

江西武夷山发现亚洲宽耳蝠

张翰博^① 程林^② 程松林^② 黄正澜懿^① 吴毅^① 余文华^{①*}

① 广州大学生命科学学院 广州 510006; ② 江西武夷山国家级自然保护区 上饶 334000

摘要: 本课题组于 2018 年 1 月在江西省武夷山自然保护区, 使用蝙蝠竖琴网捕获到 1 只雄性蝙蝠, 采用传统形态分类并结合系统发育学分析方法, 对该蝙蝠进行物种鉴定。其主要特征为: 体型中等偏小, 前臂长 38.29 mm; 外耳廓呈方形, 双耳在额部相连, 耳屏呈现三角形, 无耳突; 背毛和腹毛黑棕色且毛尖偏白色; 头骨从吻端均匀上升, 颅顶点隆起不明显, 整体较为扁平; 颧弓纤细, 矢状嵴与人字嵴隐约可见, 齿式为 2.1.2.3/3.1.2.3 = 34。根据其外部形态、头骨特征及基于 *Cyt b* 和 *ND1* 基因序列的系统发育树结果, 将该蝙蝠鉴定为亚洲宽耳蝠 (*Barbastella leucomelas*), 为中国江西省翼手目分布新记录种。

关键词: 翼手目 (蝙蝠); 亚洲宽耳蝠; 分布新记录种; 江西省

中图分类号: Q959 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263 (2020) 02-172-06

Barbastella leucomelas Found at Wuyi Mountain of Jiangxi Province

ZHANG Han-Bo^① CHENG Lin^② CHENG Song-Lin^②
HUANG Zheng-Lan-Yi^① WU Yi^① YU Wen-Hua^{①*}

① School of Life Science, Guangzhou University, Guangzhou Guangdong 510006;

② Wuyi Mountain National Nature Reserve of Jiangxi Province, Shangrao Jiangxi 334000, China

Abstract: In January 2018, when investigating chiropteran diversity Wuyi Mountain in Jiangxi province, a male vespertilionid bat was captured by using harp trap. We identified this bat through morphological examination and phylogenetic inference. It is medium-sized bat with a forearm of 38.29 mm (Table 1) and the black-brown fur with white tip. Its tragus is triangular. Ears are nearly square with transverse ridges and connect in the forehead without a prominent projecting lobe (Fig. 1a). Besides, skull rises evenly from the rostral to the end, the vertex of skull is not prominent (Fig. 1c). The zygomatic arch is slender, while both sagittal and lambdoidal crests are weak. Its dental formula is 2.1.2.3/3.1.2.3 = 34 (Fig. 1b, c). According to its external, skull characteristics and phylogenetic evidences using partial *Cyt b* and *ND1* gene, it is identified as *Barbastella leucomelas* which representing a new record species in Jiangxi Province, China.

Key words: Chiroptera (Bats); *Barbastella leucomelas*; New record species; Jiangxi Province

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 31672258, 31670381, 31970394), 2017 年度广州大学青年拔尖人才培养计划项目 (No. BJ201707);

* 通讯作者, E-mail: wenhua_yu@gzhu.edu.cn;

第一作者简介 张翰博, 男, 硕士研究生; 研究方向: 动物分类与多样性保护; E-mail: zhanghboo@qq.com.

收稿日期: 2019-09-03, 修回日期: 2020-01-08 DOI: 10.13859/j.cjz.202002006

宽耳蝠属 (*Barbastella*) 隶属于翼手目 (Chiroptera) 蝙蝠科 (Vespertilionidae), 目前全世界仅发现 3 种, 即欧洲宽耳蝠 (*B. barbastella*) 亚洲宽耳蝠 (*B. leucomelas*) 及北京宽耳蝠 (*B. beijingensis*) (Zhang et al. 2007)。后两种在中国均有分布, 其中, 北京宽耳蝠目前仅在北京发现 (Zhang et al. 2007), 而亚洲宽耳蝠在中国的分布区较广, 包括内蒙古、新疆、甘肃、陕西、四川、重庆、云南、台湾 (Smith 等 2009, 蒋志刚 2015)、河南 (刘森等 2017) 和湖南 (吴涛等 2018)。

