

# 浙江庆元发现长肢林蛙

赵玉瑞<sup>①②</sup> 朱滨清<sup>②</sup> 高朔<sup>②</sup> 王乐<sup>②</sup> 吴延庆<sup>②\*</sup>

① 南京师范大学 南京 210023; ② 生态环境部南京环境科学研究所 南京 210042

**摘要:** 2022年10月在浙江省庆元县贤良镇采集到5只林蛙属(*Rana*)雌性个体,经形态和分子系统发育分析鉴定为长肢林蛙(*R. longicrus*),是浙江省两栖动物分布新记录种。所采集的5只长肢林蛙个体体长40.4~55.2 mm,头长大于头宽,肩部上方由数个疣粒隐约组成“八”字形黑斑;背侧褶明显,与胯部相连;四肢背面具黑褐色横纹,后肢前伸贴体时胫跗关节超过吻端,形态特征与地模标本基本一致。基于线粒体16S rRNA基因片段进行系统发育分析表明,该蛙与模式产地中国台湾的长肢林蛙序列聚成单系支,且遗传距离小于0.005%。此前记录的长肢林蛙仅分布于我国台湾、广东、福建、江西等地,长肢林蛙在浙江省庆元县的分布为浙江首次记录,这提示该蛙有更广的分布范围。

**关键词:** 长肢林蛙; 浙江省; 庆元县; 新记录种

中图分类号: Q959 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263 (2023) 04-607-08

## Long-Legged Brown Frog *Rana longicrus* Found in Qingyuan, Zhejiang

ZHAO Yu-Rui<sup>①②</sup> ZHU Bin-Qing<sup>②</sup> GAO Shuo<sup>②</sup> WANG Le<sup>②</sup> WU Yan-Qing<sup>②\*</sup>

① Nanjing Normal University, Nanjing 210023; ② Nanjing Institute of Environmental Sciences,

Ministry of Ecology and Environment of the People's Republic of China, Nanjing 210042, China

**Abstract:** During the investigation on amphibians in October 2022, 5 female specimens of *Rana* (Anura: Ranidae) were collected from Xianliang Town, Qingyuan County, Zhejiang Province, China. We compared their features by morphology and phylogeny and identified them as *R. longicrus*. This represents the first record of this species in Zhejiang Province. 5 female samples collected from Qingyuan County were measured with electronic vernier calipers. The measurements were: snout-vent length, head length, head width, snout length, internasal space, interorbital space, diameter of eye, length of lower arm and hand, tibia length, foot length, and hindlimb length. We compared these morphological characteristics with the specimens from Fujian, Jiangxi, Guangdong, and Taiwan, China. In this study, phenol/chloroform extraction was used to extract genomic DNA from the hindlimb muscle tissue of Brown Frogs collected in Qingyuan County, Zhejiang Province. 16S rRNA gene was amplified, and the primers were 5'-CGC CTG TTT ACC AAA AAC AT-3' and

**基金项目** 国家自然科学基金项目(No. 32001111), 庆元县生物多样性保护与可持续项目-生态系统和生物资源本底调查与评估;

\* 通讯作者, E-mail: wyq0710308@126.com;

**第一作者介绍** 赵玉瑞, 女, 硕士研究生; 研究方向: 生态学; E-mail: zhaoyr0923@126.com。

收稿日期: 2022-12-09, 修回日期: 2023-05-04 DOI: 10.13859/j.cjz.202304013

5'-CCG GTC TGA ACT CAG ATC ACG T-3'. Based on 16S rRNA gene fragments, we used MrBayes-3.1.2 to construct Bayesian tree for phylogenetic analysis and used *p*-distance in MEGA 7 to calculate the genetic distance between species of *Rana*. All the new sequences in this research have been uploaded to the GenBank database. The 16S rRNA sequences of 16 species of *Rana* distributed in East China and *Glandirana tientaiensis* were obtained from GenBank (Table 2). The morphological characteristics are consistent between the specimens collected in this study and the topotype of *R. longicrus*. Our specimens have a medium snout-vent length (40.4 to 55.2 mm); head length is larger than the head width; some sparse granules can form a V-shaped figure on the shoulder; dorsolateral fold obvious and connect with the crotch; arms and legs with dark brown bands; tibiotarsal articulation beyond snout. In addition, the Bayesian analyses based on 16S rRNA strongly support the specimens we collected form a monophyletic clade with the topotype specimens (Fig 2), and the genetic distance is less than 0.005% between our specimens and topotype (Table 3). The specimens collected in Qingyuan County are determined to be *R. longicrus*, which is the first record of this species in Zhejiang Province. In this study, we further updated the distribution range of *R. longicrus*.

