

湖南鱼类新记录种——长鳍异华鲮

罗庆华^{1,2}, 胡晓^{2,3}, 陶水秀^{2,4}, 陈进豪^{2,4}, 刘柯^{2,4}

(1.北京科技大学能源与环境工程学院, 北京 100083; 2.大鲵资源保护与综合利用湖南省工程实验室, 湖南 张家界 427000; 3.吉首大学生物资源与环境科学学院, 湖南 吉首 416000; 4.吉首大学土木工程与建筑学院, 湖南 张家界 427000)

摘要: 2016年8月, 于湖南张家界武陵源黄龙洞捕获一种鱼类, 对其10尾标本进行形态学观察、测量与计数, 确定为野鲮亚科异华鲮属鱼类。采用PCR技术对其线粒体细胞色素**b**基因进行扩增, 测定其基因序列, 并与美国国立生物技术信息中心数据库对比, 发现其与长鳍异华鲮(*Parasinilabeo longiventralis*)、长体异华鲮(*Parasinilabeo longicarpus*)、异华鲮(*Parasinilabeo assimilis*)的遗传距离分别为0.5%、1.6%~1.8%、1.9%; 将其形态数据与以上3种鱼的形态原始测量数据进行对比, 发现其与长鳍异华鲮在形态学上最接近, 但其个体偏小, 大部分数据交叉, 各鳍条数少1~2个。初步确定该鱼类为长鳍异华鲮, 是湖南省的新记录种。对该种鱼的分布区域、生存环境的初步分析认为, 长鳍异华鲮是栖息在亚热带季风湿润气候带的喀斯特地区的季节性洞穴鱼类。

关键词: 长鳍异华鲮; 新记录种; 形态特征; 线粒体细胞色素**b**基因; 湖南

中图分类号: Q959.41

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2018)06-0650-05

A new record species of fish, *Parasinilabeo longiventralis* (Teleostei: Cyprinidae), from Hunan, China

LUO Qinghua^{1,2}, HU Xiao^{2,3}, TAO Shuixiu^{2,4}, CHEN Jinhao^{2,4}, LIU Ke^{2,4}

(1.School of Energy and Environmental Engineering, University of Science and Technology Beijing, Beijing 100083, China; 2.Hunan Engineering Laboratory for Chinese Giant Salamander's Resource Protection and Comprehensive Utilization, Zhangjiajie, Hunan 427000, China; 3.College of Biology and Environmental Sciences, Jishou University, Jishou, Hunan 416000, China; 4.School of Civil Engineering and Architecture, Jishou University, Zhangjiajie, Hunan 427000, China)

Abstract: In August of 2016, one kind of fish was collected at Huanglong Cave, Wulingyuan, Zhangjiajie, Hunan Province. The detailed morphology of the 10 specimens were observed, measured and counted and then they were identified as a *Parasinilabeo* fish subordinating to Labeoninae. The mitochondrial cytochrome *b* gene was amplified with PCR technology and the sequenced were compared with the National Center for Biotechnology Information Database, the United States. The results showed that the genetic distance between the studied species and *Parasinilabeo longiventralis*, *Parasinilabeo longicarpus* and *Parasinilabeo assimilis* were 0.5%, 1.6%–1.8% and 1.9%, respectively. Compared with the above-mentioned three kinds of fishes in morphology, it was closest to *Parasinilabeo longiventralis*, but owing smaller individual sizes and less number of fin by 1–2. According to the molecular and morphological data, it was identified as *Parasinilabeo longiventralis*, which was a new record in Hunan province. After preliminary analysis of the distribution area and living environment, the *Parasinilabeo longiventralis* should be a seasonal cave fish that inhabits the karst region in the subtropical monsoon wet climate zone.

Keywords: *Parasinilabeo longiventralis*; new record species; morphological characteristics; mitochondrial Cyt *b* gene; Hunan

异华鲮属(*Parasinilabeo*)鱼类隶属于鲤形目(Cypriniformes)鲤科(Cyprinidae)野鲮亚科(Labeoninae),中国有6种;主要栖息于江河上游砾石底的缓流处,以着生藻类为食^[1];分布于珠江水系及湘江、沅水等长江支流^[2]。朱瑜等^[3]在广西发现异华鲮属的新种——长须异华鲮;HUANG等^[4]在广西富川发现又一新种——长鳍异华鲮;《湖南鱼类志》(修订重版)^[5]记载湖南省内异华鲮属只有异华鲮1个种,分布在湘江;陈景星等^[6]在湖南武陵源自然保护区发现了异华鲮,未见异华鲮属其他种在湖南省的报道。

