

甘肃省鱼类资源现状及DNA条形码 在鱼类物种鉴定中的应用

王 太¹ 张艳萍^{1*} 管丽红² 杜岩岩¹ 娄忠玉¹ 焦文龙¹

¹ (甘肃省水产研究所, 兰州 730030)

² (中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

摘要: 为了摸清甘肃省土著鱼类资源与分布现状, 探索DNA条形码在鱼类辅助物种鉴定中的适用性, 2012年6–9月对甘肃境内黄河水系、嘉陵江水系和河西内陆河水系进行了较全面的鱼类调查。共采集鱼类标本3,087尾, 隶属于5目10科38属64种, 以鲤科种类最多, 为30种, 占总种数的46.88%。物种多样性分析表明, 在黄河水系的夏河和庄浪河多样性指数是所有调查点中最低的, 分别为1.38和1.09。嘉陵江水系各河段的多样性指数较高($H = 2.15\text{--}3.27$), 其次为河西内陆河水系($H = 2.01\text{--}2.83$)。在河西内陆河水系中, 疏勒河的均匀度指数最高, 为1.10, 黑河最低(0.68)。庄浪河的优势度指数最高, 为0.34, 而嘉陵江干流两当段的优势度指数在所有调查点中最低, 为0.04。利用DNA条形码分析了49种662尾标本的COI基因部分序列, 大部分种类在neighbor-joining系统树中形成各自的单系, 种内平均遗传距离0.88%, 种间平均遗传距离为9.99%, 在种内和种间COI序列遗传距离之间形成明显的条形码间隙, 斯氏高原鳅(*Triplophysa stoliczkae*)与达里湖高原鳅(*T. dalaica*), 甘肃高原鳅(*T. robusta*)与似鲃高原鳅(*T. siluroides*), 嘉陵裸裂尻鱼(*Schizopygopsis kialingensis*)与黄河裸裂尻鱼(*S. pylzovi*)之间的遗传距离低于2%, 甘肃高原鳅与似鲃高原鳅不能通过COI基因片段区分开, 其他两对物种可以采用核苷酸诊断法来进一步区分。斯氏高原鳅和拉氏鲃(*Phoxinus lagowskii*)种内遗传分歧较大, 揭示种内可能存在隐存种。结果表明, 对某些近缘种和不同地理种群差异较大的物种, 要将分子、形态和地理分布特点结合起来才能准确鉴定。

关键词: 淡水鱼类, 物种多样性, DNA条形码, COI基因, 物种鉴定, 隐存种

Current freshwater fish resources and the application of DNA barcoding in species identification in Gansu Province

Tai Wang¹, Yanping Zhang^{1*}, Lihong Guan², Yanyan Du¹, Zhongyu Lou¹, Wenlong Jiao¹

¹ Gansu Fishery Research Institute, Lanzhou 730030

² Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072

Abstract: Between June and September in 2012, we investigated fish resources from the Yellow River, Jialing rivers and Hexi inland rivers in Gansu Province, China. Three thousand specimens were collected, belonging to 64 species, 38 genera, 10 families and 5 orders. Cyprinidae was the predominant species, accounting for 45% of the total species. Diversity analysis showed that fish diversity in the Jialing River basin was the highest ($H = 2.15\text{--}3.27$), followed by the inland rivers ($H = 2.01\text{--}2.83$). Two tributaries of the Yellow River, the Xiahe River and the Zhuanglang River had relatively lower diversity levels with the H values of 1.38 and 1.09, respectively. The Pielou index of Shule River was the highest with a value of 1.10, while that of the Heihe River was the lowest with a value of 0.68. The Simpson index of the Zhuanglang River was 0.34, the highest of the investigated rivers, while the trunk streams of Jialing River was the lowest. A total of 662 specimens of 49 species were randomly selected for DNA barcoding analysis using a partial sequence of the COI gene. The results indicated that most species formed monophyletic groups in the neighbor-joining tree. The average K2P genetic divergence was 0.88% within species and 9.99% among species. A significant

收稿日期: 2014-09-02; 接受日期: 2015-04-18

基金项目: 甘肃省科技创新服务平台建设计划(1309JTPA015)

* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: aqhongqi@qq.com

barcode gap was found between intraspecific genetic distance and interspecific genetic distance. A nucleotide diagnostic method was needed for further identification because the K2P genetic distance of three species pairs (between *Triplophysa stoliczkae* and *T. dalaica*, *T. robusta* and *T. siluroides*, *Schizopygopsis kialingensis* and *S. pylzovi*) was less than 2%. Cryptic species may exist within *Triplophysa stoliczkae* and *Phoxinus lagowskii*. *Triplophysa robusta* and *T. siluroides* cannot be distinguished through COI gene sequences. The results showed that molecular methods, morphological characteristic and geographical distribution of species should be combined in order to comprehensively and accurately identify closely related species and geographic populations.