**Key words:** *Rana longicrus*; Zhejiang Province; Qingyuan County; New record

庆元县位于浙江丽水西南部，境内崇山峻岭，属武夷山系洞宫山脉，主峰位于浙江凤阳山-百山祖国家级自然保护区。因地处我国东南沿海地带，受海洋性气候和季风的影响较大，属亚热带型气候。境内四季分明，温暖湿润，拥有丰富的生物资源，与福建、江西部分地区一并被纳入武夷山生物多样性保护优先区域（吉晟男等 2021）。目前该优先区内，仅浙江省未有关于长肢林蛙（*Rana longicrus*）的报道，省内仅有镇海林蛙（*R. zhenhaiensis*）和寒露林蛙（*R. hanluica*）两种林蛙属物种分布的记录（章旭日等 2020）。

2022年10月11日至19日在浙江省庆元县贤良镇采集到5只林蛙的雌性个体，经鉴定均为长肢林蛙，隶属于无尾目蛙科（Ranidae）林蛙属。该种的模式产地在中国台湾省台北市（Stejneger 1898）。2011年10月，胡诗佳等（2012）在广东古田省级自然保护区采集到长肢林蛙，标志着该物种在中国大陆也存在分布；2018年6月，吴延庆等（2019）在江西省永丰县、福建省明溪县和武夷山市均发现该物种。最新的文献尚未报道浙江省有长肢林蛙的分布记录（章旭日等 2020），本次在浙江庆元贤良

镇发现的长肢林蛙为浙江省的两栖动物分布新记录种。

本文就浙江记录的长肢林蛙分别从形态特征、系统发育关系、生活习性等方面进行描述，并对其分布区域变化进行讨论，为该种的地理分布和生态学研究提供参考。标本保存于生态环境部南京环境科学研究所的国家环境保护生物多样性与生物安全重点实验室，标本编号为2022AMZJQY001~2022AMZJQY005。

## 1 形态特征

标本形态指标的描述和量度均参考费梁等（2010）测量，形态数据见表1。

### 1.1 皮肤与体色

皮肤较光滑，背部和体侧散有不明显的疣粒，股后侧疣粒较明显。背侧褶细窄，清晰可见（图1a），由眼后延伸至胯部，腹部皮肤光滑。生活时雌蛙体背棕红色或赤褐色；两眼之间有不明显的灰黑色横斑，肩部上方由数个疣粒隐约组成“八”字形黑斑；四肢背面黑褐色横纹明显（图1b）；腹面白色，杂有浅黑色斑，胸部两侧隐约有砖红色浅斑，股下方呈肉色（图1c）。

表1 浙江庆元县贤良镇长肢林蛙的量度(单位: mm)

Table 1 Measurements of *Rana longicrus* specimens from Xianliang Town, Qingyuan County, Zhejiang Province, China (Unit: mm)

形态指标 Morphologic indexes (mm)	标本编号 Specimen number				
	2022AMZJQY001 (♀)	2022AMZJQY002 (♀)	2022AMZJQY003 (♀)	2022AMZJQY004 (♀)	2022AMZJQY005 (♀)
头体长 Snout-vent length	55.16	52.36	42.98	40.38	54.39
头长 Head length	21.34	17.99	14.97	14.73	19.06
头宽 Head width	14.39	13.55	10.27	10.72	13.91
吻长 Snout length	7.65	7.09	5.46	5.87	7.23
鼻间距 Internasal space	3.87	3.46	2.91	2.49	3.32
眼间距 Interorbital space	4.42	4.12	3.69	3.15	4.03
眼径 Diameter of eye	6.78	6.40	5.20	4.01	5.69
前臂及手长 Length of lower arm and hand	22.71	21.58	17.67	19.42	25.33
胫长 Tibia length	34.56	31.55	23.51	24.15	32.01
足长 Foot length	32.98	31.08	24.39	24.55	32.10
后肢长 Hindlimb length	109.44	101.33	79.37	76.76	101.73



图1 浙江庆元贤良镇发现的长肢林蛙(标本号: 2022AMZJQY004, 朱滨清摄)

Fig. 1 *Rana longicrus* (2022AMZJQY004) found in Xianliang Town, Qingyuan County, Zhejiang Province (Photo by ZHU Bin-Qing)

a. 侧面; b. 背面; c. 腹面; d. 正面; e. 手部腹面; f. 足部腹面。

a. Flank view; b. Dorsal view; c. Ventral view; d. Frontal view; e. Ventral view of hand; f. Ventral view of foot.