线粒体DNA结构简单,是一种应用较广的分子标记,其中一些基因已被广泛用于鱼类群体遗传学和系统发育关系研究^[7]。线粒体细胞色素*b*(mitochondria cytochrome *b*, *Cyt b*)是由线粒体基因编码的蛋白质,其结构与功能在mtDNA的13个蛋白质编码基因中被了解得最清楚^[8]。*Cyt b*基因进化速度适中,便于通用引物扩增和测序,已经成为探讨种群遗传分化和系统发生常用分子标记之一^[9]。

本研究中,对采集于湖南张家界市武陵源区黄龙洞的疑似异华鲮标本进行形态特征观察与测量;同时,采用PCR技术扩增其线粒体*Cyt b*基因并测序,与美国国立生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)数据库中已有的异华鲮物种的线粒体*Cyt b*基因序列进行对比分析,确定其物种类别,并对该种鱼的生存环境与分布区域作初步分析,以进一步探明该鱼种的形态特点、栖息环境特点与分布区域,丰富湖南鱼类物种记录。

1 材料与方法

1.1 材料

疑似异华鲮于2016年8月在武陵源区黄龙洞外的龙泉(110°36'47"E, 29°22'02"N)捕获,共10尾标本,保存于吉首大学大鲵资源保护与综合利用湖南省工程实验室。

1.2 形态学分析与初步鉴定

观察10尾标本的形态特征,用游标卡尺测量全长、体宽、体高、头长、吻长、眼径、眼间距、尾柄长、尾柄高,并计数胸鳍、腹鳍、背鳍、臀鳍

与尾鳍鳍条数。依据《中国动物志 鲤形目》^[10]与《湖南鱼类志》(修订重版)^[5]进行标本初步鉴定。

1.3 分子生物学鉴定

1.3.1 基因组DNA提取

采用高盐沉淀法提取基因组DNA:取10~20 mg组织样品,切碎后置于1.5 mL的离心管中;加入500 μ L冷藏的细胞裂解液混匀;向悬浊液中加入15 μ L 10 mg/mL蛋白酶K,55 $^{\circ}$ C消化3 h;消化液温度降至室温后,加入200 μ L醋酸钾,以便蛋白质沉淀;加入等体积的异丙醇混匀,离心收集DNA沉淀;将DNA沉淀溶解于50 μ L的TE缓冲液中。

采用*Cyt b*通用引物对(L14724, 5'-GACTTGA AAAACCACCGTTG-3'; H15915, 5'-CTCCGATCT CCGGATTACAAGAC-3')^[11]对样品进行PCR扩增。PCR反应程序:95 $^{\circ}$ C预变性4 min,90 $^{\circ}$ C变性1 min,52 $^{\circ}$ C退火1 min,72 $^{\circ}$ C延伸1 min,38个循环;72 $^{\circ}$ C延伸10 min。对PCR产物进行割胶回收,并使用ABI PRISM 3730测序仪进行测序。

1.3.2 数据分析

序列原始图采用DNASTAR中SeqMan拼装;针对个别碱基可能存在误读,辅助以人工校对。序列通过NCBI在线Blast工具(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)进行检索,确定相似度最高的序列全部来自异华鲮属;再将NCBI的异华鲮属序列全部下载,通过MEGA7自带的ClustalW进行比对^[12],并计算物种间的遗传距离。

1.4 形态学测量数据的比较

将待定鱼的形态学数据与遗传距离小于2%的种类进行形态学测量数据的比较,并与当地发现的异华鲮鱼类的原始测量数据进行比对。

1.5 样点生境特点的观测

观测并记录采集点的生态环境特点,包括海拔高度、河段的宽度和深度、底质、河床类型、河岸组成、两岸坡度、植被类型和盖度以及流速。按照水库渔业资源调查规范(SL167—96)对样点水质进行测定分析,测定的水质指标包括:水温、pH、溶解氧、高锰酸盐指数、化学需氧量、五日生化需氧量、总氮含量、总磷含量、石油类含量。

