

基于DNA条形码的武夷光唇鱼物种有效性

王荣达, 张琰, 郝信鹏, 杨金权

Species validity of *Acrossocheilus wuyiensis* based on DNA barcode

WANG Rongda, ZHANG Yan, HAO Xinpeng, YANG Jinquan

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.12024/jsou.20210403418>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

长江近口段沿岸亚科鱼类的数量动态及其影响因子

Quantity dynamics of subfamily fishes Gobioninae and related environmental factors in tidal coastal waters of the Yangtze River
上海海洋大学学报. 2020, 29(3): 364 <https://doi.org/10.12024/jsou.20190502631>

*MsxC*基因在斑马鱼肌间刺和大侧肌发育中的作用

Role of *MsxC* gene in the development of intermuscular bones and axial muscle in zebrafish
上海海洋大学学报. 2022, (2): 328 <https://doi.org/10.12024/jsou.20200503064>

绥芬河三块鱼属“银滩头”洄游群体的分子鉴定

Molecular identification of *Tribolodon* “silver beachhead” migratory population in Suifen River
上海海洋大学学报. 2021, 30(6): 951 <https://doi.org/10.12024/jsou.20200903175>

基于线粒体基因标记的太平洋褶柔鱼群体遗传结构及变异分析

Genetic variation and genetic structure analysis of *Todarodes pacificus* based on mitochondrial DNA markers
上海海洋大学学报. 2021, 30(4): 763 <https://doi.org/10.12024/jsou.20200703103>

基于DNA条形码的如东海域浒苔附着鱼卵的物种鉴定

Molecular identification of fish eggs in Enteromorpha of Rudong sea area based on DNA barcode
上海海洋大学学报. 2018, 27(1): 1 <https://doi.org/10.12024/jsou.20170301981>

文章编号: 1674-5566(2022)04-0858-07

DOI:10.12024/jsou.20210403418

基于 DNA 条形码的武夷光唇鱼物种有效性

王荣达^{1,2}, 张 琰^{1,2}, 郝信鹏^{1,2}, 杨金权^{1,2}

(1. 上海海洋大学 海洋动物系统分类与进化上海高校重点实验室, 上海 201306; 2. 上海海洋大学 水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306)

摘 要: 以线粒体 *CO I* 基因全序列为分子标记分析中国台湾省分布的台湾光唇鱼 (*Acrossocheilus paradoxus*) 和闽江分布的武夷光唇鱼 (*A. wuyiensis*) 的物种有效性。光唇鱼属 (*Acrossocheilus*) 6 个种 76 尾样本的 *CO I* 基因全序列共获得 21 个单倍型, 采用最大简约法 (MP)、最大似然法 (ML) 和贝叶斯法 (BI) 构建的系统发育树表明, 台湾光唇鱼和武夷光唇鱼构成单系群。K 2-P 遗传距离分析显示台湾光唇鱼与武夷光唇鱼之间平均遗传距离仅为 0.853%, 远小于 *CO I* 条形码在物种间的 2% 遗传距离阈值。以 ASAP 物种界定法分析结果显示台湾光唇鱼和武夷光唇鱼为同一物种。因此, 闽江分布的武夷光唇鱼与台湾光唇鱼应为同一物种, 武夷光唇鱼为台湾光唇鱼的同物异名。

关键词: 台湾光唇鱼; 线粒体 *CO I* 基因; 同物异名; ASAP 法; 物种界定

中图分类号: S 917 **文献标志码:** A

光唇鱼属 (*Acrossocheilus* Oshima, 1919) 隶属鲤形目 (Cypriniformes) 鲤科 (Cyprinidae) 鲃亚科 (Barbinae), 我国主要分布于长江及其以南水系, 包括我国台湾省和海南岛, 少数种类见于越南和老挝, 是一群生活于急流环境中的中小型淡水鱼类^[1-4]。Fishbase 数据库 (<https://www.fishbase.cn/search.php>) 显示光唇鱼属曾有 47 个种和亚种, 去除同物异名, 目前仍认为有 26 个有效种, 其中 20 个种和亚种分布在中国。该属物种传统形态分类主要将体色和条纹、下唇结构和背鳍末根不分支鳍条的粗细及后缘锯齿的有无等作为主要鉴别特征, 但由于其种类多, 同一物种可能因栖息环境的不同导致种群间出现形态差异。另外, 个体不同发育阶段形态差异及雌雄两性异形存在等导致光唇鱼属物种间性状交叉颇多, 物种鉴定非常困难, 目前仍没有可被广泛认可的形态分类体系。

