

北京房山发现华南水鼠耳蝠

俞阳^{①②} 刘高鸣^① 王鹏程^① 朱平芬^① 张晓晓^①
李萌^① 林旭^③ 王潇^① 周旭明^{①②*}

① 中国科学院动物研究所, 动物生态与保护生物学院重点实验室 北京 100101;

② 中国科学技术大学生命科学与医学部 合肥 230026; ③ 北京百花山国家级自然保护区管理处 北京 102311

摘要: 目前我国基础资源调查中有关翼手目物种多样性及其分布的项目正在开展, 着手建立翼手目物种多样性和分布数据库, 对翼手目物种在中国的分布情况亟需广泛调查和深入研究。我们于 2021 年 9 月在北京开展翼手目物种调查时, 在北京房山十渡镇四御洞使用竖琴网捕获 8 只蝙蝠, 经过 COI 和 Cyt *b* 序列比对和系统发育关系重建以及外部形态数据鉴定为华南水鼠耳蝠 (*Myotis laniger*)。此次发现华南水鼠耳蝠是北京市翼手目物种分布新记录种。

关键词: 翼手目; 新记录; 华南水鼠耳蝠

中图分类号: Q959 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2022) 04-607-05

Chinese Water Myotis (*Myotis laniger*) Found in Fangshan, Beijing, China

YU Yang^{①②} LIU Gao-Ming^① WANG Peng-Cheng^① ZHU Ping-Fen^①
ZHANG Xiao-Xiao^① LI Meng^① LIN Xu^③ WANG Xiao^① ZHOU Xu-Ming^{①②*}

① Key Laboratory of Animal Ecology and Conservation Biology, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101;

② Division of Life Sciences and Medicine, University of Science and Technology of China, Hefei 230026;

③ Beijing Baihuashan National Nature Reserve Management Division, Beijing 102311, China

Abstract: Systematic survey on the species diversity and distribution of Chiroptera has been conducted in China recently. Therefore, extensive investigation should be performed to identify the diversity and distribution information of Chiroptera. In September 2021, we sampled eight *Myotis* bat individuals from Siyu Cave in Shidu, fangshan district, Beijing. Eight *Myotis* bats were identified as Chinese water myotis (*Myotis laniger*) based on morphological data, barcode sequence (COI and Cyt *b*) and phylogenetic reconstruction. This is the first record of Chinese water myotis in Beijing.

Key words: Chiroptera; New record; *Myotis laniger*

基金项目 中国科学院重点部署项目 (No. KJZD-SW-L11) ;

* 通讯作者, E-mail: zhouxuming@ioz.ac.cn;

第一作者介绍 俞阳, 男, 硕士研究生; 研究方向: 动物生态学; E-mail: yyang18297542831@mail.ustc.edu.cn.

收稿日期: 2022-03-21, 修回日期: 2022-06-13 DOI: 10.13859/j.cjz.202204014

翼手目 (Chiroptera) 物种, 俗称蝙蝠, 由于其本身的多种特性, 如: 夜间捕食行为、飞行能力、形态特征较为相似等, 使得对翼手目物种进行鉴定造成了一定的困难 (Liu et al. 2019, 冯磊等 2019, 王鹏程等 2020)。目前, 我国翼手目物种的野外分布信息仍缺乏系统研究 (谢慧娴等 2021, 钟韦凌等 2021, 周全等 2021), 很多物种的分类地位也亟需厘清。随着分子生物学技术的快速发展, DNA 条形码技术由于可以较准确快速地对物种类别进行鉴别, 被广泛应用于物种鉴定 (Blaxter et al. 2005)。因此, 有必要结合形态学比较和遗传学手段在全国范围内对蝙蝠开展广泛且深入的调查, 以了解我国翼手目物种的分布信息等 (王鹏程等 2020)。