## 1.2 形态学度量

采集的5只个体均为雌蛙, 头体长40.38~55.16 mm, 头长大于头宽; 吻长且吻端钝尖, 突出于下唇; 吻棱不明显; 颊部向外倾斜; 瞳

孔横置(图1d), 眼径大于眼间距, 眼间距大于鼻间距; 犁骨齿明显, 呈两斜团, 位于内鼻孔前缘连线的后方; 无声囊。

指长顺序: II、I、IV、III; 指端略膨大;

指间蹼迹不明显(图 1e); 指关节下瘤明显, 圆形; 掌突 3 个, 内掌突大, 呈椭圆形; 外掌突明显, 亦呈椭圆形。

趾长顺序: I、II、III、V、IV; 趾端略膨大, 腹侧无沟; 趾间蹼较弱, 蹼缘缺刻较深(图 1f); 趾间蹼约 1/3~1/2 蹼, 蹼式为: I  $1\frac{1}{2}$  - 2 II  $1\frac{1}{3}$  - 2  $\frac{2}{3}$  III 2 - 3  $\frac{1}{2}$  IV  $3\frac{1}{3}$  - 1  $\frac{1}{2}$  V; 趾关节下瘤发达, 椭圆形; 跖突 3 个, 内跖突大, 呈长椭圆形; 外跖突弱小。

四肢细长, 前臂及手长 17.67~25.33 mm; 肱长略大于足长; 后肢长 76.76~109.44 mm, 前伸贴体时胫跗关节超过吻端。

## 2 系统发育树

本研究采用苯酚/氯仿抽提法提取采集于浙江庆元县的林蛙后肢肌肉组织的基因组 DNA。使用特异性引物 5'-CGC CTG TTT ACC AAA AAC AT-3' 和 5'-CCG GTC TGA ACT

CAG ATC ACG T-3'扩增其 16S rRNA 基因序列(Simon et al. 1994)。PCR 反应参数如下: 98 °C 预热 2 min; 98 °C 变性 10 s, 56 °C 退火 10 s, 72 °C 延伸 20 s, 进行 30 个循环; 最后 72 °C 延伸 5 min。PCR 产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测条带是否单一, 有无拖带, 最后 PCR 产物由北京擎科生物科技有限公司测序。

经测序比对, 共得到 5 条有效片段长度为 503 bp 的 16S rRNA 基因序列, 并将其上传至 GenBank 数据库(表 2)。另从 GenBank 获取林蛙属 16 种和天台粗皮蛙(*Glandirana tientaiensis*, KF185063)模式产地样本的 16S rRNA 序列(表 2), 用 MrModeltest 计算并选择 GTR + G 为最优核苷酸替代模型, 以天台粗皮蛙为外群构建贝叶斯树。本研究采集的 5 只林蛙样本序列与长肢林蛙聚为一支, 支持率达 0.99(图 2)。用 *p*-distance 计算 5 只林蛙样本与其他已公布林蛙属物种序列之间的遗传距离, 5 只林蛙样本与长肢林蛙的遗传距离均小于 0.005%(表 3)。

