体型略大, 刚毛更密集, 第一背孔位于 $11/12$, 受精囊孔间距为 $1/3$ 节周长, 雄孔区 3 个小乳突均紧邻雄孔, 盲肠介于单式和复式之间, 而指状远盲蚓体型较新种小, 刚毛较新种稀疏, 第一背孔位于 $4/5$, 受精囊孔间距约占 $1/2$ 节周长, 雄孔腹中央有较大的乳突, 盲肠单式 (Chen 1946)。

2.1.2 梅花山远盲蚓 (*Amynthus meihuamontis* Sun & Qiu, sp. nov.) (图 2)

正模: FJ201110-01A, 1 条标本, 成体, 于 2011 年 7 月 13 日采于福建省梅花山国家级自然保护区桂和村黄褐壤中, 采样点主要植物为蕨类, 海拔 1 205 m, $25^{\circ}20'15''$ N, $116^{\circ}51'01''$ E, 属中亚热带季风常绿阔叶林气候区, 年均降水

量 1 500 mm。标本采集人：蒋际宝、孙静、雷先德、冯海玮。

副模：FJ201110-01B，14 条标本，成体，FJ201110-04，1 条标本，成体，采集时间和地点及采集人同正模。

词源：本新种以其模式标本产地（梅花山国家级自然保护区）命名。

描述

外部特征：体长 111 mm，环带宽 5.6 mm，体节数 107 节。背部深褐色，腹部浅褐色，周身体环，背中line清晰。口前叶 1/2 上叶式。背孔起于 11/12。环带棕色，位于 XIV ~ XVI 节，指环状，光滑，背侧节间沟处紫褐色，其上无刚毛和背孔。刚毛环生， $aa = 1.2ab$ ， $zz = 2zy$ 。刚毛数：20/III，19/V，37/VIII，42/XX，42/XXV，受精囊孔间 12 (VIII)，雄孔间 8 (XVIII)。雄性生殖孔 1 对，位于 XVIII 节腹侧两边，各在一垫状凸起上，周围各有 3 个乳突，被 3 圈皮褶包围，雄孔间距 1/3 节周长，第 XIX 节有 2 个乳突，第 XX 节有 1 个乳突，这 3 个乳突呈纵向排列（图 2a）。雌性生殖孔 1 个，位于 XIV 节腹侧中央，乳白色，卵圆形。受精囊孔 3 对，位于 6/7 ~ 8/9 节间，眼状，孔间距 1/3 节周长，每个受精囊孔内侧各有一个小乳突，此外，第 VII、VIII 节分别有 1 和 2 个小乳突。

内部解剖：隔膜 5/6 ~ 7/8 厚，肌肉质，10/11 ~ 12/13 较厚，8/9 和 9/10 缺。砂囊桶状，位于 IX ~ X 节。肠自 XV 节开始逐渐膨大。盲肠单式，指状，起于 XXVII 节，向前伸至 XXIII 节，背腹缘均较光滑（图 2b）。XV 节以后血管环清晰。心 4 对，位于 X ~ XIII，后 3 对发达，在背侧连于食道血管，第 1 对细长，连于背血管。精巢囊 2 对，位于 X、XI，第 1 对较第 2 对明显，左右叶在腹侧均相连。储精囊 2 对，位于 XI、XII 节，左右叶在腹侧均相连。前列腺 1 对，发达，位于 XVI ~ XX，厚，块状分叶，前列腺管“一”形。受精囊 3 对，位于 VII ~ IX 节内，长约 4 mm，坛囊心形，坛管约为坛囊

的 2/3 长，盲管长约 2.0 mm，末端 1/5 膨大为球形纳精囊（图 2c）。

DNA 条形码：GenBank 登录号 KF205428 (FJ201110-01A，正模)。

评论：梅花山远盲蚓在 Sims 等 (1972) 的物种群中属于 *A. sieboldi*-group。该种与陈义 1936 年采于重庆的物种重庆远盲蚓 [*A. chungkingensis* (Chen, 1936)] 形态学特征较相似。重庆远盲蚓起初物种名为秉氏远盲蚓重庆亚种 [*A. pingi chungkingensis* (Chen, 1936)]，因为秉氏远盲蚓指名亚种 [*A. pingi pingi* (Stephenson, 1925)] 被鉴定为多肉远盲蚓 [*A. carnosus carnosus* (Goto & Hatai, 1899)] 的同物异名，所以将秉氏远盲蚓重庆亚种从亚

