

doi: 10.7541/2017.79

鮡亚科似鮡属鱼类的物种界定和系统发育关系

曹 恺 李玉火 何 欢 李明月 傅萃长

(复旦大学生命科学院生物多样性科学研究所, 生物多样性与生态工程教育部重点实验室, 上海 200438)

摘要: 鮡亚科似鮡属鱼类的物种界定保持争议, 系统发育关系尚待解决。研究取样似鮡属鱼类所有种, 使用核基因多位点序列重建似鮡属鱼类的系统发育关系, 运用分子的物种界定方法并结合形态特征分析厘定我国似鮡属鱼类的分类。贝叶斯系统发育树结果表明: 桂林似鮡与平江似鮡是单系种; 似鮡与扁嘴似鮡是多系种, 前者包括五个谱系A至E, 后者包括两个谱系A与B。POFAD距离分析和Structurama分析的结果表明似鮡和扁嘴似鮡的每个谱系是独立遗传种群, BP & P分析结果强烈支持它们是不同的种。*Beast物种树结果揭示: 扁嘴似鮡谱系B位于似鮡属鱼类的基本部位置; 似鮡谱系A与B是姊妹群关系, 似鮡谱系C是扁嘴似鮡谱系A的姊妹群, 它们一起与桂林似鮡形成姊妹群关系; 似鮡谱系D与E是姊妹群关系, 它们一起是平江似鮡的姊妹群。结合形态证据, 对我国似鮡属鱼类分类厘定如下: 限定严格意义似鮡包括似鮡谱系A+B; 恢复长吻似鮡(*Pseudogobio longirostris* Mori, 1934)给予似鮡谱系C分类名; 似鮡谱系D与E是隐存种, 桂林似鮡与平江似鮡是有效种。

关键词: 鲤科; 鮡亚科; 似鮡属; 物种界定; 系统发育

中图分类号: Q959.46 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2017)03-0617-12

似鮡属(*Pseudogobio*)鱼类(鲤形目Cypriniformes: 鲤科Cyprinidae, 鮡亚科Gobioninae)是东亚地区特有的淡水小型鱼类, 主要栖息于溪流生境^[1, 2]。它们主要以碎屑、藻类、水草与底栖动物为饵料^[2, 3]。该属鱼类包括4种^[4]: 扁嘴似鮡 [*Pseudogobio esocinus* (Temminck & Schlegel, 1846)], 模式地日本琵琶湖, 分布于日本本岛; 似鮡 [*Pseudogobio vaillanti* (Sauvage, 1878)] 模式地江西鄱阳湖流域, 广泛分布于我国大陆沿海各水系; 桂林似鮡 (*Pseudogobio guilinensis* Yao & Yang, 1977), 模式地广西桂林, 分布于我国珠江流域; 平江似鮡 (*Pseudogobio banggiangensis* Nguyen & Ngo, 2001), 模式地越南平江河(流入我国称为水口河, 属于珠江流域西江水系左江), 分布于我国珠江流域。

似鮡属鱼类的物种分类一直存在争议。Bănărescu & Nalbant^[1]认为似鮡属鱼类包括扁嘴似鮡1种含2亚种, 即指名亚种(*Pseudogobio esocinus esocinus*)与似鮡亚种(*P. esocinus vaillanti*)。罗云林等^[5]对我国的似鮡属鱼类进行了分类厘订, 认为我国似

鮡属鱼类包括1种含3亚种: 似鮡指名亚种(*Pseudogobio vaillanti vaillanti*)、桂林似鮡 (*P. vaillanti guilinensis*)与长吻似鮡 (*P. vaillanti longirostris* Mori, 1934)。乐佩琦^[2]认为长吻似鮡亚种是似鮡指名亚种的同物异名, 并把似鮡指名亚种与桂林似鮡都提升为种。杨秀平等^[6]利用形态可量性状使用主成分分析对我国似鮡属鱼类进行了形态比较, 认为桂林似鮡为似鮡的同物异名, 我国似鮡属鱼类仅似鮡单种。