2 结果与分析

2.1 形态描述

如图 1 所示, 标本鱼体型延长、侧扁, 躯干纺锤形, 背部隆起; 头较小, 头部前区凹陷; 吻前端略尖, 向前突出, 吻长小于眼后头长; 吻皮厚, 向腹面伸展, 覆盖上颌, 边缘有新月形区域, 密布细小乳突, 两侧与下唇相连; 口下位, 呈浅弧形; 上唇消失, 上下颌连于吻皮与下唇相连处的内面, 唇后沟短, 平直, 限于口角; 眼较小, 侧上位, 眼后缘离鳃盖后缘比离吻端为近; 鼻孔离眼前缘较近; 须 2 对, 发达; 鳃 3 对; 背部青褐色, 腹部黄白色, 稍圆, 身体的最高部分位于背鳍的起点; 鳞片中等大, 背部鳞片略变小, 胸腹部中线及其附近鳞片略变小, 且腹部鳞片镶嵌在皮肤之中; 侧线完全, 平直向后入尾柄正中, 尾鳍分叉。身体两侧具有不规则的褐色斑点, 侧线上方有 2 条不明显的褐色条

纹。形态测量数据见表 1。基于形态特征与测量数据, 初步鉴定待定鱼为野鲮亚科异华鲮属鱼类。



a 活体标本; b 浸制标本鱼整体与头部腹面。

图1 待定鱼外形

Fig.1 The external morphology of inquired fish

表1 待定种与其他相近异华鲮的测量值

Table 1 The measurement comparison between the inquired species and the other close <i>Parasinilabeo</i>													
物种名	全长/mm	标准体长/ mm	与体长比/%				尾柄高与尾 柄长比/%	与头长比/%		背鳍	胸鳍	腹鳍	臀鳍
			体高	头长	尾柄长	尾柄高		吻长	眼径				
待定种	40.2~70.4	31.0~54.3	20.7~27.6	20.7~25.8	15.1~17.2	10.8~13.2	65.8~72.5	41.3~48.8	20.2~26.2	iii,5~6	ii,8~10	ii,6~7	ii,4~5
(湖南武陵源)													
长鳍异华鲮	74.2~85.3	56.3~67.0	23.5~28.3	21.5~23.6	14.1~16.2	10.7~11.7	68.5~82.9	42.4~45.7	24.8~27.4	iii,7	ii,10~12	ii,7~8	ii,5
(广西富川) ^[4]													
异华鲮	110.0~150.0	86.0~128.0	23.8~27.0	21.3~22.7	17.2~18.2	12.2~13.7	62.5~76.9	45.5~47.6	18.2~19.2	iii,7	i,13	i,8	ii,5
(湖南武陵源) ^[6]													
长体异华鲮		78.0~95.5	14.7~18.9	16.7~20.4	14.3~16.7	8.9~11.8		37.0~45.5	19.2~35.0	iii,7	i,12~13	i,7	iii,5
(广西桂林) ^[2]													

2.2 基于线粒体 Cyt b 基因的分子鉴定

待定鱼线粒体 Cyt b 基因的序列与 MEGA 进行比对, 发现其与广西富川的长鳍异华鲮 (*Parasinilabeo longiventralis*)、长体异华鲮

(*Parasinilabeo longicorpus*)、异华鲮(*Parasinilabeo assimilis*)的遗传距离分别为 0.5%、1.6%~1.8%与 1.9%(表2)。小于一般意义上认为的鱼类不同物种之间的遗传距离 2%的区分标准^[13]。

表2 Cyt b 基因分子鉴定的异华鲮属物种信息

Table 2 Species information of <i>Parasinilabeo</i> from Cyt b gene molecular identification					
物种名	拉丁学名	物种凭证号	NCBI 序列号	采集地	遗传距离/%
异华鲮	<i>Parasinilabeo assimilis</i>	KIZ20050625013	GU086553	贵州荔波	1.9
长须异华鲮	<i>Parasinilabeo longibarbus</i>	KIZYJ20100005	KT633643	广西富川	7.7
长体异华鲮	<i>Parasinilabeo longicorpus</i>	KIZYJ20100056	KT633646	广西都安	1.8
长体异华鲮	<i>Parasinilabeo longicorpus</i>	KIZYJ20100004	KT633642	广西桂林	1.6
长鳍异华鲮	<i>Parasinilabeo longiventralis</i>	KIZYJ2013033	KT633650	广西富川	0.5