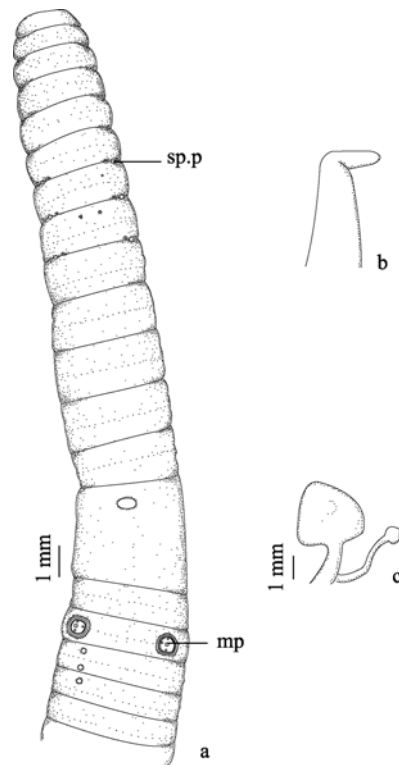


图 2 梅花山远盲蚓，正模

Fig. 2 *Amynthes meihuamontis* Sun & Qiu, sp. nov., holotype

a. 腹面; b. 盲肠; c. 受精囊。

a. Ventral view; b. Intestinal cecum; c. Spermathecae.

sp.p. 受精囊孔; mp. 雄孔 sp.p. Spermathecal pores; mp. Male pores

种提升为种，更名为重庆远盲蚓。新种和重庆远盲蚓的受精囊孔对数和位置、受精囊孔间距、刚毛密度、前列腺发达程度、以及受精囊位置均相同。但在个体大小、第一背孔位置、刚毛形态特征和雄孔区乳突特征上具有差异。新种个体更小，第一背孔位于 11/12，前端腹部刚毛不粗大，而重庆远盲蚓个体较新种大，第一背孔位于 12/13，第 III ~ VIII 节腹侧刚毛粗大。此外重庆远盲蚓雄孔和受精囊孔乳突较大且每孔附近仅 1 个 (Chen 1936)，而新种雄孔和受精囊孔附近均多小乳突。

2.1.3 苔藓远盲蚓 (*Amyntas muscosus* Sun & Jiang, sp. nov.) (图 3)

正模：FJ201111-05A，1 条标本，成体，于 2011 年 7 月 13 日采于福建省梅花山国家级自然保护区梨岭村石山脚下黑褐壤中，采样点主要植物为蕨类和苔藓，海拔 946 m，25°18'46" N，116°53'35" E，属中亚热带季风常绿阔叶林气候区，年均降水量 1 500 mm。标本采集人：孙静、蒋际宝、雷先德、冯海玮。

副模：FJ201111-05B，1 条标本，成体，采集时间和地点及采集人同正模。词源：本新种生境中多苔藓，以其生境特征命名。

描述

外部特征：体长 113 mm，环带宽 4.1 mm，体节数 117 节。身体背部环带以前褐色，环带以后浅褐色，腹部环带以前浅褐色，环带以后无色素，第 VIII ~ XII 节和 XVIII 节有体环，背中线清晰可见。口前叶 1/2 上叶式。背孔起于 12/13。环带灰褐色，位于 XIV ~ XVI 节，指环状，光滑，隆起，其上无刚毛和背孔。刚毛环生，分布不均匀， $aa = 1.2ab$ ， $zz = 1.2zy$ 。刚毛数：19/III，23/V，24/VIII，44/XX，33/XXV，受精囊孔间 6 (VII)，雄孔间 6 (XVIII)。雄性生殖孔 1 对，位于 XVIII 节腹侧两边，各在一垫状凸起上，顶部圆形，周围有 1 圈皮褶包围，雄孔间距 1/3 节周长 (图 3a)。雌性生殖孔 1 个，位于 XIV 节腹侧中央，乳白色，卵圆形。

