

华东四省天目臭蛙分类修订及分布格局

李寒玉, 陈卓, 朱艳军, 李真, 何玉晓, 陈晓虹*

(河南师范大学生命科学院, 河南新乡 453007)

摘要: 运用形态学比较和 12S mtDNA 序列比对, 对华东 4 省原记载的花臭蛙 *Odorrana schmackeri* 地理种群与天目臭蛙 *O. tianmuii*、黄岗臭蛙 *O. huanggangensis* 及花臭蛙模式产地湖北宜昌种群进行比较研究。浙江、安徽、江苏、江西(三清山)花臭蛙形态学特征与天目臭蛙相吻合。基于 Kimura 2-parameter 模型计算花臭蛙各地理种群与天目臭蛙、黄岗臭蛙及花臭蛙湖北宜昌种群的遗传距离, 结果显示, 浙江、安徽、江苏、江西(三清山、彭泽)花臭蛙与湖北宜昌种群的遗传距离为 0.067~0.069, 与黄岗臭蛙的遗传距离为 0.027~0.029, 与天目臭蛙的遗传距离仅为 0~0.001。因此, 长江中下游以南、江南丘陵东段安徽南部、江苏、浙江、江西东北部信江以北、鄱阳湖以东的低山丘陵地带, 原记录的花臭蛙应修订为天目臭蛙; 江西省东北部信江以南的武夷山区为黄岗臭蛙分布范围, 花臭蛙则分布于赣江鄱阳湖以西的赣西山地。赣江以东、抚河以西以及闽东丘陵地区花臭蛙的分类归属尚待确定, 华东地区花臭蛙复合体的物种分化是否与水系造成的地理阻隔相关, 有待深入研究。

关键词: 花臭蛙; 天目臭蛙; 分类修订; 分布格局; 华东

中图分类号: Q959.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-7083(2017)02-0131-08

Taxonomic Revision and Geographical Distribution of *Odorrana tianmuii* in Four Provinces of Eastern China

LI Hanyu, CHEN Zhuo, ZHU Yanjun, LI Zhen, HE Yuxiao, CHEN Xiaohong*

(College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxing, Henan Province 453007, China)

Abstract: The taxonomy and geographical distribution of *Odorrana schmackeri* in 4 provinces of eastern China remain unclear. In this study, the taxonomy and geographical distribution of *O. schmackeri* were compared with *O. huanggangensis*, *O. tianmuii* and *O. schmackeri* from the type locality Yichang (Hubei province) based on the analysis of morphology and mitochondrial 12S sequence. The results showed that the populations of *O. schmackeri* from Zhejiang, Anhui, Jiangsu, and Jiangxi (Sanqing Mountain) had similar morphological characters with *O. tianmuii*, and the average genetic distances between the populations of *O. schmackeri* from the above 4 provinces and that from Yichang, Hubei were 0.067–0.069, and that of *O. huanggangensis* were 0.027–0.029, whereas the genetic distances between them and *O. tianmuii* were 0–0.001. This study suggested the populations of *O. schmackeri* distributed in Zhejiang, the south of Anhui, Yixing city of Jiangsu, Sanqing Mountain and Pengze county of Jiangxi, the east of Poyang Lake should be revised as *O. tianmuii*. *O. huanggangensis* was distributed in Mt. Wuyi from the south of Xin River in northeastern Jiangxi, whereas *O. schmackeri* was only distributed in the west of Poyang Lake of western Jiangxi. The taxonomic status of populations of *O. schmackeri* between the east of Ganjiang River and the west of Fuhe River in Jiangxi as well as the east of Fujian have yet to be determined, and whether the differentiation of *O. schmackeri* species complex in the eastern China related to the geographical barrier of river system should be further resolved.

Keywords: *Odorrana schmackeri*; *Odorrana tianmuii*; taxonomic revisions; distribution pattern; eastern China

花臭蛙 *Odorrana schmackeri* (Boettger, 1892) 模式产地在湖北省宜昌市, 已知广泛分布于我国西南、华中、华南及华东 15 个省(市)区(费梁等, 2009,

2012); 安徽省分布于皖南黄山、九华山、祁门和石台, 浙江省广泛分布于西南山地、浙西丘陵和浙东丘陵, 江西省分布于九连山、赣西北及中西部, 江苏省

收稿日期: 2016-10-11 接受日期: 2016-12-12

基金项目: 国家自然科学基金项目(31372164; 31572245; 31601848); 河南省创新型科技团队项目(C20140032)

作者简介: 李寒玉(1990—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 动物分类与保护生物学, E-mail: hanyu9248@sina.com

* 通信作者 Corresponding author, E-mail: xhchen-xx@sohu.com

仅宜兴有记录(黄美华等,1990;陈壁辉,1991;王英永等,2008;费梁等,2009;Li *et al.*,2015)。

近年来,随着野外考察、形态学和分子系统学研究的深入,发现我国东部部分地区花臭蛙种群已分化为不同物种,即以福建、江西武夷山为模式产地的黄岗臭蛙 *O. huanggangensis*,以浙江天目山为模式产地的天目臭蛙 *O. tianmuisi* (陈晓虹等,2010a,2010b;Chen *et al.*,2013)。然而我国东部省份花臭蛙的分类归属、花臭蛙与天目臭蛙和黄岗臭蛙的系统关系及各自的分布范围尚不明确,以致现有的研究仍然沿用原来的分类系统(艾为明等,2010;方小斌等,2013;李言阔等,2013;Li *et al.*,2015;张方等,2015)。为此,本文对广义花臭蛙分布的我国东部省份安徽、浙江、江苏、江西进行考察,以期澄清花臭蛙及近缘种在华东地区的分类及分布,为生物多样性保护、臭蛙类物种资源丰富度、保护区建设等提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 标本采集和处理