Key words: freshwater fish, species diversity, DNA barcoding, COI, species identification, cryptic species

甘肃省地处中国西北内陆, 自然环境复杂多样, 为黄土高原、青藏高原和蒙新高原的交汇地带。省境中部和南部为外流河, 分属长江和黄河两大水系。长江水系在甘肃省内为嘉陵江上游支流白龙江、白水江、西汉水、永宁河和燕子河等, 黄河水系在境内的主要支流有渭河、泾河、洮河、夏河、祖厉河、湟水和子午岭地区洛水支流。甘肃省境内北部的河西走廊地区为内陆河水系, 分别为石羊河、黑河和疏勒河, 都发源于祁连山。近年来, 由于生态环境的破坏和人为因素的干扰, 主要为水资源减少、水域污染和水利工程建设等原因, 一些鱼类的分布区域逐渐缩小, 种群数量急剧减少, 部分种类已处于濒危或灭绝的状态。自1991年出版的《甘肃省脊椎动物志》(王香亭, 1991)中较为详细地记载甘肃省土著鱼类96种以来, 有关甘肃省鱼类资源与多样性的研究仅见一些局部水域的零星调查, 至今还未有甘肃省土著鱼类资源与分布的详细报道。

DNA条形码是近年发展起来的一种分子鉴定技术(Hebert *et al.*, 2003)。在动物的物种鉴定过程中, 主要利用一段长度约650 bp的COI基因序列对物种进行区分, 实现鉴定过程的自动化和标准化, 从而减少对传统形态特征分类经验的依赖。目前, DNA条形码技术已经在淡水鱼类(Hubert *et al.*, 2008; April *et al.*, 2011)和海洋鱼类(Ward *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2012)的物种鉴定工作中广泛应用, 鉴定率达到90%以上(Pereira *et al.*, 2013)。另外, DNA条形码技术还在发掘隐存种及评估遗传多样性方面具有显著优势(Shen *et al.*, 2011; Hubert, 2012)。在生命条形码数据库系统(The Barcode of Life Data Systems, BOLD, <http://www.boldsystems.org>)中已经收录鱼类物种10,267种, 包括标本序列96,425条。本研究对现阶段甘肃省鱼类资源现状进行了调查, 并运用DNA

条形码技术对甘肃省鱼类鉴定作进一步的检测, 以期积累鱼类DNA条形码数据, 为甘肃省鱼类资源的保护和利用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 调查方法

2012年6–9月, 在黄河干流及支流(夏河、庄浪河、洮河、渭河、籍河、葫芦河、泾河、蒲河、茹河和马莲河)、嘉陵江干流及支流(白龙江、西汉水、永宁河、燕子河和杜家河)和河西内陆河水系(石羊河、黑河和疏勒河)干流设置采样点(图1), 采用刺网、地笼、电捕鱼机等渔具实地捕捞, 用GPS定位系统测定各点的经度、纬度和海拔, 现场鉴定、采集鱼类体长和体重等生物学性状。对小规格鱼类标本直接采用无水乙醇浸泡, 对规格较大鱼类标本剪取部分尾鳍放入无水乙醇中固定, 期间更换无水乙醇3–4次, 鱼体放入10%的福尔马林溶液中浸泡。标本鉴定及分类主要依据《中国动物志·硬骨鱼纲·鲤形目(中卷)》(陈宜瑜等, 1998)、《中国动物志·硬骨鱼纲·鲤形目(下卷)》(乐佩琦等, 2000)、《中国动物志·硬骨鱼纲·鲇形目》(褚新洛等, 1999)、《甘肃省脊椎动物志》(王香亭, 1991)和《中国条鳅志》(朱松泉, 1989)。

1.2 鱼类多样性统计方法

评价一个地区的物种多样性水平, 最简单直接的方法是计数群落中的物种数目, 即物种丰富度, 用S表示。

多样性采用Shannon-Wiener指数(李学军等, 1996):

$$H = - \sum \left(\frac{n_i}{N} \right) \times \ln \left(\frac{n_i}{N} \right) \quad (1)$$