2018 年 7 月 10 日, 本课题组在江西省武夷山自然保护区进行翼手目动物多样性调查时, 捕获到 1 只雄性森林型蝙蝠, 经外部形态、头骨特征与分子系统发育学分析后将其鉴定为亚洲宽耳蝠, 为江西省物种分布新记录种。

1 采集地点与研究方法

1.1 标本采集

利用蝙蝠竖琴网于江西省武夷山自然保护区黄岗山 (铅山县) 捕获到该蝙蝠 (1♂, 标本号为 GZHU 18045), 根据其耳等外部特征, 初步鉴定为宽耳蝠属种类, 测量并取肝与肌肉, 使用 75% 的酒精保存标本, 将其带回实验室进行进一步物种鉴定。同时, 还使用了 2 只采集于四川的亚洲宽耳蝠标本 (标本号为 GZHU 14460 和 GZHU 16146) 进行对比。上述标本现均保存于广州大学华南生物多样性保护与利用重点实验室。

1.2 外形和头骨测量

参照哺乳动物测量标准 (杨奇森等 2007), 用数显游标卡尺 (MNT-150, 上海美耐特实业有限公司, 测量精度为 0.01 mm) 对头骨以及外形指标进行测量, 用电子天平 (JY-200, 广州艾瑞贸易有限公司, 精确到 0.01 g) 进行称重。外形测量参数包括以下 9 项, 头体长 (head and body length, HB)、前臂长 (forearm length, FL)、耳长 (ear length, EL)、耳宽 (ear width, EW)、耳屏长 (tragus length, TRL)、耳屏宽

(tragus width, TRW)、后足长 (hind-foot length, HF)、胫骨长 (tibia length, TIL)、尾长 (tail length, TL)。头骨测量参数包括以下 10 项, 颅全长 (greatest length of skull, GTL)、枕犬长 (condylo-canine length, CCL)、眶间距 (interorbital width, IOW)、脑颅宽 (breadth of braincase, BB)、上齿列长 (maxillary tooth row length, C¹-M³)、上犬齿宽 (upper canine width, C¹-C¹)、上臼齿宽 (upper third molar width, M³-M³)、下齿列长 (mandibular tooth row length, C₁-M₃)、下颌长 (mandibular length, ML)、听泡长 (length of tympanic bulla, LTB)。

1.3 DNA 提取与 PCR 扩增

取约 20 mg 肝组织, 用 TaKaRa MiniBEST Universal Genomic DNA Extraction Kit 提取试剂盒提取总 DNA, 根据文献 (Zhang et al. 2007, Sun et al. 2008) 确定两个基因的引物, Cyt b-1: 5'-TAG AAT ATC AGC TTT GGG TG-3', Cyt b-2: 5'-AAA TCA CCG TTG TAC TTC AAC-3'; L16S: 5'-CCT CGA TGT TGG ATC AGG-3', HtMet: 5'-GTA TGG GCC CGA TAG CTT-3', 分别扩增 Cyt b 与 ND1 基因部分片段, Cyt b 与 ND1 基因部分片段分别扩增 1 140 bp 与 957 bp。PCR 反应体系为 30 μl, 包括 3 μl 的模板 DNA (约 10 ng)、11.2 μl 的无菌水、15 μl 的 Taq 酶 (2.5 U/μl)、正反引物各 0.4 μl (25 μmol/L)。PCR 反应条件为: 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 30 s, 47 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 1 min, 循环 30 次; 72 °C 延伸 10 min, 10 °C 冷却。得到 PCR 产物用琼脂糖凝胶电泳进行检测, 将扩增成功的 PCR 产物送至上海美吉生物医药科技有限公司进行测序。

1.4 分子鉴定

测序结果使用 GENEIOUS 4.8.5 软件 (Drummond et al. 2011) 进行人工目测拼接与校对。结合 NCBI 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 已有的亚洲宽耳蝠、北京宽耳蝠、欧洲宽耳蝠、大耳蝠 (*Plecotus auritus*)、灰大耳蝠 (*Plecotus austriacus*) Cyt b 序列与 ND1