基于形态特征与分子证据重建的鮡亚科鱼类系统发育关系研究^[7-12]均支持似鮡属鱼类是一单系群, 但是似鮡属鱼类种间的系统发育关系并未解析清楚。夏曦中等^[13]利用线粒体细胞色素*b*基因, 对我国辽河、长江、钱塘江、珠江与海南岛的广义似鮡进行了谱系地理研究, 结果表明广义似鮡具有明显的空间遗传结构, 能分为5大谱系, 其中两个谱系分布于长江与钱塘江, 另外三个谱系各自分布于辽河、珠江与海南岛, 谱系间遗传距离达到6%—10%。基于鱼类线粒体基因的种间平均遗传

收稿日期: 2016-04-27; 修订日期: 2016-08-21

基金项目: 国家自然科学基金(31471982)资助 [Supported by the National Natural Science Foundation of China (31471982)]

作者简介: 曹恺(1991—), 女, 浙江衢州人; 硕士研究生; 主要从事鱼类生态与进化研究。E-mail: 13210700119@fudan.edu.cn

通信作者: 傅萃长, 教授, 博士生导师; E-mail: czfu@fudan.edu.cn

距离一般为8%左右^[14-16], 夏曦中等^[13]的研究结果暗示我国似鲃属鱼类可能不止似鲃单种。Tomimaga等^[17]使用线粒体细胞色素*b*基因对广义扁嘴似鲃进行了初步的谱系地理研究, 结果显示广义扁嘴似鲃是多系群, 包括两大谱系: 一个谱系是日本本岛特有的, 另一个谱系嵌套于似鲃内部。Tomimaga等^[18]进一步加强取样使用线粒体细胞色素*b*基因对广义扁嘴似鲃进行了详细的谱系地理研究, 结果表明广义扁嘴似鲃能分为三大谱系A、B与C。其中, 谱系A与分布于我国北方的似鲃形成姊妹群关系; 谱系B与谱系C是姊妹群, 它们一起与分布于我国南方的似鲃形成姊妹群关系。

综上所述, 似鲃属鱼类的物种分类保持争议, 系统发育关系尚待进一步解决。清晰的物种界定是准确理解生物多样性空间格局形成过程的基础。最近的研究^[19-21]提倡分子证据基础的物种界定方法并结合形态证据进行物种界定。因此, 本研究取样似鲃属鱼类所有物种, 选择5个核基因位点作为分子标记, 使用系统发育技术重建似鲃属鱼类的系统发育关系, 运用分子证据基础的物种界定方法并结合形态证据进行分类厘定, 为将来以该属鱼类作为研究对象, 理解东亚地区淡水鱼类多样性空间格局形成过程奠定基础。

1 材料与方法

1.1 物种取样和分子标记

本研究共取样似鲃属鱼类4种69尾(表1)。其中广义似鲃58尾, 来自长江、钱塘江、瓯江、灵江、闽江、韩江、鸭绿江、大洋河与辽河水系; 平江似鲃1尾, 来自珠江水系; 桂林似鲃4尾, 来自珠江水系; 广义扁嘴似鲃6尾, 来自日本琵琶湖与云出川水系。依据Tang等^[11]重建的鲃亚科鱼类分子系统发育关系, 选取长蛇鲃与棒花鱼作为外类群。分子标记选择5个单拷贝核基因: 外胚层神经皮层蛋白1基因(*ENC1*)、错配修复蛋白*MutL*基因3(*MLH3*)、错配修复蛋白*MutS*基因6(*MSH6*)、核位点重组激活基因1(*RAG1*)和核糖体蛋白*S7*基因第一内含子(*rpS7 Intron 1*)。

1.2 DNA提取、PCR扩增与产物测序

从95%酒精保存的肌肉组织中采用高盐法提取基因组DNA^[22]。PCR过程使用引物^[23, 24]见表2, 各基因PCR扩增反应的条件如下: 94℃预变性5min; 94℃变性50s, 52℃退火50s, 72℃延伸60s; 循环40次; 72℃最后延伸8min。PCR产物纯化后在ABI 3730 DNA测序仪中使用扩增引物进行测序。

