

基于形态学及线粒体 COI 基因序列的 河南省新纪录种兴凯鲌近似种的鉴定

周传江¹,汪曦¹,张巧鸽²,张冬艳³,陈国贤⁴,孙亚伟⁴,宋东莹¹,聂国兴¹

(1.河南师范大学 水产学院,河南 新乡 453007;2.舞钢市水产技术推广站,河南 平顶山 462500;
3.叶县水产技术推广站,河南 平顶山 467000;4.平顶山市水产技术推广站,河南 平顶山 467000)

摘要:2017 年河南省鱼类资源调查队在平顶山市叶县境内沙河段进行鱼类资源调查过程中,采集 3 尾鲌属 *Acheilognathus* 鱼类,经形态特征鉴定其为兴凯鲌近似种(*Acheilognathus aff. chankaensis*),并通过分析线粒体 COI 基因来验证形态学的鉴定结果,以弥补传统形态学分析方法中可能由于形态差异较小、形态特征主观判断较强等原因导致的分类鉴定结果差距较大的问题,从而实现兴凯鲌近似种的有效识别,后查阅文献该种为河南省新纪录种,其主要鉴别形态特征为:口端位,口角有短凸状须或无须,口角与眼下缘水平线接近,第二不分枝鳍条较长,体侧纵带向前延伸超背鳍起点.通过与鲌属其他鱼类分析比较,基于 MEGA 6 软件中的常用 KP2 模型建立 NJ 系统发育树,结果显示,采集到的样本单独聚为一支构成一个单系类群且具有较高的支持率.标本保存于河南师范大学水产学院鱼类标本室,就相关内容进行详细报道.

关键词:兴凯鲌近似种;新纪录种;河南省

中图分类号:Q959

文献标志码:A

鲌亚科鱼类曾具有两种命名方式分别为 1863 年 Bleeker 建立的 *Acheilognathini* 和 1868 年 Günther 建立的 *Rhodeina*.根据《国际动物命名法规》名称与命名方案的有效性中优先权的原则,Bleeker 建立的 *Acheilognathini* 更早,因此,目前该亚科的有效学名为 *Acheilognathini*.目前有关该亚科鱼类的研究主要集中在形态学特征、分子系统学、生物地理学以及物种有效性等方面研究^[1-6].

鲌亚科(*Acheilognathinae*) 在分类学中隶属于鲤形目(Cypriniformes)鲤科(Cyprinidae),是一种生活于淡水中的小型鱼类,喜栖息于静浅水域,以藻类和浮游生物为食,为杂食性鱼类,体长一般小于 180 mm,体侧扁且高,体型为卵圆形或菱形,没有腹棱,具有完全或不完整的侧线,背鳍和臀鳍无硬刺或具有光滑无锯齿的硬刺,分支鳍条大于 8.口端位呈马蹄形,少数呈端上位,具有口角须或者无,1 行下咽齿(5/5),齿面平滑或带有锯齿.具有明显的雌雄差异,处于繁殖期的雄性个体在吻部,颊部以及眼眶周围形成明显的珠星,且具有艳丽的色彩,雌性个体则会在生殖期具有突出的产卵管^[7].该亚科鱼类主要分布于亚洲东部,东南部,欧洲目前报道的有黑龙江鳊鱼(*Rhodeus sericeus*)、鳊鱼(*Rhodeus amarus*)和科尔沁达鳊鱼(*Rhodeus colchicus*) 3 种^[8-10].在我国各个类型的水体中均有分布.目前被学者广泛接受的观点是 1988 年 Arai & Akai 提出的 3 个属分类方式^[11-12],分别为鲌属(*Acheilognathus*)、鳊鱼属(*Rhodeus*)和田中鳊鱼属(*Tanakia*).鲌属其模式种为 *Acheilognathus melanogaster*,在我国分布于长江、黄河、闽江、韩江^[13].根据《河南鱼类志》记载目前河南省常见的种类有:中华鳊鱼(*Rhodeus sinensis*)、彩石鳊鱼(*Rhodeus lighti*)、兴凯鲌(*Acheilognathus*

收稿日期:2019-04-20;**修回日期:**2019-07-01.

基金项目:国家自然科学基金(31872199);河南省科技攻关重点项目(142102110144;142102110057;122102110049;122102310357;162102310443;182102110007;182102110046;182102110237;172102310751);河南省创新型科技团队支持计划(XTD2016043);河南省水产学重点学科(5102190411001).