2007—2016 年每年 7—8 月对安徽黄山(118°08.898'E, 30° 04.842' N)、九华山(117°48.750'E, 30° 33.021' N)、江苏宜兴(119°42.415'E, 31° 10.692' N)、浙江开化(118°05.353'E,29°14.721'N)、江山(118°32.144'E,28°21.719'N)、云和(119°41.057'E,28°14.412'N)、北仑(121°50.912'E,29°50.988'N)、江西三清山(118°04.769'E,28°51.976'N)、彭泽(116°38.763'E,29°48.636'N)进行野外考察。

利用抄网或徒手采集标本,无损伤剪取蛙趾末节固定于 95% 乙醇中用于分子鉴定,部分用于形态鉴定和研究的标本迅速处死后用 10% 甲醛溶液固定。

1.2 形态量度

依据刘承钊和胡淑琴(1961)、费梁等(2005)的测量指标和方法并稍加改进,利用电子数显游标卡尺对浙江江山、云和,安徽黄山、九华山,江西三清山,江苏宜兴 6 个花臭蛙地理种群的性成熟个体进行形态测量,精确至 0.01 mm。

1.3 DNA 分子鉴定

利用传统酚-氯仿法抽提组织样本 DNA 并稍加改进(李佳璇等,2015),选择 12S mtDNA 为分子标记(Chen *et al.*,2013),常规 PCR 体系扩增,送生工

生物工程(上海)股份有限公司测序,运用 MEGA 5.0 进行序列比对,计算遗传距离并构建系统关系。

2 结果

2.1 形态特征

华东 4 省 6 个地理种群的花臭蛙符合天目臭蛙的形态特征,均表现出明显性二型,雌性体长约为雄性的 2 倍(表 1)。头顶扁平,吻端钝尖,突出于下颌缘;鼻间距大于眼间距,颞褶清晰,突出于鼓膜;头长略大于头宽;吻长大于眼径,雄性吻长较雌性大;鼓膜明显,约为眼径的 2/3,雄性鼓膜大于雌性;前臂及手长均不及头体长的 1/2,雄性前臂宽、手长大于雌性;后肢前伸贴体时,跗跖关节达鼻眼间,左右跟部重叠较多;体长约为腿长的 1/2;胫长略大于足长,两者均大于头体长的 1/2。指长而扁平,指、趾序列分别为 $3 > 4 > 2 \geq 1$ 和 $4 > 5 \geq 3 > 2 > 1$;指吸盘与趾吸盘背部均有马蹄形横沟;趾间全蹼,第 4 趾两侧及第 2、3 趾内侧蹼以缘膜达趾吸盘基部。

皮肤光滑,无背侧褶,颈部无肤棱;身体背部皮肤分布着细小痣粒,体侧可见大小不一的扁平疣粒,沿背两侧纵向排列。腹面乳白色无斑;背部绿色,镶夹大小、形状、排列不规则的深褐色斑,个体之间斑纹差异较大;四肢背面具有宽窄不一的浅褐色横纹,股、胫部均有 4~5 条横纹。

雄蛙第二性征明显,胸、腹部有白色刺群,第一指基部乳白色婚垫发达,有 1 对咽侧下外声囊,背部肉粉色雄性线明显。

2.2 生活习性

各考察点花臭蛙生活环境相似,均为植被茂盛、阴暗潮湿、水流平缓、水面开阔的山涧溪流附近,溪边长有乔木、灌木和草本,溪内大小石块甚多,成蛙多栖息于岸边石块或岩壁上。2007—2015 年的 7 月 10 日—8 月 2 日,野外未发现抱对个体和卵团,检视部分性成熟个体,发现卵的形态、颜色相近,动物极深褐色,植物极乳白色。雌蛙怀卵数差异明显,2015 年 7 月 13 日采自江苏宜兴体长 72.78 mm 的雌蛙怀卵 1 398 枚,数量最少;怀卵数最多的为 2015 年 7 月 29 日采自江西三清山体长 80.34 mm 的雌蛙,怀卵 2 799 枚。卵粒大小与繁殖期成熟度相关,卵径最小的为 2015 年 7 月 11 日采自安徽九华山体长 84.07 mm 的雌蛙,卵径 $1.99 \text{ mm} \pm 0.19 \text{ mm}$ ($n = 13$),江苏宜兴(2015 年 7 月 13 日采)体长 72.78 mm 的雌蛙和浙江江山(2015 年 7 月 25 日采)体长 76.12 mm

表1 我国东部花目臭蛙不同地理种群成体形态度量度
 Table 1 Morphometric measurements on adults of *Odorrana schmackeri* in eastern China