受精囊孔 3 对，位于 6/7 ~ 8/9 节间，眼状，孔间距 1/3 节周长。

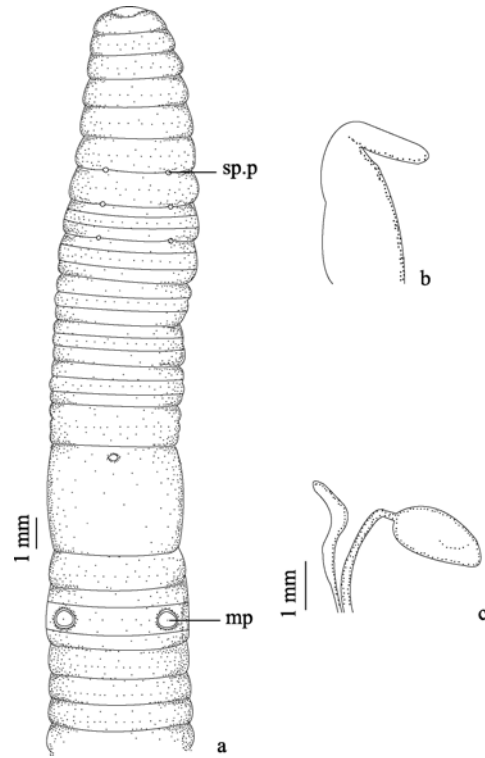


图 3 苔藓远盲蚓，正模

Fig. 3 *Amyntas muscosus* Sun & Jiang, sp. nov., holotype

a. 腹面; b. 盲肠; c. 受精囊。a. Ventral view; b. Intestinal caecum; c. Spermathecae.

sp.p. 受精囊孔; mp. 雄孔 sp.p. Spermathecal pores; mp. Male pores

内部解剖：隔膜 5/6 ~ 7/8 厚，肌肉质，10/11 ~ 11/12 较厚，8/9 和 9/10 缺。砂囊长桶状，位于 IX ~ X 节。肠自 XIII 节开始逐渐膨大。盲肠单式，指状，起于 XXVII 节，向前伸至 XXIV 节，背腹缘均较光滑 (图 3b)。XIV 节以后血管环清晰。心 4 对，位于 X ~ XIII，均充血，后 3 对发达，在背侧连于食道上血管，第 1 对细长，连于背血管。精巢囊 2 对，位于 X、XI，第 1 对较第 2 对发达，左右叶在腹侧均相连。储精囊 2 对，位于 XI、XII 节，第 1 对较第 2

对发达，左右叶在腹侧均相连。前列腺 1 对，发达，位于 XIV ~ XXIII，厚，块状分叶，前列腺管“U”形。受精囊 3 对，位于 VII ~ IX 节内，长约 3.8 mm，坛囊卵圆形或心形，坛管与坛囊等长，第 3 对受精囊的盲管不可见，前两对受精囊的盲管长约 2.0 mm，末端 2/3 逐渐膨大为纳精囊（图 3c）。

DNA 条形码：GenBank 登录号 KF205438 (FJ201111-05A, 正模)。

评论：苔藓远盲蚓在 Sims 等（1972）的物种群中属于 *A. sieboldi*-group。该种与分布于重庆北碚缙云山和四川峨眉山的物种缙云远盲蚓 [*A. nubilus* (Chen, 1946)] 形态上较为相似，其受精囊孔均为 3 对，位于 6/7 ~ 8/9 节间，刚毛均较稀疏，体色均较深，环带均占据完整的 3 节，且光滑无刚毛，雄孔间距均为 1/3 节周长，盲肠均为单式，受精囊盲管偶见退化（徐芹等 2011）。但新种第一背孔起于 12/13，雄孔区和受精囊孔区均无乳突，前列腺发达，受精囊和前列腺区均无副性腺，而缙云远盲蚓第一背孔起于 11/12，雄孔区和受精囊孔区多小乳突，前列腺残遗或极度退化，受精囊和前列腺区均具副性腺（Chen 1946）。