2.3 形态学测量数据比较

待定鱼形态学测量数据与广西富川的长鳍异华鲮、广西桂林长体异华鲮与湖南武陵源的异华鲮

3 种鱼的形态原始数据(表 1)进行比较, 发现其形态学与长鳍异华鲮最接近。相对于广西富川标本, 湖南黄龙洞的标本个体偏小, 少部分标本的体高与体

长比、眼径与头长比、尾柄高与尾柄长比略小，尾柄长与体长比较大。可能是黄龙洞标本个体小的原因，或者测量误差。黄龙洞标本背鳍、胸鳍、腹鳍与臀鳍较富川标本少 1~2 个鳍条，其他数据重叠，具有一定程度的形态学差异。

与同在湖南武陵源采集的异华鲮相比较，待定种标本个体小，体长只有异华鲮一半，尾柄长与体长比较小，眼径与头长比较大，且均无数据交叉，其他数据部分交叉或者重叠；胸鳍多 1 根棘，少 3~5 个鳍条，其他鳍条少 1~2 个。与广西桂林的长体异华鲮相比较，待定种标本个体小，体高与体长比和头长与体长比均较大，且均无数据交叉，其他数据部分交叉或者重叠；胸鳍多 1 根棘，少 3~4 个鳍条，臀鳍少 1 根棘，少 0~1 个鳍条，其他鳍条少 0~2 个鳍条。

2.4 采集点生境特点

采样点为张家界武陵源黄龙洞龙泉，海拔高度 296 m，样点河宽 5.4 m，水深 0.3 m，流速 0.2 m/s，河底为块石与卵石，河床平底型；两岸坡度一侧 30°，另一侧 90°；两岸植被为灌木与阔叶林，覆盖度 50%~75%，河段与地下溶洞黄龙洞相连，见图 2。喀斯特地貌，亚热带季风湿润气候^[14]。样地水质理化指标：水温 22.6 °C，pH 7.75，溶解氧、高锰酸盐指数、化学需氧量、五日生化需氧量、总氮含量、总磷含量、石油类含量分别为 9.18、1.3、4、0.5、0.46、0.10、0.01 mg/L。根据中国《地表水环境质量标准》(GB 3838—2002)，样地水为 II 类水，水质良好。

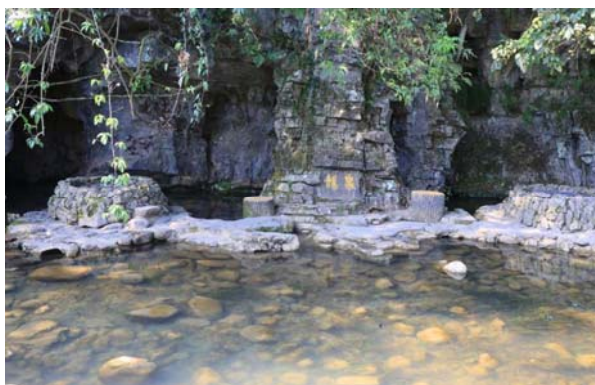


图2 采样点生境

Fig.2 The habitat of inquired fish

3 讨论与结论

本次在黄龙洞采集到的鱼类，形态学初步鉴定为野鲮亚科异华鲮属鱼类。经过分子生物学鉴定与标本形态测量比对，确定其为长鳍异华鲮，为湖南省境内的新记录种。丰富了澧水鱼类记录^[15]与湖南鱼类物种记录^[5,16-17]。

相对于广西的长鳍异华鲮，武陵源长鳍异华鲮个体偏小，可能受到异速生长的原因影响^[18]；或测量存在一定的系统误差；还可能是适应洞穴的特殊改变^[19]。有待于采集更多标本，进行细致的形态学测量与计数。武陵源长鳍异华鲮与当地异华鲮的形态学测量数据差异和遗传距离更大，认为它们为同属不同种。

长鳍异华鲮主要分布在中国广西境内^[1]，此次研究记录到在其模式产地之外的分布，扩大了该种鱼分布范围。该鱼类在湖南澧水和广西珠江水系的两点跳跃式分布，一定程度上提示这些水系之间的历史联系。

本次标本采集点武陵源区，与长鳍异华鲮的最初发现地广西富川的气候均属亚热带季风气候，全年气候温和，光照时长，雨量充沛，雨热同季，冬干春湿^[20-21]，因此，长鳍异华鲮可能栖息在雨量充沛、冬无严寒、夏无酷暑、地形复杂、局部小气候众多的亚热带山原型季风湿润气候地区。

