

贵州榕江发现井冈两头蛇

张天佑^① 徐宇浩^{①②} 龚宴安^③ 韦海潇^④ 翁仕洋^⑤ 彭丽芳^{①*}

① 青海大学省部共建三江源生态与高原农牧业国家重点实验室 西宁 810016; ② 安徽农业大学生命科学学院 合肥 230036; ③ 生物资源保护和利用安徽省重点实验室, 安徽师范大学生命科学学院 芜湖 241000; ④ 中国科学技术大学工程科学学院 合肥 230026; ⑤ 西藏自治区高原生物研究所 拉萨 850008

摘要: 2023年6月,在贵州省黔东南苗族侗族自治州榕江县采集到两头蛇属(*Calamaria*)物种1号雄性个体,标本具有以下形态学特征:背鳞13-13-13行,光滑;尾末端背鳞数为5行;上唇鳞4枚,下唇鳞5枚;眶前鳞1枚,眶后鳞1枚;颌片2对,后颌片间接触广泛;腹鳞158枚,尾下鳞20对。生活时头、体背面褐色,具5条细的黑褐色纵线纹,最外侧两行背鳞橙红色,体、尾腹面均匀橙红色。榕江县采集的标本与井冈两头蛇(*C. jinggangensis*)原始描述中提供的形态学鉴定依据相符。线粒体Cyt b基因序列分析显示,本次采集的标本与已知井冈两头蛇样本的遗传距离约为0.85%。综合形态特征比较和系统发育分析,鉴定此次采集的两头蛇属标本为井冈两头蛇,为贵州省爬行动物分布新记录种。

关键词: 贵州省; 井冈两头蛇; 新记录种

中图分类号: Q959 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2024) 04-613-06

Calamaria jinggangensis Found in Rongjiang County, Guizhou, China

ZHANG Tian-You^① XU Yu-Hao^{①②} GONG Yan-An^③ WEI Hai-Xiao^④
WENG Shi-Yang^⑤ PENG Li-Fang^{①*}

① State Key Laboratory of Plateau Ecology and Agriculture, Qinghai University, Xining 810016;

② School of Life Sciences, Anhui Agricultural University, Hefei 230036; ③ Anhui Province Key Laboratory of the Conservation and Exploitation of Biological Resource, College of Life Sciences, Anhui Normal University, Wuhu 241000;

④ School of Engineering Science, University of Science and Technology of China, Hefei 230026;

⑤ Institute of Plateau Biology of Tibet Autonomous Region, Lhasa 850008, China

Abstract: *Calamaria jinggangensis* was described from Jiangxi Province, China by Cai et al. 2023, based on 5 road-killed specimens. In June 2023, one male snake specimen of the genus *Calamaria* was collected in Rongjiang County, Qianzhongnan Miao and Dong Autonomous Prefecture, Guizhou Province, China (26°06'48" N, 108°38'01" E, altitude 1 080 m) during a field survey. After external morphological (Fig. 1, 2)

基金项目 省部共建三江源生态与高原农牧业国家重点实验室自主课题 (No. 2023-ZZ-08);

* 通讯作者, E-mail: lifang@qhu.edu.cn;

第一作者介绍 张天佑, 男, 本科生; 研究方向: 两栖爬行动物学; E-mail: 2277495866@qq.com。

收稿日期: 2023-09-11, 修回日期: 2023-11-18 DOI: 10.13859/j.cjz.202423173

and morphometric measurements examination, the specimen from Rongjiang County was similar to *C. jinggangensis*. Molecular phylogenetic analyses revealed that the uncorrected pairwise distances (*p*-distance) between the specimen and *C. jinggangensis* were about 0.85% (Table 1). The new discovery in the present study was the first record of *C. jinggangensis* in Guizhou Province, China, which expands the distribution area, and enriches the morphological data of the species.

Key words: Guizhou Province; *Calamaria jinggangensis*; New record

两头蛇属 (*Calamaria*) 是一类广泛分布于中国、日本及东南亚地区的小型穴居无毒蛇类。目前包含 68 种, 我国仅分布 6 种 (Uetz et al. 2022, Yeung et al. 2022, Cai et al. 2023, 张鹤等 2023)。2023 年 6 月, 于贵州省黔东南苗族侗族自治州榕江县 (26°06'48" N, 108°38'01" E, 海拔 1 080 m) 采集到 1 号雄性两头蛇属个体。经过形态特征比较及分子系统发育分析, 鉴定所采集的两头蛇属标本为井冈两头蛇 (*C. jinggangensis*), 为贵州省蛇类分布新记录种。