2.1.4 腐土远盲蚓 (*Amyntas humatalis* Sun & Jiang, sp. nov.) (图 4)

正模：FJ201104-01, 1 条标本，成体，于 2011 年 7 月 10 日采于福建省武夷山国家级自然保护区龙川大峡谷兰花谷岩石上枯枝落叶下褐壤中，多腐殖质，采样点主要植物为香樟和低矮灌木，海拔 424 m, 27°40'32" N, 117°47'34" E, 属中亚热带季风常绿阔叶林气候区，年均降水量 1 500 mm。标本采集人：孙静、蒋际宝、冯海玮、雷先德。

词源：本新种采自于岩石上的腐殖土中，以其小生境命名。

描述

外部特征：体长 63 mm，环带宽 4.2 mm，体节数 131 节。第 IX 节以前无色素，第 X 节

后从褐色逐渐过渡到浅褐色，周身为体环，背中线清晰可见。口前叶 1/2 上叶式。背孔起于 12/13。环带乳白色，位于 XIV~XVI 节，指环状，节间沟清晰，每个节间沟处都有背孔，且各节均有刚毛。刚毛环生，aa = ab, zz = zy。刚毛数：24/III, 46/V, 46/VIII, 66/XX, 58/XXV, 受精囊孔间 14 (VII), 雄孔间 11 (XVIII)。雌性生殖孔 1 对，位于 XVIII 节腹侧两边，各在一垫状凸起上，呈圆形，周围 3 ~ 4 圈皮褶包围，雄孔间距 1/3 节周长，左侧雄孔上方有一锥状凸起，下方有一平顶乳突（图 4a）。雌性生殖孔 1 个，位于 XIV 节腹侧中央，圆形，乳白色。受精囊孔 3 对，位于 6/7 ~ 8/9 节间，向外

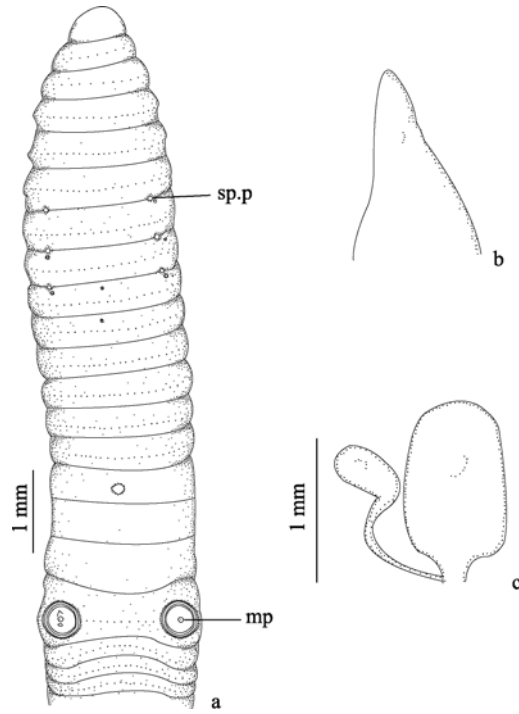


图 4 腐土远盲蚓，正模

Fig. 4 *Amyntas humatalis* Sun & Jiang, sp. nov., holotype

a. 腹面; b. 盲肠; c. 受精囊。

a. Ventral view; b. Intestinal cecum; c. Spermathecae.

sp.p. 受精囊孔; mp. 雄孔 sp.p. Spermathecal pores; mp. Male pores

突出, 孔间距约为 1/3 节周长, 受精囊孔下方有小乳突, 第 IX、X 节腹中线处各有 1 个小乳突。

内部解剖: 隔膜 5/6 ~ 7/8 厚, 肌肉质, 10/11 ~ 11/12 较厚, 8/9 和 9/10 缺。砂囊桶状, 位于 IX ~ X 节。肠自 XV 节开始逐渐膨大。盲肠单式, 指状, 起于 XXVII 节, 向前伸至 XXI 节, 背腹缘均较光滑 (图 4b)。XV 节以后血管环清晰。心 4 对, 位于 X ~ XIII, 后 3 对发达, 在背侧连于食道血管, 第 1 对细长, 连于背血管。精巢囊不易查见。储精囊 2 对, 较小, 将精巢囊共同包被于一膜质囊中, 位于 XI、XII 节, 第 1 对较第 2 对发达, 左右叶在腹侧均相连。前列腺 1 对, 较发达, 位于 XVI ~ XX, 厚, 块状分叶。受精囊 3 对, 位于 VII ~ IX 节内, 长 1.2 mm, 坛囊长卵圆形, 坛管粗短, 盲管长约 0.8 mm, 末端 1/3 膨大为纳精囊 (图 4c)。