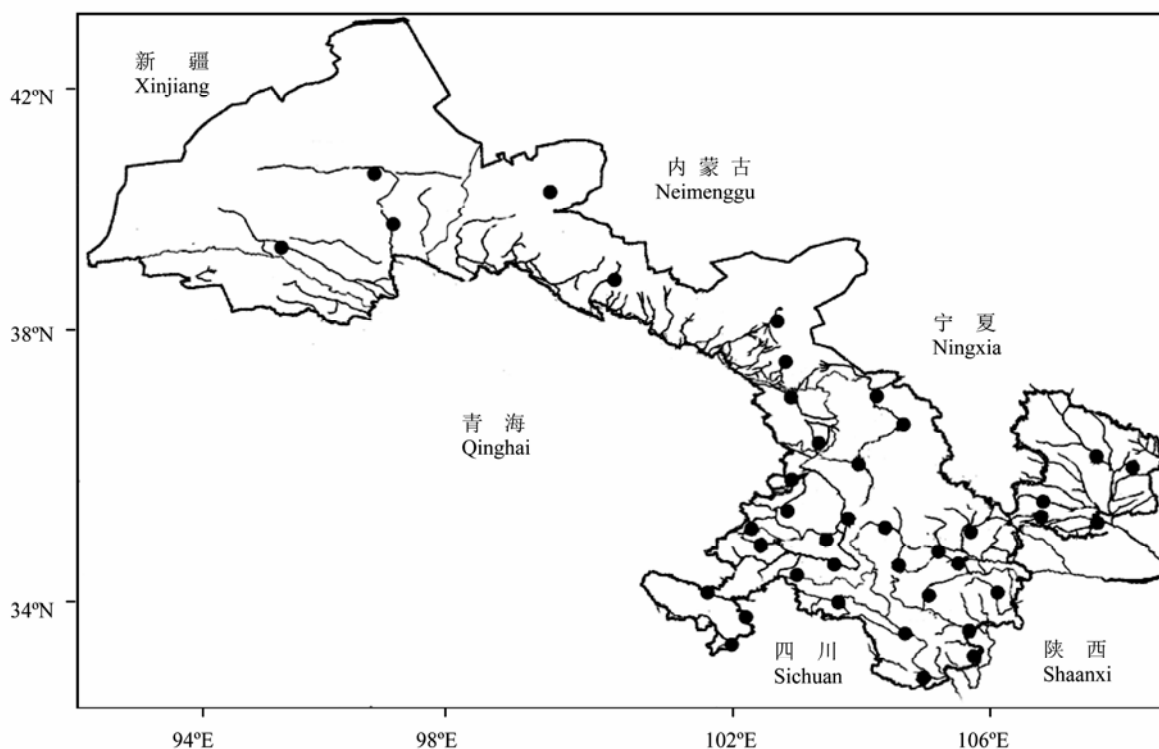


图1 甘肃省鱼类调查采样点分布图

Fig. 1 Fish sampling sites in Gansu Province

式中, n_i 为第 i 个种的个体数目, N 为群落中所有种的个体总数。

Pielou 均匀度指数(李学军等, 1996):

$$J' = H / \ln S \quad (2)$$

Simpson 优势度指数(冯广朋^①, 2003):

$$\lambda = \sum P_i^2 \quad (3)$$

其中, P_i 代表第 i 种个体占总个体数的比例。

1.3 鱼类DNA提取及PCR反应条件

采用高盐法提取基因组DNA, 扩增 mtDNA COI 序列的引物: Fish F1-5'TCAACCAACCACAA-AGACATTGGCAC3', Fish R1-5'TAGACTTCTGGG-TGGCCAAAGAATCA3' (Ward *et al.*, 2005)。PCR 反应体系为 30 μ L, 其中包括 0.375 μ L *Taq* DNA 聚合酶 (TaKaRa), 1.5 μ L dNTPs (2.5 mM), 3 μ L 10 \times *Taq* buffer (TaKaRa, 含 Mg^{2+}), 上下游引物 (10 mM) 各 1.5 μ L 和 1 μ L DNA 模板, 其余双蒸水补足。PCR 反应程序

为: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 53 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 60 s, 共 30 个循环; 反应结束后在 72 $^{\circ}$ C 再延伸 10 min。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后送武汉天一辉远公司纯化并双向测序, 测序引物为扩增引物。

1.4 DNA 序列数据分析

测序获得的序列通过 Chromas 1.45 软件获得原始序列数据; 利用 SeqMan 软件 (DNASTAR Inc., WI, USA) 对正反向序列进行拼接; 用 Mega 4.0 软件统计碱基组成, 并基于 Kimura 2-papamter 模型采用邻接法 (neighbor-joining) 构建系统进化树和计算各物种之间遗传距离, 系统树中节点支持率采用 1,000 次的自展重复估计。

2 结果

2.1 鱼类组成与分布

本研究共获得 3,087 尾标本, 经鉴定有鱼类 64 种, 属于 5 目 10 科 38 属 (附录 1), 其中鲤形目 53 种, 占总种数的 82.81%, 其次为鲇形目, 6 种, 占总种数的

^① 冯广朋 (2003) 牛山湖鱼类年龄结构及群落多样性的研究. 华中农业大学硕士学位论文.

表1 甘肃省的鱼类多样性
Table 1 Fish diversity in Gansu Province

采样点 Sites		物种数 No. of species	Shannon-Wiener指数 Shannon-Wiener index (<i>H</i>)	均匀度指数 Pielou index (<i>J'</i>)	优势度指数 Simpson index (<i>λ</i>)
黄河 Yellow River	玛曲段 Maqu section	11	2.32	0.97	0.10
	兰州段 Lanzhou section	14	2.37	0.90	0.11
	夏河 Xiahe River	5	1.38	0.99	0.25
	庄浪河 Zhuanglang River	4	1.09	0.99	0.34
	洮河上游 Upper reaches of Taohe River	7	1.78	0.92	0.20
	洮河中游 Middle reaches of Taohe River	7	1.77	0.91	0.20
	洮河下游 Lower reaches of Taohe River	9	2.08	0.94	0.14
	渭河上游 Upper reaches of Weihe River	8	2.03	0.98	0.14
	籍河 Xihe River	9	1.98	0.90	0.16
	葫芦河 Hulu River	8	1.91	0.92	0.17
	泾河平凉段 Pingliang section of Jinghe River	14	2.47	0.93	0.09
	蒲河茹河 Pu River and Ru River	8	1.93	0.93	0.15
	马莲河 Malian River	14	2.40	0.91	0.11
	白龙江 Bailong River	12	2.17	0.87	0.14
嘉陵江 Jialing River	西汉水 Xihan River	12	2.30	0.92	0.12
	永宁河 Yongning River	15	2.53	0.93	0.09
	燕子河 Yanzi River	27	3.14	0.95	0.05
	杜家河 Dujia River	9	2.15	0.98	0.12
	干流两当段 Liangdang section	32	3.27	0.94	0.04
河西内陆河 Hexi inland rivers	石羊河 Shiyang River	12	2.19	0.88	0.14
	黑河 Heihe River	19	2.01	0.68	0.05
	疏勒河 Shule River	13	2.83	1.10	0.19