序列, 以及本课题组之前获取的四川地区亚洲宽耳蝠样本的上述基因序列, 利用 MUSCLE (Edgar 2004) 进行排序, 在 MEGA 5.0 (Tamura et al. 2011) 采用邻接法 (neighbor-joining method) 构建系统发育树 (Saitou et al. 1987), 自展 500 次评估节点置信度。

2 结果

2.1 外部形态

江西样本 (GZHU 18045) 体型较小, 体重 7.23 g, 前臂长 38.29 mm, 头体长 44.88 mm (表 1)。鼻孔朝上外方, 较短且扁平, 有明显的含腺鼻隆; 耳屏长 7.24 mm, 耳屏宽 3.49 mm。耳屏底部宽顶部窄呈现三角形, 长度约为耳长的一半且无耳突, 双耳内缘基部与额部相连, 外耳近似方形 (图 1a)。翼膜末端止于趾基部, 股间膜起始于踝关节, 具有距缘膜; 背毛黑棕色; 腹毛色与上体相近, 唯毛尖浅白色; 股间膜近腹侧处腹毛白色 (图 1a)。

2.2 头骨形态特征

头骨小而坚实, 颅全长为 14.53 mm (图 1b, 表 1); 头骨从吻端均匀上升, 颅顶点隆起不明显, 整体较为扁平; 颧弓纤细, 有矢状嵴与人字嵴, 但不明显 (图 1b), 听泡纤细 (图 1c)。齿式为 2.1.2.3/3.1.2.3 = 34; 上门齿发达,

门齿外尖高于内尖, 第 2 上门齿 (I^3) 小于第 1 上门齿 (I^2); 上犬齿明显, 缺乏齿尖, 第 1 上前白齿 (P^2) 稍小于第 2 上前白齿 (P^4), 第 2 上前白齿 (P^4) 较大, 其高度约为上犬齿 (C^1) 的一半; 第 1 上白齿 (M^1) 与第 3 上白齿 (M^3) 较小, 第 2 上白齿 (M^2) 较大, 宽度是第 3 上白齿 (M^3) 的 2 倍 (图 1d)。下门齿细小, 侧面观, 第 2 下白齿 (P_4) 小于下犬齿, 但宽度相似, 第 1 下白齿 (M_1)、第 2 下白齿 (M_2)、第 3 下白齿 (M_3) 高度一致, 且齿冠呈“W”形 (图 1e)。

2.3 鉴定结果

本研究江西样本 (GZHU 18045) 进行 DNA 提取与 PCR 扩增后, 成功扩增一条 1 140 bp *Cyt b* 基因序列与一条 957 bp *ND1* 基因序列。将获得的 *Cyt b* 与 *ND1* 基因序列与 NCBI 数据库中已有的亚洲宽耳蝠 *Cyt b* 与 *ND1* 基因序列分别构建系统发育树 (图 2a, b)。江西样本与亚洲宽耳蝠聚为高支持度的一支。同时, 从外形以及头骨特征上鉴定: 江西样本的外部形态指标与亚洲宽耳蝠相近, 且小于北京宽耳蝠 (表 1), 背部和腹部毛色呈黑色, 唯毛尖呈浅白色, 外耳廓呈近似方形且耳外缘无耳突, 并且齿式为 2.1.2.3/3.1.2.3 = 34 (图 1c)。故将本研究中的江西样本鉴定为亚洲宽耳蝠。