1 材料与方法

1.1 标本采集与形态鉴定和测量

采集于贵州省榕江县的 1 号标本为雄性 (标本号 LFR2023028), 存放于青海大学标本馆。用 0.7% 鱼安定 (MS222, 江苏常茂生物化学工程股份有限公司) 对所采集的个体进行安乐死后, 提取新鲜的肝和肌肉组织保存在 95% 酒精中, 整体标本在 10% 福尔马林溶液中固定 1 d, 随后转移到 75% 酒精中永久保存。标本测量以及鳞片计数依据《中国蛇类》(赵尔宓 2006) 和《中国蛇类图鉴》(黄松 2021)。头体长和尾长使用卷尺 (精度 1 mm) 测量, 头长、头宽和头高使用电子游标卡尺 (德国美纳特不锈钢数显卡尺, 量程 0 ~ 150 mm, 精度 0.01 mm) 测量。鳞片计数了上唇鳞、下唇鳞、眶上鳞、眶前鳞、眶后鳞、鼻鳞、颌片、背鳞行数、腹鳞、尾下鳞和肛鳞; 同时记数了上颌齿数量。

1.2 分子数据及系统发育树的构建

使用血液/细胞/组织基因组提取试剂盒 (北京天根生化科技有限公司) 从肝组织中提

取基因组 DNA, 使用蛇类通用线粒体 DNA Cyt *b* 引物 (Burbrink et al. 2000) 扩增 Cyt *b* 基因片段, 引物序列为 Cyt *b* L14910 (5'-GAC CTG TGA TMT GAA AAC CAY CGT TGT-3', 引物序列中的 M 代表 A/C, Y 代表 C/T) 和 Cyt *b* H16064 (5'-CTT TGG TTT ACA AGA ACA ATG CTT TA-3')。PCR 反应条件为, 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 30 s, 52 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 60 s, 35 个循环; 72 °C 终末延伸 7 min。PCR 产物由上海迈浦生物科技有限公司测序。原始序列使用 DNASTar 软件进行编辑拼接 (Burland 2000), 新获得的序列上传至 GenBank 数据库。

从 GenBank 中下载了两头蛇属 11 个已知物种的 12 条 Cyt *b* 序列并纳入系统发育分析, 选择盐边腹链蛇 (*Hebius yanbianensis*) 作为外群。使用 MEGA X 软件中的 *p*-distance 计算两头蛇属物种间的遗传距离 (Kumar et al. 2018)。在 RaxML 7.2.6 软件 (Stamatakis 2008) 中构建最大似然树 (maximum likelihood, ML)。

2 结果

2.1 形态特征及描述

本次采集标本 LFR2023028 为亚成年雄性 (图 1, 2), 全长 260.1 mm, 头体长 221.2 mm, 尾长 38.9 mm。头部稍扁圆, 与颈区分不明显, 头长 8.68 mm, 头宽 5.18 mm; 上颌齿 9 枚; 鼻鳞完整, 鼻孔小, 位于鼻鳞中部; 眶上鳞 1; 眶前鳞 1, 与眶后鳞几乎等长; 眶后鳞 1; 顶鳞长, 与眶上鳞、眶后鳞、上唇鳞相切; 上唇鳞 4 枚, 第 2 和 3 枚入眶, 第 4 枚最大; 下唇鳞 5 枚, 前 3 枚与第一对颌片接触; 颌片 2 对,



图 1 采自贵州榕江县的井冈两头蛇 (LFR2023028, 亚成年雄性)

Fig. 1 *Calamaria jinggangensis* collected from Rongjiang, Guizhou Province (LFR2023028, subadult male)



图 2 采自贵州榕江县的井冈两头蛇标本

Fig. 2 Specimen of *Calamaria jinggangensis* from Rongjiang, Guizhou Province

a. 头右侧; b. 头左侧; c. 头背面; d. 头腹面; e. 体侧面; f. 尾腹面; g. 体腹面。

a. Right latera view of head; b. Left latera view of head; c. Dorsal view of head; d. Ventral view of head; e. Latera view of body; f. Ventral view of the tail; g. Ventral view of body.

