

河南省大吻鲢属鱼类分类现状厘定

周传江¹,杨长幸¹,孟晓林¹,张建新¹,宋东莹¹,赵海鹏²,聂国兴¹

(1.河南师范大学 水产学院;河南省水产动物养殖工程技术研究中心;

新乡市水生生物资源保护与开发利用重点实验室,河南 新乡 453007;2.河南大学 生命科学学院,河南 开封 475004)

摘要:河南省鱼类资源调查队在河南省鱼类资源普查时,采集到两种大吻鲢属鱼类,采用传统形态学结合分子系统学方法确定其为尖头大吻鲢和拉氏大吻鲢.由于拉氏大吻鲢和尖头大吻鲢形态上相似度较高,结合我们采集的两个物种现有数据分析发现,以往鉴别特征并不能完全区分这两个物种,因而本文对尖头大吻鲢和拉氏大吻鲢的主要形态鉴定特征、分布区域、生存环境及生活习性等方面做了进一步分析厘定,对分布于河南省的大吻鲢属鱼类做了系统比较总结,修正了现有该属鱼类的主要鉴别特征及在我省的分布情况,标本保存于河南师范大学水产学院鱼类标本室.

关键词:尖头大吻鲢;拉氏大吻鲢;鉴定特征;河南省

中图分类号:Q959

文献标志码:A

最新相关资料,尖头大吻鲢(*Rhynchocypris oxycephalus*)和拉氏大吻鲢(*Rhynchocypris lagowskii*)现属于脊索动物门硬骨鱼纲(Osteichthyes)鲤形目(Cypriniformes)鲤科(Cyprinidae)鲟亚科(Danioninae),大吻鲢属(*Rhynchocypris*)^[1].而以往资料如《中国动物志·鲤形目(中卷)》记载拉氏大吻鲢和尖头大吻鲢划归为雅罗鱼亚科(Leuciscinae)鲢属(*Phoxinus*),记载中称为拉氏鲢(*Phoxinus lagowskii*)和尖头鲢(*Phoxinus oxycephalus*)^[2];《河南鱼类志》中无尖头大吻鲢和拉氏大吻鲢的记载,记录了长江鲢(*Phoxinus lagowskii variegatus*)和山西鲢(*Phoxinus lagowskii chorensis*)^[3],根据书中形态学描述与现有其他文献以及数据对比,所描述的长江鲢和山西鲢实际应为不同地区的尖头大吻鲢,其形态存在一定差异.

Howes 将东亚的鲢系(phoxinin)划分为:*Eupallasella*, *Lagowskiella*, *Phoxinus*, *Rhynchocypris* 和 *Tribolodon* 5 个属^[4].2002 年 ITO 等^[5]通过同工酶分析将东亚鲢系鱼类划分为 *R. oxycephalus*, *R. lagowskii*, *R. perenurus*, *R. czekanowskii*, *R. kungangensis*, *R. semotilus* 以及 *P. phoxinus* 7 个种,同时支持 *Phoxinus* 和 *Rhynchocypris* 划分为两个独立的属.Sakai 等^[6]利用 18S rRNA 以及 16S rRNA 基因支持将东亚鲢系鱼类分为 8 个物种,即在 ITO 等基础上将 *R. lagowskii* 分为 2 个物种,同时发现湖大吻鲢(*R. perenurus*)和尖头大吻鲢(*R. oxycephalus*)享有花江大吻鲢(*R. czekanowskii*)和拉氏大吻鲢(*R. lagowskii*)的 mtDNA 单倍型,表明物种间存在线粒体 DNA 渐渗杂交现象.

由于两种鱼同属于冷水性鱼类,因而多生活在海拔较高、含氧量较高、透明度较大的溪流中,在中国分布广泛.繁殖期在每年 4~6 月份,产粘性卵,主要以水生昆虫、浮游动物、丝状藻类等为食^[3].拉氏鲢主要分布在我国黄河、辽河、图们江、黑龙江;尖头鲢主要分布在我国黄河、辽河、闽江等^[2].

收稿日期:2019-11-01;修回日期:2020-02-10.

基金项目:国家自然科学基金(31401964,31872199);河南省科技攻关重点项目(182102110007;182102110046;182102110237;172102310751);河南省创新型科技团队支持计划(CXTD2016043);2019 年度河南省高等学校青年骨干教师培养计划项目(2019GGJS063);河南省水产学重点学科支持.