9.38%。在科级分类阶元中, 鲤形目鲤科种类最多, 为 30 种, 占总种数的 46.88%, 其次为鳅科种类, 22 种, 占总种数的 34.38%。在属级分类阶元中, 鳅科高原鳅属种类最多, 为 16 种, 占总种数的 25%。据 20 世纪 80 年代调查结果, 甘肃省共有鱼类 96 种(亚种), 目前仅调查到鱼类 64 种, 减少种数约占原有鱼类总数的 33.33%, 其中被列入《甘肃省重点保护野生动物名录》中的北方铜鱼(*Coreius septentrionalis*)、中华裂腹鱼(*Schizothorax sinensis*)、黄河雅罗鱼(*Leuciscus chuanchicus*)、赤眼鳟(*Spualiobarbus curriculum*)、大鼻吻鲈(*Rhinogobio nasutus*)、圆筒吻鲈(*Rhinogobio cylindricus*)和平鳍鳅鲃(*Gobiobotia homalopteroidea*)等 7 种鱼类在本次调查中未采集到。但在自然水域中初次调查到怀头鲃(*Silurus soldatovi*)和 1 种拟鲃属待定种。

2.2 物种多样性指数

甘肃省各水系的鱼类多样性分布特征较为明

显(表1), 嘉陵江水系各河段Shannon-Wiener指数较高($H = 2.15\text{--}3.27$), 其次为河西内陆河水系($H = 2.01\text{--}2.83$)。在黄河水系各采样点中, 以泾河平凉段($H = 2.47$)和马莲河($H = 2.40$)的多样性指数最高, 夏河和庄浪河的Shannon-Wiener指数是所有调查点中最低的, 分别为1.38和1.09。疏勒河的均匀度指数最高, 为1.10, 而同为河西内陆河水系的黑河的均匀度指数是所有调查点中最低的(0.68)。庄浪河的优势度指数最高, 为0.34, 而嘉陵江干流两当段的优势度指数在所有调查点中最低, 为0.04。

2.3 DNA条形码序列分析

选取标本数量大于1的物种进行DNA条形码分析, 共扩增了49种662尾标本的COI序列片段(长度 651 bp), 在序列中未有插入、缺失和终止密码子出现, 包括保守位点388个, 变异位点263个, 简约信息位点252个, 单突变位点11个, 其中80.23%的碱基替换发生在密码子第三位核苷酸位点。大部分种