表 2 本研究所用的分子样品和序列信息

Table 2 Molecular samples and sequences in this study

物种 Species	产地 Locality	基因序列号 GenBank No.
本研究样本 This study		
长肢林蛙 <i>Rara longicrus</i>	中国浙江庆元 Qingyuan, Zhejiang, China 中国江西三百山 Mt. Sanbai, Jiangxi, China 中国福建牙梳山 Mt. Yashu, Fujian, China 中国台湾台北 Taipei, Taiwan, China 中国山东徂徕山 Mt. Culai, Shandong, China 中国浙江镇海 Zhenhai, Zhejiang, China 中国广西猫儿山 Mt. Maoer, Guangxi, China 中国安徽霍山 Huoshan, Anhui, China 中国江西官山 Mt. Guanshan, Jiangxi, China 中国四川昭觉 Zhaojue, Sichuan, China 日本千叶 Chiba, Japan 中国四川洪雅 Hongya, Sichuan, China 中国福建南平 Nanping, Fujian, China 中国青海共和 Gonghe, Qinghai, China 中国陕西户县 Huxian, Shaanxi, China 俄罗斯滨海边疆区 Primorye, Russia 中国台湾高雄 Kaohsiung, Taiwan, China 韩国 South Korea 中国四川威宁 Weining, Sichuan, China 中国浙江天目山 Mt. Tianmu, Zhejiang, China	OP942218 - OP942222 MT408986 MT408987 AB058881 MT409006 KX269218 KX269191 MF172963 MT408985 KX269192 KX269220 KX269206 MZ337980 KX269185 KX269186 KX269188 KX269204 KX269202 KX269217 KF185063
徂徕林蛙 <i>R. culaiensis</i>		
镇海林蛙 <i>R. zhenhaiensis</i>		
寒露林蛙 <i>R. hanluica</i>		
大别山林蛙 <i>R. dabieshanensis</i>		
九岭山林蛙 <i>R. jiulingensis</i>		
昭觉林蛙 <i>R. chaochiaoensis</i>		
日本林蛙 <i>R. japonica</i>		
明全蛙 <i>R. zhengi</i>		
武夷林蛙 <i>R. wuyiensis</i>		
高原林蛙 <i>R. kukunoris</i>		
中国林蛙 <i>R. chensinensis</i>		
东北林蛙 <i>R. dybowskii</i>		
梭德氏蛙 <i>R. sauteri</i>		
韩国林蛙 <i>R. coreana</i>		
威宁蛙 <i>R. weiningensis</i>		

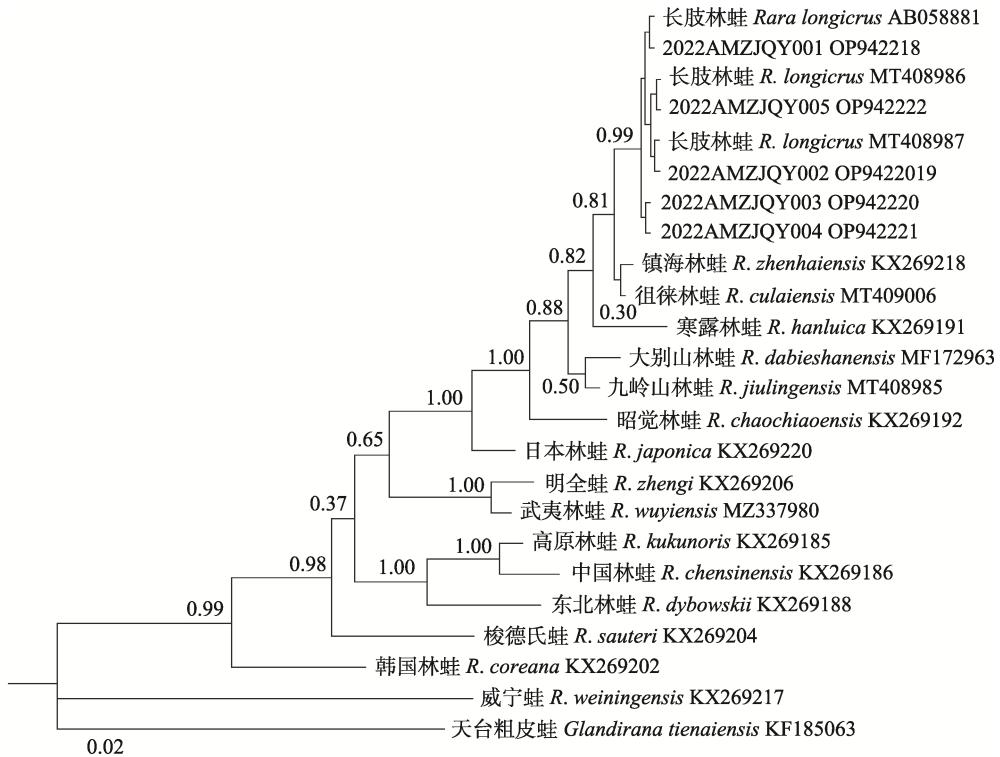


图 2 基于 16S rRNA 503 bp 序列构建的林蛙属部分物种贝叶斯树

**Fig. 2** Bayesian inference tree of genus *Rara* based on mitochondrial 16S rRNA 503 bp gene sequences

分支上的数值代表贝叶斯树的后验概率值；标尺代表替换率/位点；本研究的样本以标本号给出。

Numbers above the nodes show posterior probabilities. The scale plate represents substitutions/site. The specimens in this study are given as specimen number.