作者简介:周传江(1980—),男,河南南阳人,河南师范大学副教授,博士,主要从事鱼类资源保护教学和科研工作, E-mail:chuanjiang88@163.com.

通信作者:聂国兴(1971—),男,河南长垣人,教授,博士,主要从事水产动物营养与饲料及鱼类资源保护研究, E-mail:niegx@htu.cn.

1 材料与方法

1.1 材 料

20 尾拉氏大吻鲢样本采自林州市石板岩镇,61 尾尖头大吻鲢样本分别采自卢氏县横涧乡(黄河)、栾川县庙子镇汉秋村(黄河)、商城县黄柏山大峡谷(淮河)、新乡市辉县秋沟景区(海河)、西峡县太平镇(长江),实验鱼均由地笼捕获.林州市拉氏大吻鲢和尖头大吻鲢均有分布,由于样本选择的局限性,研究仅选择林州的拉氏大吻鲢.9 尾拉氏大吻鲢和 15 尾尖头大吻鲢用无水乙醇固定,用于分子生物学实验;11 尾拉氏大吻鲢和 46 尾尖头大吻鲢用 10% 的福尔马林溶液固定保存,用于后续形态学测量.

1.2 形态学测量

用游标卡尺测量(单位 mm)10% 福尔马林溶液标本,测量指标为全长(Total length, TL),体长(Body length, BL),腹鳍基末端至臀鳍基起点(Length between the pectoral and ventral fin, PV),腹鳍起点到肛门的距离(Length between the Pelvic and anus, PA),头长(Head length, HL),体宽(body width, BW),吻长(Snout length, SNL),眼径(Orbit diameter, OD),眼间距(Interorbital width, IW),体高(Body, BD),尾柄长(Caudal peduncle length, CPL),尾柄高(Caudal peduncle depth, CPD),背鳍前长(dorsal fin length, DL),胸鳍长(Pectora fin length, PFL)腹鳍长(Pelvic fin length, PVL),臀鳍长(Anal fin length, AL),使用电子天平测量体重(Body weight, BH),利用体视镜和放大镜对鳍条进行观察.

1.3 分子鉴定方法

1.3.1 DNA 提取

取适量无水乙醇固定的背部肌肉组织放置在 1.5 mL 离心管中,在 55 °C 烘箱中烘干 4 h 后,采用酚-氯仿提取法提取基因组 DNA^[7].

1.3.2 PCR 扩增获得目的基因

PCR 扩增线粒体 COI 基因的引物对为:正向引物 HCO:5'-AAACYTCWGGGTGVCCAAAGAAYC-3',反向引物 LCO:5'-TACTAAYCACAAAGATATTGGCAC-3'^[8].30 μ L PCR 反应体系包含:15 μ L mix,上、下游引物各 1.5 μ L, DNA 1 μ L,灭菌水 11 μ L.PCR 反应条件为:预变性温度为 95 °C,时间为 5 min;变性温度为 95 °C,时间为 30 s;退火温度为 54 °C,时间为 30 s;延伸温度为 72 °C,时间为 1 min;在此条件下 COI 基因的引物对扩增 30 个循环;终延伸温度为 72 °C,时间为 10 min;4 °C 保存.PCR 产物取 3.5 μ L 进行琼脂糖凝胶电泳检测符合测序条件条带后,将剩余的 PCR 产物送上海生工公司用 COI 上、下游引物进行测序.

1.4 数据分析

将测序结果用 Lasergene 中的 Seqman 软件进行组装,随后进行手工校对,组装后的序列在 NCBI 数据库中序列进行 BLAST 比对(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>),下载比对后相似度高的序列,同时下载其他大吻鲢属鱼类序列,由于关于大吻鲢属鱼类研究相对较少,部分大吻鲢属物种 NCBI 中无相关 COI 序列.共下载大吻鲢属的 COI 基因序列 12 条.组装后数据以及数据库中下载的数据利用 BioEdit 进行序列比对以便后续建树分析,用 MEGA 7.0 软件基于 Kimura 2-parameter(K2P)模型,1 000 次重复抽样,其他参数设置为默认设置,构建 Neighbor-Joining 树^[16].根据系统发育树的结果,将聚在一支上的序列分为一个组,分别计算不同组的组内遗传距离和组间遗传距离,从而确定物种之间的分子系统学关系.

2 结 果

2.1 尖头大吻鲢形态学分析

各鳍条数目:背鳍(D) III-7~8,臀鳍(A) III-7,胸鳍(P) I-14~16,腹鳍(V) II-7,尾鳍(C) 16~18.