形态特征 Morphological traits	花目臭蛙地理种群 The localities of <i>Odorrana schmackeri</i>									
	浙江江山 Jiangshan, Zhejiang	浙江云和 Yunhe, Zhejiang	安徽黄山 Mt. Huangshan, Anhui	安徽九华山 Mt. Juhua, Anhui	江西三清山 Mt. Sanqing, Jiangxi	江苏宜兴 Yixing, Jiangsu				
头体长 SVL	δ (n=12) 41.88 ± 1.35	δ (n=13) 41.22 ± 1.54	δ (n=14) 39.73 ± 2.49	δ (n=6) 82.22 ± 2.10	δ (n=11) 43.24 ± 2.31	δ (n=2) 39.71 ± 0.83				
范围	δ (n=12) 76.83 ± 3.70	δ (n=13) 75.51 ± 3.83	δ (n=14) 75.51 ± 3.83	δ (n=6) 45.92 ± 2.10	δ (n=11) 43.24 ± 2.31	δ (n=2) 72.21 ± 2.99				
头长 HL	δ (n=12) 40.54 ± 43.23	δ (n=13) 73.13 ~ 80.53	δ (n=14) 37.24 ~ 42.22	δ (n=6) 43.82 ~ 48.01	δ (n=11) 43.82 ~ 48.01	δ (n=2) 38.88 ~ 40.54				
范围	δ (n=12) 16.45 ± 0.76	δ (n=13) 15.28 ± 0.60	δ (n=14) 26.23 ± 1.03	δ (n=6) 15.09 ± 1.12	δ (n=11) 15.64 ± 0.66	δ (n=2) 14.61 ± 0.90				
与头体长的比例/%	δ (n=12) 15.69 ~ 17.21	δ (n=13) 14.86 ~ 15.88	δ (n=14) 23.39 ~ 26.65	δ (n=6) 15.71 ~ 17.42	δ (n=11) 14.98 ~ 16.30	δ (n=2) 13.71 ~ 15.50				
头宽 HW	δ (n=12) 39.3	δ (n=13) 37.1	δ (n=14) 34.7	δ (n=6) 33.4	δ (n=11) 36.2	δ (n=2) 36.8				
范围	δ (n=12) 14.96 ± 0.56	δ (n=13) 14.37 ± 0.61	δ (n=14) 24.82 ± 1.39	δ (n=6) 24.30 ± 1.40	δ (n=11) 15.13 ± 0.65	δ (n=2) 22.41 ± 1.57				
与头体长的比例/%	δ (n=12) 14.39 ~ 15.52	δ (n=13) 13.76 ~ 14.99	δ (n=14) 23.43 ~ 26.22	δ (n=6) 14.96 ~ 16.32	δ (n=11) 14.48 ~ 15.77	δ (n=2) 13.27 ~ 14.48				
吻长 SL	δ (n=12) 35.7	δ (n=13) 34.9	δ (n=14) 32.9	δ (n=6) 34.1	δ (n=11) 35.0	δ (n=2) 34.9				
范围	δ (n=12) 6.70 ± 0.32	δ (n=13) 6.26 ± 0.37	δ (n=14) 10.61 ± 0.39	δ (n=6) 7.42 ± 0.32	δ (n=11) 6.83 ± 0.42	δ (n=2) 6.66 ± 0.11				
与头体长的比例/%	δ (n=12) 6.38 ~ 7.02	δ (n=13) 5.89 ~ 6.43	δ (n=14) 10.22 ~ 10.99	δ (n=6) 7.09 ~ 7.74	δ (n=11) 6.42 ~ 7.25	δ (n=2) 6.55 ~ 6.77				
鼻间距 INS	δ (n=12) 16.0	δ (n=13) 15.2	δ (n=14) 14.0	δ (n=6) 16.2	δ (n=11) 15.8	δ (n=2) 16.8				
范围	δ (n=12) 5.36 ± 0.24	δ (n=13) 5.20 ± 0.18	δ (n=14) 8.25 ± 0.37	δ (n=6) 5.42 ± 0.23	δ (n=11) 5.29 ± 0.22	δ (n=2) 4.52 ± 0.81				
与头体长的比例/%	δ (n=12) 5.12 ~ 5.60	δ (n=13) 5.02 ~ 5.38	δ (n=14) 7.88 ~ 8.63	δ (n=6) 5.19 ~ 5.65	δ (n=11) 5.07 ~ 5.51	δ (n=2) 3.70 ~ 5.33				
眼间距 IOS	δ (n=12) 12.8	δ (n=13) 12.6	δ (n=14) 10.9	δ (n=6) 11.8	δ (n=11) 12.2	δ (n=2) 11.4				
范围	δ (n=12) 3.48 ± 0.33	δ (n=13) 3.74 ± 0.19	δ (n=14) 6.07 ± 0.44	δ (n=6) 3.86 ± 0.37	δ (n=11) 3.76 ± 0.28	δ (n=2) 4.28 ± 0.84				
与头体长的比例/%	δ (n=12) 3.15 ~ 3.81	δ (n=13) 3.56 ~ 3.93	δ (n=14) 5.63 ~ 6.52	δ (n=6) 3.48 ~ 4.23	δ (n=11) 3.48 ~ 4.04	δ (n=2) 3.44 ~ 5.12				
眼眶 ED	δ (n=12) 8.3	δ (n=13) 9.1	δ (n=14) 8.0	δ (n=6) 8.4	δ (n=11) 8.7	δ (n=2) 10.8				
范围	δ (n=12) 6.01 ± 0.35	δ (n=13) 6.19 ± 0.24	δ (n=14) 8.51 ± 0.52	δ (n=6) 5.67 ± 0.36	δ (n=11) 5.54 ± 0.30	δ (n=2) 4.67 ± 0.16				
与头体长的比例/%	δ (n=12) 5.66 ~ 6.36	δ (n=13) 5.96 ~ 6.43	δ (n=14) 7.99 ~ 9.02	δ (n=6) 5.32 ~ 6.03	δ (n=11) 5.24 ~ 5.84	δ (n=2) 4.51 ~ 4.83				
鼓膜 TD	δ (n=12) 14.4	δ (n=13) 15.0	δ (n=14) 11.3	δ (n=6) 12.4	δ (n=11) 12.8	δ (n=2) 11.8				
范围	δ (n=12) 3.80 ± 0.17	δ (n=13) 3.86 ± 0.23	δ (n=14) 4.72 ± 0.22	δ (n=6) 4.03 ± 0.36	δ (n=11) 3.85 ± 0.31	δ (n=2) 3.60 ± 0.10				
与头体长的比例/%	δ (n=12) 3.63 ~ 3.97	δ (n=13) 3.63 ~ 4.08	δ (n=14) 4.50 ~ 4.93	δ (n=6) 3.66 ~ 4.39	δ (n=11) 3.54 ~ 4.15	δ (n=2) 3.50 ~ 3.69				
前臂及手长 LAHL	δ (n=12) 9.1	δ (n=13) 9.4	δ (n=14) 6.2	δ (n=6) 8.8	δ (n=11) 8.9	δ (n=2) 9.1				
范围	δ (n=12) 18.71 ± 0.55	δ (n=13) 19.50 ± 0.71	δ (n=14) 33.45 ± 3.11	δ (n=6) 19.61 ± 1.37	δ (n=11) 19.21 ± 1.18	δ (n=2) 18.13 ± 0.39				
与头体长的比例/%	δ (n=12) 18.16 ~ 19.26	δ (n=13) 33.31 ~ 36.60	δ (n=14) 18.79 ~ 20.21	δ (n=6) 18.23 ~ 20.98	δ (n=11) 18.04 ~ 20.39	δ (n=2) 17.74 ~ 18.52				
前臂宽 LAWL	δ (n=12) 44.7	δ (n=13) 47.3	δ (n=14) 44.3	δ (n=6) 43.2	δ (n=11) 44.4	δ (n=2) 45.7				
范围	δ (n=12) 4.47 ± 0.20	δ (n=13) 4.08 ± 0.42	δ (n=14) 5.59 ± 0.39	δ (n=6) 4.26 ± 0.49	δ (n=11) 4.21 ± 0.31	δ (n=2) 3.91 ± 0.08				
与头体长的比例/%	δ (n=12) 4.47 ± 0.20	δ (n=13) 4.08 ± 0.42	δ (n=14) 5.59 ± 0.39	δ (n=6) 4.26 ± 0.49	δ (n=11) 4.21 ± 0.31	δ (n=2) 5.73 ± 0.58				