标本采集地武陵源黄龙洞龙泉，为溶洞地下河水的出口，水质清澈，达到 II 类地表水，长鳍异华鲮可能是从黄龙洞地下溶洞的地下河中而来。富川长鳍异华鲮采集于喀斯特地区相连地下洞穴的地表水中，在旱季时栖息于地下洞穴，在汛期地下水流时，它可以游到水面，并且长鳍异华鲮能在长须异华鲮生存的地区找到^[4]。长须异华鲮多生活在喀斯特地区地下河流出口处的小水潭^[3,19]；因此，长鳍异华鲮可能是喀斯特地区的季节性洞穴鱼类。

参考文献：

- [1] 赵海涛. 野鲮亚科一新属一新种的建立及其群体遗传学研究[D]. 重庆：西南大学，2016.
- [2] ZHANG E. Revision of the cyprinid genus *Parasinilabeo*, with descriptions of two new species from southern China (Teleostei: Cyprinidae) [J]. Ichthyological Exploration of Freshwaters, 2000, 11(3): 265–271.

- [3] 朱瑜, 蓝春, 张鹞. 广西异华鲮属鱼类一新种[J]. 水生生物学报, 2006, 30(5): 503–507.
- [4] HUANG Y F, CHEN X Y, YANG J X. A new labeonine fish species, *Parasinilabeo longgiventralis*, from eastern Guangxi, China (Teleostei: Cyprinidae)[J]. 动物学研究, 2007, 28(5): 531–538.
- [5] 湖南省水产科学研究所. 湖南鱼类志[M]. 修订重版. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1980.
- [6] 陈景星, 曹文宣, 陈毅峰. 索溪峪的鱼类[M]//黎尚豪. 湖南武陵源自然保护区水生生物. 北京: 科学出版社, 1989: 122–127.
- [7] 高天翔, 毕潇潇, 赵林林, 等. 基于线粒体 *Cytb* 基因全序列的松江鲈群体遗传结构分析[J]. 水生生物学报, 2013, 37(2): 199–207.
- [8] 肖武汉, 张亚平. 鱼类线粒体 DNA 的遗传与进化[J]. 水生生物学报, 2000, 24(4): 384–391.
- [9] 杨天燕, 孟玮, 海萨, 等. 基于线粒体 *Cyt b* 序列对新疆额尔齐斯河贝加尔雅罗鱼遗传结构的分析[J]. 动物学杂志, 2017, 52(2): 304–313.
- [10] 陈宜瑜. 中国动物志: 硬骨鱼纲鲤形目[M]. 北京: 科学出版社, 1998.
- [11] XIAO W H, ZHANG Y P, LIU H Z. Molecular systematics of Xenocyprinae (Teleostei: Cyprinidae): taxonomy, biogeography, and coevolution of a special group restricted in East Asia[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2001, 18(2): 163–173.
- [12] 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.
- [13] YANG K F, JIANG W S, CHEN X Y, et al. An integrative approach to reappraising species validity in *Pseudexostoma* (Teleostei: Sisoridae)[J]. Zootaxa, 2016(3): 352–366.
- [14] 尚立晰, 向延振, 伍大荣, 等. 张家界市情大辞典[M]. 北京: 民族出版社, 2001.
- [15] 刘良国, 杨品红, 杨春英, 等. 湖南境内澧水鱼类资源现状与多样性研究[J]. 长江流域资源与环境, 2013, 22(9): 1165–1171.
- [16] 刘良国, 杨春英, 杨品红, 等. 湖南境内沅水鱼类资源现状与多样性分析[J]. 海洋与湖沼, 2013, 44(1): 148–158.
- [17] 刘良国, 王文彬, 杨春英, 等. 洞庭湖水系资江干流鱼类资源现状调查[J]. 南方水产科学, 2014, 10(2): 1–10.
- [18] 程大川, 马振华, 江世贵. 红鳍笛鲷仔、稚鱼异速生长[J]. 水生生物学报, 2017, 41(1): 206–213.
- [19] 蓝家湖, 甘西, 吴铁军, 等. 广西洞穴鱼类[M]. 北京: 科学出版社, 2013.
- [20] 陈洁. 武陵源风景名胜区生态旅游资源保护研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2006.
- [21] 张欣, 寿绍文, 周剑波, 等. 富川县近 40 年气象因素对农业生产的影响分析[J]. 农业研究与应用, 2011(5): 17–20.

责任编辑: 邹慧玲
英文编辑: 柳 正