

贵州发现昆明钝头蛇

杨桂平^{①②} 李仕泽^③ 刘京^③ 王斌^④ 李灿^{①②} 魏刚^{①⑤*}

① 贵阳学院生物与环境工程学院 贵阳 550005; ② 贵阳学院贵州省山地珍稀动物与经济昆虫重点实验室 贵阳 550005;

③ 茅台学院食品科学与工程系 仁怀 564500; ④ 中国科学院成都生物研究所 成都 610041;

⑤ 贵阳学院贵州省生物多样性与应用生态学特色重点实验室 贵阳 550005

摘要: 2020年8月在贵州省普安县(25°47'02"N, 105°01'07"E, 海拔1636m)采集到3号蛇类标本。它们在形态上与昆明钝头蛇(*Pareas niger*)相似。基于线粒体细胞色素*b*(*Cyt b*)基因序列构建的系统发育树显示,此次采集的钝头蛇标本与昆明钝头蛇的1号地模标本序列聚为一支,它们之间的遗传距离为0.4%,远小于钝头蛇属物种之间的遗传距离(5.60%~23.90%)。综合形态比较和分子系统发育分析结果,确定此次采集到的钝头蛇标本为昆明钝头蛇,为贵州省爬行动物分布新记录种。

关键词: 贵州省; 普安县; 细胞色素*b*基因; 钝头蛇属

中图分类号: Q959 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2023)02-292-07

Pareas niger Found in Guizhou Province

YANG Gui-Ping^{①②} LI Shi-Ze^③ LIU Jing^③ WANG Bin^④ LI Can^{①②} WEI Gang^{①⑤*}

① *College of Biological and Environmental Engineering, Guiyang University, Guiyang 550005;* ② *Guizhou Key Laboratory of Rare*

Animal and Economic Insect of the Mountainous Region, Guiyang University, Guiyang 550005; ③ *Department of Food Science and*

Engineering, Moutai Institute, Renhuai 564500; ④ *Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041;*

⑤ *Guizhou Provincial Key and Special Laboratory for Biodiversity and Ecology Appliance, Guiyang University, Guiyang 550005, China*

Abstract: Three snake specimens were collected in Pu'an County, Guizhou Province in August 2020. The specimens resemble *Pareas niger* based on morphological comparisons. The phylogenetic trees constructed based on the mitochondrial cytochrome *b* (*Cyt b*) gene sequences show that the newly collected specimens are clustered closely with a toptype of *P. niger* (Kunming, Yunnan) (Fig. 2), and the genetic distance between them is 0.4%, which is much smaller than interspecific genetic distance of *Pareas* (5.60% - 23.90%). According to morphological comparisons and molecular phylogenetic results, the newly collected specimens should be *P. niger*, which is a new record of reptiles in Guizhou Province.

Key words: Guizhou province; Pu'an County; Cytochrome *b*; *Pareas*

基金项目 国家自然科学基金项目(No.32260136),贵州省基础研究项目(黔科合基础(2020)1Y083),贵州省林业科研项目(黔林科合(2020)13号),贵阳市科技局支持贵阳学院专项经费(GYU-KY(2022));

* 通讯作者, E-mail: wg198553@126.com;

第一作者介绍 杨桂平,女,硕士研究生;研究方向:两栖爬行动物多样性保护; E-mail: ygpl5085913450@163.com.

收稿日期: 2022-08-02, 修回日期: 2022-12-01 DOI: 10.13859/j.cjz.202302013

钝头蛇属 (*Pareas*) 广泛分布于东南亚及东亚地区, 目前该属已报道 22 种, 其中中国记录分布有 16 种, 贵州现记录分布有 5 种, 分别为平鳞钝头蛇 (*P. boulengeri*)、中国钝头蛇 (*P. chinensis*)、缅甸钝头蛇 (*P. hamptoni*)、横纹钝头蛇 (*P. margaritophorus*) 和福建钝头蛇 (*P. stanleyi*) (赵尔宓 2006)。在贵州, 平鳞钝头蛇分布于中部 (贵阳和清镇)、南部 (贵定和龙里)、北部 (绥阳、务川、湄潭、赤水 and 仁怀)、西部 (毕节)、东南部 (雷山) 和东北部 (江口、印江、德江和松桃); 钝头蛇分布于赤水、江口、兴义、安龙、清镇和雷山; 缅甸钝头蛇和福建钝头蛇均仅记录分布于雷山; 横纹钝头蛇分布于罗甸 (伍律等 1985)。