1.3 序列处理与贝叶斯树的构建

使用DAMBE ver. 5.6.7软件^[25]进行蛋白质编码基因的序列对位, 使用MAFFT ver. 7.22软件^[26]进行非蛋白质编码基因对位。序列对位完成后手工校正并排除具有插入与缺失的区域。使用MEGA ver. 6.06软件^[27]计算基因的分子特征。蛋白质编码基因分区策略按密码子进行, 非蛋白质编码基因不分区。使用jModeltest ver. 2.1.7软件^[28], 依据赤池信息准则选择每个分区的最适碱基替换模型。在MrBayes ver. 3.2.2软件^[29]下使用核基因多位点联合序列构建贝叶斯系统发育树, 主要步骤如下: 基于马尔可夫链蒙特卡罗进行5000万代运算, 取样频率为1000, 保证分离频率平均标准偏差小于0.01。运行完成后舍弃前1/4的取样树, 根据剩余的3/4取样树构建50%的多数原则一致树, 并计算每个节点的贝叶斯后验概率值。

1.4 物种界定

在POFAD ver. 1.0.7软件^[30]中采用标准化矩阵计算基于核基因多位点的个体之间Genpofad距离, 并在SplitsTree4 ver. 4.14.2软件^[31]中构建邻接网络图(简称POFAD距离分析)。在Structurama 2.0软件^[32]中采用Dirichlet过程进行种群数最适值的测试, 运算过程中将其设为随机变量并服从形状参数为0.1, 尺度参数为10的伽马分布; 共运行5000万代马尔可夫链蒙特卡罗, 每1000代取样一次, 舍弃前1/4的样本; 最终获得具有最高后验概率的种群数(简称Structurama分析)。依据贝叶斯系统发育树、POFAD距离分析以及Structurama分析的结果, 设定先验物种。在BP & P 3.0软件^[33, 34]中验证种的成立与否。采用无指导树物种界定方法计算指定物种划分方法的后验概率分布, 按theta和tau的先验分布运行3组独立分析: (1) thetaprior=1, 10, tauprior=1, 10; (2) thetaprior=2, 2000, tauprior=2, 2000; (3) thetaprior=1, 10, tauprior=2, 2000。共运行250万代, 每5代取样一次, 舍弃前1/5的样本(简称BP & P分析)。

1.5 *BEAST物种树的构建

在*BEAST ver. 2.3.0软件^[35]中构建物种树, 主要步骤包括: 选择对数正态分布的松散钟模型作为分子钟模型, 树的先验模型设定为Yule过程; 运行4个独立重复, MCMC代数设置为20000万代, 取样频率为1000; 舍弃前1/4的样本后, 在Log Combiner ver. 2.3.0软件^[35]中合并每个独立重复的log文档和trees文档; 在Tracer ver. 1.5软件^[36]中估算合并后的log文档参数, 保证每个参数的有效取样大小大于200; 在Tree Annotator ver. 2.3.0软件^[35]中获得最大谱系置信树。

表 1 种名、采样地点、个体编号及GenBank登录号

Tab. 1 Species, sampling sites, code and GenBank accession number of all individuals