我国东南部的浙江、福建和台湾境内独立水系众多, 生态环境多样, 因此该区域光唇鱼属种类也极为丰富, 共记录有 8 种^[1,4,5]。但是该区域这些物种的有效性和地理分布问题至今仍然存在

在争议, 如: 伍献文等^[1]和单乡红等^[4]认为台湾有光唇鱼 *A. fasciatus* (Steindachner, 1892)、台湾光唇鱼 *A. formosanus* (Regan, 1908) 和厚唇光唇鱼 *A. labiatus* (Regan, 1908) 3 种, 光唇鱼和厚唇光唇鱼还分布于浙江和福建等地, 台湾光唇鱼在浙江也有分布。SUNG 等^[6]采用同工酶技术, 对台湾各水系光唇鱼属鱼类进行分析, 最终将其合并为同一种即台湾光唇鱼 *A. paradoxus* (Gunther, 1868), 并认为是台湾特有种^[7-8]。YUAN 等^[8]以线粒体控制区序列的系统发育研究, 指出大陆东南部水系广泛分布的厚唇光唇鱼和光唇鱼应为同一种, 而分布于闽江的厚唇光唇鱼和光唇鱼与武夷光唇鱼 *A. wuyiensis* (Wu & Chen, 1981) 为同物异名, 武夷光唇鱼为其有效种名。此后亦有基于线粒体 *cyt b* 基因的研究认为台湾光唇鱼也分布在大陆闽江水系, 并提出台湾光唇鱼起源于大陆, 经过两次冰河时期的 3 次拓殖事件到达台湾^[9]。侯晓静^[10]采用多基因分子标记的大陆光唇鱼属亲缘地理研究结果与 YUAN 等^[8]对大陆光唇鱼的分类结果相一致。HOU 等^[11]基于线粒体基因组的光唇鱼系统发育研究也表明台湾光

收稿日期: 2021-04-26 修回日期: 2021-06-11

基金项目: 国家自然科学基金(31872207)

作者简介: 王荣达(1996—), 女, 硕士研究生, 研究方向为水生生物学。E-mail: jaywrd@163.com

通信作者: 杨金权, E-mail: jqyang@shou.edu.cn

唇鱼与武夷光唇鱼亲缘关系最近。因此,现今基本认为台湾只有 1 种光唇鱼即台湾光唇鱼,与闽江的武夷光唇鱼为近源种,但二者是否为彼此独立的物种仍然存在疑问。

DNA 条形码 (DNA Barcoding) 是利用 DNA 序列对物种进行鉴定的分子生物学方法,由于它不依赖于保存样本的完整性,不受生物体不同发育阶段影响,在相似种鉴别中有更高的准确性,被广泛应用于物种鉴定和遗传多样性研究^[12-13]。*CO I* 基因因具备进化速率适宜,易于扩增等优点被认为是理想的 DNA 条形码^[14]。研究表明,*CO I* 基因在鱼类物种间有较高的物种鉴定可靠性,可以很好地区分约 98% 的海洋鱼类和 93% 的淡水鱼类^[12,15-16]。本研究借助 *CO I* 基因作为遗传标记,分析台湾光唇鱼与分布于闽江武夷光唇鱼物种有效性,为光唇鱼属的分类研究等提供依据。

1 材料与方法

1.1 样本采集

所用标本采集于 2011 年 5 月—2020 年 7 月。依据单乡红等^[4]进行分类鉴定,然后按照 YUAN 等^[8]和侯晓静^[10]研究结果,选择物种典型性样本进行分析,将分布于浙江各水系原定名为厚唇光唇鱼和光唇鱼视为光唇鱼,将分布于闽江的视为武夷光唇鱼。共有 6 种光唇鱼属鱼类 9 个地理种群共 76 尾样本,另外选取东方墨头鱼 (*Garra orientalis*)、纹唇鱼 (*Osteochilus salsburyi*) 和台湾白甲鱼 (*Onychostoma barbatulum*) 3 种 4 尾样本作为外类群用于系统发育分析。标本经鉴定打好标签并取下肌肉后,置于 95% 乙醇中固定,所有标本保存于上海海洋大学鱼类标本室 (表 1)。