2020 年 8 月在贵州普安县采集到 3 号钝头蛇属成体雄性标本, 经形态比较和分子系统发育分析鉴定为昆明钝头蛇 (*P. niger*), 为贵州省爬行动物分布新记录种。本研究对昆明钝头蛇形态、系统发育特征及生境进行了描述, 以期对钝头蛇属物种系统发育及谱系地理学研究提供一定的参考。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

钝头蛇成体雄性标本 3 号, 采自贵州普安县 (25°47'02" N, 105°01'07" E, 海拔 1 636 m), 编号为 MTPA20200811031, MTPA20200811032 和 MTPA20200811033。测量形态性状后, 取尾部肌肉保存于 95%乙醇中; 标本使用 10%福尔马林浸泡, 保存于茅台学院生物学标本室。

1.2 形态鉴定与测量

依据赵尔宓等 (1998)、赵尔宓 (2006)、Wang 等 (2020) 测量和描述钝头蛇的形态特征。使用卷尺测量全长、头体长和尾长 (精确到 1 mm), 借助解剖镜计数鳞片, 鳞片计数指标共 11 项, 即眶前鳞、眶后鳞、眶下鳞、初级颞鳞、次级颞鳞、上唇鳞、下唇鳞、腹鳞、尾下鳞、背鳞行数以及肛鳞。

1.3 DNA 提取、扩增和测序

以高盐法提取肌肉标本 DNA。选择线粒体 Cyt *b* 基因作为分子标记, 使用引物 L14919 (5'-AAC CAC CGT TGT TAT TCA ACT-3') 和 H16064 (5'-CTT TGG TTT ACA AGA ACA ATG CTT TA-3') 进行 PCR 扩增 (Guo et al. 2012)。PCR 反应条件为: 94 °C 7 min; 94 °C 40 s, 46 °C 30 s, 72 °C 1 min, 35 个循环; 72 °C 8 min; 4 °C 保存。产物由成都擎科梓熙生物技术有限公司双向测序。所得序列上传到 GenBank (表 1)。

1.4 系统发育分析

对获得的 3 条序列测序峰图进行评估并人工校正。另外下载钝头蛇属已报道的 15 个物种的 18 条 Cyt *b* 序列以及两个外群卡氏山地蛇 (*Xylophis captaini*) 和光滑食螺蛇 (*Asthenodipsas laevis*) 的对应序列 (Liu et al. 2021, 表 1)。使用 Clustal X v1.8 (Thompson et al. 1997) 对以上所有序列进行多重序列比对。使用贝叶斯法 (Bayesian inference, BI) 和最大似然法 (maximum likelihood, ML) 进行系统发育重建。最适进化模型基于赤池信息准则 (Akaike information criterion, AIC) 在 jModeltest v2 (David 2008) 中进行选择。贝叶斯分析在 MrBayes 3.1.2 (Ronquist et al. 2003) 中进行, 设置 4 条链独立运行 1 千万代, 每隔 1 000 代对树进行一次采样, 舍弃前 25%, 使用贝叶斯后验概率 (Bayesian posterior probabilities, BPP) 检测节点的支持率。最大似然 (ML) 树的构建在软件 PhyML v3.0 (Guindon et al. 2010) 中完成, 并进行 1 000 次 bootstrap 重抽样分析, 检验各节点置信度。最后用 MEGA v6.0 (Tamura et al. 2013) 中的 Kimura-2-parameter 模型计算表 1 中所列钝头蛇属物种间的遗传距离。