尖头大吻鲢体型较长,稍侧扁,腹部较浑圆稍宽,无腹棱.体长为体高的 4.1~5.7 倍,为体宽的 4.7~7.8 倍.头长为体高的 1.1~1.5 倍.尾柄长为尾柄高的 1.7~2.5 倍.体表侧线以上为灰褐色,以下为灰白色,体表有密布黑色小斑点(黄柏山尖头大吻鲢皮肤除腹部小部分颜色较浅,其余部分为黄褐色且颜色较深).眼间距大于眼径.体表鳞片细小,排列紧密,侧线完全.尾鳍浅分叉.体侧有一条从前至后逐渐颜色加深的明显的纵

带.背鳍前方为深褐色或黑色的斑块,从头部到背鳍前端黑斑为水滴状或者两段宽中间窄沙漏型,尾鳍后方为红褐色或黑色线斑.

2.2 拉氏大吻鲢形态学分析

各鳍条数目:背鳍(D) III-8,臀鳍(A) III-7,胸鳍(P) I-13~16,腹鳍(V) II-7,尾鳍(C) 20.

拉氏大吻鲢,体型较细长,侧扁,腹部无棱.体长为体高的6~6.6倍,为体宽的9.5~11.3倍.头长大于体高,头长为体高的1.6~1.7倍.尾柄长为尾柄高的2.1~2.4倍.口裂较深,口末端到达眼眶前缘.无须,眼较大,眼间距大于眼径.鳞片细小,排列紧密.尾鳍浅叉形,上下叶末端弧形.背部中央有一条从头部末端延伸至尾鳍的深青灰色条纹,且粗细较均匀.体侧有一条明显的黑色纵纹.水中生活状态下,体表从背部向腹部由淡淡的亮黄色变为白色,且体表没有斑点或身上极少黑色小斑点.经甲醛浸泡后体表从背部向腹部由青灰色变为灰白色,侧线以下腹部以上出现稀疏的黑色小斑点,体侧尾柄处中间有颜色较暗的纵带.

2.3 分子系统学分析

本实验通过PCR扩增共获得拉氏大吻鲢线粒体COI基因序列6条,尖头大吻鲢线粒体COI基因序列14条,通过与NCBI数据库对比后,下载同种序列以及近缘种COI基因序列,通过BioEdit比对后获得一致序列长度为627 bp,其中简约信息位点165个,保守位点510个,T,C,A,G含量分别为30.3%、25.9%、25.5%、18.3%,从碱基组成来看,A+T的含量(55.8%)

高于C+G的含量(44.2%),表明拉氏大吻鲢和尖头大吻鲢的COI基因碱基组成具有A、T碱基偏向性,这一结果与其他鲤科鱼类的COI基因研究结果相一致.除横涧和太平镇聚在一支,其它不同地点采集到的尖头大吻鲢样品之间,遗传距离较大,多大于0.02,但仍然聚在一支,部分在NCBI数据无近似序列的分支和其他物种遗传距离远大于已确认的尖头大吻鲢遗传距离.

表1 本研究中涉及的样品信息

Tab.1 Information of specimens in this study

物种名	NCBI 登录号或编号	采样地点或数据来源
尖头大吻鲢 <i>Rhynchocypris oxycephalus</i>	HBS02-HBS05	商城县黄柏山(淮河)
	HJ01,HJ03	卢氏县横涧乡(黄河)
	HQ01-HQ05	栾川县庙子乡汉秋村(黄河)
	QG01-QG02	辉县秋沟(海河)
	TP03,TP05	西峡县太平镇(长江)
	FJ197701.1	PARK et al.,2008 [#]
	MF122744.1	SHEN et al.,2017 [#]
	MF122751.1	SHEN et al.,2017 [#]
	MF122753.1	SHEN et al.,2017 [#]
MF122757.1	SHEN et al.,2017 [#]	
KP641342.1	SUI et al.,2015 ^[9]	
拉氏大吻鲢 <i>Rhynchocypris lagowskii</i>	LZ01-LZ09	林州市石板岩镇(海河)
	LC277265.1	WATANABE et al.,2018 ^[10]
	KR091310.1	XU,et al.,2015 [#]
AP009147.1	IMOTO et al.,2006 ^[11]	
花江大吻鲢 <i>Rhynchocypris czekanowskii</i>	MG806866.1	SCHONHUTH et al.,2018 ^[12]
湖大吻鲢 <i>Rhynchocypris percnurus</i>	KM019393.1	IMONDI et al.,2014 [#]
	KM019394.1	IMONDI et al.,2014 [#]
吻鲢 <i>Rhinichthys cataractae</i>	MG421091.1	DEWAARD,2017 [#]
	MG421536.1	DEWAARD,2017 [#]
	MG422434.1	DEWAARD,2017 [#]
	JN028362.1	APRIL et al.,2011 ^[13]
	EU525123.1	HUBERT et al.,2008 ^[14]
EU525127.1	HUBERT et al.,2008 ^[14]	
真鲢 <i>Phoxinus phoxinus</i>	KM286959.1	KNEBELSBERGER et al.,2014 ^[15]
	KM287013.1	KNEBELSBERGER et al.,2014 ^[15]
	KM287021.1	KNEBELSBERGER et al.,2014 ^[15]
	KM287025.1	KNEBELSBERGER et al.,2014 ^[15]
	KM373657.1	KNEBELSBERGER et al.,2014 ^[15]
KM373662.1	KNEBELSBERGER et al.,2014 ^[15]	
鲫 <i>Carassius auratus</i>	KR861804.1	SHEN et al.,2015 [#]