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,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研究,E-mail:niegx@htu.cn.

chankaensis)、越南鲮(*Acheilognathus tonkinensis*)、大鳍鲮(*Acheilognathus macropterus*)、斑条鲮(*Acheilognathus taenianalis*)、高体鳊鲃(*Rhodeus ocellatus*)等^[14]。

鲮属鱼类个体较小,传统分类学方法在利用形态进行鉴定时特征不很明显,尤其在形态近似种中外形态鉴定时容易产生混淆,且要求具备较高的专业知识.基于此,在鲮属鱼类近似种的分类鉴定中迫切需要快速、有效的方法.目前,通过分析 DNA 序列来进行分子鉴定的方法已经成为物种鉴定的有效手段之一,并且在鱼类的鉴定中得到广泛的应用^[15-18].很大程度上满足了对形态近似种的鉴别,弥补了传统分类方法的短板,本研究以河南省鱼类资源调查队在进行鱼类调查时采集的样本为研究对象,结合形态特征并且利用线粒体 COI 基因进行分子鉴定,以期能够准确鉴别调查过程中发现的兴凯鲮近似种,进而为后期的河南省鱼类资源调查工作提供相应的基础数据.

1 材料与方 法

1.1 材 料

本研究中所采集到的 3 尾样本均采自叶县境内沙河流域,采用地笼诱捕的方式进行采集,经检索鉴别其特征符合鲮属鱼类的主要鉴别特征,但不完全符合目前河南省鱼类相关记载文献中该属鱼类的特征^[14],通过查阅《河南鱼类志》^[14]与《河南鱼类补遗》^[19]等资料没有该物种的相关记录,应为河南省内的鱼类新纪录种.样品经初步形态鉴定后,放入拍照缸中进行活体照片的采集,同时取其右侧的鳃放入装有体积分数 95% 乙醇 1.5 mL 的离心管中,以备后期实验室分子生物学实验.取过鳃的样本腹腔注射体积分数 10% 甲醛溶液后保存于同浓度甲醛溶液中,用于后期形态数据测量及描述,在样品瓶上标注采集地点,采集方法以及采集时间等信息,并且在采样记录本中进行详细的记录,所有样品最终保存于河南师范大学水产学院鱼类标本室.

1.2 形态测量

参考《中国动物志 硬骨鱼纲 鲤形目》形态指标定义,用精确度为 0.01 mm 的电子数显游标卡尺对甲醛样本进行测量,主要包括全长,体长,头长,头高,吻长,眼径,眼间距,眼后头长,体高,尾柄长,尾柄高,背鳍基长,背鳍前长,臀鳍基长,胸鳍基长等 15 项指标,同时分别对其背鳍,臀鳍,胸鳍,腹鳍鳍条以及侧线鳞数目进行计数.

1.3 DNA 条形码数据鉴定

1.3.1 DNA 提取

从酒精固定的鳃组织取 0.2 g 左右,置于 1.5 mL 的离心管中,加入无菌双蒸水高速离心(10 000 r · min⁻¹)2~3 次去除残留酒精后,经 55 °C 烘干后,利用酚-氯仿法提取基因组 DNA,后进行凝胶电泳和超微量分光光度计检测,将检测合格的样品置于-20 °C 冰箱中备用.

1.3.2 COI 基因的获得

用于 PCR 扩增线粒体 COI 基因的引物对序列见表 1.

表 1 用于 PCR 扩增的引物序列信息

Tab.1 Information of primers used in polymerase chain reaction

引物 primer	序列 sequence
PP-F	5'-GGTATTAGTCTGCATCTCTGG-3'
PP-R	5'-GGTATTAGTCTGCATCTCTGG-3'

30 μ L PCR 反应体系为:Mix 酶:15 μ L;引物:PP-F,PP-R 引物各 1.5 μ L;灭菌双蒸水:11 μ L;模板:电泳检测中条带清晰 DNA 样品 1 μ L.

PCR 反应条件:94 °C 预变性 5 min;94 °C 变性 30 s,55 °C 退火温度 30 s,72 °C 延伸 30 s;30 次循环,72 °C 终延伸 10 min.将最终获得的检测合格的 PCR 产物送至武汉天一辉远生物科技公司进行测序.