2 结果

2.1 形态鉴定和描述

形态描述 (表 2, 图 1): 体型细长, 全长 426 ~ 491 mm, 头部扁平, 头部与颈部区分明

表 1 样品信息表

Table 1 Information for samples used in this study

物种 Species	标本号 Voucher No.	采集地 Collection locality	序列号 GenBank No.
本研究 This study	MTPA20200811031	贵州普安 Pu'an County, Guizhou, China	ON961770
	MTPA20200811032		ON961771
	MTPA20200811033		ON961772
昆明钝头蛇 <i>Pareas niger</i>	KIZ 059339	云南昆明 Kunming, Yunnan, China	MW436706
蒙自钝头蛇 <i>P. mengziensis</i>	YBU 14252	云南蒙自 Mengzi, Yunnan, China	MK135081
缅甸钝头蛇 <i>P. hamptoni</i>	YPX 18219	缅甸 Myanmar	MK135077
缅甸钝头蛇 <i>P. hamptoni</i>	YPX 18604	缅甸 Myanmar	MK135078
台湾钝头蛇 <i>P. formosensis</i>	NMNS 05632	台湾 Taiwan, China	KJ642130
雪林钝头蛇 <i>P. xuelinensis</i>	KIZ XL1	云南澜沧 Lancang, Yunnan, China	MW436709
雪林钝头蛇 <i>P. xuelinensis</i>	KIZ XL2		MW436710
伯仲钝头蛇 <i>P. geminatus</i>	CIB 118021	云南江城 Jiangcheng, Yunnan, China	MW287068
伯仲钝头蛇 <i>P. geminatus</i>	KIZ L2020020		MW436707
泰雅钝头蛇 <i>P. atayal</i>	HC 000618	台湾 Taiwan, China	JF827685
平鳞钝头蛇 <i>P. boulengeri</i>	GP 2923	贵州江口 Jiangkou, Guizhou, China	MK135090
钝头蛇 <i>P. chinensis</i>	GP 2196	四川筠连 Junlian, Sichuan, China	MK135088
福建钝头蛇 <i>P. stanleyi</i>	GP 229	广西 Guangxi, China	MK135086
横纹钝头蛇 <i>P. macularius</i>	GP815	海南 Hainan, China	MK135101
横斑钝头蛇 <i>P. margaritophorus</i>	YBU 16061	广西苍梧 Cangwu, Guangxi, China	MK135097
安德森钝头蛇 <i>P. andersonii</i>	CHS 015	云南陇川 Longchuan, Yunnan, China	MK201238
喜山钝头蛇 <i>P. monticola</i>	KIZ 014167	西藏墨脱 Motuo, Xizang, China	MK135109
勐腊钝头蛇 <i>P. menglaensis</i>	YBU 14124	云南勐腊 Mengla, Yunnan, China	MK135114
卡氏山地蛇 <i>Xylophis captaini</i>	BNHS 3376	印度 India	MK340914
光滑食螺蛇 <i>Asthenodipsas laevis</i>	LSUHC 10346	马来西亚 Malaysia	KC916749

显；头长大于头宽；上唇鳞 7 枚，不入眶，下唇鳞 7 枚，前 3 对切颌片；前额鳞入眶；颊鳞 1 枚，不入眶；眶前鳞 2 枚；标本 MTPA20200811031 眶后鳞与眶下鳞愈合，标本 MTPA20200811032 和 MTPA20200811033 眶后鳞与眶下鳞未愈合；初级颞鳞 2 枚，次级颞鳞 3 枚；背鳞平滑，通身 15 行；腹鳞 168 ~ 170 枚，肛鳞完整；尾下鳞 53 ~ 67 对。体背面黑色夹杂黄褐色，头背面略深，体背面及侧面有黑色与黄色相间排列，腹部浅黄色夹杂少许黑斑，尾部黑斑较多，尾尖黑色。