注:#为仅上传至NCBI数据库但暂未发表文章数据.

3 讨 论

3.1 河南省拉氏大吻鲢和尖头大吻鲢的物种有效性

《河南鱼类志》^[3] 中描述的长江鲢和山西鲢的形态学特征,根据现有形态数据比对分析,和尖头大吻鲢的形态特征相一致,因而,长江鲢和山西鲢应为不同区域分布的尖头大吻鲢。

通过与相关文献中关于尖头大吻鲢的记载,河南省大吻鲢属鱼类与尖头大吻鲢以及拉氏大吻鲢的形态学特征基本一致。拉氏大吻鲢单独聚为一支,且组内遗传距离小于 0.02。全省各水系样点采集尖头大吻鲢获得数据和我们从 NCBI 下载数据聚为支持率较高的一支(94%),不同样点

采集到的尖头大吻鲢分别单独聚为一支,组间遗传距离均大于 0.02,组内遗传距离小于 0.02。

表 2 拉氏大吻鲢和尖头大吻鲢形态学数据

Tab.2 Morphological measurement data of *Rhynchocypris lagowskii* and *Rhynchocypris oxycephalus*

变量	拉氏大吻鲢 (n=11)			尖头大吻鲢 (n=46)		
	范围	平均值	标准差	范围	平均值	标准差
BH/g	1.55~6.71	4.38	1.39	3.21~22.94	10.02	5.86
TL/mm	73.68~101.08	86.93	9.31	71.17~125.89	94.79	15.41
BL/mm	62.27~86.35	73.05	8.24	57.12~105.98	78.42	13.63
BD/mm	8.15~14.03	11.67	1.48	10.61~24.59	16.27	3.75
BW/mm	4.76~8.47	7.15	0.90	8.52~17.70	12.12	2.83
HL/mm	14.15~22.33	19.44	2.24	16.29~28.13	20.90	3.41
SNL/mm	4.27~7.00	6.07	0.76	4.84~9.71	6.80	1.35
PV/mm	8.57~13.96	11.61	1.41	6.45~17.50	11.31	3.00
OD/mm	3.91~5.16	4.72	0.36	3.57~5.45	4.46	0.50
IW/mm	4.98~9.04	7.32	1.03	7.32~12.41	8.99	1.57
CPL/mm	12.50~20.38	16.62	2.20	12.10~26.63	18.26	3.67
CPD/mm	5.45~8.57	7.41	0.95	6.41~12.47	9.34	1.72
DL/mm	5.72~9.17	7.67	0.82	5.11~11.76	7.96	1.60
PFL/mm	9.39~12.86	11.06	0.96	9.73~16.48	12.12	1.70
PVL/mm	6.95~10.78	9.52	1.04	7.41~13.02	9.69	1.51
AL/mm	4.11~7.56	6.53	1.08	4.54~9.06	6.44	1.30
PA/mm	5.58~9.56	7.92	1.13	4.42~14.46	8.48	2.28

注:体质量 BH,全长 TL,体长 BL,体高 BD,体宽 BW,头长 HL,吻长 SNL,腹鳍基末端至臀鳍基起点 PV,眼径 OD,眼间距 IW,尾柄长 CPL,尾柄高 CPD,背鳍长 DL,胸鳍长 PFL,腹鳍长 PVL,臀鳍长 AL,腹鳍起点到肛门的距离 PA。