表 1 光唇鱼属的样本信息、21 个单倍型的分布频率及群体的遗传多样性

Tab. 1 Sample information, distribution frequency of 21 haplotypes, haplotype diversity (h) and nucleotide diversity (π) of *Acrossocheilus*

| 物种 Species | 采集地 Location | 样本数 Sample size | 单倍型数 Haplotype number | 单倍型 Haplotype | 单倍型多样性 Haplotypes diversity (h) | 核苷酸多样性 Nucleotide diversity (π) |
|------------------------------|-----------------|--------------------|--------------------------|---|--|--|
| 台湾光唇鱼 <i>A. paradoxus</i> | 台湾(后掘溪、云水溪、杉林溪) | 15 | 3 | APa1(9)、APa2(2)、APa3(4) | 0.590 5 ± 0.106 0 | 0.001 74 ± 0.000 36 |
| 武夷光唇鱼 <i>A. wuyiensis</i> | 闽江 | 32 | 4 | AWy1(6)、AWy2(5)、 AWy3(4)、AWy4(17) | 0.663 3 ± 0.068 1 | 0.000 82 ± 0.000 11 |
| 半刺光唇鱼 <i>A. hemispinus</i> | 闽江 | 15 | 6 | AH1(1)、AH2(2)、AH3(6)、 AH4(4)、AH5(1)、AH6(1) | 0.790 5 ± 0.078 5 | 0.001 78 ± 0.000 42 |
| 温州光唇鱼 <i>A. wenchowensis</i> | 瓯江 | 5 | 2 | AW1(2)、AW2(3) | 0.600 0 ± 0.175 3 | 0.000 77 ± 0.000 23 |
| 克氏光唇鱼 <i>A. kreyenbergii</i> | 钱塘江 | 5 | 3 | AK1(1)、AK2(3)、AK3(1) | 0.700 0 ± 0.218 4 | 0.001 03 ± 0.000 39 |
| 光唇鱼 <i>A. fasciatus</i> | 瓯江、钱塘江 | 4 | 3 | AF1(1)、AF2(1)、AF3(2) | 0.833 3 ± 0.222 4 | 0.003 01 ± 0.000 82 |
| 总计 Total | | 76 | 21 | | 0.915 8 ± 0.017 8 | 0.053 03 ± 0.004 08 |

注: 括号内数字表示共享该单倍型的样本数。APa. *A. paradoxus*; AWy. *A. wuyiensis*; AH. *A. hemispinus*; AW. *A. wenchowensis*; AK. *A. kreyenbergii*; AF. *A. fasciatus*。

Notes: Number in brackets indicates the number of samples sharing the haplotype.

1.2 基因组 DNA 提取、PCR 扩增、基因测序

采用生工生物工程公司(上海)动物基因组 DNA 提取试剂盒提取 DNA。利用 NCBI Primer-BLAST 设计引物(表 2)。PCR 扩增体系为 25 μ L 包含: *Taq* PCR Master Mix (BBI) 12.5 μ L; ddH₂O 9.5 μ L; 上下游引物各 1.0 μ L (浓度 10 μ mol/

L); DNA 模板 1.0 μ L。反应程序: 94 $^{\circ}$ C 预变性 4 min, 扩增 35 个循环 (94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 53 $^{\circ}$ C 退火 45 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min), 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min, 4 $^{\circ}$ C 保存。送至上海生工生物工程公司进行测序, 由于 *CO I* 基因全长较长, 为保证测序准确性, 设计中间引物加测了中间部分的序列。

表 2 *CO I* 扩增引物Tab. 2 Amplification primers of *CO I* sequences

| 引物 Primer | 引物序列(5'→3') Primer sequence(5'→3') |
|---------------------|------------------------------------|
| <i>CO I</i> - F5421 | ACCTCTGTCTTCGGGGCTAC |
| <i>CO I</i> - R7212 | TGGTGATGCTGCCGTCTTG |
| Mid - F6109 | TCGAAATCTCAACACCACATTC |