经比较，贵州普安的 3 号钝头蛇属标本与 Pope (1928) 描述的昆明钝头蛇在形态上基本吻合。贵州普安的标本形态也有少许变异，即贵州普安的标本眶前鳞 2 枚，体背黑色斑纹较

弱，而昆明钝头蛇地模标本眶前鳞 1 枚，体背黑色斑纹较多 (Liu et al. 2021)。贵州普安采集的 3 号昆明钝头蛇均在海拔 1 630 m 左右的农田和耕地边公路上发现，附近有溪沟及居民区 (图 1f)。

2.2 系统发育分析

序列比对分析确定序列长度为 1 062 bp，其中有 517 个保守位点、547 个变异位点和 436 个简约信息位点。贵州普安采集的 3 号钝头蛇标本与昆明钝头蛇模式产地 (云南昆明) 的标本之间的遗传距离为 0.4%，与蒙自钝头蛇正模标本的遗传距离为 0.1%，而蒙自钝头蛇正模标本与昆明钝头蛇地模标本的遗传距离为 0.3%，远小于钝头蛇属物种间的遗传距离 (5.6% ~ 23.9%) (Wang et al. 2020, Liu et al. 2021, 表 3)。

表 2 贵州普安的钝头蛇标本形态量度 (单位: mm)

Table 2 Morphometric measurements of *Pareas* specimens from Pu'an, Guizhou (Unit: mm)

	标本号 Voucher No.		
	MTPA20200811031	MTPA20200811032	MTPA20200811033
采集地 Collection locality	普安 Pu'an	普安 Pu'an	普安 Pu'an
性别 Sex	♂	♂	♂
全长 Overall length (mm)	426	491	450
头体长 Snout-vent length (mm)	331	385	362
尾长 Tail length (mm)	93	105	88
前额鳞是否入眶 Whether the perfrontals enter the eye socket	是 Yes	是 Yes	是 Yes
眶前鳞 Preocular	2	2	2
眶后鳞 Postocular	2	1	1
眶后鳞和眶下鳞是否愈合 Whether the postocular and subocular are healed	是 Yes	否 No	否 No
初级颞鳞 Primary temporals	2	2	2
次级颞鳞 Secondary temporals	3	3	3
上唇鳞 Supralabials	7	7	7
下唇鳞 Infralabials	7	7	7
腹鳞 Ventrals	169	168	170
尾下鳞 Subcaudals	67	63	53
背鳞 Dorsals	15-15-15	15-15-15	15-15-15
肛鳞 Anal	1	1	1