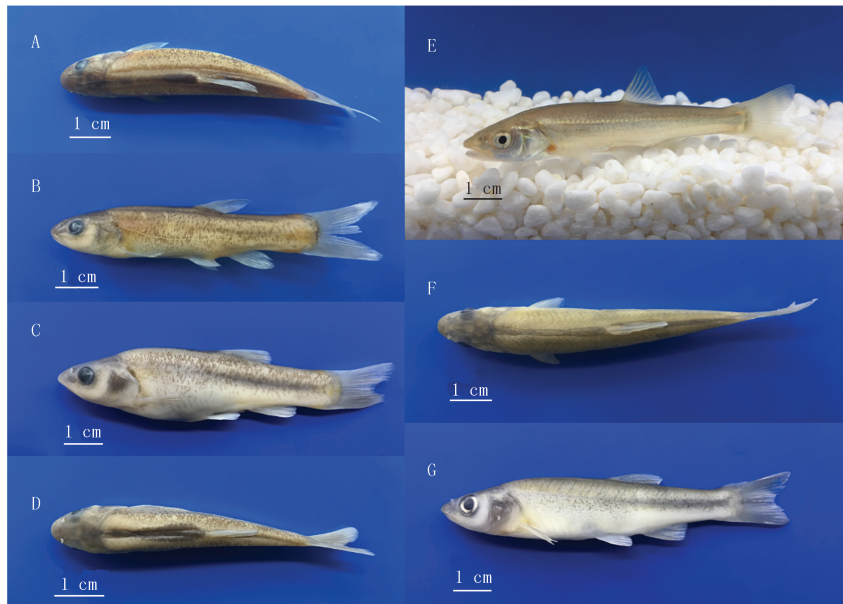


图1 不同样点拉氏大吻鲢和尖头大吻鲢
 商城黄柏山尖头大吻鲢:A. 背部图(Dorsal view);B. 侧视图(lateral view). 栾川县庙子镇汉秋村尖头大吻鲢:C. 背部图(Dorsal view);D. 侧视图(lateral view). 林州市石板岩镇拉氏大吻鲢:E. 活体照片(living female lateral view);F. 背部图(Dorsal view);G. 侧视图(lateral view).

图1 不同样点拉氏大吻鲢和尖头大吻鲢

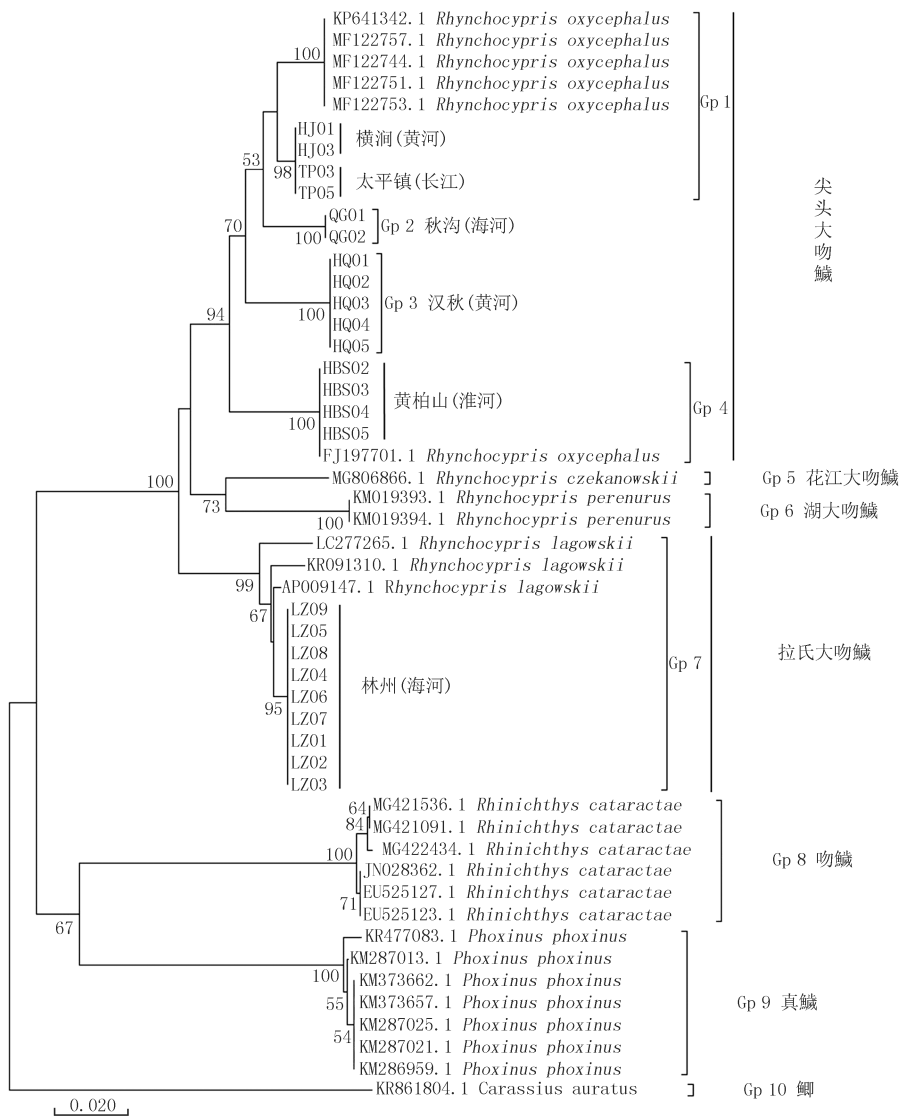
Fig.1 Different samples of *Rhynchocypris oxycephalus* and *Rhynchocypris lagowskii*