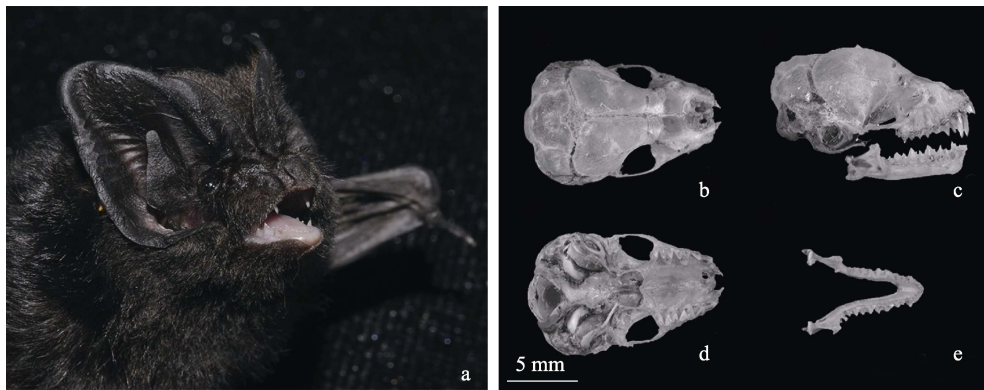


图 1 亚洲宽耳蝠的外形与头骨特征 (GZHU 18045)

Fig. 1 External and skull characteristics of *Barbastella leucomelas* (GZHU 18045)

a. 外部形态; b. 头骨背面; c. 头骨侧面; d. 头骨腹面; e. 下颌骨正面。

a. External of *Barbastella leucomelas*; b. Dorsal view of skull; c. Lateral view of skull; d. Ventral view of skull; e. Front view of mandible.