1.4 数据分析

将测序结果利用 Lasergene version7.0 软件包中的 Seqman 组装并根据峰图文件对碱基序列可靠性校

对后获得一个重叠群文件,并且将此文件在 NCBI 数据库进行 BLAST 分析(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>),以确认获得序列是否为目的基因,同时从数据库中下载鲌亚科鱼类的 COI 序列(详见表 2),利用 BioEdit 软件将实验获得的 COI 序列与数据库中下载得到的数据进行 CLustal W 多重比对分析后进行剪切获得一致序列,在 MEGA 6 软件中利用 K2P 双参模型,Bootstrap 值设置为 1 000、其他设置参数为默认值,基于邻接算法(neighbor joining, NJ)法建立系统关系发育树,通过将拓扑结构中聚集的各支分别分组后计算组间和组内的遗传距离用于评价序列与物种之间的关系。

表 2 本研究样品信息

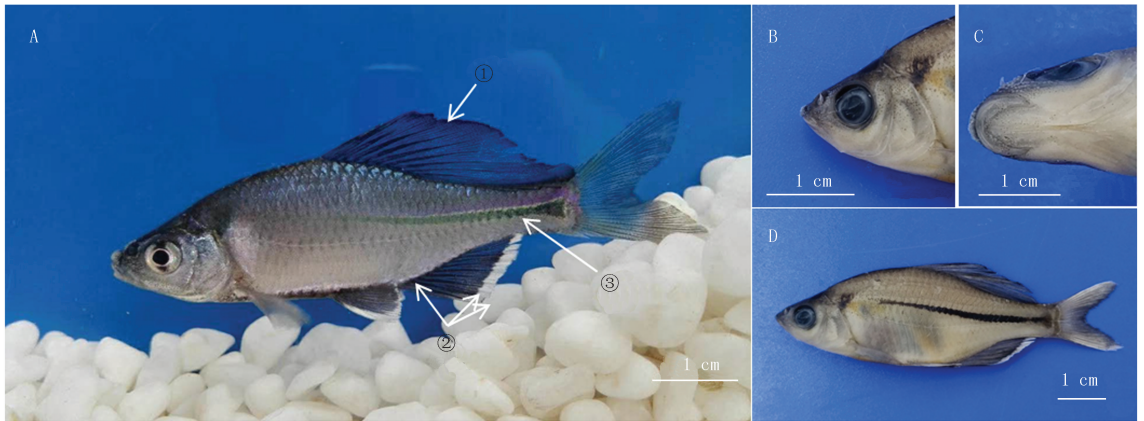
Tab.2 Information of specimen in this study

物种名称	组别	NCBI 登录号或样品编号	数据来源
兴凯鲌近似种 <i>Acheilognathus aff. chankaensis</i>	Gp_14	309123,309124,309125	本研究
鳊鲂 <i>Rhodeus amarus</i>	Gp_1	HM392083.1	Unpublished
		HM392082.1	Unpublished
南方鳊鲂 <i>Rhodeus meridionalis</i>	Gp_3	HQ600764.1	Triantafyllidis ^[20]
		HQ600764.1	Triantafyllidis ^[20]
韩鲌 <i>Acheilognathus somjinensis</i>	Gp_9	KY649030.1	Jeon ^[21]
		KY649029.1	Jeon ^[21]
高丽田中鳊鲂 <i>Acheilognathus signifer</i>	Gp_11	HQ536266.1	Unpublished
		HQ536265.1	Unpublished
中华鳊鲂 <i>Rhodeus sinensis</i>	Gp_2	MF122715.1	Unpublished
		MF122716.1	Unpublished
高体鳊鲂 <i>Rhodeus ocellatus</i>	Gp_2	KM610905.1	Chen ^[22]
		KM610906.1	Chen ^[22]
	Gp_5	MF939375.1	Unpublished
		MF939374.1	Unpublished
彩石鳊鲂 <i>Rhodeus lighti</i>	Gp_5	MG913599.1	Sun ^[23]
		MG913598.1	Sun ^[23]
朝鲜鳊鲂 <i>Rhodeus uyekii</i>	Gp_6	HQ536507.1	Unpublished
		HQ536506.1	Unpublished
济南鳊鲂 <i>Rhodeus notatus</i>	Gp_7	HQ536499.1	Unpublished
		HQ536498.1	Unpublished
朝鲜鲌 <i>Acheilognathus yamatsutae</i>	Gp_10	HQ536279.1	Unpublished
		HQ536280.1	Unpublished
		HQ536281.1	Unpublished
斜方鲌 <i>Acheilognathus rhombeus</i>	Gp_12	HQ536262.1	Unpublished
		HQ536263.1	Unpublished
		HQ536264.1	Unpublished
大鳍鲌 <i>Acheilognathus macropterus</i>	Gp_8	KR861751.1	Unpublished
		KR861752.1	Unpublished
		KR861753.1	Unpublished
黑龙江鳊鲂 <i>Rhodeus sericeus</i>	Gp_4	MG913604.1	Unpublished
		MG913605.1	Unpublished
兴凯鲌 <i>AcanthoRhodeus chankaensis</i>	Gp_13	MF122003.1	Unpublished
		MF122002.1	Unpublished