1.3 序列比对与分析

用 DNASTar 中的 SeqMen^[17] 读取测序峰图, 拼接并进行人工校正。用 MEGA 7.0^[18] 对序列进行比对并分析变异情况, 并用 Kimura 2-parameter 模型计算种间和种内遗传距离。用 DnaSP 5.1^[19] 软件统计单倍型数, 计算单倍型多样性 Haplotypes diversity (h), 核苷酸多样性 Nucleotide diversity (π)。

1.4 系统发育关系分析与物种界定

采用最大似然法(maximum likelihood, ML)、最大简约法(maximum parsimony, MP)和贝叶斯法(Bayesian inference, BI)构建分子系统发育树。利用 jModeltest 2.0^[20] 以 AIC(Akaike information criterion)为标准选出最佳模型(TIM3 + I)。使用 PhyML 3.0^[21] 构建最大似然(ML)树, 并通过 1 000 次重复自举测试评估统计置信度。

采用 MrBayes 3.2.6^[22] 进行贝叶斯推理(BI)分析, 以随机树为起始树, 替代模型参数 Nst 设置为 6, 采用马尔科夫链的蒙特卡罗(Markov Chain Monte Carlo, MCMC)方法, 同时运行 4 条马尔科夫链(1 条冷链及 3 条热链)运算 1 000 万代, 每 1 000 次取样 1 次, 去掉运算开始 25% 的不可信老化树, 直到链的收敛分离频率平均标准方差小于 0.01 停止运算。将得到的一致树用 FigTree 1.4.0 查看并编辑。

使用 PAUP 4.0^[23] 对数据进行最大简约法(MP)系统发育分析, 采用启发式搜索(heuristic search), 树二等分再连接(tree-bisection-reconnection, TBR)的分支交换法。逐步加入算法(stepwise addition tree), random-addition sequences 设置为 10 次。转换(transition, Ti)和颠换(transversion, Tv)设置为相同的权重, 分支

置信度以 1 000 次自引导法(bootstrap analysis, BP)进行评估。

以 ASAP (assemble species by automatic partitioning)法进行物种界定^[24], 将光唇鱼属各单倍型序列输入 ASAP 网站(<https://bioinfo.mnhn.fr/abi/public/asap/asapweb.html>)运行物种界定, 采用 Jukes-Cantor(JC69)模型进行分析。

2 结果

2.1 *CO I* 基因序列特征

经比对以及手工校正, 得到 *CO I* 基因全长序列 1 551 bp, 共编码 517 个氨基酸。其中: 保守位点(conserved sites)1 298 个, 占 83.69%; 可变位点(variable sites)253 个, 占 16.31%。简约信息位点(parsimony-informative sites)247 个, 占 15.92%; 单突变位点(singleton sites)6 个, 占 0.38%。碱基组成: A = 27.0%、T = 28.9%、C = 26.7% 和 G = 17.4%, A + T 的含量较高为 55.9%, 明显高于 G + C 的含量(44.1%)。核苷酸碱基组成表现出较为明显的碱基偏倚性。