2021 年 10 月北京市园林绿化局正式发布《北京陆生野生动物名录 (2021 年)》, 包括鸟类、兽类与两栖爬行类动物共计 596 种。其中包括翼手目物种共计 18 种。本次研究发现了名录上缺少的华南水鼠耳蝠 (*Myotis laniger*)、大耳菊头蝠 (*Rhinolophus macrotis*) 和东亚水鼠耳蝠 (*M. petax*), 但因 *Bats in China* 和野外调查中提到北京已有东亚水鼠耳蝠和大耳菊头蝠 (Zhang et al. 2009, University of Bristol 2021), 所以在此对这两个物种不进行详细描述。此次工作对北京翼手目物种分布做了一定的补充, 有益于生物多样性的评估与保护工作的开展, 也可为《中国动物志》的编撰提供基础数据。

1 采集地点与研究方法

1.1 标本采集

本课题组于 2021 年 9 月在北京房山开展翼手目物种多样性野外调查, 使用竖琴网在十渡镇四御洞 (115°40'01" E, 39°41'17" N, 海拔 632 m) 捕获翼手目物种 8 只 (6♂, 2♀)。通过形态特征观测初步鉴定为蝙蝠科 (Vespertilionidae) 鼠耳蝠属物种 (图 1)。

1.2 外形测量

根据 Bates 等 (1997) 蝙蝠物种形态学描



图 1 华南水鼠耳蝠的侧面观

Fig. 1 External morphology of *Myotis laniger*

述特征和体重进行初步测量。外形测量参数包括以下 6 项, 头体长 (head and body length, HB)、前臂长 (forearm length, FL)、耳长 (ear length, EL)、后足长 (hind-foot length, HF)、胫骨长 (tibia length, TIL) 和尾长 (tail length, TL)。并将其与已报道的华南水鼠耳蝠的形态学特征进行比较 (胡开良等 2012, Ruedi et al. 2015)。

1.3 DNA 提取与 PCR 扩增

对翼膜进行打孔取样后 (标本号: Z000554、Z000560、Z000564、Z000573、Z000580、Z000582、Z000592、Z000609) 于采集地放飞。使用动物基因组 DNA 提取试剂盒 (QIAamp Dneasy, Qiagen 公司, 德国) 提取样品基因组 DNA, 使用哺乳动物 DNA 条形码引物 VF1 (5'-TGT AAA ACG ACG GCC AGT TCT CAA CCA ACC ACA AAG ACA TTG G-3') 和 VR1 (5'-CAG GAA ACA GCT ATG ACT AGA CTT CTG GGT GGC CAA AGA ATC A-3')、LGL765 (5'-GAA AAA CCA YCG TTG TWA TTC AAC T-3', Y 为 C/T, W 为 A/T) 和 LGL766 (5'-GTT TAA TTA GAA TYT YAG CTT TGG G-3', Y 为 C/T) 分别扩增线粒体 *COI* 基因和 *Cyt b* 基因片段 (Bickham et al. 2004, Ivanova et al. 2012)。*COI* 基因片段 PCR 反应条件如下,

94 °C 预变性 2 min; 94 °C 变性 30 s, 50 °C 退火 40 s, 72 °C 延伸 1 min, 循环 5 次; 94 °C 30 s, 55 °C 40 s, 72 °C 延伸 1 min, 循环 33 次; 72 °C 延伸 10 min。Cyt *b* 基因片段 PCR 反应条件如下, 94 °C 预变性 2 min; 94 °C 变性 30 s, 50 °C 退火 40 s, 72 °C 延伸 1 min, 循环 5 次; 94 °C 30 s, 50 °C 45 s, 72 °C 延伸 1 min, 循环 31 次; 72 °C 延伸 10 min。扩增成功的产物由北京擎科生物科技有限公司使用相应扩增引物 VF1 和 LGL765 进行测序。