采样地点Sampling locality	编号Code	GenBank登录号GenBank accession number				
		MLH3	MSH6	ENC1	RAG1	rpS7 Intron 1
广义似鮡 <i>Pseudogobio vaillanti sensu lato</i>						
安徽省潜山县 (长江下游)	PV-A-QS01	KX078872	KX078974	KX079148	KX078923	KX079002
安徽省潜山县 (长江下游)	PV-A-QS02	KX079298	KX079221	KX079147	KX079062	KX078990
安徽省潜山县 (长江下游)	PV-A-QS03	KX079297	KX079226	KX079146	KX079063	KX079000
江西省靖安县 (长江下游)	PV-A-YC	KX079313	KX079222	KX079152	KX079071	KX078991
江西省奉新县 (长江下游)	PV-A-FX	KX079312	KX079225	KX079167	KX079053	KX078992
江西省余江县 (长江下游)	PV-A-YJ	KX079295	KX079219	KX079150	KX079072	KX078999
江西省安福县 (长江下游)	PV-A-AF	KX079303	KX079212	KX079171	KX079049	KX079013
江西省新余市 (长江下游)	PV-A-XX	KU715610*	KX079217	KX079145	KX079074	KX079005
江西省永丰县 (长江下游)	PV-A-YF	KX079296	KX079224	KX079151	KX079059	KX079006
江西省永新县 (长江下游)	PV-A-YX	KX079294	KX079223	KX079149	KX079073	KX079001
江西省遂川县 (长江下游)	PV-A-JA	KX079301	KX079220	KX079165	KX079055	KX079004
江西省崇仁县 (长江下游)	PV-A-CR	KX079302	KX079207	KX079170	KX079050	KX079007
江西省广昌县 (长江下游)	PV-A-GC	KX079311	KX079206	KX079166	KX079054	KX078993
浙江省桐庐县 (钱塘江)	PV-A-TL01	KX079310	KX079210	KX079159	KX079064	KX078989
浙江省桐庐县 (钱塘江)	PV-A-TL02	KX079292	KX079211	KX079158	KX079065	KX078987
浙江省永嘉县 (瓯江)	PV-A-YoJ	KX079304	KX079214	KX079155	KX079068	KX078998
浙江省仙居县 (灵江)	PV-A-XJ01	KX079299	KX079208	KX079154	KX079069	KX079011
浙江省仙居县 (灵江)	PV-A-XJ02	KX079309	KX079213	KX079153	KX079070	KX079012
福建省松溪县 (闽江)	PV-A-SoX01	KX079291	KX079205	KX079161	KX079060	KX079008
福建省松溪县 (闽江)	PV-A-SoX02	KX079293	KX079218	KX079160	KX079061	KX078994
福建省建宁县 (闽江)	PV-A-JN01	KX079306	KX079209	KX079164	KX079056	KX078988
福建省建宁县 (闽江)	PV-A-JN02	KX079300	KX079216	KX079163	KX079057	KX078997
福建省长汀县 (韩江)	PV-A-CT01	KX079308	KX079230	KX079169	KX079051	KX079009
福建省长汀县 (韩江)	PV-A-CT02	KX079307	KX079229	KX079168	KX079052	KX079010
福建省上杭县 (韩江)	PV-A-ShH	KX079305	KX079215	KX079162	KX079058	KX079003
福建省武平县 (韩江)	PV-A-WP01	KX079290	KX079228	KX079157	KX079066	KX078995
福建省武平县 (韩江)	PV-A-WP02	KX079289	KX079227	KX079156	KX079067	KX078996
陕西省勉县 (长江中游)	PV-B-MX	KX079271	KX079202	KX079122	KX079092	KX079023
河南省新野县 (长江中游)	PV-B-XiY01	KX079270	KX079195	KX079123	KX079099	KX079025
河南省新野县 (长江中游)	PV-B-XiY02	KX079273	KX079197	KX079124	KX079090	KX079026

续表1

采样地点Sampling locality	编号Code	GenBank登录号GenBank accession number				
		MLH3	MSH6	ENC1	RAG1	rpS7 Intron 1
湖北省襄阳市 (长江中游)	PV-B-XaY	KX079283	KX079200	KX079128	KX079088	KX079021
湖北省宣城市 (长江中游)	PV-B-YiC01	KX079282	KX079196	KX079132	KX079091	KX079022
湖北省宣城市 (长江中游)	PV-B-YiC02	KX079274	KX079198	KX079133	KX079089	KX079024
湖北省宣城市 (长江中游)	PV-B-YiC03	KX079281	KX079199	KX079134	KX079100	KX079027
湖北省宣城市 (长江中游)	PV-B-YiC04	KX079280	KX079201	KX079135	KX079101	KX079028
湖北省红安县 (长江中游)	PV-B-HA01	KX079279	KX079204	KX079125	KX079093	KX079017
湖北省红安县 (长江中游)	PV-B-HA02	KX079278	KX079191	KX079126	KX079094	KX079015
湖北省红安县 (长江中游)	PV-B-HA03	KX079277	KX079193	KX079127	KX079097	KX079016
湖北省麻城市 (长江中游)	PV-B-MC01	KX079276	KX079203	KX079129	KX079095	KX079020
湖北省麻城市 (长江中游)	PV-B-MC02	KX079272	KX079192	KX079130	KX079098	KX079018
湖北省麻城市 (长江中游)	PV-B-MC03	KX079275	KX079194	KX079131	KX079096	KX079019
辽宁省宽甸县 (鸭绿江)	PV-C-KD01	KX079320	KX079242	KX079180	KX079082	KX079037
辽宁省宽甸县 (鸭绿江)	PV-C-KD02	KX079319	KX079241	KX079179	KX079083	KX079032
辽宁省宽甸县 (鸭绿江)	PV-C-KD03	KX079318	KX079240	KX079178	KX079081	KX079034
辽宁省岫岩县 (大洋河)	PV-C-XY	KX079317	KX079239	KX079177	KX079084	KX079036
辽宁省本溪市 (辽河)	PV-C-BX01	KX079323	KX079245	KX079183	KX079078	KX079033
辽宁省本溪市 (辽河)	PV-C-BX02	KX079322	KX079244	KX079182	KX079079	KX079038
辽宁省本溪市 (辽河)	PV-C-BX03	KX079321	KX079243	KX079181	KX079080	KX079035
江西省玉山县 (长江下游)	PV-D-YuS	KX079263	KX079231	KX079176	KX079102	KX079042
江西省弋阳县 (长江下游)	PV-D-GY	KX079262	KX079235	KX079175	KX079103	KX079043
江西省宜黄县 (长江下游)	PV-D-YH	KX079261	KX079232	KX079174	KX079104	KX079044
江西省万载县 (长江下游)	PV-D-WZ	KX079260	KX079233	KX079173	KX079105	KX079045
江西省石城县 (长江下游)	PV-D-SC	KX079259	KX079234	KX079172	KX079106	KX079046
浙江省松阳县 (瓯江)	PV-E-SY01	KX079266	KX079252	KX079186	KX079113	KX078978
浙江省松阳县 (瓯江)	PV-E-SY02	KX079265	KX079251	KX079185	KX079114	KX078979
浙江省松阳县 (瓯江)	PV-E-SY03	KX079264	KX079250	KX079184	KX079111	KX078980
浙江省青田县 (瓯江)	PV-E-QT01	KX079267	KX079253	KX079187	KX079115	KX078982
浙江省龙泉县 (瓯江)	PV-E-LQ	KX079268	KX079254	KX079188	KX079112	KX078981
平江似鮡 <i>Pseudogobio banggiangensis</i>						
广东省河源市 (珠江)	PB-HY	KX079269	KX079249	KX079141	KX079107	KX079014
桂林似鮡 <i>Pseudogobio guilinensis</i>						
广西省阳朔县 (珠江)	PG-YS01	KU715609*	KX078975	KX079121	KX078922	KX078983