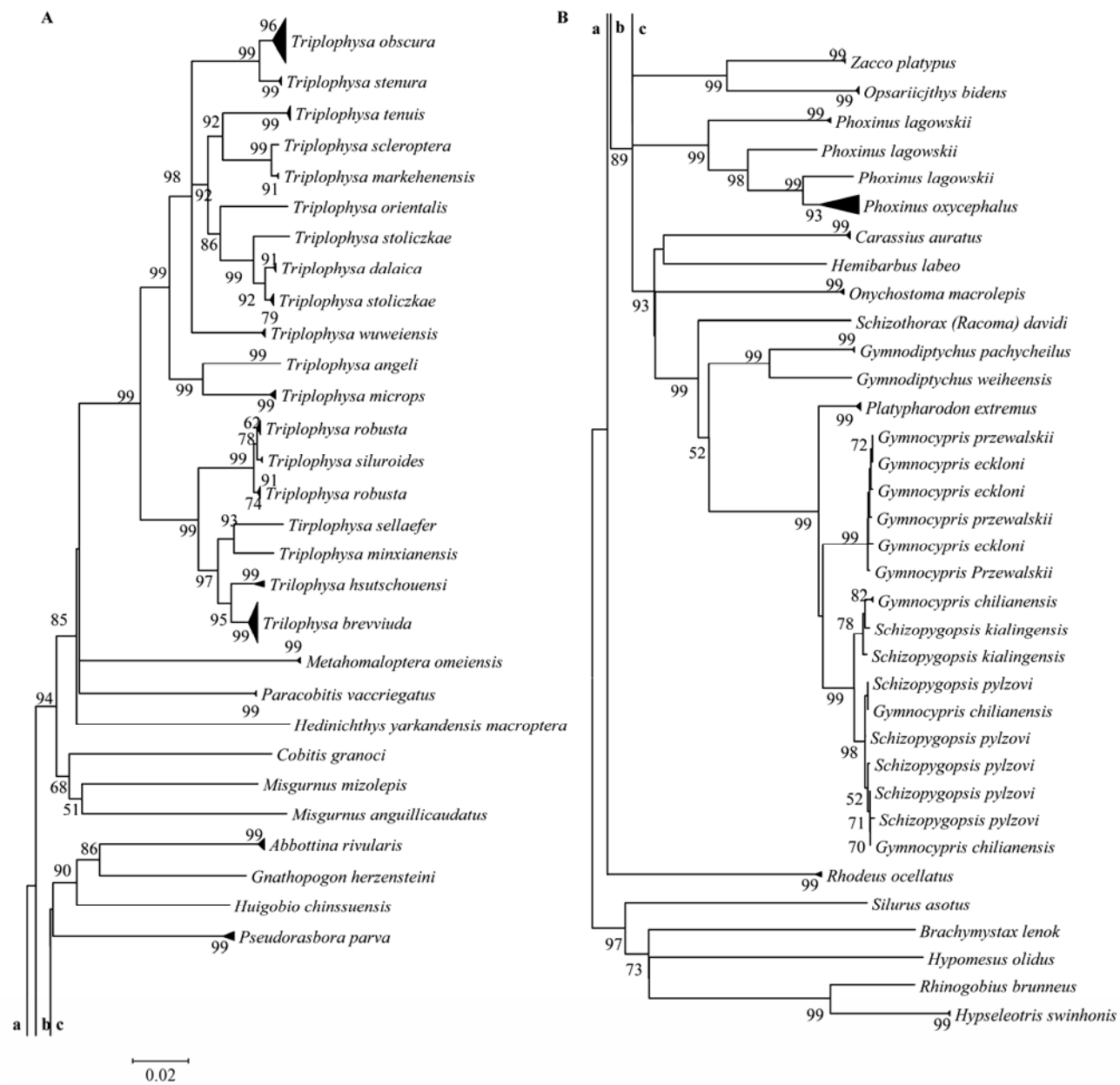


图2 基于COI序列构建的NJ系统发育树
Fig. 2 A neighbor-joining phylogenetic tree based on mitochondrial COI sequences

表2 不同分类阶元的K2P遗传距离值
Table 2 Summary of K2P genetic divergence within different taxonomic levels

	平均值 Average (%)	最小值 Minimum (%)	最大值 Maximum (%)	标准误 SE
种内 Species	0.88	0.00	11.46	0.07
同属种间 Among species within genus	9.99	0.00	15.15	0.29
同科属间 Among genera within family	17.95	2.81	24.95	0.29
同目科间 Among families within order	24.13	20.33	27.52	0.53

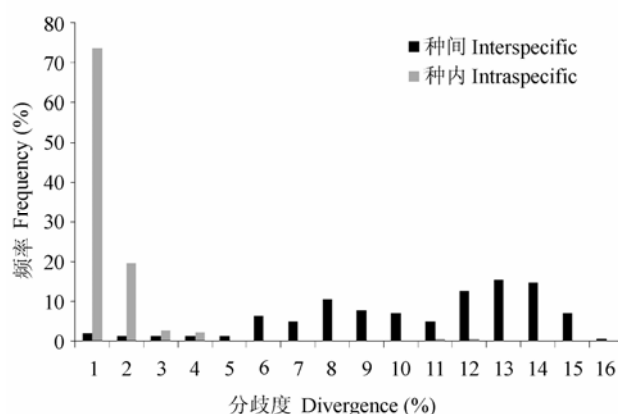


图3 同属种间与种内遗传距离频率分布图

Fig. 3 Interspecific and intraspecific genetic distance frequency distribution

类都拥有特有的单倍型,在COI邻接树的拓扑结构上形成支持度很高的单系群(图2)。斯氏高原鳅与达里湖高原鳅、甘肃高原鳅(*Triplophysa robusta*)与似鲢高原鳅(*T. siluroides*)、拉氏鳅与尖头鳅(*Phoxinus oxycephalus*)这3对种类之间单倍型呈交叉分布,不构成各自的单系,花斑裸鲤(*Gymnocypris eckloni*)与青海湖裸鲤(*G. przewalskii*)、祁连裸鲤(*G. chilianensis*)与黄河裸裂尻鱼(*Schizopygopsis pylzovi*)有共享单倍型,且单倍型出现交叉分布现象。

分析了不同分类阶元的COI序列距离(表2),显示出序列距离随着分类阶元的增高而增大。同一种内的COI序列平均遗传距离分布在0–11.46%,平均为0.88%;拉氏鳅的种内遗传距离最大,为11.46%。而同属不同种间COI序列距离分布为0.00–15.15%,平均遗传距离为9.99%,其中赛丽高原鳅(*Triplophysa sellaefer*)与斯氏高原鳅之间的距离最大,为15.15%。在种内和种间COI序列遗传距离之间形成明显的条形码间隙,除斯氏高原鳅与达里湖高原鳅、甘肃高原鳅与似鲢高原鳅、嘉陵裸裂尻鱼与黄河裸裂尻鱼之间的同属种间遗传距离小于2%,花斑裸鲤与青海湖裸鲤之间有共享单倍型,拉氏鳅种内由于地理隔离形成较大的遗传距离外,绝大多数同属种间的COI序列遗传距离均大于10倍种内平均遗传距离(图3)。采用核苷酸诊断法(nucleotide diagnostic, ND)进一步区分同属种间分歧小于2%的种类,3对物种之间可以通过4–7对核苷酸来正确区分,似鲢高原鳅与甘肃高原鳅之间因缺少各自