1.4 分子鉴定

测序成功的峰值图使用 Chromas (<http://www.technelysium.com.au/chromas.html>) 对序列进行人工矫正。将测序所获得的基因序列 (COI 基因片段序列号为 OL375157 ~ OL375164, Cyt *b* 基因片段序列号为 OM751327 ~ OM751334) 与美国国家生物技术信息中心 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) 数据库进行比对, 将结合 NCBI 数据库中已有的华南水鼠耳蝠、高颅鼠耳蝠 (*M. siligorensis*)、大卫鼠耳蝠 (*M. davidii*)、大鼠耳蝠 (*M. myotis*)、欧洲水鼠耳蝠 (*M. daubentonii*) COI 序列和 Cyt *b* 序列, 利用 MAFFT 进行序列比对 (Kato et al. 2002), 使用 IQ-TREE2 获得最优核酸替换模型 (Minh et al. 2020), 分别用 RAxML 构建最大似然树 (Stamatakis 2014), MrBayes 构建贝叶斯树, 自展 1 000 次评估节点置信度 (Ronquist

et al. 2012)。

2 结果

2.1 外部形态

将这 8 只蝙蝠个体的七项形态学特征数据与已报道的华南水鼠耳蝠的形态特征进行比较 (表 1)。比较结果表明, 这 8 只蝙蝠个体的形态学特征与已报道的华南水鼠耳蝠的特征基本一致。

2.2 序列分析

本研究每个样本得到一条 750 bp COI 基因序列和一条 1 140 bp Cyt *b* 基因序列。将获得的 COI 和 Cyt *b* 基因序列与 NCBI 数据库中已有的华南水鼠耳蝠相应基因序列分别使用最大似然法和贝叶斯法构建系统发育树。样本均与华南水鼠耳蝠聚为高支持度的一支 (图 2, 3), 且 COI 基因序列的种内遗传距离与种间遗传距离为 0.002 08 ~ 0.062 50 和 0.082 07 ~ 0.602 59, Cyt *b* 基因序列的种内遗传距离与种间遗传距离为 0.001 03 ~ 0.055 67 和 0.067 50 ~ 0.153 68。结合形态学数据将本研究样本鉴定为华南水鼠耳蝠。

3 讨论

华南水鼠耳蝠被国际自然保护联盟受胁物种红色名录 (IUCN Red List of Threatened Species) 定义为无危级 (least concern, LC)

表 1 北京华南水鼠耳蝠形态学数据与文献数据比较 (平均值 ± 标准差)

Table 1 The morphological characteristics of Chinese water myotis record in Beijing, China and comparison with the data from previous reports (Mean ± SD)

	北京 Beijing (<i>n</i> = 8) (本研究 This study)	贵州 Guizhou (<i>n</i> = 46) (胡开良等 2012)	台湾 Taiwan (Ruedi et al. 2015)
头体长 Head and body length (mm)	48.80 ± 2.58	41.06 ± 2.19	41.1 ± 2.3
尾长 Tail length (mm)	32.31 ± 4.82		35.5 ± 2.6
耳长 Ear length (mm)	10.03 ± 1.40	12.00 ± 1.10	14.5 ± 2.0
前臂长 Forearm length (mm)	40.02 ± 0.74	34.63 ± 1.45	36.3 ± 0.6
胫骨长 Length of tibia (mm)	16.35 ± 0.91		15.9 ± 0.6
后足长 Hindfoot length (mm)	8.89 ± 1.26		10.4 ± 0.7
体重 Body mass (g)	7.28 ± 0.43	4.46 ± 0.53	