续表 1

形态特征 Morphological traits	花臭蛙地理种群 The localities of <i>Odorrana schmackeri</i>											
	浙江江山 Jiangshan, Zhejiang		浙江云和 Yunhe, Zhejiang		安徽黄山 Mt. Huangshan, Anhui		安徽九华山 Mt. Jiuhua, Anhui		江西三清山 Mt. Sanqing, Jiangxi		江苏宜兴 Yixing, Jiangsu	
	♂ (n=12)	♀ (n=13)	♂ (n=14)	♀ (n=9)	♂ (n=12)	♀ (n=6)	♂ (n=3)	♀ (n=11)	♂ (n=1)	♀ (n=4)		
范围	4.27~4.67	5.92~6.40	3.66~4.49	5.19~5.98	3.76~4.75	5.67~6.76	4.25~5.30	5.74~6.98	3.89~4.52	8.20	3.83~3.98	5.14~6.31
与头体长的比例/%	10.7	8.0	9.9	7.4	10.7	8.3	10.4	7.7	9.7		9.8	7.9
手长 HAL	12.04±0.50	21.32±1.03	12.04±0.52	20.46±0.81	11.17±0.68	18.61±1.00	12.75±0.68	21.65±0.30	12.41±0.61	20.65	12.22±0.25	18.99±0.69
范围	11.54~12.54	20.29~22.35	11.52~12.56	19.65~21.27	10.49~11.85	17.60~19.61	12.06~13.43	21.35~21.94	11.81~13.02	25.70	11.97~12.47	18.30~19.68
与头体长的比例/%	28.8	27.7	29.2	27.1	28.1	24.8	27.8	26.3	28.7		30.8	26.0
腿长 HLL	70.24±2.67	133.17±7.01	70.81±2.9	127.47±6.26	67.92±3.22	124.35±6.03	73.41±4.20	130.26±2.19	73.32±3.33	139.44	69.59±1.89	118.87±2.02
范围	67.57~72.90	126.16~140.18	67.84~73.78	121.21~133.74	64.70~71.14	118.32~130.38	69.21~77.61	128.07~132.44	69.99~76.64	173.60	67.70~71.48	116.84~120.89
与头体长的比例/%	167.7	173.3	171.8	168.8	170.9	165.8	159.9	158.4	169.6		175.2	164.6
胫长 TL	23.73±1.10	44.95±1.40	24.00±0.87	43.21±2.61	22.57±0.94	41.93±2.44	25.70±1.34	45.22±0.78	24.27±1.15	46.88	23.43±0.27	40.55±1.15
范围	22.63~24.83	43.56~46.35	23.13~24.87	40.60~45.82	21.64~23.51	39.49~44.36	24.36~27.04	44.45~46.00	23.12~25.42	58.40	23.16~23.70	39.40~41.71
与头体长的比例/%	56.7	58.5	58.2	57.2	56.8	55.9	56.0	55.0	56.1		59.0	56.2
胫宽 TW	5.87±0.23	10.62±0.28	5.60±0.31	10.17±0.67	5.55±0.49	10.31±0.67	6.24±0.52	10.95±0.89	5.86±0.23	12.55	5.62±0.30	9.96±0.56
范围	5.64~6.10	10.34~10.90	5.29~5.91	9.50~10.84	5.06~6.04	9.64~10.98	5.72~6.76	10.06~11.84	5.62~6.09	15.60	5.32~5.91	9.40~10.51
与头体长的比例/%	14.0	13.8	13.6	13.5	14.0	13.7	13.6	13.3	13.5		14.1	13.8
跗足长 FTL	31.37±1.01	58.72±3.07	32.26±1.63	57.13±2.78	30.61±1.43	55.46±3.39	34.19±1.29	59.06±1.40	33.07±1.42	63.19	31.23±0.30	53.24±1.83
范围	30.36~32.39	55.65~61.79	30.62~33.89	54.36~59.91	29.19~32.04	52.07~58.85	32.90~35.48	57.66~60.46	31.66~34.49	78.70	30.93~31.53	51.41~55.08
与头体长的比例/%	74.9	76.4	78.3	75.7	77.1	74.0	74.5	71.8	76.5		78.6	73.7
足长 FL	21.62±0.81	40.40±2.02	21.84±0.98	38.73±1.87	20.73±1.19	38.03±1.83	23.42±0.64	40.81±1.39	22.69±1.06	43.17	20.52±0.09	36.52±0.92
范围	20.82~22.43	38.38~42.42	20.86~22.82	36.87~40.60	19.55~21.92	36.21~39.86	22.78~24.06	39.42~42.20	21.64~23.75	53.70	20.42~20.61	35.60~37.44
与头体长的比例/%	51.6	52.6	53.0	51.3	52.2	50.7	51.0	49.6	52.5		51.7	50.6
头长/头宽 HL/HW	1.10	1.06	1.06	1.06	1.05	1.03	1.06	1.02	1.03	1.03	1.05	1.05
范围	1.06~1.14	1.05~1.08	1.05~1.08	1.03~1.09	1.00~1.11	0.98~1.08	1.04~1.08	1.02~1.03	1.00~1.07		1.03~1.07	1.00~1.09
眼径/吻长 ED/SL	0.90	0.67	0.99	0.80	0.87	0.67	0.76	0.63	0.81	0.63	0.70	0.65
范围	0.84~0.95	0.65~0.69	0.95~1.04	0.74~0.87	0.78~0.95	0.61~0.73	0.74~0.78	0.58~0.69	0.76~0.87		0.67~0.74	0.61~0.68
鼓膜/眼径 TD/ED	0.64	0.63	0.62	0.56	0.66	0.65	0.71	0.63	0.69	0.76	0.77	0.66
范围	0.59~0.68	0.60~0.65	0.58~0.66	0.51~0.60	0.60~0.71	0.59~0.71	0.66~0.76	0.56~0.70	0.65~0.74		0.76~0.78	0.61~0.71