前颌片明显长于后颌片，后颌片间接触广泛；背鳞 13-13-13 行，平滑；尾前段较均匀，未明显变细，末端突然变细，尾末端背鳞数为 5 行；腹鳞 158 枚；尾下鳞 20 对；肛鳞完整。

生活时头背面以褐色为主，具稍大的黑褐色不规则斑点；斑点约成 5 不规则行，与体背的纵线纹相连（图 1）。头腹面浅橙色，第 3~5 枚下唇鳞的中央各具 1 枚不规则黑褐色小斑点。体背面灰褐色，有金属光泽，具 5 条细的黑褐色纵线纹，由头部延伸至尾末端，最外侧两条纵线纹稍粗且明显；颈部具一个模糊的浅卡其色横斑，横斑在中间断开；背鳞最外侧两行橙红色，第二行背鳞上缘黑褐色；尾背面仅左侧近尾基部具一不规则浅色斑点。体、尾腹面均匀橙红色，腹鳞最外侧橙红色，体、尾腹面无黑色斑点或线纹。

2.2 分子系统发育关系和遗传距离

成功测序了标本（标本号 LFR2023028，

GenBank 登录号 OR529438）线粒体 *Cyt b* 基因序列，有效片段长度 1 060 bp。最大似然系统发育树（图 3）显示，贵州榕江县所采的两头蛇标本与井冈两头蛇模式产地江西吉安市的标本聚为一支（支持率为 97），并与岭南两头蛇（*C. arcana*）构成姐妹支系（支持率为 91）。贵州的样本与模式产地江西吉安的两头蛇样本遗传距离（*p*-distance）为 0.85%（表 1），远小于与属内其他物种间遗传距离（5.4% ~ 22.3%）。因此，分子系统发育关系和遗传距离结果均支持采集于贵州榕江的两头蛇标本为井冈两头蛇。

3 讨论

本次贵州采集的标本外部形态与井冈两头蛇模式标本基本一致，但存在如下差异：贵州的井冈两头蛇腹鳞数量较少，仅 158 枚（vs. 179 枚）；尾末端背鳞数为 5 行（vs. 尾末端背鳞数

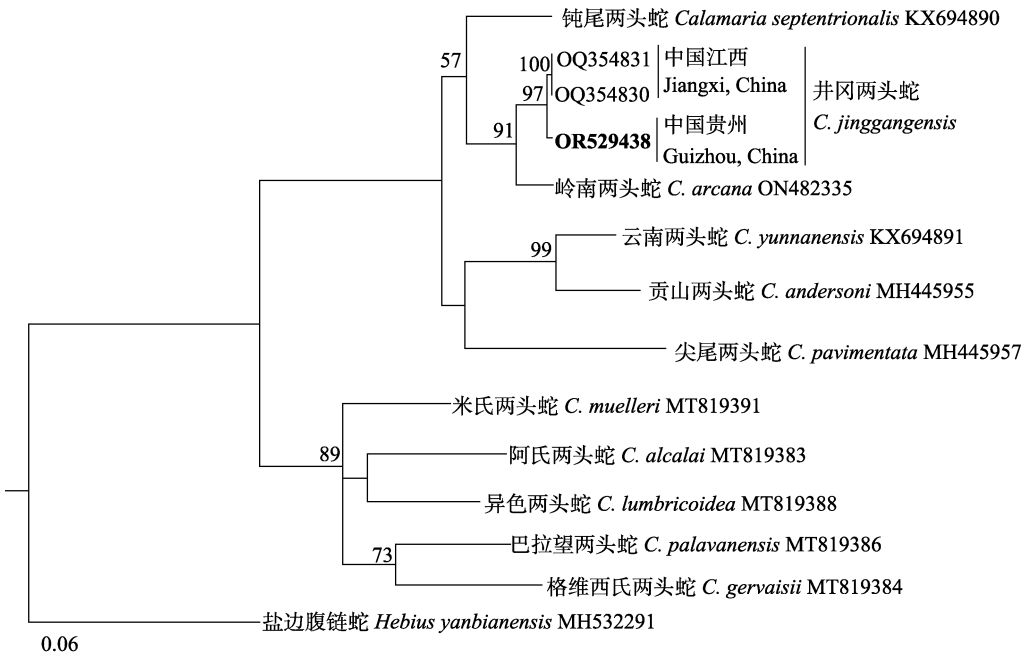


图 3 基于 *Cyt b* 基因序列构建的两头蛇属物种最大似然树

Fig. 3 Maximum likelihood tree of the genus *Calamaria* based on *Cyt b* gene fragments

加粗字体表示新采集的井冈两头蛇；每个节点旁的数字表示自引支持度（> 50 的被保留）。标尺表示序列间差异数值的单位长度。
Newly collected sample of *C. jinggangensis* is indicated in bold. Numbers besides each major node indicate bootstrap support (> 50 retained). Scale bar represents the number of differences between sequences.