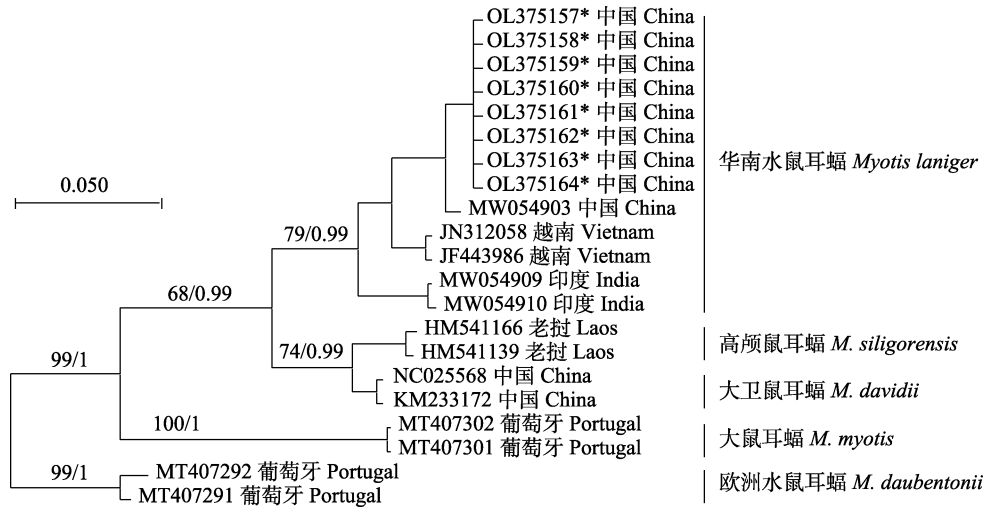


图 2 基于 COI 序列构建的鼠耳蝠属部分物种的系统发育关系

Fig. 2 Phylogenetic relationships of several *Myotis* species based on COI sequences

星号标记的个体是本研究新记录的华南水鼠耳蝠；物种名前的序号为相应个体在 NCBI 的 COI 序列号；节点处的数值分别是最大似然法和贝叶斯法构建的系统发育关系的支持率；标尺为遗传距离。

The individual marked with the asterisk is the new record of the *Myotis laniger* in this study; the serial number before the species name is the COI accession number of the corresponding individual in NCBI; The value at the node is the support rate of the phylogenetic relationship constructed by the maximum likelihood method and the Bayesian method respectively; The scale is genetic distance.

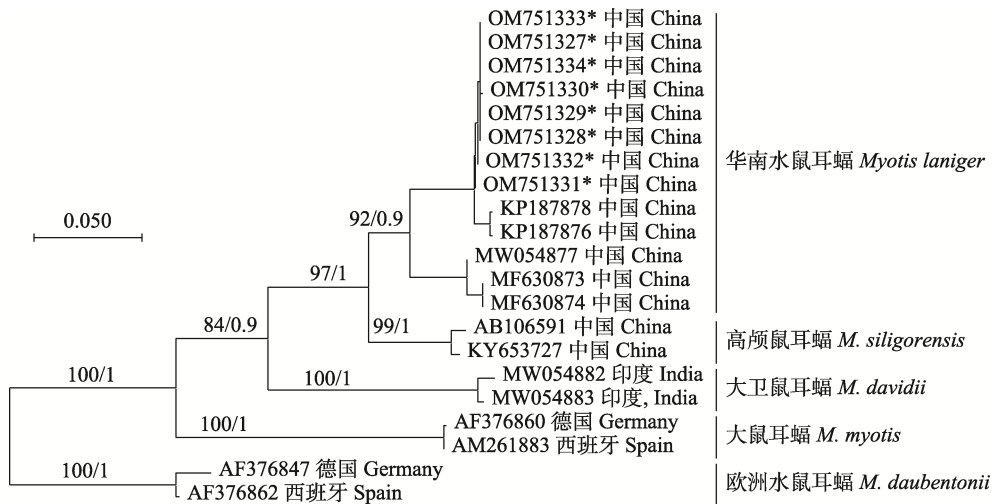


图 3 基于 Cyt b 序列构建的鼠耳蝠属部分物种的系统发育关系

Fig. 3 Phylogenetic relationships of several *Myotis* species based on Cyt b sequences

星号标记的个体是本研究新记录的华南水鼠耳蝠；物种名前的序号为相应个体在 NCBI 的 Cyt b 序列号；节点处的数值是最大似然法和贝叶斯法构建的系统发育关系的支持率；标尺为遗传距离。

The individual marked with the asterisk is the new record of the *Myotis laniger* in this study; the serial number before the species name is the Cyt b accession number of the corresponding individual in NCBI; The value at the node is the support rate of the phylogenetic relationship constructed by the maximum likelihood method and the Bayesian method respectively; the scale is the genetic distance.