DNA 条形码: GenBank 登录号 KF205417 (FJ201104-01, 正模)。

评论: 腐土远盲蚓 (*Amyntas humatalis* Sun & Jiang, sp. nov.) 在 Sims 等 (1972) 的物种群中属于 *A. sieboldi*-group。该种与分布于安徽黄山和四川峨眉山的物种连蕊远盲蚓 [*A. loti* (Chen & Hsu, 1975)] 形态特征比较相似, 受精囊孔 3 对, 位于 6/7 ~ 8/9 节间, 盲肠均为单式 (徐芹等 2011)。但新种体型更大, 刚毛更密集, 第 1 背孔位于 12/13, 雄孔周围有乳突, 受精囊孔间距约 1/3 节周长, 且受精囊孔区乳突分布于 IX、X 节腹中线处, 前列腺较发达, 受精囊坛管粗短, 盲管相对较长, 受精囊孔区无副性腺, 而连蕊远盲蚓 (*A. loti*) 体形较新种小, 刚毛较稀疏, 第 1 背孔位于 10/11, 雄孔周围无乳突, 受精囊孔间距略小于 1/2 节周长, 且受精囊孔区乳突成对分布于 VII、VIII 节腹中央, 前列腺退化至仅剩前列腺管, 受精囊坛管较长, 盲管相对较短, 受精囊孔区有副性腺 (陈义 1975)。

2.2 遗传距离和分子系统发育关系

在 GenBank 中查找与本文每个新物种 *COI* 基因序列最相似的 10 个物种 (表 1), 在 MEGA-X 中计算新物种与 10 个近缘物种线粒体 *COI* 基因的遗传距离。表土远盲蚓与其近缘物种的 P 距离为 0.079 ~ 0.154, 梅花山远盲蚓与 10 个近缘物种的 P 距离为 0.130 ~ 0.159, 苔藓远盲蚓与其近缘物种的 P 距离为 0.113 ~ 0.156, 腐土远盲蚓与 10 个近缘物种的 P 距离为 0.144 ~ 0.167 (表 2)。本文报道的 4 个新物种之间的 P 距离为 0.119 ~ 0.170 (表 3)。以上遗传距离值均大于蚯蚓种内遗传距离 (通常小于 1%), 基本满足物种间遗传距离的范围 (8.3% ~ 13.0%, 及以上) (Huang et al. 2007, Chang et al. 2011)。说明各新物种间及新物种与其他已报道近缘蚯蚓物种间至少具有种级阶元水平的遗传差异。

用于系统发育分析的数据集为 28 个物种 *COI* 基因的 630 bp 有效序列长度。数据集中率直洋蚓属于棘蚓科 (Acanthodrilidae) 洋蚓属 (*Pontodrilus*), 分类地位与巨蚓科 (Megascolecidae) 蚯蚓距离较远, 在其分支处指定树根, 作为外群物种, 使用邻接法 (neighbor joining, NJ) 构建系统发育树 (图 5)。4 个新物种在系统发育树中的位置明显区别于其他物种, 进一步证明本文报道的 4 个物种与其近缘物种为不同的物种。使用仅有 630 bp 长度的 *COI* 基因 DNA 序列构建系统发育树, 得到的邻接树上大部分节点的自展支持率小于 50%, 意味着此节点处的分支顺序还不确定, 这可能是由于有限长度的 DNA 序列提供的系统发育信号太弱, 使用大于 2 000 bp 的多基因串联序列可以更好地反应系统发育关系 (Chang et al. 2011)。然而本文重点在于求证新物种是否能得到分子上的支持, 物种间的系统发育关系则需要更多的基因序列提供 stronger 的系统发育信号方可更好解决。