表 1 基于 Cyt b 基因序列 (1 060 bp) 的两头蛇属物种未校正的遗传距离估算 (%)

		Table 1 Uncorrected pairwise sequence divergences of genus <i>Calamaria</i> based on Cyt b gene (1 060 bp)											
物种 Species	GenBank GenBank accession No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1 井冈两头蛇 <i>C. jinggangensis</i> (中国贵州 Guizhou, China)	OR529438	—											
2 井冈两头蛇 <i>C. jinggangensis</i> (中国江西 Jiangxi, China)	OQ354830	0.85	—										
3 井冈两头蛇 <i>C. jinggangensis</i> (中国江西 Jiangxi, China)	OQ354831	0.85	0.00	—									
4 岭南两头蛇 <i>C. arcana</i>	ON482335	5.42	5.70	5.70	—								
5 钝尾两头蛇 <i>C. septentrionalis</i>	KX694890	10.52	10.37	10.37	10.56	—							
6 尖尾两头蛇 <i>C. pavimentata</i>	MH445957	15.45	15.75	15.75	16.96	16.62	—						
7 云南两头蛇 <i>C. yunnanensis</i>	KX694891	15.24	14.94	14.94	16.32	14.18	17.68	—					
8 贡山两头蛇 <i>C. andersoni</i>	MH445955	16.48	16.34	16.34	16.01	14.79	18.60	9.76	—				
9 阿氏两头蛇 <i>C. alcalai</i>	MT819383	20.15	20.45	20.45	19.62	21.75	21.80	21.75	21.80	—			
10 格维西氏两头蛇 <i>C. gervaisii</i>	MT819384	19.17	19.17	19.17	19.67	21.19	22.04	21.95	20.02	17.29	—		
11 异色两头蛇 <i>C. lumbricoidea</i>	MT819388	19.31	19.41	19.41	19.67	19.66	22.17	20.12	19.84	14.29	16.93	—	
12 米氏两头蛇 <i>C. muelleri</i>	MT819391	15.86	15.86	15.86	17.20	20.16	21.77	22.34	20.16	14.47	15.05	13.17	—
13 巴拉望两头蛇 <i>C. palawanensis</i>	MT819386	17.93	18.24	18.24	20.97	20.06	22.19	22.19	20.67	14.89	15.81	14.89	15.46

为 6 行); 第一行背鳞上缘及第二行背鳞下缘为橙红色, 无黑色素沉积 (vs. 第一行背鳞上缘及第二行背鳞下缘黑色, 在体侧形成一条细的深色纵线纹)。

井冈两头蛇是 Cai 等 (2023) 依据 5 号路杀标本 (其中仅 2 号雌性标本完整) 描述的新种, 模式产地为江西省吉安市, 本研究新增井冈两头蛇记录点为贵州省黔东南苗族侗族自治州榕江县, 距离模式产地约 580 km, 是该物种在模式产地外的首次记录, 也是井冈两头蛇第 1 号完整雄性标本, 同时获得了该种第一张活体照片, 进一步补充了井冈两头蛇的生物学资料。在榕江县所采集的井冈两头蛇于 9:00 时被发现于路边人工水渠中, 周围环境为保存良好的针叶阔叶混交林。

参 考 文 献

- Burbrink F T, Lawson R, Slowinski J B. 2000. Mitochondrial DNA phylogeography of the polytypic north American rat snake (*Elaphe obsoleta*): a critique of the subspecies concept. *Evolution*, 54(6): 2107–2118.
- Burland T G. 2000. DNASTAR's Lasergene sequence analysis software. *Methods in Molecular Biology*, 132: 71–91.
- Cai B, Jiang J P, Wu Y Y, et al. 2023. A new species of *Calamaria* (Reptilia: Serpentes: Colubridae) from western Jiangxi Province, China. *Russian Journal of Herpetology*, 30(2): 101–111.
- Kumar S, Stecher G, Li M, et al. 2018. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6): 1547–1549.
- Stamatakis A, Hoover P, Rougemont J. 2008. A rapid bootstrap algorithm for the RAxML Web servers. *Systematic Biology*, 57(5): 758–771.
- Uetz P, Freed P, Hošek J. 2022. The Reptile Database. [DB/OL]. (2023-05-09) [2023-08-29]. <http://www.reptile-database.org/>.
- Yeung H Y, Lau M W N, Yang J H. 2022. A new species of *Calamaria* (Squamata: Colubridae) from Guangdong Province, Southern China. *Vertebrate Zoology*, 72: 433–444.
- 黄松. 2021. 中国蛇类. 福州: 海峡书局.
- 张鹤, 费冬波, 赵成, 等. 2023. 湖南郴州发现岭南两头蛇. *动物学杂志*, 58(4): 615–621, 639.
- 赵尔宓. 2006. 中国蛇类. 合肥: 安徽科学技术出版社.