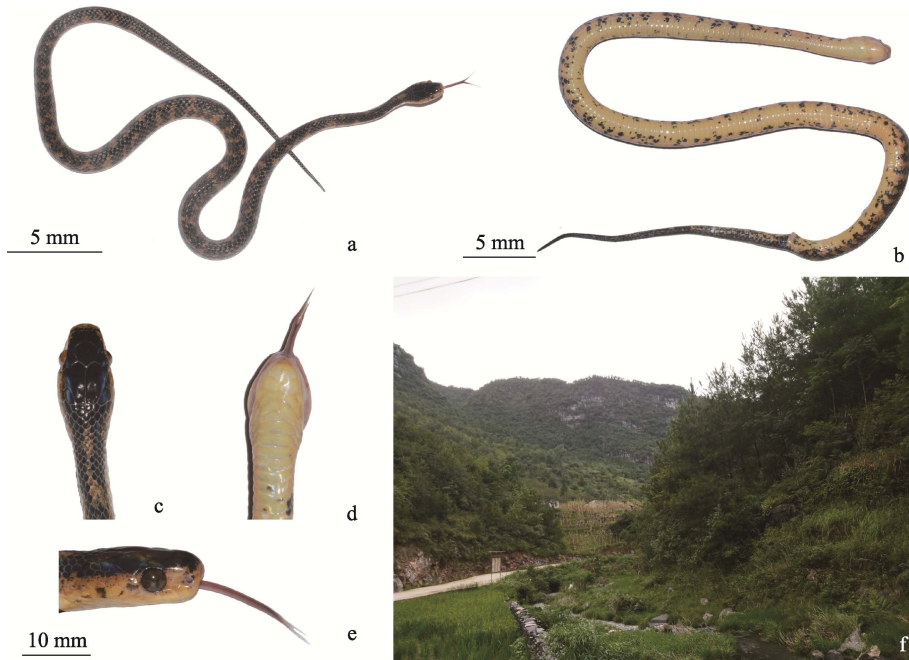


图 1 贵州普安采集的昆明钝头蛇 (MTPA20200811031) 活体照及其生境

Fig. 1 Photos of *Pareas niger* (MTPA20200811031) from Guizhou Province, in life and its habitat

a. 背面观; b. 腹面观; c. 头部正面观; d. 头部腹面观; e. 头部侧面观; f. 生境。

a. Dorsal view; b. Ventral view; c. Dorsal view of head; d. Ventral view of head; e. Lateral view of head; f. Habitat.

基于贝叶斯法和最大似然法构建的系统发育树产生了相同的拓扑结构。贵州普安的 3 号钝头蛇标本与昆明钝头蛇的地模标本和蒙自钝头蛇的正模标本聚为一支 (图 2), 该支系的后验概率为 1.00, 最大似然法的自展值 (bootstrap support, BS) 为 100。

形态比较和系统发育分析结果均支持采自贵州省普安县的钝头蛇属标本为昆明钝头蛇。

3 讨论

Pope (1928) 发现并描述了昆明钝头蛇, 但随后该物种分别被不同学者认为是钝头蛇、云南钝头蛇 (*P. yunnanensis*) 和阿里山钝头蛇 (*P. komaii*) 的同物异名 (Maki 1931, 四川生物研究所两栖爬行动物研究室 1977, 饶定齐等 1992)。Liu 等 (2021) 通过比较发现, 昆明钝头蛇与钝头蛇、阿里山钝头蛇和云南钝头蛇具

有显著的形态差异, 因此支持该种为有效种。

Liu 等 (2021) 在昆明采集到 1 号昆明钝头蛇标本, 并与 Wang 等 (2020) 发表的蒙自钝头蛇 (*P. mengziensis*) 进行了分子和形态比较, 认为蒙自钝头蛇是昆明钝头蛇的同物异名。通过文献记录和本文的比较发现, 蒙自钝头蛇与昆明钝头蛇只在眶前鳞和体色上稍有差异, 而在其他形态特征上并无明显差异, 这与贵州普安的标本类似。而蒙自钝头蛇与昆明钝头蛇的地模标本在 *Cyt b* 基因上的遗传距离仅为 0.1%, 远小于同属内物种之间的遗传距离 (5.6% ~ 23.9%)。因此, 本文结果也支持蒙自钝头蛇为昆明钝头蛇的同物异名。普安、昆明和蒙自之间的地理距离相互较远, 且有明显的地理阻隔 (如乌蒙山、曲江和南盘江等), 这些区域的昆明钝头蛇在形态和遗传上的差异是否由环境差异引起, 还需进一步研究。