特有的核苷酸而不能被区分开。

3 讨论

3.1 甘肃省土著鱼类物种多样性

对比历史资料分析显示,甘肃省鱼类种类呈明显减少趋势,特有鱼类退化尤为显著。在黄河水系中,夏河和庄浪河两条河流鱼类物种多样性指数较低,主要与地理位置和水质条件有关:夏河发源于海拔4,240 m的大不勒赫卡山,流经区域主要为高山草原,鱼类数量较多但种类单一;而庄浪河周边人类活动频繁,水质遭到严重污染,仅在上游采集到大量的高原鳅属鱼类,由此导致夏河和庄浪河的鱼类优势度指数高于黄河干流地区,但该流域总体鱼类多样性水平高于地理位置较近的湟水(唐文家等, 2013)和澜沧江上游(唐文家等, 2012)。在渭河流域中,渭河北岸鱼类多样性最低,这是由于该地区为黄土高原区,河流含沙量高,不适宜鱼类生存。泾河流域平凉段和马莲河流域的鱼类物种多样性较高,但在调查中发现马莲河干流水质受到严重污染,含沙量高,部分河段有油状漂浮物,在马莲河河段鱼类灭绝,而发源于子午岭的部分小支流中鱼类种类较多。在白龙江下游文县段,由于梯级电站的密集设置,激流环境丧失,导致产漂浮性鱼卵的鱼类无法完成繁殖过程,如鳅鲇亚科异鳃鳅(*Xenophysogobio boulengeri*)和平鳍鳅科的犁头鳅(*Lepturichthys fimbriata*)等。在河西内陆河水系中,疏勒河上游生态环境较好,鱼类物种数较多,下游部分河段干枯或者含沙量高,鱼类资源量低,但整体鱼类物种多样性指数在内陆河中最高。此次调查中黑河甘肃段的多样性指数也高于黑河上游的多样性指数,可能与黑河上游(唐文家等, 2012)海拔较高、鱼类种类单一有关。

3.2 DNA条形码在鱼类鉴定中的应用

基于COI序列的进化树能够将大多数鱼类物种通过单系法区分开,但是在斯氏高原鳅与达里湖高原鳅、甘肃高原鳅与似鲢高原鳅、拉氏鳅与尖头鳅之间未形成各自的单系,斯氏高原鳅形成的2个分支未按照地理群体进行聚类,且遗传距离为2.6%,接近于Hebert等(2003)提出的种内遗传距离与种间遗传距离的阈值,可能存在隐存种。拉氏鳅根据外部形态特征未发现明显差异,被认为是一个种;但3个分支是按照各自的地理群体进行聚类,

且分支之间的遗传距离为6.24–11.5%，推测可能由于地理隔离，各种群之间缺少基因交流，提示拉氏鲃可能存在隐存种。针对种间遗传距离小于2%的物种采用的核苷酸诊断法，虽然通过碱基对数目来鉴定物种目前还没有一个明确标准(Rach *et al.*, 2008)，但通过4–7个碱基对的差异可以区分开斯氏高原鳅与达里湖高原鳅、嘉陵裸裂尻鱼与黄河裸裂尻鱼。甘肃高原鳅与似鲃高原鳅之间不能通过DNA条形码进行鉴定，但两者之间的形态特征具有明显差异，如似鲃高原鳅皮肤表面有皮质棱，腹鳍末端超过肛门，而甘肃高原鳅皮肤光滑，腹鳍末端不达肛门，这种现象值得进一步深入研究。花斑裸鲤与青海湖裸鲤之间有共享单倍型，并且在COI进化树中显示为交叉分布，这是由于青海湖裸鲤起源于黄河花斑裸鲤且分化时间短(赵凯等, 2007)。祁连裸鲤与黄河裸裂尻鱼有共享单倍型，这可能由于水系的变迁导致两者之间发生基因渐渗(何德奎和陈毅峰, 2007)。

应用COI基因的DNA条形码可对大量的物种进行初步的鉴别，对某些近缘种和不同地理种群差异较大物种，要将分子、形态和地理分布特点结合起来才能对物种进行全面而准确的鉴定。