2 结 果

2.1 形态学证据

形态学鉴定 3 尾,各项指标均符合兴凯鲮近似种的相关特征:背鳍鳍式 iii-9、臀鳍 iii-9、胸鳍 i-11、腹鳍 i-7.侧线完全,侧线鳞 35-36,横列鳞 7-9,纵列鳞 34-37,形态测量标本共计 3 尾结果显示:形态测量标本共计 3 尾结果显示:全长(65.36 ± 1.3) mm,体长(52.03 ± 0.92) mm,体高(17.13 ± 1.18) mm,头长(12.13 ± 0.64) mm,头高(12.29 ± 0.63) mm,吻长(3.57 ± 0.71) mm,眼径(3.87 ± 0.2) mm,眼间距(4.43 ± 0.07) mm,眼后头长(4.68 ± 0.48) mm,尾柄长(11.5 ± 0.32) mm,尾柄高(6.03 ± 0.19) mm,体侧浅绿色纵带(33.62 ± 0.32) mm,体长为体高的 2.82~3.24 倍、为头长的 3.85~4.19 倍、为尾柄长的 4.32~4.63 倍、为尾柄高的 8.35~9.06 倍.其主要形态特征为体侧扁,纺锤形,头较长且大于头高,口端位,口裂微向下止于鼻孔前缘,上颌后缘约与眼下缘处于同一水平线,3 尾标本均未见凸起状须(图版 1 中 B,C 所示),鼻孔介于眼前缘上端与吻端之间,鳃孔上角端略低于眼上缘高度,具有较平直且完全的侧线,第二根不分枝鳍条(图版 1 中①所示)较长但几乎等于或略短于最后一根不分枝鳍条长度.活体体侧有一条浅绿色带向前延伸超背鳍前端(图版 1 中③所示),且臀鳍及腹鳍外缘为白色宽约为鳍条本身的 1/4(图版 1 中②所示).可由图版 1 中 D 图可看出甲醛固定标本的体侧带呈黑色,超过背鳍起点,臀鳍及腹鳍的外缘为白色,根据以上特征可以判断捕获的鱼类为鲮属鱼类,为了进一步详实探明捕获样本的具体种类,我们将活体照片以及甲醛固定好的标本带至中国科学院水生生物研究所请曹文宣院士以及张鹞研究员、刘焕章研究员等专家进一步鉴定确认,经过商讨最终认为该批标本应为兴凯鲮近似种(*Acheilognathus aff. chankaensis*)较为合理.