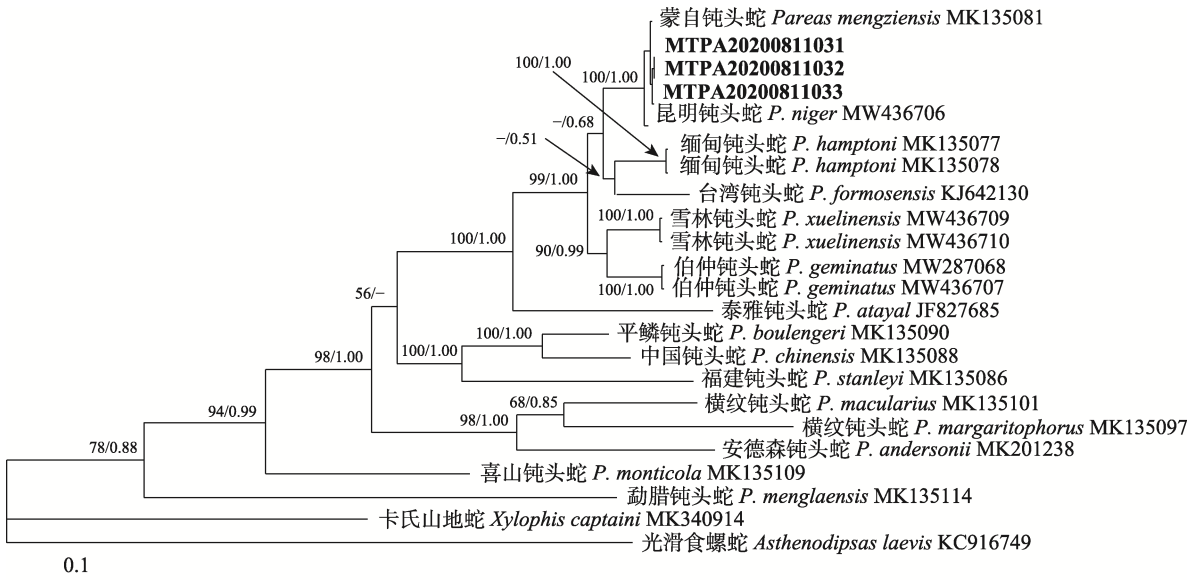


图 2 基于线粒体 *Cyt b* 序列构建的钝头蛇属的最大似然树

Fig. 2 Maximum likelihood tree constructed based on the mitochondrial *Cyt b* sequences of genus *Pareas*

节点数字表示主要分支的最大似然法的自展值 (BS) / 贝叶斯后验概率值 (PP), 加粗编号为本研究采集标本的编号。

The numbers at the node denote maximum likelihood bootstrap support (BS) and Bayesian posterior probabilities (PP) respectively, and the voucher number of specimens collected in this study are denoted as bold.

表 3 基于线粒体 *Cyt b* 基因序列计算的钝头蛇属物种间的 Kamura-2-parameter 遗传距离Table 3 Genetic distance of Kamura-2-parameter model between *Pareas* species estimated based on mitochondrial *Cyt b* gene sequences