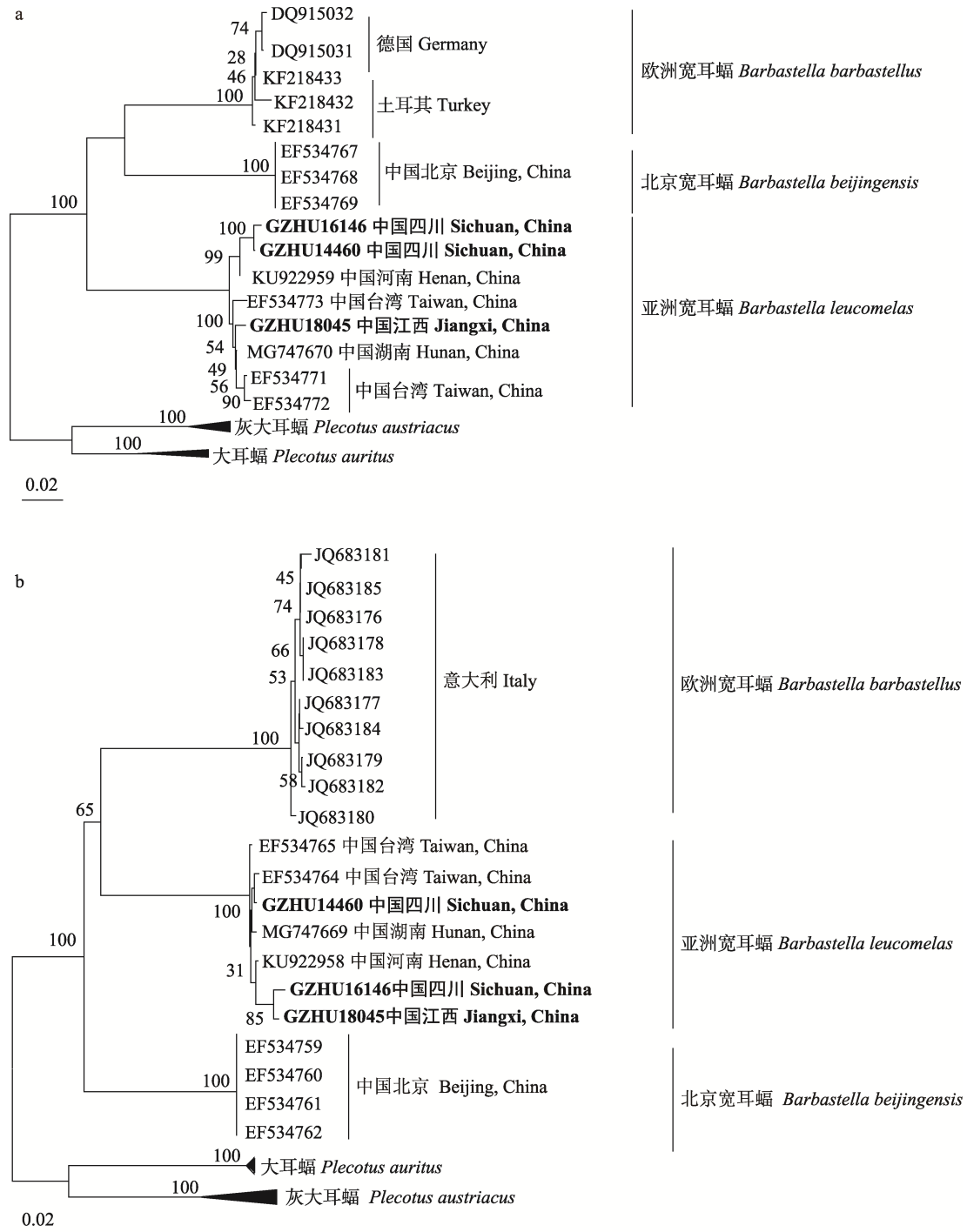


图 2 基于 Cyt b 基因 (a) ND1 基因 (b) 构建的亚洲宽耳蝠系统发生树

Fig. 2 Neighbor-joining trees based sequences of Cyt b (a) and ND1 (b)

各分支上的数字表示节点支持率；标尺代表分支长度；加粗字体代表本研究的样品。

The value on the node is bootstrap value through neighbor-joining method; scale represents the branch length; Bold sequences indicate samples of this study.

表 1 不同地区宽耳蝠样本的外形及头骨特征 (mm)

Table 1 External and skull measurements of *Barbastella leucomelas* from different locales (mm)

	亚洲宽耳蝠 <i>Barbastella leucomelas</i>						北京宽耳蝠 <i>Barbastella beijingensis</i>	
	本研究 This study			湖南 Hunan 吴涛等 2018 (♂)	河南 Henan 刘森等 2017 (♂)	台湾 Taiwan Zhang et al. 2007 (♂)	IOZ- BRG00054 Zhang et al. 2007 (♂)	IOZ- BRG00065 Zhang et al. 2007 (♂)
	江西 Jiangxi GZHU 18045 (♂)	四川卧龙 Sichuan GZHU 14460 (♂)	四川雅安 Sichuan GZHU 16146 (♂)					
头体长 Head and body length, HB	44.88	44.65	44.76	47.07	—	51.5	52.6	49.7
前臂长 Forearm length, FL	38.29	39.46	39.65	40.22	40.4	40.0	41.1	41.9
耳长 Ear length, EL	13.64	11.56	13.85	14.41	14.1	12.8	15.5	14.6
耳宽 Ear width, EW	12.06	11.26	12.31	11.98	12.0	11.9	12.8	9.8
耳屏长 Tragus length, TRL	7.24	7.09	7.01	7.15	6.9	6.9	6.9	7.4
耳屏宽 Tragus width, TRW	3.49	3.25	3.45	3.33	3.6	3.4	3.5	3.1
后足长 Hind-foot length, HF	7.27	7.28	7.30	6.98	7.3	6.5	7.9	6.2
胫骨长 Tibia length, TIL	18.41	18.74	18.12	17.81	20.6	18.1	19.1	23.1
尾长 Tail length, TL	44.33	44.78	44.53	43.10	46.3	—	47.7	32.7
颅全长 Greatest length of skull, GTL	14.53	15.16	14.85	14.49	14.9	14.6	15.7	15.2
枕犬长 Condylar length, CCL	13.41	13.64	13.36	13.28	13.8	13.7	14.5	14.2
眶间距 Interorbital width, IOW	3.78	3.96	3.88	4.03	3.9	3.8	3.9	4.1
脑颅宽 Breadth of braincase, BB	8.44	7.96	8.15	8.44	8.4	8.0	8.6	8.5
上齿列长 Maxillary tooth row length, C ¹ -M ³	4.76	4.60	4.39	4.64	4.9	5.0	4.7	4.9
上犬齿宽 Upper canine width, C ¹ -C ¹	3.75	3.69	3.51	3.50	3.9	3.7	4.3	4.0
上臼齿宽 Upper third molar width, M ³ -M ³	5.28	5.75	5.76	5.91	5.9	5.7	5.7	6.5
下齿列长 Mandibular tooth row length, C ₁ -M ₃	4.91	4.76	4.92	4.85	5.3	5.5	5.3	5.1
下颌长 Mandibular length, ML	9.12	9.70	9.30	9.63	9.6	9.4	9.9	9.5
听泡长 Length of tympanic bulla, LTB	2.97	3.22	—	3.24	3.1	3.2	2.9	3.0

“—”表示数据缺失。“—” indicating the data is absent.