### 3 生活习性

样本均采集于浙江省庆元县贤良镇(119°13'10" ~ 119°15'39" E, 27°38'56" ~ 27°37'39" N, 海拔 583 ~ 1 074 m), 栖息地环境均为种植水稻的农耕区。本次采集的 4 只长肢林蛙发现于田埂附近的杂草丛中, 另 1 只发现于水渠边。

白天该蛙多藏匿于稻田、水坑等水草丰盛或其附近灌丛茂密的地方。夜晚活动频繁，常蹲于附近有水的田埂上或伏在水域附近植被的宽大叶片上，主要捕食农业昆虫及其他小型节肢动物。本次调查发现与之同域共栖的两栖动物还有泽陆蛙（*Fejervarya multistriata*）、饰纹姬蛙（*Microhyla fissipes*）和黑斑侧褶蛙（*Pelophylax nigromaculatus*）。

## 4 讨论

将本研究样本的形态数据与《中国动物志》(费梁等 2009)资料记载长肢林蛙相比,前者头长与头体长之比(35.9%)大于后者(30.3%),头宽与头体长之比(25.6%)小于后者(28.2%);前臂及手长与头体长之比(43.6%)、胫长与头体长之比(59.3%)、后肢长与头体长之比(190.8%)均略小于后者。与其他产地的长肢林蛙相比,采集于浙江庆元县的长肢林蛙的头长与头体长之比最大;头宽与头体长之比、前臂及手长与头体长之比均略小于其他产地(表 4)。此形态上的差异可能是由于采集于庆元县贤良镇的长肢林蛙标本数量有限,是否为地理种群间的差异,还有待更多标本数据来论证。

表3 基于16S rRNA基因计算的林蛙属各物种间的遗传距离

Table 3 The pairwise uncorrected *p*-distance (%) of 16S rRNA gene between species of *Rana*

物种 Species	1 - 5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
1 - 5 本研究样本 This study																			
6 长肢林蛙 <i>Rana longicrus</i> (江西 Jiangxi)	0.00																		
7 长肢林蛙 <i>R. longicrus</i> (福建 Fujian)	0.00	0.00																	
8 长肢林蛙 <i>R. longicrus</i> (中国台湾 Taiwan, China)	0.00	0.00	0.00																
9 徒徐林蛙 <i>R. culaensis</i>	0.60	0.60	0.60	0.60															
10 镇海林蛙 <i>R. zhenhaiensis</i>	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80														
11 寒露林蛙 <i>R. hanluica</i>	2.61	2.61	2.61	2.61	2.61	2.00	2.20												
12 大别山林蛙 <i>R. dabieshanensis</i>	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	1.40	1.60	2.40											
13 九岭山林蛙 <i>R. jiulingensis</i>	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	1.40	1.60	2.40	1.20										
14 昭觉林蛙 <i>R. chaochaoensis</i>	3.61	3.61	3.61	3.61	3.01	3.21	3.61	3.21	2.61										
15 日本林蛙 <i>R. japonica</i>	4.01	4.01	4.01	4.01	4.01	3.41	3.61	4.61	4.01	3.21	3.21								
16 明金蛙 <i>R. zhengi</i>	5.41	5.41	5.41	5.41	5.41	5.21	5.41	6.01	5.81	5.41	6.61	5.01							
17 武夷林蛙 <i>R. wuyiensis</i>	5.81	5.81	5.81	5.81	5.81	5.21	5.01	6.01	5.81	5.41	6.21	4.61	1.40						
18 高原林蛙 <i>R. kulanoris</i>	7.21	7.21	7.21	7.21	7.21	7.01	7.21	7.82	8.02	6.81	7.62	6.01	5.61	5.21					
19 中国林蛙 <i>R. chensinensis</i>	7.21	7.21	7.21	7.21	7.21	7.01	7.21	7.82	8.02	7.21	7.21	6.41	6.81	6.41	2.00				
20 东北林蛙 <i>R. dybowskii</i>	6.81	6.81	6.81	6.81	6.81	6.21	6.41	6.61	7.21	6.81	7.21	6.01	6.81	6.41	4.61	5.01			
21 棱德氏蛙 <i>R. sauteri</i>	6.21	6.21	6.21	6.21	6.01	6.21	6.81	7.21	6.81	6.81	5.81	6.01	5.61	5.81	6.41	6.21			
22 韩国林蛙 <i>R. coreana</i>	6.81	6.81	6.81	6.81	7.01	7.21	7.82	7.21	7.41	8.42	7.41	6.81	6.81	6.21	6.61	6.81	7.01		
23 威宁蛙 <i>R. weiningensis</i>	12.22	12.22	12.22	12.22	12.63	13.03	12.42	11.82	12.63	11.62	11.42	12.02	12.42	13.83	12.83	11.82	11.82		