表 2 基于 Kimura 2-parameter 模型华东 4 省花臭蛙不同地理种群与天目臭蛙、黄岗臭蛙、花臭蛙湖北宜昌种群 12S mtDNA 序列的遗传距离
 Table 2 The Kimura 2-parameter of genetic distance based on sequence of 12S mtDNA among *Odorrana tianmii*, *O. huanggangensis*, *O. schumackeri* from Yichang, Hubei and *O. schumackeri* populations in eastern China

ID	物种 Species	地理种群 Locality	遗传距离 Genetic distance												序列来源 Source	GenBank 登录号 GenBank accession number
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
1	花臭蛙 <i>O. schumackeri</i>	湖北宜昌* Yichang, Hubei													Chen <i>et al.</i> , 2013	KF185011
2	黄岗臭蛙 <i>O. huanggangensis</i>	福建武夷山* Mt. Wuyi, Fujian	0.070												Chen <i>et al.</i> , 2013	KF185023
3	天目臭蛙 <i>O. tianmii</i>	浙江天目山* Mt. Tianmu, Zhejiang	0.069	0.027											Chen <i>et al.</i> , 2013	KF185004
4	花臭蛙 <i>O. schumackeri</i>	安徽黄山 Mt. Huangshan, Anhui	0.069	0.027	0.000										本文	KY271194
5	花臭蛙 <i>O. schumackeri</i>	安徽九华山 Mt. Jiuhua, Anhui	0.069	0.027	0.000	0.000									本文	KY271195
6	花臭蛙 <i>O. schumackeri</i>	江西三清山 Mt. Sanqing, Jiangxi	0.069	0.027	0.000	0.000	0.000								本文	KY271196
7	花臭蛙 <i>O. schumackeri</i>	江西彭泽 Pengze, Jiangxi	0.069	0.027	0.000	0.000	0.000	0.000							本文	KY271197
8	花臭蛙 <i>O. schumackeri</i>	江苏宜兴 Yixing, Jiangsu	0.069	0.027	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000						本文	KY271198
9	花臭蛙 <i>O. schumackeri</i>	浙江江山 Jiangshan, Zhejiang	0.067	0.029	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001					本文	KY271199
10	花臭蛙 <i>O. schumackeri</i>	浙江开化 Kaifua, Zhejiang	0.069	0.027	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001				本文	KY271200
11	花臭蛙 <i>O. schumackeri</i>	浙江北仑 Beilun, Zhejiang	0.069	0.027	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000				本文	KY271201
12	花臭蛙 <i>O. schumackeri</i>	浙江云和 Yunhe, Zhejiang	0.068	0.028	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001		本文	KY271202

注: * 物种模式产地。
 Note: * type locality.