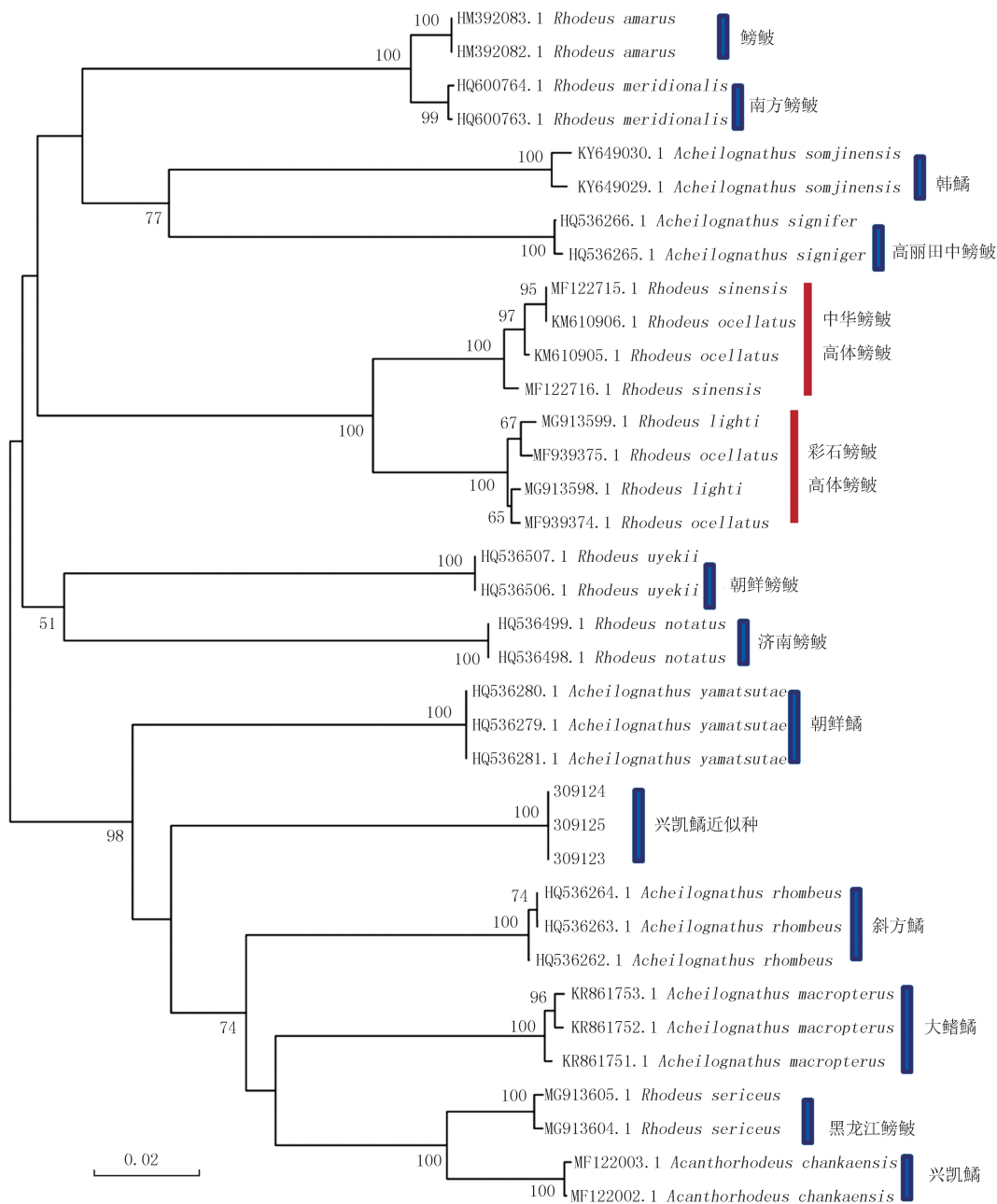
注:①第二根不分枝鳍条;②臀鳍及其白边;③体侧纵带;B 口唇侧面;C 口唇腹面。

图 1 兴凯鲮近似种 (A 活体, B 甲醛固定) 及吻部特征 (B 侧面, C 腹面)

Fig.1 *Acheilognathus aff. chankaensis* and close-up view of mouth

2.2 分子生物学及分子系统学结果

本研究通过分子生物学的方法进行提取、扩增、双向测序获得 3 条 COI 基因序列,通过与 NCBI 数据库中的近缘种 COI 基因序列比对后获得 618 bp 的一致序列,其中包含保守位点 414 个,简约信息位点 201 个,T,C,A,G 碱基分别为 28.7%、28.8%、24.3%、18.2%,从碱基组成来看,A+T(53%)的含量高于 C+G(47%)的含量,该结果与其他鲤科鱼类的 COI 基因研究结果相一致,表明该基因具有 A,T 碱基偏向性.通过与近缘种构建的 NJ 系统发育树可以看出,本研究中所用到的样本除中华鲮、高体鲮、彩石鲮外其他样本均形成一个单系类群并且具有高的支持率,采集到的样本独自形成一支构成支持率为 100% 的单系类群(见图 2).根据 NJ 树结果可以判断组的划分是可靠的,每一支上的遗传距离均小于 0.02.其他不同物种之间除南方鲮与鲮遗传距离为 0.016 外其他组间的遗传距离均大于 0.02,详见表 3.



注: 节点支持率低于 50% 的没有显示.

图 2 基于线粒体 COI 基因鲮亚科鱼类邻接法 (neighbor-joining method, NJ) 系统发育关系

Fig.2 Acheilognathini phylogenetic relationship based on mitochondrial COI gene with neighbor-joining method

3 讨论

3.1 河南省兴凯鲮近似种的物种有效性

本研究采集到的样本通过与相关权威材料中所描述的形态学特征进行对比, 确认该样本为鲮属鱼类且同已描述的兴凯鲮具有较相似的特征, 根据武汉中国科学院水生生物几位专家的建议将其定义为兴凯鲮近似种, 河南省之前相关的文献中没有对该物种的描述, 因此, 采集到的鱼类为河南省新记录种. 通过与其近缘

种建立的邻接系统发育树,结果发现,本研究中采集到的样本能够单独聚为一支,形成一个单系群,并且组内的个体间遗传距离小于0.02,与目前鱮亚科中其他物种没有产生交叉的现象,因此根据分子数据我们可以得到采集到的样本不同于河南省目前已有的物种,因此,认定其为河南省新纪录种.