续表1

采样地点Sampling locality	编号Code	GenBank登录号GenBank accession number				
		MLH3	MSH6	ENC1	RAG1	rpS7 Intron 1
广西省阳朔县(珠江)	PG-YS02	KX079316	KX079248	KX079118	KX079108	KX078985
广西省阳朔县(珠江)	PG-YS03	KX079315	KX079247	KX079119	KX079110	KX078984
广西省阳朔县(珠江)	PG-YS04	KX079314	KX079246	KX079120	KX079109	KX078986
广义扁嘴似鲟 <i>Pseudogobio esocinus sensu lato</i>						
日本滋贺县(琵琶湖)	PE-A-IJ01	KX079288	KX079257	KX079140	KX079075	KX079039
日本滋贺县(琵琶湖)	PE-A-IJ02	KX079286	KX079256	KX079139	KX079076	KX079040
日本滋贺县(琵琶湖)	PE-A-IJ03	KX079287	KX079255	KX079138	KX079077	KX079041
日本三重县(雲出川水系)	PE-B-MT01	KU715611*	KX079238	KX079142	KX079087	KX079029
日本三重县(雲出川水系)	PE-B-MT02	KX079285	KX079236	KX079144	KX079086	KX079030
日本三重县(雲出川水系)	PE-B-MT03	KX079284	KX079237	KX079143	KX079085	KX079031
长蛇鲟 <i>Saurogobio dumerili</i>						
上海市崇明县(长江下游)		KU715388*	KX079189	KX079137	KX079117	KX079048
棒花鱼 <i>Abbottina rivularis</i>						
吉林省抚松县(黑龙江)		KX079258	KX079190	KX079136	KX079116	KX079047

注: *表示该序列从GenBank下载,但是来自本研究实验室的同一个体

Note: *Denotes the sequence downloaded from GenBank, but the sequence is from the Lab of this study and belongs to the same individual