物种 Species	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1 昆明钝头蛇 <i>P. niger</i> (普安 Pu'an)																				
2 昆明钝头蛇 <i>P. niger</i> (普安 Pu'an)	0.000																			
3 昆明钝头蛇 <i>P. niger</i> (普安 Pu'an)	0.000	0.000																		
4 昆明钝头蛇 <i>P. niger</i> (昆明 Kunming)	0.004	0.004	0.004																	
5 蒙自钝头蛇 <i>P. mengziensis</i> (蒙自 Mengzi)	0.001	0.001	0.001	0.003																
6 缅甸钝头蛇 <i>P. hamptoni</i>	0.056	0.056	0.056	0.057	0.055															
7 缅甸钝头蛇 <i>P. hamptoni</i>	0.056	0.056	0.056	0.057	0.055	0.000														
8 台湾钝头蛇 <i>P. formosensis</i>	0.070	0.070	0.070	0.070	0.070	0.070	0.070													
9 雪林钝头蛇 <i>P. xuelinensis</i>	0.073	0.073	0.073	0.074	0.073	0.080	0.080	0.077												
10 雪林钝头蛇 <i>P. xuelinensis</i>	0.074	0.074	0.074	0.075	0.074	0.081	0.081	0.077	0.001											
11 伯仲钝头蛇 <i>P. geminatus</i>	0.067	0.067	0.067	0.068	0.068	0.073	0.073	0.083	0.059	0.060										
12 伯仲钝头蛇 <i>P. geminatus</i>	0.071	0.071	0.071	0.072	0.072	0.074	0.074	0.087	0.063	0.064	0.001									
13 泰雅钝头蛇 <i>P. atayal</i>	0.143	0.143	0.143	0.144	0.141	0.141	0.141	0.151	0.138	0.139	0.142	0.147								
14 平鳞钝头蛇 <i>P. boulengeri</i>	0.175	0.175	0.175	0.176	0.174	0.170	0.170	0.168	0.167	0.168	0.174	0.174	0.185							
15 钝头蛇 <i>P. chinensis</i>	0.170	0.170	0.170	0.171	0.169	0.180	0.180	0.168	0.180	0.180	0.182	0.186	0.181	0.087						
16 福建钝头蛇 <i>P. stanleyi</i>	0.196	0.196	0.196	0.195	0.195	0.186	0.186	0.194	0.194	0.195	0.194	0.199	0.191	0.157	0.157					
17 横纹钝头蛇 <i>P. macularius</i>	0.190	0.190	0.190	0.191	0.188	0.194	0.194	0.192	0.195	0.195	0.204	0.205	0.193	0.183	0.182	0.192				
18 横斑钝头蛇 <i>P. margaritophorus</i>	0.201	0.201	0.201	0.201	0.198	0.204	0.204	0.205	0.211	0.211	0.218	0.222	0.193	0.195	0.187	0.195	0.142			
19 安德森钝头蛇 <i>P. andersonii</i>	0.193	0.193	0.193	0.193	0.193	0.200	0.200	0.183	0.197	0.197	0.210	0.209	0.207	0.176	0.176	0.185	0.161	0.174		
20 喜山钝头蛇 <i>P. monticola</i>	0.186	0.186	0.186	0.187	0.184	0.190	0.190	0.187	0.197	0.197	0.197	0.199	0.175	0.189	0.187	0.194	0.176	0.200	0.197	
21 勐腊钝头蛇 <i>P. menglaensis</i>	0.228	0.228	0.228	0.229	0.228	0.229	0.229	0.240	0.242	0.242	0.226	0.227	0.230	0.232	0.245	0.251	0.239	0.246	0.229	0.223

1~3 号样品为本研究采集标本。Specimens 1, 2 and 3 were collected from this study.

参 考 文 献

- David P. 2008. jModelTest: jModeltest phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution*, 25(7): 1253–1256.
- Guindon S, Dufayard J F, Lefort V, et al. 2010. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: Assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology*, 59(3): 7–321.
- Guo P, Liu Q, Xu Y, et al. 2012. Out of Asia: Natricine snakes support the cenozoic beringian dispersal hypothesis. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 63(3): 825–833.
- Liu S, Rao D. 2021. A new species of the genus *Pareas* (Squamata, Pareidae) from Yunnan, China. *ZooKeys*, 1011: 121–138.
- Maki M. 1931. *A Monograph of the Snakes of Japan*. Dai-Ichi Shobo, Tokyo, 240 pp.
- Pope C H. 1928. Four new snakes and a new lizard from South China. *American Museum Novitates*, 325: 1–4.
- Ronquist F, Huelsenbeck J P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19(12): 1572–1574.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, et al. 2013. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30(12): 2725–2729.
- Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, 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.
- Wang P, Che J, Liu Q, et al. 2020. A revised taxonomy of Asia snail-eating snakes *Pareas* (Squamata, Pareidae): Evidence from morphological comparison and molecular phylogeny. *ZooKeys*, 939: 45–64.
- 饶定齐, 杨大同. 1992. 东南亚及其邻近岛屿钝头蛇亚科 *Pareinae* 的谱系发育及其与地质演变的关系. *动物学报*, 38(2): 139–150.
- 四川省生物研究所两栖爬行动物研究室. 1977. *爬行动物系统检索*. 北京: 科学出版社.
- 伍律, 李德俊, 刘积琛. 1985. *贵州爬行类志*. 贵阳: 贵州人民出版社.
- 赵尔宓. 2006. *中国蛇类(上)*. 合肥: 安徽科学技术出版社.
- 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.