表3 鱮亚科鱼类线粒体COI基因的组间遗传距离

Tab.3 Genetic distance of Acheilognathini mitochondrial COI sequence

NO.	Gp_1	Gp_2	Gp_3	Gp_4	Gp_5	Gp_6	Gp_7	Gp_8	Gp_9	Gp_10	Gp_11	Gp_12	Gp_13
Gp_1													
Gp_2	0.186												
Gp_3	0.016	0.182											
Gp_4	0.200	0.199	0.208										
Gp_5	0.174	0.059	0.172	0.199									
Gp_6	0.170	0.175	0.165	0.205	0.174								
Gp_7	0.161	0.203	0.168	0.194	0.189	0.158							
Gp_8	0.207	0.194	0.199	0.097	0.199	0.198	0.198						
Gp_9	0.165	0.173	0.161	0.218	0.176	0.189	0.169	0.227					
Gp_10	0.157	0.190	0.160	0.136	0.191	0.175	0.175	0.122	0.191				
Gp_11	0.161	0.194	0.158	0.190	0.203	0.215	0.184	0.188	0.150	0.211			
Gp_12	0.186	0.207	0.185	0.110	0.207	0.175	0.175	0.115	0.231	0.134	0.205		
Gp_13	0.193	0.205	0.203	0.041	0.200	0.199	0.192	0.116	0.217	0.161	0.198	0.116	
Gp_14	0.184	0.188	0.190	0.121	0.178	0.194	0.200	0.153	0.213	0.148	0.201	0.148	0.122

3.2 鱮亚科鱼类属的划分

鱮亚科鱼类,在不同国家研究人员采用不同的分类系统,这些不同的分类系统造成了该亚科鱼类在属的水平上,各不相同的分类学特征界定,从而造成了分类系统的混乱.具体来讲,由于该亚科的鱼类主要分布的为亚洲,因此主要研究集中在亚洲国家,在我国学者吴清江将该亚科鱼类划分为6个属分别为① 鳊属(*Rhodeus*)② 彩石鲃属(*Pseudoperilampus*)③ 副鳊属(*Pararhodeus*)④ 鱮属(*Acheilognathus*)⑤ 副鱮属(*Paracheilognathus*)⑥ 刺鳊属(*Acanthorhodeus*),之后中国动物志中将该亚科鱼类分为了① 鱮属(*Acheilognathus*)② 副鱮属(*Paracheilognathus*)③ 鳊属(*Rhodeus*)3个属,之后的研究中认定副鱮属为无效属名,中国动物志中记载的副鱮属鱼类根据目前接受对较广的 Arai & Akai 提出的分类方法应该隶属与其中的鱮属(*Acheilognathus*)以及田中鳊属(*Tanakia*),另外王以康、孟庆闻、李国良、林人端等研究者也都各自根据不同的形态特征进行了属的分类描述^[7,24-26].而日本研究人员将鱮亚科鱼类划分为3到6个属, Arai & Akai 将其分为3个属^[11-12]; Jordan & Thompson 等人将其划分为① 鱮属(*Acheilognathus*)② 鳊属(*Rhodeus*)③ 刺鳊属(*Acanthorhodeus*)④ 田中鳊属(*Tanakia*)4个属^[27];而 Matsubara 将其划分为① 鳊属(*Rhodeus*)② 彩石鲃属(*Pseudoperilampus*)③ 田中鳊属(*Tanakia*)④ 鱮属(*Acheilognathus*)⑤ 副鱮属(*Paracheilognathus*)⑥ 刺鳊属(*Acanthorhodeus*)等6个属^[28],韩国研究人员 Uchida 将其划分为① 鳊属(*Rhodeus*)② 彩石鲃属(*Pseudoperilampus*)③ 鱮属(*Acheilognathus*)④ 副鱮属(*Paracheilognathus*)以及⑤ 刺鳊属(*Acanthorhodeus*)5个属,之后 Choi 等人将其划分成① 鳊属(*Rhodeus*)② 刺鳊属(*Acanthorhodeus*)③ 鱮属(*Acheilognathus*)3个属^[29-30],可以看到在鱮亚科的属层面上就存在诸多争议,各方研究者根据自身所获得的样品及数据分别做了相应的分类系统,有部分重叠和不同,尚无广泛接受的系统.那么种水平的分类自然也是千差万别,利用分子生物学技术对于鱮亚科鱼类进行系统的分类描述报道也较少,并且有研究指出在多数情况下系统发育树的结果同形态数据不能很好地匹配上如本研究中存在高体鳊