表 2 远盲蚓属新物种与近缘物种间的遗传距离

Table 2 Estimates of evolutionary divergence of P-distance between new *Amyntas* species and ten related species

新物种 New species	近缘物种 Related species	
	物种名 Species name	P-距离 P-distance
表土远盲蚓 <i>A. epigenus</i> sp. nov.	缺失远盲蚓 <i>A. zonarius</i>	0.138
	无色远盲蚓 <i>A. stricosus</i>	0.137
	珠串远盲蚓 <i>A. moniliatus moniliatus</i>	0.148
	湖北远盲蚓 <i>A. hupeiensis</i>	0.143
	五虎山远盲蚓 <i>A. wuhumontis</i>	0.137
	泰雅远盲蚓 <i>A. tayalis</i>	0.079
	皮质远盲蚓 <i>A. corticis</i>	0.154
	抽头远盲蚓 <i>A. tappensis</i>	0.133
	吉里远盲蚓 <i>A. jiriensis</i>	0.151
梅花山远盲蚓 <i>A. meihuamontis</i> sp. nov.	无色远盲蚓 <i>A. stricosus</i>	0.137
	缺失远盲蚓 <i>A. zonarius</i>	0.141
	五虎山远盲蚓 <i>A. wuhumontis</i>	0.130
	曲管远盲蚓 <i>A. tortuosus</i>	0.141
	珠串远盲蚓 <i>A. moniliatus moniliatus</i>	0.149
	简洁远盲蚓 <i>A. gracilis</i>	0.148
	皮质远盲蚓 <i>A. corticis</i>	0.159
	湖北远盲蚓 <i>A. hupeiensis</i>	0.156
	张氏远盲蚓 <i>A. zhangii</i>	0.152
背管腔蚓 <i>Metaphire tecta</i>	0.154	
苔藓远盲蚓 <i>A. muscosus</i> sp. nov.	兜帽远盲蚓 <i>A. cucullatus</i>	0.113
	指状远盲蚓 <i>A. dactylicus</i>	0.146
	张氏远盲蚓 <i>A. zhangii</i>	0.148
	葡萄远盲蚓 <i>A. uvaglandularis</i>	0.141
	对联远盲蚓 <i>A. distichus</i>	0.132
	无色远盲蚓 <i>A. stricosus</i>	0.149
	红叶远盲蚓 <i>A. hongyehensis</i>	0.143
	皮质远盲蚓 <i>A. corticis</i>	0.156
	吉里远盲蚓 <i>A. jiriensis</i>	0.154
栉盲远盲蚓 <i>A. pectiniferus</i>	0.156	
腐土远盲蚓 <i>A. humatalis</i> sp. nov.	张氏远盲蚓 <i>A. zhangii</i>	0.154
	珠串远盲蚓 <i>A. moniliatus moniliatus</i>	0.152
	无色远盲蚓 <i>A. stricosus</i>	0.148
	太武山远盲蚓 <i>A. taiwumontis</i>	0.144
	皮质远盲蚓 <i>A. corticis</i>	0.162
	红叶远盲蚓 <i>A. hongyehensis</i>	0.157
	曲管远盲蚓 <i>A. tortuosus</i>	0.167
	变数远盲蚓 <i>A. mutabilitas</i>	0.160
	缅甸腔蚓 <i>M. birmanica</i>	0.162
率直洋蚓 <i>Pontodrilus litoralis</i>	0.152	

表 3 远盲蚓属 4 个新物种间的遗传距离

Table 3 Estimates of evolutionary divergence of P-distance among four new *Amyntas* species

	表土远盲蚓 <i>A. epigenus</i> sp. nov.	梅花山远盲蚓 <i>A. meihuamontis</i> sp. nov.	苔藓远盲蚓 <i>A. muscosus</i> sp. nov.	腐土远盲蚓 <i>A. humatalis</i> sp. nov.
表土远盲蚓 <i>A. epigenus</i> sp. nov.	0.000			
梅花山远盲蚓 <i>A. meihuamontis</i> sp. nov.	0.119	0.000		
苔藓远盲蚓 <i>A. muscosus</i> sp. nov.	0.159	0.168	0.000	
腐土远盲蚓 <i>A. humatalis</i> sp. nov.	0.162	0.168	0.170	0.000