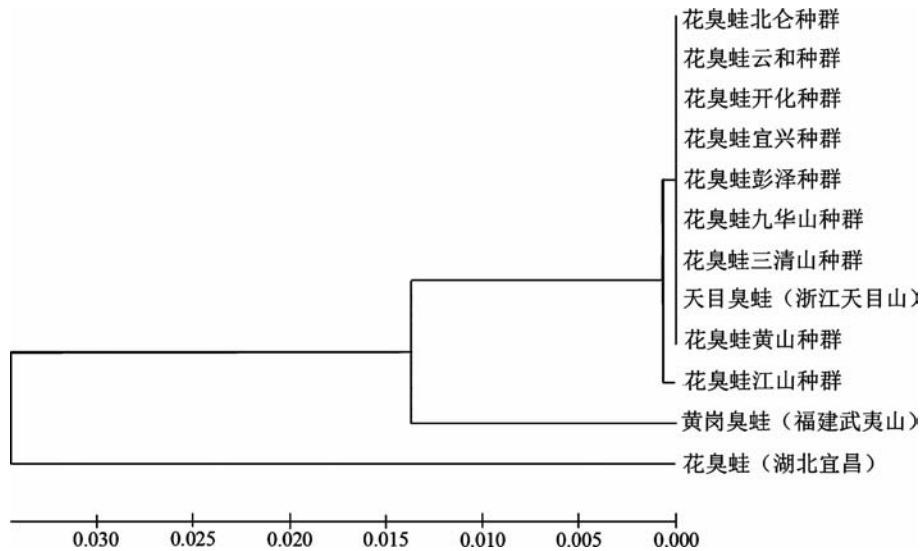


图 1 基于 12S mtDNA 序列构建华东 4 省花臭蛙种群与湖北宜昌种群、天目臭蛙、黄岗臭蛙的系统发育树
Fig. 1 The Neighbor-Joining tree based on 12S mtDNA sequences among *Odorrana tianmuis*, *O. huanggangensis*, *O. schmackeri* populations of eastern China and Yichang, Hubei province

的雌蛙卵径分别为 $2.40 \text{ mm} \pm 0.12 \text{ mm}$ ($n = 10$) 和 $2.40 \text{ mm} \pm 0.24 \text{ mm}$ ($n = 10$)。2016 年 8 月 16—19 日在浙江桐庐考察期间,发现抱对花臭蛙,检测体长 76.99 mm 的雌蛙怀卵量 1 705 枚,卵径为 $2.55 \text{ mm} \pm 0.11 \text{ mm}$ ($n = 12$),明显大于 7 月的卵径。

2.3 分子鉴定

常规 PCR 扩增,经校正比对,去除插入、缺失和模糊位点,得到 753 bp 12S mtDNA 基因片段,包括保守位点 654 个,变异位点 99 个,其中单变异位点 37 个、简约信息位点 62 个。基于 Kimura 2-parameter 计算华东 4 省 6 个花臭蛙地理种群与天目臭蛙、黄岗臭蛙、花臭蛙模式产地湖北宜昌种群的平均遗传距离,结果显示,安徽黄山、九华山,江苏宜兴,江西三清山、彭泽,浙江江山、开化、北仑、云和地理种群与湖北宜昌种群的遗传距离为 0.067 ~ 0.069,与黄岗臭蛙的遗传距离为 0.027 ~ 0.029,而与天目臭蛙的遗传距离则为 0 ~ 0.001,黄岗臭蛙与花臭蛙湖北宜昌种群的遗传距离为 0.070 (表 2)。此外,基于 Kimura 2-parameter 构建华东 4 省 6 个花臭蛙地理种群与天目臭蛙、黄岗臭蛙、花臭蛙湖北宜昌种群的系统关系,结果显示,浙江北仑、云和、江山、开化,江苏宜兴,江西三清山、彭泽,安徽黄山、九华山花臭蛙种群与天目臭蛙聚为一支,与黄岗臭蛙构成姊妹群关系,二者再与花臭蛙湖北宜昌种群相聚 (图 1)。

3 讨论

近年来研究显示,在我国广泛分布的花臭蛙不

是单一物种,而是包含花臭蛙、合江臭蛙 *O. hejiangensis*、黄岗臭蛙、天目臭蛙等物种的复合体 *Odorrana schmackeri* species complex (Chen *et al.*, 2013; 朱艳军, 2016)。天目臭蛙已知分布于模式产地浙江天目山 (陈晓虹等, 2010b; 费梁等, 2012), 由于天目臭蛙与花臭蛙及黄岗臭蛙在外形形态上具有很高的相似性,其分布界限没有明确界定,对华东地区两栖动物资源利用、保护区建设、区系组成分析及地理区划、生物多样性保护、遗传分化和生态行为的研究一直沿用臭蛙属 *Odorrana* 已有的分类体系 (艾为明等, 2010; 王熙等, 2012; 方小斌等, 2013; 李言阔等, 2013; Li *et al.*, 2015; 张方等, 2015)。本研究基于形态学和 mtDNA 序列分析显示,天目臭蛙分布于长江中下游以南、江南丘陵东段的安徽南部、江苏宜兴、浙江西南山地、浙西丘陵、浙东丘陵、江西东北部信江以北 (怀玉山)、鄱阳湖以东的低山丘陵地带,以上地区原记录的花臭蛙应修订为天目臭蛙 (图 2)。