鲮与彩石鲮聚在一起的现象,另外本研究中出现了高体鲮与中华鲮聚为一支的现象,这可能证实了林人端在中国动物志硬骨鱼纲鲤形目提到的中华鲮与高体鲮为同物异名的观点,但目前没有一个具体的衡量标准来评价,另外根据资源调查中发现的情况来看,该亚科鱼类数量较多且分布与河南省的各大水系之中,并且存在较大形态差异,利用更多的不同来源的数据和整合分析方法可能会找到更多的证据来对该属鱼类进行评价途径,但这还有更多的工作需要做,以揭示这一复杂类群的系统发生和物种形成过程。

参 考 文 献

- [1] 王景龙,陈启豪,陆文泽,等.河南省淮河流域鲮(鲮)亚科5种鱼形态差异分析[J].水生生物学报,2019,43(1):127-136.
- [2] 杨晴.鲮亚科鱼类分类整理及分子系统发育研究[D].武汉:华中农业大学,2010.
- [3] 王尚红.鲮亚科三种鱼类线粒体全基因组测定及其比较基因组学分析[D].南昌:南昌大学,2015.
- [4] 陈欣.我国鲮亚科鱼类遗传多样性及系统发育研究[D].新乡:河南师范大学,2011.
- [5] 朱玉蓉,刘焕章.大鳍鲮基于细胞色素 b 基因序列的遗传变异及生物地理过程[J].水生生物学报,2006,30(2):134-140.
- [6] 李琳琳.长江以南及台湾高体鲮的亲缘地理研究[D].上海:上海海洋大学,2016.
- [7] 陈宜瑜.中国动物志(硬骨鱼纲 鲤形目 中卷)[M].北京:科学技术出版社,1998:413-454.
- [8] Berg L S. Freshwater Fishes of the U.S.S.R. and Adjacent Countries, 4-th ed, Moscow-leningrad: Izd[J]. Acad Nausk SSSR, 1949, 2: 469-925.
- [9] Bogutskay N G ,Komlev A M. Some new date to morphology of *Rhodeus sericeus* (Cyprinidae, Acheilognathinae) and a description of a new species, *Rhodeus colchicus*, from west Transcaucasia[J], Proc Zoo INST, 2001, 287: 81-97.
- [10] Lelek A. Freshwater Fishes of Europe, Threatened Fishes of Europe [M]. Wiesbaden: Anla Verlag, 1987.
- [11] Arai R. Fish systematics and cladistics. in: Uyeno T, Okiyama M eds. Ichthyology Current [M]. Tokyo: Askura Shoten, 1988.
- [12] Arai R, Akai Y. *Acheilognathus melanogaster*, a senior synonym of *A. moriokae*, with a revision of the genera of the subfamily Acheilognathinae (Cypriniformes, Cyprinidae)[J]. Bull Natl Sci Mus Tokyo Ser A, 1988, 14: 199-213.
- [13] 伍献文.中国鲤科鱼类志(上)[M].上海:上海科学技术出版社,1964:202-225.
- [14] 新乡师院生物系.河南鱼类志[M].郑州:河南科技出版社,1984:69-80.
- [15] Bunholi I V, Ferrette B L D S, Biasi J B D, et al. The fishing and illegal trade of the angel shark; DNA barcoding against misleading identifications[J]. Fisheries Research, 2018, 206: 193-197.
- [16] Na Wu, Zhang N, Cao M, et al. The identification analysis of fish eggs from lagoon of Yongshu Reef based on DNA barcoding technology [J]. Freshwater Fisheries, 2018(2): 51-57.
- [17] Cawthorn D M, Steinman H A, Witthuhn R C. DNA barcoding reveals a high incidence of fish species misrepresentation and substitution on the South African market[J]. Food Research International, 2012, 46(1): 30-40.
- [18] Cutarelli A, Amoroso M G, De Roma A, et al. Italian market fish species identification and commercial frauds revealing by DNA sequencing[J]. Food Control, 2014, 37(1): 46-50.
- [19] 许涛清,李仲辉.河南鱼类补遗[J].河南师范大学学报(自然科学版),1991,19(1):81-83.
- [20] Triantafyllidis A, Bobori D, Koliimitra C, et al. DNA barcoding analysis of fish species diversity in four north Greek lakes[J]. Mitochondrial DNA, 2011, 22(S1): 37-42.
- [21] Jeon H B, Anderson D, Won H, et al. Taxonomic characterization of *Tanakiar*, species (Acheilognathidae) using DNA barcoding analyses [J]. Mitochondrial DNA Part A, 2017, 29(6): 964-973.
- [22] Chen W T, Ma X H, Shen Y J, et al. The fish diversity in the upper reaches of the Salween River, Nujiang River, revealed by DNA barcoding[J]. Sci Rep, 2015, 5: 17437.
- [23] Sun B, Chang Y M, Su B F, et al. DNA Barcoding Analysis of Three *Rhodeus* Fishes in Heilongjiang River[J]. Genomics and Applied Biology, 2018, 37(12): 5220-5225.
- [24] 王以康.鱼类分类学[M].北京:科技卫生出版社,1958:195-210.
- [25] 刘建康.鱼类学论文集:第四集[C].北京:科学出版社,1985:22-25.
- [26] 李国良.中国鲮亚科分类的研究[C]//天津:天津自然博物馆论文集,1990:80-83.
- [27] Jordan D S ,Thompson W F .Record of the fishes obtained in Japan in 1911[J]. Mem Carneg Mas, 1914, 6: 205-313.
- [28] Matsubara K. Morphology and Hierarchy of Fishes, Part 1[M]. Tokyo: Ishizaki Shoten, 1955.
- [29] Uchida K. The fishes of Tyosen (Korea)[J]. Bull Fish Exp Sta, Government-General of Tyosen, 1939, 6: 18-43.