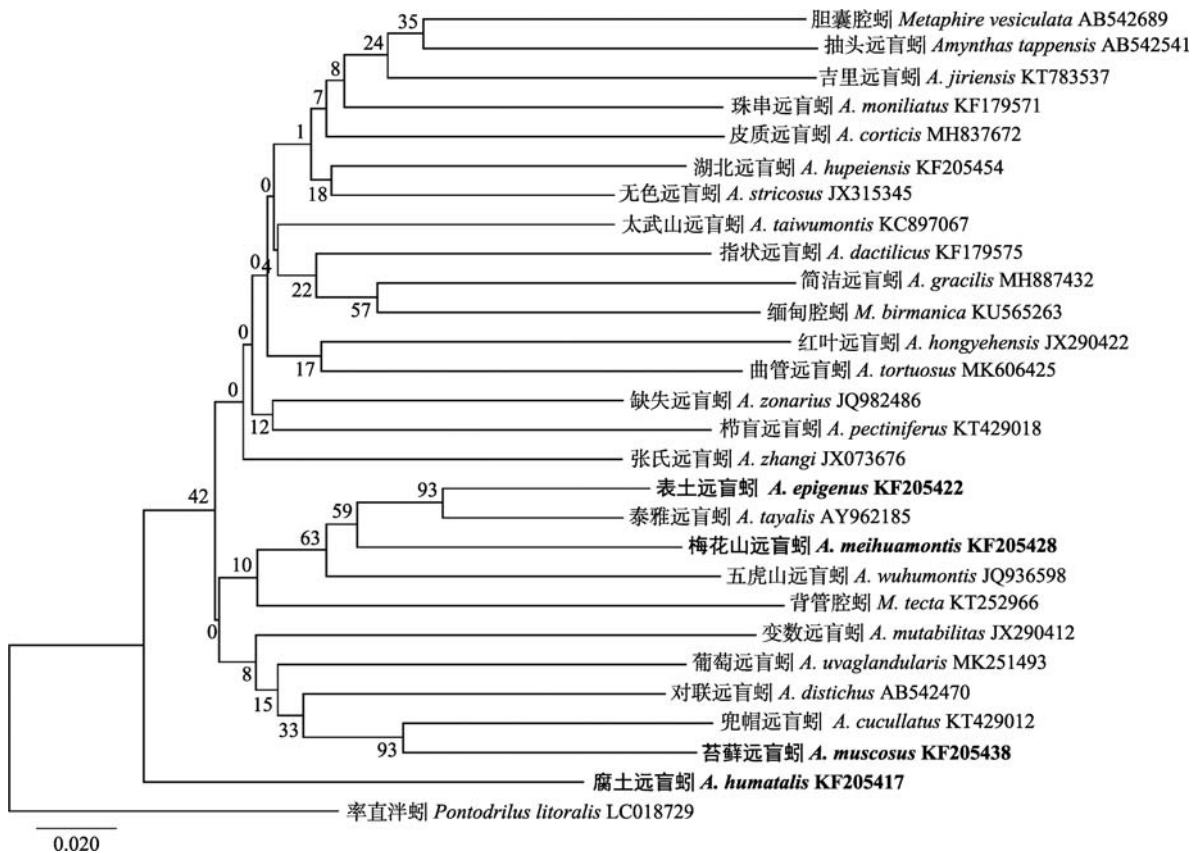


图 5 以邻接法构建的蚯蚓物种间的进化关系 (自展重复 500 次)

Fig. 5 Evolutionary relationships of earthworm species inferred using the neighbor-joining method with a bootstrap of 500 replicates

新物种加粗显示。自展支持值位于节点旁边, 自展支持值小于 50% 表示不确定的分支顺序。比例尺表示每个位点的平均替代数量。

New species are shown in bold. The bootstrap value is beside the node. The bootstrap value less than 50% indicates an uncertain branch order. The scale bar represents the average number of nucleotide substitutions per site.