表 3 基于 Kimura 2-parameter 模型不同种之间 COI 基因遗传距离

Tab.3 The pairwise comparisons of genetic distance between different species based on the COI gene based on the Kimura 2-parameter model

分组	样品数	组内遗传距离	GP1	GP2	GP3	GP4	GP5	GP6	GP7	GP8	GP9	GP10
GP1	9	0.010	Na									
GP2	2	0.000	0.031									
GP3	5	0.000	0.033	0.052								
GP4	5	0.000	0.044	0.057	0.050							
GP5	1	Na	0.070	0.076	0.074	0.072						
GP6	2	0.000	0.071	0.081	0.085	0.077	0.061					
GP7	12	0.007	0.067	0.069	0.071	0.069	0.072	0.077				
GP8	6	0.003	0.174	0.163	0.168	0.163	0.178	0.185	0.165			
GP9	7	0.002	0.168	0.178	0.169	0.171	0.135	0.163	0.159	0.154		
GP10	1	Na	0.194	0.186	0.203	0.189	0.178	0.184	0.170	0.185	0.201	Na

根据遗传距离计算,不同地区采集到的尖头大吻鲢之间的遗传距离大于 0.02,不符合同一物种之间遗传距离小于 0.02 的规律.俞丹采集了中国涵盖长江、黄河等水系的众多尖头大吻鲢样品,将数据整理后发现分为十个明显的谱系,每个谱系之间基于 Kimura 2-parameter 模型计算遗传距离,各个谱系内平均遗传距离仅为 0.009 8,谱系之间的遗传距离在 0.027 ~ 0.084 之间,证明了尖头大吻鲢不同谱系之间遗传距离较大.同时通过 Mantel test 检验证明了尖头大吻鲢种群间遗传分化程度和地理距离之间存在着显著的相关



注: 登录号为NCBI数据库下载数据

图2 基于Kimura 2-parameter模型建立的大吻鲢属、吻鲢、真鲢COI基因的Neighbor-Joining树

Fig.2 Neighbor-Joining tree for Rhynchoypris, Rhinichthys cataractae, Phoxinus phoxinus and Carassius auratus inferred from mitochondrial COI gene sequences based on Kimura 2-parameter model

性($r=0.467$; Mantel test: $p=0.000$)^[17].河南省的尖头大吻鲢存在着相同的规律.结合有关形态学特征的描述,可以确定河南省大吻鲢属鱼类分别为尖头大吻鲢和拉氏大吻鲢.

不同区域分布的尖头大吻鲢遗传距离较大,形态上也具有较大的差异,这些不同区域分布的尖头大吻鲢是否为不同的亚种,通过对尖头大吻鲢研究范围的增大以及样本数量的增加,会做出进一步的解释.

3.2 鲃亚科大吻鲢属的确认

按照以往的记录,大吻鲢属隶属于雅罗鱼亚科^[2,3].根据《中国内陆鱼类物种与分布》记录,大吻鲢属为鲃亚科,鲢属为雅罗鱼亚科^[1].基于 Ito 等^[5]通过同工酶分析及 Sakai 等^[6]利用 18S rRNA 以及 16S rRNA 基因支持将东亚鲢系鱼类分为 8 个物种,另外,本研究下载了鲢属的鱼类进行建树及遗传距离分析,计算发现大吻鲢属鱼类与鲢属鱼类之间的遗传距离在 0.135 ~ 0.178 之间;大吻鲢属鱼类与吻鲢属鱼类之间的遗传距离在 0.163 ~ 0.185,遗传距离均较大.因此现在将大吻鲢属归为鲃亚科,而鲢属为雅罗鱼亚科较为合理.