江西东北部与怀玉山隔信江相望的武夷山区是黄岗臭蛙的分布范围 (陈晓虹等, 2010a; 费梁等, 2012), 赣江鄱阳湖以西、赣西山地花臭蛙的分类归属尚不清楚 (杨道德等, 2007a, 2007b, 2008)。为此,我们增加江西庐山、井冈山、武功山、明月山、贵溪花臭蛙样本,与天目臭蛙、黄岗臭蛙、湖北宜昌花臭蛙进行序列比对,结果显示,庐山、井冈山、武功山、明月山花臭蛙样本与天目臭蛙 12S mtDNA 序列的遗传距离为 0.073 ~ 0.075,与黄岗臭蛙的遗传距离为 0.070 ~ 0.073,而与湖北宜昌花臭蛙的遗传距离为

0.009 ~ 0.016。贵溪花臭蛙样本与天目臭蛙 12S mtDNA 序列的遗传距离为 0.028, 与黄岗臭蛙的遗传距离为 0.000, 而与湖北宜昌花臭蛙的遗传距离为 0.070。因此, 江西省境内花臭蛙复合体包含天目臭蛙、黄岗臭蛙、花臭蛙, 3 个物种以赣江鄱阳湖和信江为界, 天目臭蛙分布于赣江鄱阳湖以东、信江以北的赣东北部山地, 黄岗臭蛙分布于信江以南的武夷山, 花臭蛙分布于赣江鄱阳湖以西的赣西山

地(罗霄山脉)(图 2)。赣江以东、抚河以西花臭蛙的分类归属尚待确定, 另外, 与浙东丘陵相连的闽东丘陵花臭蛙的分类归属值得关注。

我国华东地区位于长江中下游, 地处中亚热带, 地形复杂、水系丰富, 连绵的低山丘陵和发达交织的水系为臭蛙类提供了良好的栖息环境。这些水系是否对华东地区花臭蛙复合体物种分化造成地理阻隔, 有待进一步研究。

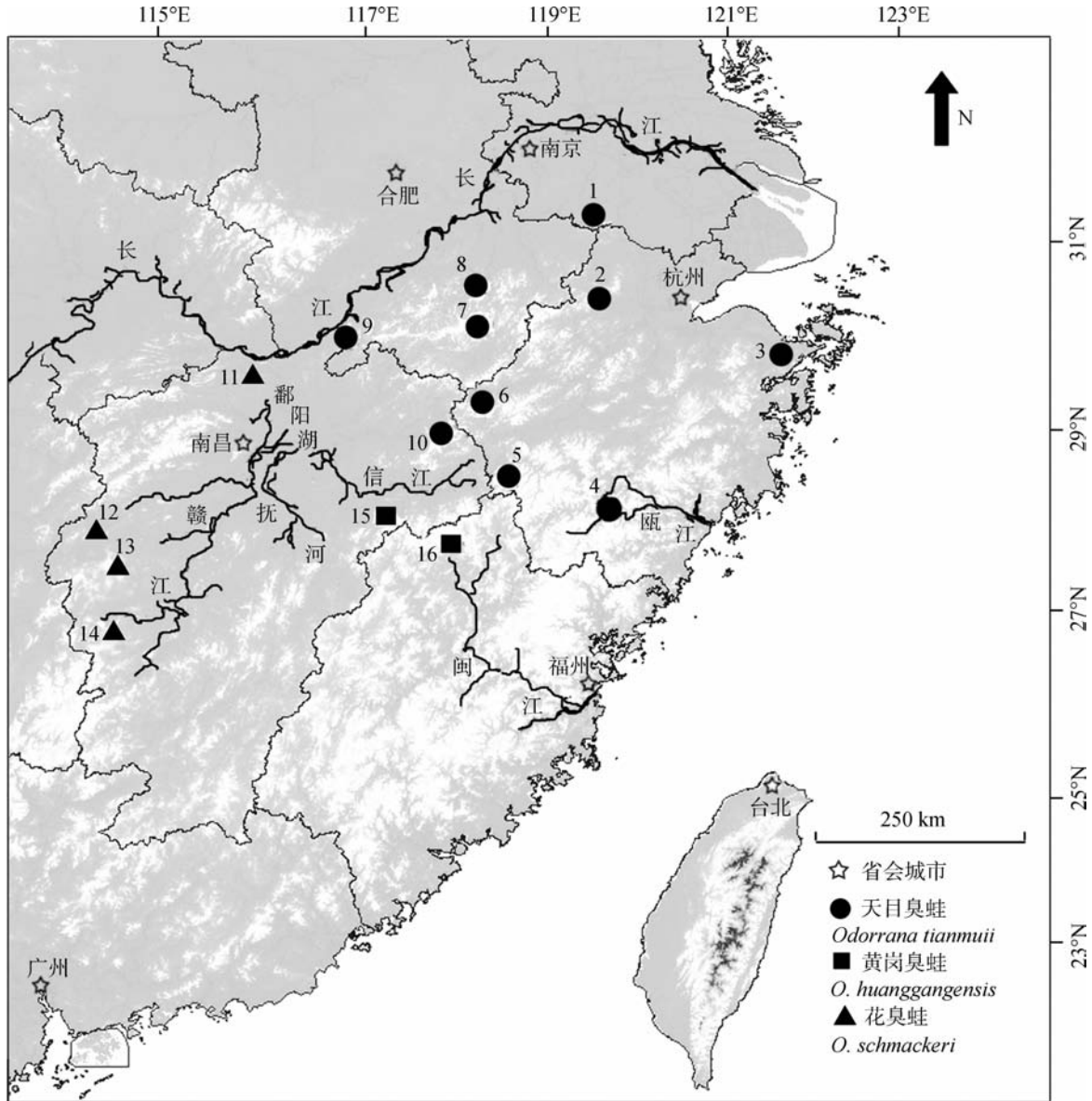


图 2 华东地区花臭蛙复合体的分类及分布

Fig. 2 The classification and distribution of *Odorrana schmackeri* species complex in eastern China