表2 分子标记扩增使用的引物

Tab. 2 Primers for the amplification of molecular markers

基因Gene	正向引物Forward primer (5'-3')	反向引物Reverse primer (5'-3')	来源Source
ENC1	AGGCCGGTGACATGCTGGA	GGAGGTGYTTCCAGGTGCTGA	本研究
MLH3	TAGACATAGAAGCCTGCAA CGTGAGGGYCATACAA	TGGTTCRAGGCATATGTCAT CCGCCATGTRGTGACATC	本研究
MSH6	CAGACAGCCCTGTRAAAC AACCTTGAGATCCTTCAGAA	GAGTACCCATGCTRTGGAT GAAGAGTCTCCTCATGCAGTC	本研究
RAG1	CAGTAYCAYAAGATGTACCG	TTGTGAGCYTCCATRAACTT	Kim & Bang ^[23]
rpS7 intron 1	GCCTCTCCAGGCCGTC	AACTCATCTGGCTTTTCGCC	Chow & Hazama ^[24]

1.6 外部形态特征的计数与测量

统一采用鱼体背部俯视方向左侧进行计数与测量,可数性状依据陈宜瑜^[37],可量性状依据Kottelat和Freyhof^[38](图1)。在Past ver. 1.90^[39]软件下完成可量性状数据的主成分分析。为消除异速生长的影响,可量性状数据进行对数转换并使用Burnaby方法进行校正^[40,41]。

2 结果

2.1 序列特征

本研究使用的5个单拷贝核基因一起序列总长7582 bp,变异位点数749,简约信息位点数400。其

中,ENC1序列长度为1290 bp,变异位点数101,简约信息位点数58;MLH3序列长度为2223 bp,变异位点数230,简约信息位点数115;MSH6序列长度为1992 bp,变异位点数171,简约信息位点数105;RAG1序列长度为1449 bp,变异位点数88,简约信息位点数47;rpS7 intron 1序列长度为628 bp,变异位点数159,简约信息位点数75。所有个体的GenBank登录号见表1。

2.2 物种界定

基于核基因多位点联合序列重建的贝叶斯系统发育树(图2)揭示:广义似鲟是多系,包括五个单系的谱系A至E;桂林似鲟与平江似鲟都是单系;广

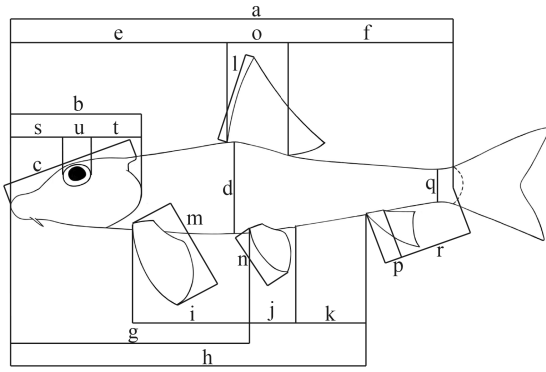


图1 可量性状示意图(参考Kottelat & Jorg^[38])

Fig. 1 The diagram of morphometric characters (referring to Kottelat & Jorg^[38])

a. 体长; b. 头长; c. 背侧头长; d. 体高; e. 背鳍前长; f. 背鳍后长; g. 腹鳍前长; h. 臀鳍前长; i. 胸腹鳍起点间距离; j. 腹鳍肛门起点间距离; k. 肛门臀鳍起点间距离; l. 背鳍长; m. 胸鳍长; n. 腹鳍长; o. 背鳍基长; p. 臀鳍基长; q. 尾柄高; r. 尾柄长; s. 吻长; t. 眼后头长; u. 眼径; v. 眼间距(图中未显示)

a. Standard length (SL); b. Head length (HL); c. Dorsal head length; d. Body depth; e. Pre-dorsal length; f. Post-dorsal length; g. Pre-pelvic length; h. Pre-anal length; i. Distance between pectoral- and pelvic-fin origins; j. Distance between pelvic-fin and anus origins; k. Distance between anus and anal-fin origins; l. Length of dorsal fin; m. Length of pectoral fin; n. Length of pelvic fin; o. Length of dorsal-fin base; p. Length of anal-fin base; q. Depth of caudal peduncle; r. Length of caudal peduncle; s. Snout length; t. Postorbital length; u. Eye diameter; v. Eye diameter (not shown in this figure)

义扁嘴似鲃是多系, 包括两个单系的谱系A和B。POFAD距离分析(图3)支持桂林似鲃、平江似鲃、广义似鲃谱系A至E与广义扁嘴似鲃谱系A与B的每个谱系是独立遗传种群。Structurama分析结果与POFAD距离分析结果一致。BP & P分析结果强烈支持桂林似鲃、平江似鲃、广义似鲃谱系A至E以及广义扁嘴似鲃谱系A与B的每个谱系是不同种(贝叶斯后验概率100%)。