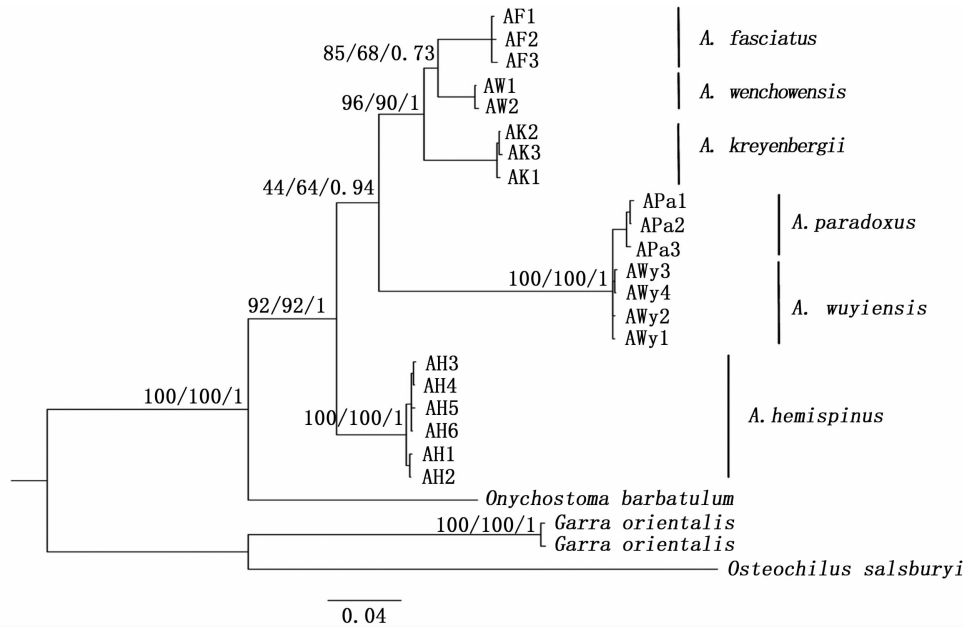
2.2 单倍型分布情况及遗传多样性

6 种 76 尾光唇鱼样本共检测到 21 种单倍型, 各群体中单倍型个数为 2~6 个。平均单倍型多样性(h)为 0.9158 ± 0.0178 , 平均核苷酸多样性(π)为 0.05303 ± 0.00408 (表 1), 如此高的核苷酸多样性水平是由于物种间分化较大所致。除光唇鱼因来自两个水系且样本较少外, 其余各种的单倍型多样性指数皆处于 0.6 左右的中等水平; 核苷酸多样性(π)在 0.001 左右, 呈现低核苷酸多样性水平, 其中温州光唇鱼和武夷光唇鱼的核苷酸多样性最低, 分别为 0.00077 和 0.00082。

2.3 系统发育关系

以东方墨头鱼、纹唇鱼和台湾白甲鱼作为外类群,采用 MP、ML 和 BI 等 3 种方法分别构建系统发育树,其结果显示 3 种树的拓扑结构基本一致(图 1)。6 种光唇鱼除武夷光唇鱼外皆各自形

成了单系群,其中半刺光唇鱼处于树的基部,台湾光唇鱼和武夷光唇鱼聚为单系群,具有极高的支持率(100/100/1),它们与光唇鱼、温州光唇鱼和克氏光唇鱼组成的单系群互为姐妹群。



分支长度取自 BI 树。节点上的数字依次为 MP/ML/BI 分析的自展支持率(bootstrap value, BV)和后验概率值(posterior probability, PP)。

Branch length is taken from the BI analyses. The numbers on the nodes are the bootstrap values and posterior probabilities from MP/ML/BI analyses.

图 1 基于 CO I 基因序列采用最大简约法(MP)、最大似然(ML)和贝叶斯法(BI)3种方法建立的系统发育树

Fig.1 Phylogenetic trees derived from Maximum parsimony (MP), Maximum likelihood (ML) and Bayesian (BI) methods showing the phylogeny of *Acrossocheilus* based on complete mitochondrial CO I sequences

2.4 物种界定

种间和种内平均 K 2-P 遗传距离如表 3 所示。种内遗传距离为 0.077% ~ 0.302%, 种间遗传距离为 0.932% ~ 10.826%。如果从种间遗传

距离来看,仅台湾光唇鱼与武夷光唇鱼的遗传距离小于 2%,为 0.932%,其次为温州光唇鱼与光唇鱼、克氏光唇鱼的遗传距离为 4% ~ 5%,其余各种间的遗传距离均在 10% 以上水平。

表 3 光唇鱼属群体内、群体间 K 2-P 遗传距离

Tab.3 Average K 2-P distance between and within nine groups of *Acrossocheilus* populations

| 物种 Species | 台湾光唇鱼 <i>A. paradoxus</i> | 武夷光唇鱼 <i>A. wuyiensis</i> | 半刺光唇鱼 <i>A. hemispinus</i> | 温州光唇鱼 <i>A. wenchowensis</i> | 克氏光唇鱼 <i>A. kreyenbergii</i> | 光唇鱼 <i>A. fasciatus</i> |
|------------------------------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|----------------------------|
| 台湾光唇鱼 <i>A. paradoxus</i> | 0.001 75 | | | | | |
| 武夷光唇鱼 <i>A. wuyiensis</i> | 0.009 32 | 0.000 83 | | | | |
| 半刺光唇鱼 <i>A. hemispinus</i> | 0.105 08 | 0.102 11 | 0.001 79 | | | |
| 温州光唇鱼 <i>A. wenchowensis</i> | 0.108 26 | 0.100 56 | 0.072 75 | 0.000 77 | | |
| 克氏光唇鱼 <i>A. kreyenbergii</i> | 0.105 14 | 0.100 29 | 0.078 27 | 0.047 97 | 0.001 03 | |
| 光唇鱼 <i>A. fasciatus</i> | 0.108 23 | 0.103 34 | 0.076 66 | 0.040 23 | 0.055 95 | 0.003 02 |