- [30] Choi K C, Jeon S R, Kim I S, et al. Coloured illustrations of the freshwater fishes of Korea (in Korean with English abstract)[J]. Seoul: Hyangmun Sa, 1990, 30-47.

Identification new fish record Henan province of *Acheilognathus* aff. *Chankaensis* based on morphology and mitochondrial *COI* gene sequence

Zhou Chuanjiang¹, Wang Xi¹, Zhang Qiaoge², Zhang Dongyan³,
Chen Guoxian⁴, Sun Yawei⁴, Song Dongying¹, Nie Guoxing¹

(1.College of Fisheries, Engineering Technology Research Center of Henan Province for Aquatic Animal Cultivation Henan Normal University, Xinxiang 453007, China; 2. Aquatic Technology Extension Station of Wugang city, Pingdingshan 462500, China; 3. Aquatic Technology Extension Station of Yexian County, Pingdingshan 467000, China; 4. Aquatic Technology Extension Station of Pingdingshan city, Pingdingshan 467000, China)

Abstract: During the fish resource investigation of Henan province in 2017, we captured three fish (*Acheilognathus*) in the Shahe River of Yexian County section, Pingdingshan City, which were identified by morphological characteristics as *Acheilognathus* aff. *Chankaensis*. Meanwhile, we analyzed the mitochondrial *COI* gene to confirm the morphological identification results to compensate for the difficulty of classification in traditional morphological analysis methods due to small morphological differences and subjective judgment for morphological characters, thus achieving efficient recognition of *Acheilognathus* aff. *chankaensis*. After widely reviewing the literature we conformed that *Acheilognathus* aff. *chankaensis* is a new recorded species in Henan province. And its main identification morphological features are as follows. The direction of the mouth points straight ahead. Short convex whiskers or no whiskers at the corners of the mouth and the corners of the mouth are close to the lower edge of the eyes. The second unbranched dorsal fin is longer than other unbranched dorsal fin. The longitudinal band on the side of the body extends forward past the base of the dorsal fin. Based on the analysis of other fishes in *Acheilognathus*, the NJ phylogenetic tree was established based on the K2P model with MEGA 6 software. The results showed that the collected samples were clustered into one monophyletic group with high support value. The specimens of *Acheilognathus* aff. *chankaensis* are now kept in the fish specimens laboratory of the fisheries college of Henan normal university. This paper will report the relevant content.

Keywords: *Acheilognathus* aff. *chankaensis*; new record species; Henan province

[责任编辑 王凤产 杨浦]