2.3 系统发育关系

基于核基因多位点联合序列重建的贝叶斯系统发育树(图2)与*BEAST物种树(图4)树形基本一致。最近的鱼类分子系统发育关系研究^[42-44]暗示*BEAST物种树比基于核基因多位点联合序列重建的贝叶斯系统发育树更能准确地反映系统发育关系。因此, 下面仅描述*BEAST物种树揭示的结果。

*BEAST物种树(图4)揭示的似鲃属鱼类系统发育关系为: (1)扁嘴似鲃谱系B位于似鲃属鱼类的基部位置, 是所有其他似鲃属鱼类的姊妹群(贝叶斯后验概率100%); (2)似鲃谱系A与B是姊妹群关系, 似鲃谱系C是扁嘴似鲃谱系A的姊妹群; (3)似

鲃谱系A+B与似鲃谱系C+扁嘴似鲃谱系A形成姊妹群关系(贝叶斯后验概率96%—100%), 它们一起是桂林似鲃的姊妹群(贝叶斯后验概率62%); (4)似鲃谱系D与E是姊妹群关系, 它们一起是平江似鲃的姊妹群(贝叶斯后验概率99%—100%); (5)平江似鲃+似鲃谱系D与E是桂林似鲃+扁嘴似鲃谱系A+似鲃谱系A至C的姊妹群(贝叶斯后验概率99%)。

2.4 形态特征

似鲃、桂林似鲃与平江似鲃的形态特征见表3。可量性状的主成分分析结果(图5)表明不能分开桂林似鲃、似鲃谱系A与B, 但能很好地分开似鲃谱系C、D与E; 桂林似鲃+似鲃谱系A与B能与似鲃谱系C至E分开。在可数性状中(表3), 侧线鳞的数目能够很好地分开桂林似鲃(43)与似鲃谱系A至E+平江似鲃(40—42)。似鲃谱系C侧线鳞的数目(41—42)及背鳍前鳞的数目(12—13)和似鲃谱系A+B侧线鳞的数目(40—41)及背鳍前鳞的数目(10—12)也有一定差异。腹鳍分枝鳍条数与背鳍前鳞的数目能够区分平江似鲃(腹鳍分枝鳍条数8; 背鳍前鳞的数目15)和桂林似鲃+似鲃谱系A至E(腹鳍分枝鳍条数7; 背鳍前鳞的数目10—13)。似鲃谱系A与B比较、似鲃谱系D与E比较, 在可数性状上几乎没有差异。

3 讨论

3.1 我国似鲃属鱼类的分类厘定

杨秀平等^[6]基于形态可量性状的主成分分析结果认为我国似鲃属鱼类仅似鲃一种。然而, 本研究基于分子的物种界定分析结果支持桂林似鲃与平江似鲃是有效种, 并认为广义似鲃谱系A至E以及广义扁嘴似鲃谱系A与B的每个谱系是不同种。由于扁嘴似鲃谱系A与B缺乏形态数据, 它们的分类有待进一步的研究再确定。下面结合形态证据就我国似鲃属鱼类的分类进行讨论。

尽管分子证据支持分布于韩江至长江的似鲃谱系A与分布于长江水系的似鲃谱系B为不同种, 然而可数性状与可量性状分析结果不支持把似鲃谱系A与B划分为不同种。另外, 似鲃谱系A与B是姊妹群关系, 两者在长江水系均有分布。因此, 从形态证据、系统发育关系与地理分布三方面结合起来看, 似鲃谱系A与B应属于同一物种的不同遗传谱系。基于似鲃谱系A+B分布范围包括似鲃模式地长江水系以及其形态性状符合Sauvage^[45]对似鲃模式种的形态描述, 本研究限定似鲃谱系A+B为严格意义似鲃。