ASAP 物种界定分析结果显示(图 2), 除例外类群 3 种以外, 光唇鱼属分 5 群为最佳, 包括: 第 1 群为半刺光唇鱼、第 2 群为光唇鱼、第 3 群为温

州光唇鱼、第 4 群为克氏光唇鱼、第 5 群为台湾光唇鱼和武夷光唇鱼, ASAP 分数最低的为最佳分群。

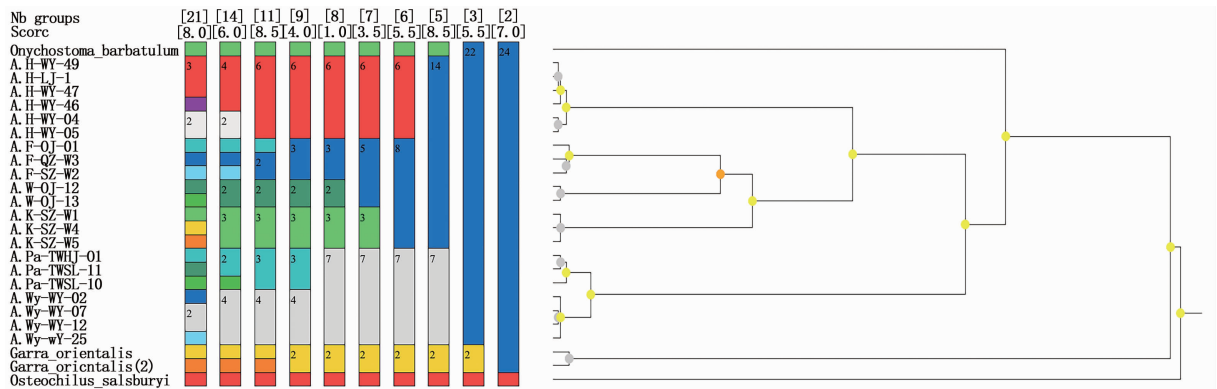


图 2 ASAP 物种界定法的分析结果

Fig. 2 Result based on assemble species by automatic partitioning method (ASAP)

3 讨论

HEBERT 等^[25]提出的基于 *CO I* 基因序列鉴别物种的关键是种间遗传距离必须大于种内遗传距离, 而且距离差异大于 10 倍。并且 HEBERT^[26]对动物界 11 个动物门 13 320 个物种进行研究发现物种内的遗传距离绝大多数小于 1%, 很少有大于 2%。本研究结果显示, 台湾的台湾光唇鱼与闽江的武夷光唇鱼构成单系群, 其遗传距离仅为 0.932%, 远远小于 2%, 而这两种与本研究同属其他物种之间的遗传距离均超过了 10%。尽管这两个物种间的遗传距离未完全达到群体内遗传距离台湾光唇鱼(0.175%)和武夷光唇鱼(0.083%)的 10 倍以上, 但以 ASAP 物种界定法分析结果也将台湾光唇鱼和武夷光唇鱼归为同一物种。JU 等^[9]研究结果显示, 台湾和闽江的台湾光唇鱼种群并没有各自形成单系群, 而是形成 4 个单系群, 闽江种群(应为武夷光唇鱼)为一单系群与台湾北部种群形成的单系群为姐妹群关系, 台湾其余种群组成的两个单系群为姐妹群关系, 表明闽江种群与台湾北部地区的种群间亲缘关系更近, 甚至近于台湾岛北部与南部种群间的亲缘关系。通过检视标本形态特征来看, 二者体色和横条纹一致, 背鳍鳍膜均为黑色, 下唇结构因个体大小和性别差异区别也不稳定, 另外武夷光唇鱼背鳍末根不分枝、鳍条后缘均有细锯齿, 15 尾台湾光唇鱼标本中背鳍末根不