3 讨论

亚洲宽耳蝠与北京宽耳蝠、欧洲宽耳蝠主要差异在于，欧洲宽耳蝠耳外缘具有纽扣状的耳突；北京宽耳蝠耳突为拱形的突起，而亚洲宽耳蝠不具备耳突。此外，亚洲宽耳蝠的耳部外缘褶皱和凹槽没有北京宽耳蝠明显 (Zhang et al. 2007)。本研究中的江西样本 (GZHU 18045) 形态和头骨特征与文献描述的亚洲宽耳蝠特征一致，耳呈方形具有明显的横嵴且无耳突。基于线粒体 *Cyt b* 和 *ND1* 基因构建的分子

进化树显示，江西样本与亚洲宽耳蝠聚为高支持度的一支 (图 2)。从形态数据看，江西样本头体长略小于湖南和台湾亚洲宽耳蝠样本，但稍大于四川亚洲宽耳蝠样本；耳屏宽和其他参数则与台湾、四川、湖南、河南四地亚洲宽耳蝠样本较接近 (表 1)。此外，江西样本各外部形态数据明显小于北京宽耳蝠样本 (IOZ-BRG00054、IOZ-BRG00065)；对于牙齿和头骨特征，江西样本与台湾、四川、湖南、河南亚洲宽耳蝠样本均非常相似，但小于北京宽耳蝠样本。因本次仅采集 1 号雄性样本，国内收

集的样本也十分有限, 目前只能确定本次江西采集到的样本为亚洲宽耳蝠, 对于与其他省份的亚洲宽耳蝠是否存在显著性差异或地理变异, 有待进一步研究。

亚洲宽耳蝠目前分布于我国内蒙古、新疆、甘肃、陕西、四川、重庆、云南、台湾 (Smith et al. 2009, 蒋志刚 2015)、河南 (刘森等 2017) 和湖南 (吴涛等 2018), 此前江西省尚未发现亚洲宽耳蝠的记录, 本记录不仅增加了江西省翼手目的丰富度, 同时也扩大了对该物种在我国的分布地域的认识。虽然该种类在我国分布较广泛, 但其相对密度较低, 难以发现, 尤其随着城市化的进程其栖息地也遭受一定程度的影响, 目前在 IUCN 中亚洲宽耳蝠已经被认定为易危物种 (蒋志刚等 2016), 需加强对该物种及其栖息地调查与保护。

致谢 本次野外调查及实验期间, 承蒙广州大学研究生胡宜峰在实验分析给予支持和帮助, 感谢广州大学研究生黎舫和岳阳同学及江西省武夷山自然保护区的工作人员在野外采集标本, 在此以表示诚挚的谢意。

参 考 文 献

- Drummond A J, Ashton B, Buxton S, et al. 2011. Geneious v5.6. [CP/OL]. [2016-08-01]. <http://www.geneious.com/>.
- Edgar R C. 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32(5): 1792–1797.
- Saitou N, Nei M. 1987. The Neighbor-Joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4(4): 406–425.
- 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.
- 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 & Evolution*, 28(10): 2731–2739.
- Zhang J S, Han N J, Jones G, et al. 2007. A new species of *Barbastella* (Chiroptera: Vespertilionidae) from north China. *Journal of Mammalogy*, 88(6): 1393–1403.
- 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, 123.
- 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.
- 刘森, 薛茂盛, 戴文涛, 等. 2017. 河南济源发现亚洲宽耳蝠. 动物学杂志, 52(1): 122–128.
- Smith A T, 解焱. 2009. 中国兽类野外手册. 长沙: 湖南教育出版社, 311.
- 吴涛, 黄太福, 龚小燕, 等. 2018. 湖南省永顺县发现亚洲宽耳蝠. 动物学杂志, 53(3): 339–346.
- 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.