1. 江苏宜兴; 2. 浙江天目山(天目臭蛙模式产地); 3. 浙江北仑; 4. 浙江云和; 5. 浙江江山; 6. 浙江开化; 7. 安徽黄山; 8. 安徽九华山; 9. 江西彭泽; 10. 江西三清山; 11. 江西庐山; 12. 江西明月山; 13. 江西武功山; 14. 江西井冈山; 15. 江西贵溪; 16. 福建武夷山(黄岗臭蛙模式产地)。
 1. Yixing, Jiangsu; 2. Mt. Tianmu, Zhejiang (the type locality of *O. tianmuis*); 3. Beilun, Zhejiang; 4. Yunhe, Zhejiang; 5. Jiangshan, Zhejiang; 6. Kaihua, Zhejiang; 7. Mt. Huangshan, Anhui; 8. Mt. Jiuhua, Anhui; 9. Pengze, Jiangxi; 10. Mt. Sanqing, Jiangxi; 11. Mt. Lushan, Jiangxi; 12. Mt. Mingyue, Jiangxi; 13. Mt. Wugong, Jiangxi; 14. Mt. Jinggang, Jiangxi; 15. Guixi, Jiangxi; 16. Mt. Wuyi, Fujian (the type locality of *O. huanggangensis*).

参考文献:

- 艾为明, 周化斌, 张永普, 等. 2010. 浙江省国家重点风景名胜区楠溪江两栖动物资源调查与区系分析[J]. 四川动物, 29(5): 556-559.
- 陈壁辉. 1991. 安徽两栖爬行动物志[M]. 合肥: 安徽科学技术出版社: 116-119.
- 陈晓虹, 周开亚, 郑光美. 2010a. 中国臭蛙属一新种[J]. 动物分类学报, 35(1): 206-211.
- 陈晓虹, 周开亚, 郑光美. 2010b. 中国臭蛙类一新种[J]. 北京师范大学学报(自然科学版), 46(5): 606-609.
- 方小斌, 周奕琳, 杨璐伊, 等. 2013. 浙江省古田山国家级自然保护区两栖爬行动物资源现状[J]. 四川动物, 32(1): 125-130.
- 费梁, 胡淑琴, 叶昌媛, 等. 2009. 中国动物志 两栖纲(下卷) 无尾目 蛙科[M]. 北京: 科学出版社: 1228-1331.
- 费梁, 叶昌媛, 黄永昭, 等. 2005. 中国两栖动物检索及图解[M]. 成都: 四川科学技术出版社.
- 费梁, 叶昌媛, 江建平. 2012. 中国两栖动物及其分布彩色图鉴[M]. 成都: 四川科学技术出版社: 388-390.
- 黄美华, 金贻郎, 蔡春抹. 1990. 浙江动物志两栖类爬行类[M]. 杭州: 浙江科学技术出版社: 70-72.
- 李佳璇, 陈卓, 朱艳军, 等. 2015. 一种简便高效提取两栖动物肌肉组织基因组 DNA 的方法[J]. 天津师范大学学报(自然科学版), 35(3): 73-75.
- 李言阔, 单继红, 龚瑜, 等. 2013. 江西省两栖类动物多样性与地理区划[J]. 动物学杂志, 48(6): 919-925.
- 刘承钊, 胡淑琴. 1961. 中国无尾两栖类[M]. 北京: 科学出版社.
- 王熙, 王彦平, 丁平. 2012. 千岛湖两栖爬行类动物群落结构嵌套分析[J]. 动物学研究, 33(5): 439-446.
- 王英永, 肖家杰, 彭启升, 等. 2008. 江西三清山两栖纲动物多样性及其区系特征[J]. 暨南大学学报(自然科学版), 29(3): 300-304.
- 杨道德, 谷颖乐, 刘松, 等. 2007a. 江西庐山自然保护区两栖动物资源调查与评价[J]. 四川动物, 26(2): 362-365.
- 杨道德, 刘松, 费冬波, 等. 2008. 江西齐云山自然保护区两栖爬行动物资源调查与区系分析[J]. 动物学杂志, 43(6): 68-76.
- 杨道德, 熊建利, 蒋志刚, 等. 2007b. 江西桃红岭梅花鹿国家级自然保护区两栖动物资源调查[J]. 动物学杂志, 42(6): 79-84.
- 张方, 陈焯青, 赵娟, 等. 2015. 噪音环境下花臭蛙求偶鸣声特征分析[J]. 动物学杂志, 50(1): 52-58.
- 朱艳军. 2016. 花臭蛙复合体遗传多样性研究[D]. 河南新乡: 河南师范大学.
- Chen XH, Chen Z, Jiang JP, et al. 2013. Molecular phylogeny and diversification of the genus *Odorrana* (Amphibia, Anura, Ranidae) inferred from two mitochondrial genes [J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 69(3): 1196-1202.
- Li YM, Wu XY, Zhang HB, et al. 2015. Vicariance and its impact on the molecular ecology of a Chinese ranid frog species-complex (*Odorrana schmackeri*, Ranidae) [J]. PLoS ONE, 10(9): e0138757. DOI: 10.1371/journal.pone.0138757.