分枝鳍条后缘光滑和有细锯齿的类型皆有(6 尾 Vs 9 尾)。因此, 没有明显和稳定的形态特征作为二者的鉴别性状。综上分析, 闽江分布的武夷光唇鱼 *A. wuyiensis* (Wu & Chen, 1981) 与台湾光唇鱼 *A. paradoxus* (Gunther, 1868) 应为同一物种, 武夷光唇鱼为台湾光唇鱼的同物异名。

尽管本研究的系统发育关系分析结果显示台湾与闽江的台湾光唇鱼种群共同构成了单系群, 但 YUAN 等^[8]的结果支持闽江和台湾的台湾光唇鱼种群各自为单系群, JU 等^[9]的研究结果也支持闽江种群为一单独谱系。因而对于该物种, 至少应该分为闽江和台湾两个进化显著单位 (evolutionary significant unit, ESU) 分别进行保护。研究结果表明, 闽江和台湾的台湾光唇鱼种群遗传多样性均处于较低水平, 闽江种群核苷酸多样性相比台湾种群水平更低, 因此闽江种群更应加强保护。

参考文献:

- [1] 伍献文, 曹文宣, 易伯鲁, 等. 中国鲤科鱼类志[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1982.
- [2] 郑慈英. 珠江鱼类志[M]. 北京: 科学出版社, 1989.
- [3] 朱元鼎, 伍汉霖, 金鑫渡, 等. 福建鱼类志[M]. 福州:

- 福建科学技术出版社, 1985.
- ZHU Y D, WU H L, JIN X D, et al. The fishes of Fujian [M]. Fuzhou: Science and Technology of Fujian Press, 1985.
- [4] 单乡红, 林人端, 乐佩琦, 等. 中国动物志, 硬骨鱼纲, 鲤形目(下卷)[M]. 北京: 科学出版社, 2000.
- SHAN X H, LIN R D, LE P Q, et al. Fauna sinica, Barbinae, Cypriniformes, Osteichthyes [M]. Beijing: Science Press, 2000.
- [5] 吴秀鸿, 陈焕新, 曹兴源, 等. 福建光唇鱼属一新种[J]. 武夷科学, 1981, 1: 126-128.
- WU X H, CHEN H X, CAO X Y, et al. A new species of fish of the genus *Acrossocheilus* from Fujian [J]. Wuyi Science Journal, 1981, 1: 126-128.
- [6] SUNG W S, LEE S C, YU M J. Taxonomic status of the fishes of *Acrossocheilus formosanus* and *A. labiatus* (Cyprinidae: Barbinae) from Taiwan based on isozyme electrophoresis [J]. Bulletin of the Institute of Zoology Academia Sinica, 1993, 32(2): 127-139.
- [7] SHEN S C. Fishes of Taiwan[M]. Taipei, China: Department of Zoology, Taiwan University, 1993.
- [8] YUAN L Y, LIU X X, ZHANG E. Mitochondrial phylogeny of Chinese barred species of the cyprinid genus *Acrossocheilus* Oshima, 1919 (Teleostei: Cypriniformes) and its taxonomic implications[J]. Zootaxa, 2015, 4059(1): 151-168.
- [9] JU Y M, HSU K C, YANG J Q, et al. Mitochondrial diversity and phylogeography of *Acrossocheilus paradoxus* (Teleostei: Cyprinidae)[J]. Mitochondrial DNA Part A, 2018, 29(8): 1194-1202.
- [10] 侯晓静. 中国光唇鱼属亲缘地理研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2019.
- HOU X J. Phylogeography of genus *Acrossocheilus* (Teleostei: Cyprinidae) in China [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2019.
- [11] HOU X J, LIN H D, TANG W Q, et al. Complete mitochondrial genome of the freshwater fish *Acrossocheilus longipinnis* (Teleostei: Cyprinidae): genome characterization and phylogenetic analysis[J]. Biologia, 2020, 75(11): 1871-1880.
- [12] WARD R D. FISH-BOL, a case study for DNA barcodes [M]//KRESS W J, ERICKSON D L. DNA Barcodes: Methods and Protocols. Totowa: Humana Press, 2012: 423-439.
- [13] 席晓晴, 鲍宝龙, 章守宇. DNA 条形码在鱼类胃含物种类鉴定中的应用[J]. 上海海洋大学学报, 2015, 24(2): 203-210.
- XI X Q, BAO B L, ZHANG S Y. Application of DNA barcoding in species analysis of fish stomach content [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2015, 24(2): 203-210.
- [14] HANNER R, BECKER S, IVANOVA N V, et al. FISH-BOL and seafood identification: Geographically dispersed case studies reveal systemic market substitution across Canada [J]. Mitochondrial DNA, 2011, 22(s1): 106-122.
- [15] 陈月华, 何培民, 杨金权. 基于 DNA 条形码的如东海域浒苔附着鱼卵的物种鉴定[J]. 上海海洋大学学报, 2018, 27(1): 1-7.
- CHEN Y H, HE P M, YANG J Q. Molecular identification of fish eggs in Enteromorpha of Rudong sea area based on DNA barcode[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2018, 27(1): 1-7.
- [16] LAKRA W S, SINGH M, GOSWAMI M, et al. DNA barcoding Indian freshwater fishes [J]. Mitochondrial DNA Part A, 2016, 27(6): 4510-4517.
- [17] SWINDELL S R, PLASTERER T N, SEQMA N. Contig assembly [J]. Methods in Molecular Biology, 1997, 70: 75-89.
- [18] KUMAR S, STECHER G, TAMURA K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets [J]. Molecular Biology and Evolution, 2016, 33(7): 1870-1874.
- [19] LIBRADO P, ROZAS J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data [J]. Bioinformatics, 2009, 25(11): 1451-1452.
- [20] DARRIBAD, TABOADA G L, DOALLO R, et al. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing [J]. Nature Methods, 2012, 9(8): 772.
- [21] GUINDON S, DUFAYARD J F, LEFORT V, et al. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0 [J]. Systematic Biology, 2010, 59(3): 307-321.
- [22] RONQUIST F, HUELSENBECK J P. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models [J]. Bioinformatics, 2003, 19(12): 1572-1574.
- [23] SWOFFORD D L. PAUP phylogenetic analysis using parsimony (* and Other Methods). Version 4.0b10[M]. Sunderland: Sinauer Associates, 2002.
- [24] PULLANDRE N, BROUILLET S, ACHAZ G. ASAP: assemble species by automatic partitioning [J]. Molecular Ecology Resources, 2021, 21(2): 609-620.
- [25] HEBERT P D N, CYWINSKA A, BALL S L, et al. Biological identifications through DNA barcodes[J]. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 2003, 270(1512): 313-321.
- [26] HEBERT P D N, RATNASINGHAM S, WAARD J R D. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species [J]. Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences, 2003, 270(s): 96-99.