(IUCN 2021)。华南水鼠耳蝠在我国分布极广,从云南省到山西省均能见到该物种的分布,但是河北石家庄至北京区域还未有记录(Smith et al. 2008, 蒋志刚 2015)。这 8 只蝙蝠个体七项形态学特征数据与已报道的华南水鼠耳蝠形态学特征数据基本一致,但本研究个体体重大约是贵州报道体重的 2 倍,考虑是个体成熟度、采集季节或者地区存在差异的原因。此次在北京地区发现该物种,首先丰富了该物种在我国的分布记录,其次推测河北石家庄、保定、廊坊等区域内可能有该物种的分布,但由于缺少调查,所以至今还未记录。

参 考 文 献

- Bates P J J, Harrison D L. 1997. Bats of the Indian Subcontinent. Sevenoaks: Harrison Zoological Museum of Publication.
- Bickham J W, Patton J C, Schlitter D A, et al. 2004. Molecular phylogenetics, karyotypic diversity, and partition of the genus *Myotis* (Chiroptera: Vespertilionidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 33(2): 333–338.
- Blaxter M, Mann J, Chapman T, et al. 2005. Defining operational taxonomic units using DNA barcode data. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360(1642): 1935–1943.
- IUCN. 2021. The IUCN Red List of Threatened Species. [DB/OL]. [2021-11-06]. <https://www.iucnredlist.org/>.
- Ivanova N V, Clare E L, Borisenko A V. 2012. DNA barcoding in mammals // Kress W J, Erickson D L. *DNA Barcodes: Methods and Protocols*. Totawa, NJ: Humana Press, 153–182.
- Katoh K, Misawa K, Kuma K, et al. 2002. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Research*, 30(14): 3059–3066.
- Liu T, Sun K, Csorba G, et al. 2019. Species delimitation and evolutionary reconstruction within an integrative taxonomic framework: A case study on *Rhinolophus macrotis* complex (Chiroptera: Rhinolophidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 139: 106544.
- 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.
- Ruedi M, Csorba G, Lin L K, et al. 2015. Molecular phylogeny and morphological revision of *Myotis* bats (Chiroptera: Vespertilionidae) from Taiwan and adjacent China. *Zootaxa*, 3920(2): 301–342.
- Smith A T, Xie Y, Hoffmann R S, et al. 2008. *A guide to the mammals of China*. Princeton, NJ: Princeton University Press, 345.
- Stamatakis A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*, 30(9): 1312–1313.
- University of Bristol. 2021. Bats in China. [DB/OL]. [2021-11-06]. <http://www.bio.bris.ac.uk/research/bats/China%20bats/>.
- Zhang L, Jones G, Zhang J, et al. 2009. Recent surveys of bats (Mammalia: Chiroptera) from China. I. Rhinolophidae and Hipposideridae. *Acta Chiropterologica*, 11(1): 71–88.
- 冯磊, 吴倩倩, 余子寒, 等. 2019. 湖南省翼手目新记录——金黄鼠耳蝠. *四川动物*, 38(1): 107.
- 胡开良, 杨剑, 谭梁静, 等. 2012. 同地共栖三种鼠耳蝠食性差异及其生态位分化. *动物学研究*, 33(2): 177–181.
- 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, 102.
- 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.
- 谢慧娴, 李彦男, 梁晓玲, 等. 2021. 环颈蝠 (*Thainycteris aureocollaris*) 在中国分布的再发现. *兽类学报*, 41(4): 476–482.
- 钟韦凌, 张欣, 吴毅, 等. 2021. 金毛管鼻蝠在我国模式产地外的再发现——广东、云南和四川新记录. *四川动物*, 40(6): 702–709.
- 周全, 李彦男, 余文华, 等. 2021. 圆耳管鼻蝠在云南西双版纳的新发现. *四川动物*, 40(3): 292–297.