3.3 尖头大吻鲢与拉氏大吻鲢的区分特征

据《中国动物志·鲤形目(中卷)》记载^[2],尖头大吻鲢和拉氏大吻鲢的主要鉴别特征为尖头大吻鲢尾柄长为尾柄高的 2 倍以下,拉氏大吻鲢尾柄长为尾柄高的 2 倍以上,而河南省尖头大吻鲢尾柄长为尾柄高的 1.7~2.5 倍,拉氏大吻鲢尾柄长为尾柄高的 2.1~2.4 倍,因而以往的鉴别特征现已无法完全区别出河南省这两种鱼.

根据现有数据分析,尖头大吻鲢和拉氏大吻鲢的区分特征主要在体高、体宽和体长的比值.尖头大吻鲢体长与体高、体宽的比值均小于拉氏大吻鲢体长与体高体宽的比值.因此拉氏大吻鲢比尖头大吻鲢体型更加细长.另外尖头大吻鲢和拉氏大吻鲢的体色有明显的区别,尖头大吻鲢的体色为褐色或红褐色,拉氏大吻鲢体色为青灰色.且背部的斑块尖头大吻鲢的形状背鳍前端为倒置的水滴形或漏斗形,而拉氏大吻鲢斑块为粗细均匀的粗线,且尖头大吻鲢的斑块颜色为深黑色,拉氏大吻鲢的斑块为青灰色且颜色较浅,以上特征可以作为区分这两种鱼形态依据.

3.4 尖头大吻鲢和拉氏大吻鲢的生存状况和保护意义

尖头大吻鲢分布河南各大流域.由于拉氏大吻鲢在河南省的分布范围极小,目前为止仅在河南省林州市石板岩镇发现,因而对河南省的拉氏大吻鲢可以建立相应的自然保护区.尖头大吻鲢和拉氏大吻鲢均属于冷水性鱼类,多生活在风景区以及海拔较高的山间溪流,水质较好,随着全球气温的升高,以及人类生产导致水污染,适合大吻鲢属鱼类生境逐年缩小,因而对拉氏大吻鲢和尖头大吻鲢的生存环境应加以保护^[18].尖头大吻鲢和拉氏大吻鲢对于研究冷水性动物的种群结构、环境的适应性等可作为良好的模式种.研究过程中,发现尖头大吻鲢存在物种间遗传距离大、不同区域之间形态差异较大的特殊性,对于这些特殊性存在诸多问题需要解决,如形成较大遗传距离和形态差异是否可以进一步认定为新的物种;形成形态差异具体是由于哪一方面因素造成;较大遗传距离产生的原因,大吻鲢属物种分化机制及其驱动因素有哪些等.因而尖头大吻鲢对于研究物种的种群动态以及遗传研究具有较为重要的意义.

参 考 文 献

- [1] 张春光.中国内陆鱼类物种与分布[M].北京:科学出版社,2016.
ZHANG C G.Species diversity and distribution of inland fishes in China[M].Beijing:Science Press,2016.
- [2] 陈宜瑜.中国动物志·鲤形目(中卷)[M].北京:科学出版社,1998.
CHEN Y Y.Fauna sinica Cypriniformes(middle volume)[M].Beijing:Science Press,1998.
- [3] 新乡师范学院生物系.河南鱼类志[M].郑州:河南科技出版社,1984.
Department of biology, Xinxiang normal university. The fishes of Henan[M].Zhengzhou:Henan Science and Technology Press,1984..
- [4] HOWES G J.A revised synonymy of the minnow genus *Phoxinus Rafinesque*, 1820(Teleostei: Cyprinidae) with comments on its relationships and distribution[J].Bulletin of the British Museum(Natural History),1985,48(1):57-74.
- [5] ITO Y, SAKAI H, SHEDKO S, et al.Genetic differentiation of the northern Far East cyprinids, *Phoxinus* and *Rhynchocypris*[J].Fisheries Science,2008,68(2):75-78.
- [6] SAKAI H, ITO Y, SHEDKO S, et al.Phylogenetic and taxonomic relationships of northern far eastern Phoxinin minnows, *Phoxinus* and *Rhynchocypris* (Pisces, Cyprinidae), as inferred from allozyme and mitochondrial 16S rRNA sequence analyses[J].Zoological Science, 2006,23(4):323.