致谢：感谢中国科学院水生生物研究所何舜平研究员、刘焕章研究员在数据分析阶段的帮助。

参考文献

- April J, Mayden RL, Hanner R, Bernatchez L (2011) Genetic calibration of species diversity among North America's freshwater fishes. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, **26**, 10602–10607.
- Chen YY (陈宜瑜) (1998) *Fauna Sinica, Osteichthyes, Cypriniformes II* (中国动物志·硬骨鱼纲·鲤形目(中卷)). Science Press, Beijing. (in Chinese)
- Chu XL (褚新洛), Zheng BS (郑葆珊), Dai DY (戴定远) (1999) *Fauna Sinica, Osteichthyes, Siluriformes* (中国动物志·硬骨鱼纲·鲇形目). Science Press, Beijing. (in Chinese)
- He DK (何德奎), Chen YF (陈毅峰) (2007) Molecular phylogenetic and biogeography of the highly specialized grade Schizothoracinae fishes. *Chinese Science Bulletin* (科学通报), **52**, 303–312. (in Chinese)
- Hebert N, Cywinska A, Ball SL, Ward JR (2003) Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, **270**, 313–321.
- Hubert N, Hanner R, Holm E, Mandrak NE, Taylor E, Burrige M, Watkinson D, Dumont P, Curry A, Bentzen P, Zhang J, April J, Bernatchez L (2008) Identifying Canadian freshwater fishes through DNA barcodes. *PLoS ONE*, **3**, e2490.
- Hubert N, Meyer CP, Bruggemann HJ, Guérin F, Komeno RJL, Espiau B, Causse R, Williams JT, Planes S (2012) Cryptic diversity in Indo-Pacific coral-reef fishes revealed by DNA-barcoding provides new support to the centre-of-overlap hypothesis. *PLoS ONE*, **7**, e28987.
- Li XJ (李学军), Li SF (李思发), Yang HQ (杨和荃) (1996) A comparative study on the diversity of aquatic organisms in Tiane Zhou Oxbow and Laohe Oxbow of Yangtze River. *Chinese Biodiversity* (生物多样性), **4**, 211–216. (in Chinese with English abstract)
- Pereira LHG, Hanner R, Foresti F, Oliveira C (2013) Can DNA barcoding accurately discriminate megadiverse Neotropical freshwater fish fauna? *BMC Genetics*, **14**, 20.
- Rach J, DeSalle R, Sarkar IN, Schierwater B, Hadrys H (2008) Character-based DNA barcoding allows discrimination of genera, species and populations in Odonata. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **275**, 237–247.
- Shen YB (沈玉帮), Zhang JB (张俊彬), Feng BB (冯冰冰), Li JL (李家乐) (2011) Genetic diversity of blue mussel *Mytilus galloprovincialis* in China based on sequence analyses of mitochondrial COI gene. *Marine Science Bulletin* (海洋通报), **30**, 435–440. (in Chinese with English abstract)
- Tang WJ (唐文家), Chen YF (陈毅峰), Ding CZ (丁城志) (2013) The current situation and protection of fish resources in Huangshui River in Qinghai Province. *Journal of Dalian Ocean University* (大连海洋大学学报), **28**, 307–313. (in Chinese with English abstract)
- Tang WJ (唐文家), Cui YX (崔玉香), Zhao X (赵霞) (2012) Hydrobiontes resource survey of Lancang River in Qinghai Province. *Journal of Hydroecology* (水生态学杂志), **33**, 20–28. (in Chinese with English abstract)
- Tang WJ (唐文家), Zhao X (赵霞), Zhang MT (张妹婷) (2012) Investigation on aquatic organisms in the upper stream of Heihe River in Qinghai Province, China. *Journal of Dalian Ocean University* (大连海洋大学学报), **27**, 477–482. (in Chinese with English abstract)
- Wang XT (王香亭) (1991) *Gansu Vertebrate Fauna* (甘肃省脊椎动物志). Gansu Science and Technology Press, Lanzhou. (in Chinese)
- Wang ZD, Guo YS, Liu XM, Fan UB, Liu CW (2012) DNA barcoding South China Sea fishes. *Mitochondrial DNA*, **23**, 405–410.
- Ward RD, Zemlak TS, Innes BH, Last PR, Hebert PDN (2005) DNA barcoding of Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, **360**, 1847–1857.
- Yue PQ (乐佩琦) (2000) *Fauna Sinica, Osteichthyes, Cypriniformes*

- formes III* (中国动物志·硬骨鱼纲·鲤形目(下卷)). Science Press, Beijing. (in Chinese)
- Zhao K (赵凯), Duan ZY (段子渊), Yang GS (杨公社), Peng ZG (彭作刚), He SP (何舜平), Chen YY (陈宜瑜) (2007) The origin of *Gymnocypris przewalskii* and *Gymnocypris eckloni* population evolution. *Progress in Natural Science* (自然科学进展), **17**, 320–328. (in Chinese with English abstract)
- Zhu SQ (朱松泉) (1989) *The Loaches of the Subfamily Nemacheilinae in China* (Cypriniformes: Cobitidae) (中国条鳅志). Jiangsu Science and Technology Press, Nanjing. (in Chinese)

(责任编辑: 高天翔 责任编辑: 时意专)