表4 长肢林蛙浙江、台湾、福建、江西及广东种群形态量度(单位: mm)

**Table 4** Morphometric measurements of *Rana longicrus* in Zhejiang, Taiwan, Fujian, Jiangxi, and Guangdong (Unit: mm)

长肢林蛙此前仅记录分布在我国台湾(Stejneger 1898)、广东(胡诗佳等 2012)、江西和福建(吴延庆等 2019)等地,当前新增记录地点为浙江省庆元县贤良镇。这提示长肢林蛙有更广的分布范围,与镇海林蛙可能有分布区重叠。

庆元县是浙西南山区植被完整度最高的地区之一,近年来随着生物多样性调查工作的深入,越来越多的两栖动物新种和新分布记录在浙西南地区不断被发现,例如丽水角蟾(*Boulenophrys lishuiensis*)(王聿凡等 2017)、丽水树蛙(*Zhangixalus lishuiensis*)(刘宝权等 2017)、寒露林蛙(金伟等 2017)、百山祖角蟾(*B. baishanzuensis*)(Wu et al. 2020)、橙脊瘰螈(*Paramesotriton aurantius*)(刘日林等 2019)等,因此该地区的生物多样性水平此前被严重低估,建议未来可通过调查范围更广、调查力度更强的生物资源科学考察,进一步摸清浙西南地区的生物多样性本底。

**致谢** 生态环境部南京环境科学研究所吴军研究员审阅初稿,并提出宝贵建议,中南林业科技大学李媛参与部分野外调查工作,在此一并致谢!

## 参 考 文 献

- Simon C, Frati F, Beckenbach A, et al. 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. Annals of the Entomological Society of America, 87(6): 651–701.
- Stejneger L. 1898. On a collection of batrachians and reptiles from Formosa & adjacent islands. The Journal of the College of Science, Imperial University of Tokyo, Japan, 12(3): 215–224.
- Wu Y Q, Li S Z, Liu W, et al. 2020. Description of a new horned toad of *Megophrys* Kuhl & Van Hasselt, 1822 (Amphibia, Megophryidae) from Zhejiang Province, China. ZooKeys, 1005: 73–102.
- 费梁, 胡淑琴, 叶昌媛, 等. 2009. 中国动物志: 两栖纲 下卷 无尾目. 北京: 科学出版社, 985–989.
- 费梁, 叶昌媛, 江建平. 2010. 中国两栖动物彩色图鉴. 成都: 四川科学技术出版社.
- 胡诗佳, 翁锦泗, 李东洋, 等. 2012. 广东省两栖动物新纪录——长肢林蛙. 动物学杂志, 47(4): 139–142.
- 吉晟男, 崔绍朋, 邓怀庆, 等. 2021. 生物多样性保护优先区抽样调查策略研究——以武陵山地区为例. 生态学报, 41(24): 9604–9612.
- 金伟, 王聿凡, 蒋珂, 等. 2017. 浙江省发现两栖纲寒露林蛙(无尾目: 蛙科). 动物学杂志, 52(6): 1048–1052.
- 刘宝权, 王聿凡, 蒋珂, 等. 2017. 中国浙江发现树蛙属一新种(两栖纲: 树蛙科). 动物学杂志, 52(3): 361–372.
- 刘日林, 周佳俊, 刘凯怡, 等. 2019. 浙江省望东垟高山湿地发现橙脊瘰螈(有尾目: 疣螈科). 动物学杂志, 54(1): 117–122.
- 王聿凡, 刘宝权, 蒋珂, 等. 2017. 中国浙江省发现异角蟾属一新种(两栖纲: 角蟾科). 动物学杂志, 52(1): 19–29.
- 吴延庆, 陈巧尔, 陈智强, 等. 2019. 江西永丰发现长肢林蛙. 动物学杂志, 54(3): 454–456.
- 章旭日, 王珺, 侯楚, 等. 2020. 浙江省两栖动物物种现状及区系分析. 野生动物学报, 41(3): 781–790.