- [7] SAMBROOK J, FRITSH E F, MANIATIS T. Molecular cloning: a laboratory manual[M]. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, 1989.
- [8] FOLMER O, BLACK M, HOEH W, et al. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates[J]. Molecular Marine Biology and Biotechnology, 1994, 3(5): 294-299.
- [9] SUI X, LIANG Y, HE D. The complete mitochondrial genome of *Rhynchocypris oxycephalus* (Cypriniformes: Cyprinidae)[J]. DNA Sequence, 2016(5): 3367-3369.
- [10] WATANABE K, SAKAI H, SANADA T, et al. Comparative phylogeography of diadromous and freshwater daces of the genus *Tribolodon* (Cyprinidae)[J]. Ichthyological Research, 2018, 65(3): 383-397.
- [11] IMOTO J M, KENJI S, TAKESHI S, et al. Phylogeny and biogeography of highly diverged freshwater fish species (Leuciscinae, Cyprinidae, Teleostei) inferred from mitochondrial genome analysis[J]. Gene, 2013, 514(2): 112-124.
- [12] SCHONHUTH S, VUKIC J, SANDA R, et al. Phylogenetic relationships and classification of the holarctic family Leuciscidae (Cypriniformes: Cyprinoidei)[J]. Molecular Phylogenetics & Evolution, 2018, 127: 781-799.
- [13] JULIEN A, RICHARD L M, ROBERT H H, et al. Genetic calibration of species diversity among North America's freshwater fishes[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2011, 108(26): 10602-10607.
- [14] HUBERT N, HANNER R, HOLME, et al. Identifying Canadian freshwater fishes through DNA barcodes[J]. PLoS One, 2008, 3(6): e2490.
- [15] THOMAS K, DUNZ A R, DIRK N, et al. Molecular diversity of Germany's freshwater fishes and lampreys assessed by DNA barcoding[J]. Molecular Ecology Resources, 2015, 15(3): 562-572.
- [16] KUMAR S, STECHER G, TAMURA K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis Version 7.0 for bigger datasets[J]. Molecular Biology & Evolution, 2016, 33(7): 1870.
- [17] 俞丹. 冷水鱼类尖头鲮谱系生物地理分析、形态分化及对气候变化的响应[D]. 武汉: 中国科学院水生生物研究所, 2012.
YU D. Phylogeography, morphological differentiation and response to climate change of cold-water fish Chinese minnow (*Rhynchocypris oxycephalus*) [D]. Wuhan: Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, 2012.
- [18] YU D, CHEN M, TANG Q, et al. Geological events and pliocene climate fluctuations explain the phylogeographical pattern of the cold water fish *Rhynchocypris oxycephalus* (Cypriniformes: Cyprinidae) in China. BMC Evolutionary Biology, 2014, 14(1): 225.

Rhynchocypris classification status determination in Henan province

Zhou Chuanjiang¹, Yang Changxing¹, Meng Xiaolin¹, Zhang Jianxin¹, Song Dongying¹, Zhao Haipeng², Nie Guoxing¹

(1. College of Fisheries, Engineering Technology Research Center of Henan Province for Aquatic Animal Cultivation, Key Laboratory of Protection and Development Utilization of Aquatic Biological Resources, Henan Normal University, Xixiang 453007, China; 2. School of life sciences, Henan University, Kaifeng 475004, China)

Abstract: Two species of *Rhynchocypris* fishes were collected during an investigation on fish resources. The specimens were identified as *Rhynchocypris oxycephalus* and *Rhynchocypris lagowskii* based on morphological and molecular data. Because of the high morphological similarity between the *Rhynchocypris oxycephalus* and *Rhynchocypris lagowskii*, combined with the data available from the two species we collected, we found that the previous identification characteristics could not completely distinguish the two species. Therefore, the main morphological characteristics, distribution area, living environment and living habits of two species of fishes were further analyzed. This study makes a systematic comparison of the *Rhynchocypris* distributed in Henan Province, revises the main identification characteristics and its distribution of *Rhynchocypris* in Henan province. The collected specimens are preserved in Fish Specimen Library of College of Fisheries, Henan Normal University.

Keywords: *Rhynchocypris oxycephalus*; *Rhynchocypris lagowskii*; identification characteristics; Henan Province

[责任编辑 王凤产 杨浦]