致谢 感谢上海交通大学冯海玮和雷先德在样本采集工作中提供的帮助。

参 考 文 献

Chang C H, James S. 2011. A critique of earthworm molecular

- phylogenetics. *Pedobiologia*, 54(suppl-S): S3–S9.
- Chen Y. 1936. On the terrestrial Oligochaeta from Szechuan. ii. With notes on Gates' types. Contribution from the Biological Laboratory of the Science Society China: *Zoological Series*, 11: 269–306.
- Chen Y. 1946. On the terrestrial Oligochaeta from Szechuan, iii. West China Border Research Society Series B, 16: 83–141.
- Dong Y, Jiang J, Yuan Z, et al. 2020. Population genetic structure reveals two lineages of *Amyntas triastriatus* (Oligochaeta: Megascolecidae) in China, with notes on a new subspecies of *Amyntas triastriatus*. *International journal of Environmental Research and Public Health*, 17(5): 1538.
- Folmer O, Black M, Hoeh W, et al. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5): 294–299.
- Hall T A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/ NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41(41): 95–98.
- Huang J, Xu Q, Sun Z J, et al. 2007. Identifying earthworms through DNA barcodes. *Pedobiologia*, 51(4): 301–309.
- Jiang J B, Dong Y, Yuan Z, et al. 2018. Three new earthworm species of the tokioensis-group in the genus *Amyntas* (Oligochaeta: Megascolecidae) from Guangxi Province, China. *Zootaxa*, 4496(1): 269–278.
- Jiang J, Sun J, Zhao Q, et al. 2015. Four new earthworm species of the genus *Amyntas* Kinberg (Oligochaeta: Megascolecidae) from the island of Hainan and Guangdong Province, China. *Journal of Natural History*, 49(1/2): 1–17.
- 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.
- Sudhir K, Glen S, Michael L, et al. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6): 1547–1549.
- Sun J, James S W, Jiang J, et al. 2017. Phylogenetic evaluation of *Amyntas* earthworms from South China reveals the initial ancestral state of spermathecae. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 115: 106–114.
- Sun J, Jiang J, Bartlam S, et al. 2018. Four new *Amyntas* and *Metaphire* earthworm species from nine provinces in southern China. *Zootaxa*, 4496(1): 287–301.
- Sun J, Zhao Q, Qiu J. 2009. Four new species of earthworms belonging to the genus *Amyntas* (Oligochaeta: Megascolecidae) from Diaoluo Mountain, Hainan Island, China. *Revue Suisse De Zoologie*, 116(2): 289–301.
- Thompson J D, Gibson T J, Frédéric P, 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.
- Xiao N. 2019. *Terrestrial Earthworms (Oligochaeta: Opisthopora) of China*. Beijing: Elsevier Science.
- Yuan Z, Dong Y, Jiang J, et al. 2019. Three new species of earthworms (Oligochaeta: Megascolecidae) from Yunnan province, China. *Zootaxa*, 4664(3): 390–400.
- Zhang W X, Li J X, Fu S L, et al. 2006. Four new earthworm species belonging to *Amyntas* Kinberg and *Metaphire* Sims et Easton (Megascolecidae : Oligochaeta) from Guangdong, China. *Annales Zoologici*, 56(2): 249–254.
- Zhao Q, Sun J, Jiang J, et al. 2013. Four new species of genus *Amyntas* (Oligochaeta, Megascolecidae) from Hainan Island, China. *Journal of Natural History*, 47(33/34): 2175–2192.
- 陈义. 1956. 中国蚯蚓. 北京: 科学出版社, 9–33.
- 陈义, 许杨冯. 1975. 中国陆栖寡毛类几个新种的记述. *动物学报*, 21(1): 89–99.
- 徐芹. 1996. 中国陆栖蚯蚓地理分布概述. *北京教育学院学报*, 3(3): 54–61.
- 徐芹, 肖能文. 2011. 中国陆栖蚯蚓. 北京: 中国农业出版社, 67–202.