Species validity of *Acrossocheilus wuyiensis* based on DNA barcode

WANG Rongda^{1,2}, ZHANG Yan^{1,2}, HAO Xinpeng^{1,2}, YANG Jinquan^{1,2}

(1. Shanghai Universities Key Laboratory of Marine Animal Taxonomy and Evolution, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: Previous studies have shown that *Acrossocheilus paradoxus* from Taiwan and *A. wuyiensis* from Minjiang River are closely related species, and they are difficult to distinguish in morphological characteristics. Therefore, the validity of the two species is still controversial. In the present study, complete mitochondrial *CO I* gene sequences were used to investigate the species validity of *A. paradoxus* and *A. wuyiensis*. A total of 21 haplotypes were obtained from 76 samples of 6 species in the genus. Phylogenetic trees constructed by maximum parsimony (MP), maximum likelihood (ML) and Bayesian (BI) methods showed that the two species formed a monophyletic group. Genetic distance analysis showed that the average Kimura 2-parameter distance between *A. paradoxus* and *A. wuyiensis* was only 0.853%, far less than the 2% genetic distance threshold of DNA barcode among species. The ASAP method we also used to build species partitions, the result shows the two species were classified as the same species. Therefore, *A. wuyiensis* distributed in Minjiang River and *A. paradoxus* distributed in Taiwan should be a same species, and *A. wuyiensis* is the synonym of *A. paradoxus*.

Key words: *Acrossocheilus paradoxus*; mitochondrial *CO I*; synonym; ASAP method; species delimitation