附录 Supplementary Material

附录1 甘肃省鱼类种类组成

Appendix 1 Fish species composition in Gansu Province

<http://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/w2014-185-1.pdf>

附录1 甘肃省鱼类种类组成

Appendix 1 Fish species composition in Gansu Province

目 Order	科 Family	属 Genus	种 Species
鲑形目 Salmoniformes	鲑科 Salmonidae	细鳞鲑属 <i>Brachymystax</i>	秦岭细鳞鲑 <i>Brachymystax lenok tsinlingensis</i>
		公鱼属 <i>Hypomesus</i>	池沼公鱼 <i>Hypomesus olidus</i>
鲇形目 Siluriformes	鲇科 Siluridae	鲇属 <i>Silurus</i>	鲇鱼 <i>Silurus asotus</i>
			怀头鲶 <i>Silurus soldatovi</i>
	鮡科 Sisoridae	鮡属 <i>Pareuchiloglanis</i>	前臀鮡 <i>Pareuchiloglanis anteanalis</i>
		纹胸鮡属 <i>Glyptothorax</i>	中华纹胸鮡 <i>Glyptothorax sinense</i>
	鲿科 Bagridae	拟鲿属 <i>Pseudobagrus</i>	切尾拟鲿 <i>Pseudobagrus truncatus</i>
		鲾属 <i>Mystus</i>	大鳍鲾 <i>Mystus macropterus</i>
鲈形目 Perciformes	鰕虎鱼科 Gobiidae	吻鰕虎鱼属 <i>Rhinogobius</i>	褐吻鰕虎鱼 <i>Rhinogobius brunneus</i>
	塘鳢科 Hypseleotris	黄黝鱼属 <i>Hypseleotris</i>	黄黝鱼 <i>Hypseleotris swinhonis</i>
合鳃鱼目 Symbranchiformes	合鳃鱼科 Synbranchidae	黄鳝属 <i>Monopterus</i>	黄鳝 <i>Monopterus albus</i>
鲤形目 Cypriniformes	鲤科 Cyprinidae	鲮鱼属 <i>Rhodeus</i>	高体鲮鱼 <i>Rhodeus ocellatus</i>
		棒花鱼属 <i>Abbottina</i>	棒花鱼 <i>Abbottina rivularis</i>
		颌须鲃属 <i>Gnathopogon</i>	嘉陵颌须鲃 <i>Gnathopogon herzensteini</i>
			短须颌须鲃 <i>Gnathopogon imberbis</i>
		胡鲃属 <i>Huigobio</i>	清徐胡鲃 <i>Huigobio chinssuensis</i>
		鲃属 <i>Gobio</i>	黄河鲃 <i>Gobio huanghensis</i>
			似铜鲃 <i>Gobio coriparoides</i>
		蛇鲃属 <i>Saurogobio</i>	蛇鲃 <i>Saurogobio dabryi</i>
		似鲃属 <i>Pseudogobio</i>	似鲃 <i>Pseudogobio vaillanti</i>
		片唇鲃属 <i>Platysmacheilus</i>	裸腹片唇鲃 <i>Platysmacheilus nudiventris</i>
		麦穗鱼属 <i>Pseudorasbora</i>	麦穗鱼 <i>Pseudorasbora parva</i>
		鲃属 <i>Hemibarbus</i>	唇鲃 <i>Hemibarbus labeo</i>
			花鲃 <i>Hemibarbus maculatus</i>
		似鲃属 <i>Belligobio</i>	似鲃 <i>Belligobio nummifer</i>
		马口鱼属 <i>Opsariichthys</i>	马口鱼 <i>Opsariichthys bidens</i>
		鲮属 <i>Zacco</i>	宽鳍鲮 <i>Zacco platypus</i>
		鲃属 <i>Phoxinus</i>	拉氏鲃 <i>Phoxinus lagowskii</i>
			尖头鲃 <i>Phoxinus oxycephalus</i>
		白甲鱼属 <i>Onychostoma</i>	多鳞白甲鱼 <i>Onychostoma macrolepis</i>
		鲫鱼属 <i>Carassius</i>	鲫鱼 <i>Carassius auratus</i>
		重唇鱼属 <i>Gymnodiptychus</i>	渭河裸重唇鱼 <i>Gymnodiptychus pachycheilus weiheensis</i>
			厚唇裸重唇鱼 <i>Gymnodiptychus pachycheilus</i>
		裸鲤属 <i>Gymnocypris</i>	花斑裸鲤 <i>Gymnocypris eckloni</i>
			青海湖裸鲤 <i>Gymnocypris przewalskii</i>
			祁连裸鲤 <i>Gymnocypris chilianensis</i>
		裸裂尻鱼属 <i>Schizopygopsis</i>	嘉陵裸裂尻鱼 <i>Schizopygopsis kialingensis</i>
			黄河裸裂尻鱼 <i>Schizopygopsis pylzovi</i>
		裂腹鱼属 <i>Schizothorax</i>	重口裂腹鱼 <i>Schizothorax (Racoma) davidi</i>
			齐口裂腹鱼 <i>Schizothorax (schizothorax.) prenanti</i>
		扁咽齿鱼属 <i>Platypharodon</i>	极边扁咽齿鱼 <i>Platypharodon extremus</i>
	平鳍鳅科 Balitoridae	后平鳅属 <i>Metahomaloptera</i>	峨眉后平鳅 <i>Metahomaloptera omeiensis</i>
	鳅科 Cobitidae	泥鳅属 <i>Misgurnus</i>	泥鳅 <i>Misgurnus anguillicaudatus</i>
		副泥鳅属 <i>Paramisgurnus</i>	大鳞副泥鳅 <i>Paramisgurnus dabryanus</i>
		副鳅属 <i>Paracobitis</i>	红尾副鳅 <i>Paracobitis variegatus</i>
		花鳅属 <i>Cobitis</i>	北方花鳅 <i>Cobitis granoci</i>
			中华花鳅 <i>Cobitis sinensis</i>
		鼓鳔鳅属 <i>Hedinichthys</i>	大鳍鼓鳔鳅 <i>Hedinichthys yarkandensis macroptera</i>

目 Order	科 Family	属 Genus	种 Species
		高原鳅属 <i>Triplophysa</i>	短尾高原鳅 <i>Triplophysa brevicauda</i>
			酒泉高原鳅 <i>Triplophysa hsutschouensi</i>
			岷县高原鳅 <i>Triplophysa minxianensis</i>
			赛丽高原鳅 <i>Triplophysa sellaefer</i>
			甘肃高原鳅 <i>Triplophysa robusta</i>
			似鲃高原鳅 <i>Triplophysa siluroides</i>
			安氏高原鳅 <i>Triplophysa angeli</i>
			武威高原鳅 <i>Triplophysa wuweiensis</i>
			小眼高原鳅 <i>Triplophysa microps</i>
			黑体高原鳅 <i>Triplophysa obscura</i>
			细尾高原鳅 <i>Triplophysa stenura</i>
			长身高原鳅 <i>Triplophysa tenuis</i>
			硬刺高原鳅 <i>Triplophysa scleroptera</i>
			东方高原鳅 <i>Triplophysa orientalis</i>
			斯氏高原鳅 <i>Triplophysa stoliczkae</i>
			达里湖高原鳅 <i>Triplophysa dalaica</i>