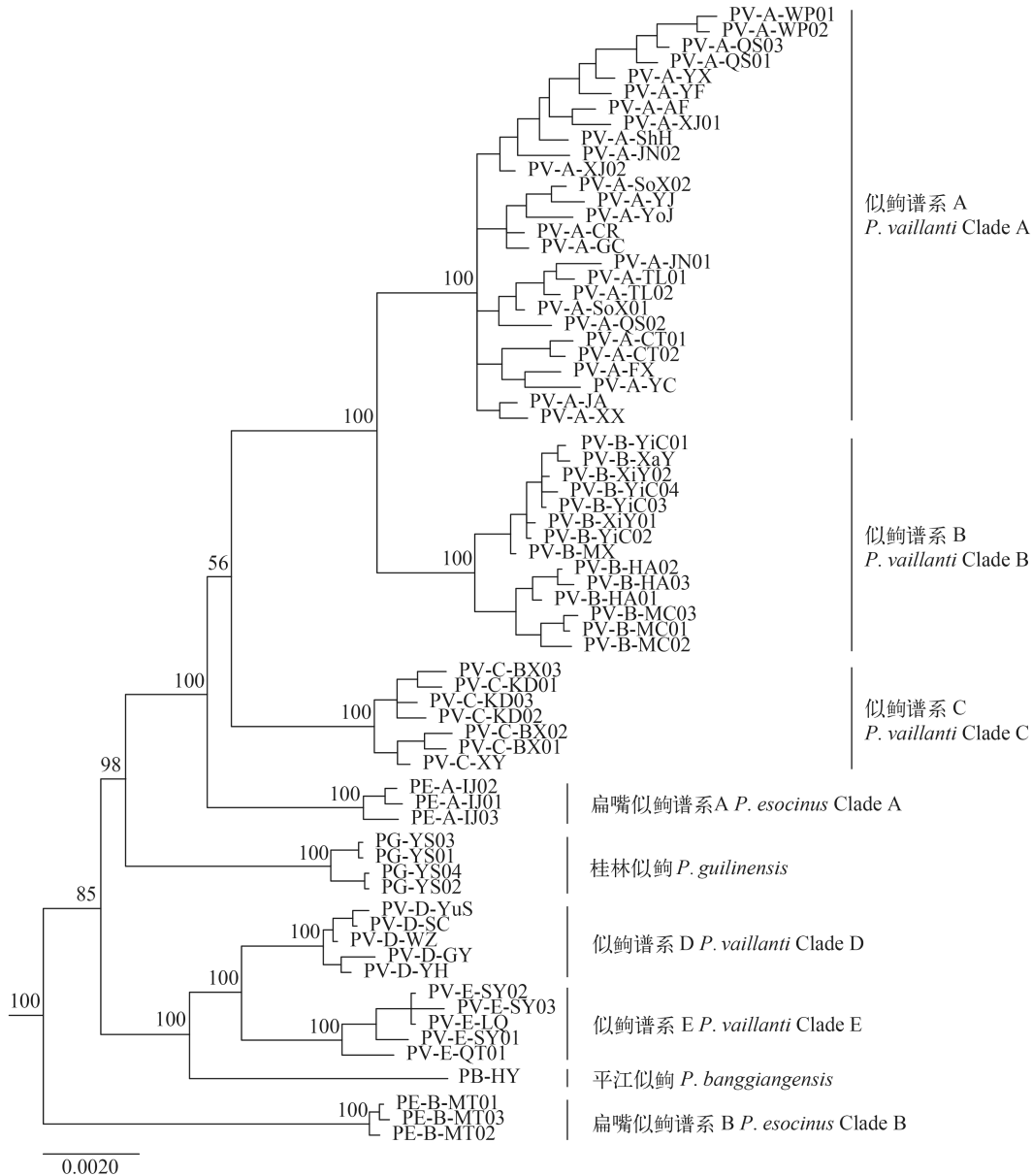


图 2 基于核基因多位点联合序列重建的似鲈属鱼类贝叶斯系统发育树

Fig. 2 Bayesian tree of *Pseudogobio* fishes based on concatenated sequences of nuclear loci

节点上方为贝叶斯后验概率, 外类群没有显示

Above nodes are Bayesian posterior probabilities, and outgroup taxa are not shown

本研究结果表明分布于我国北方辽河、大洋河与鸭绿江水系的似鲈谱系C与分布于日本的扁嘴似鲈谱系A形成姊妹群关系, 它们一起是严格意义似鲈(=似鲈谱系A+B)的姊妹群(图 4), 暗示似鲈谱系C是不同种。分子的物种界定分析结果支持似鲈谱系C作为种成立。可量性状分析结果能很好地区分似鲈谱系C与严格意义似鲈。在可数性状中, 似鲈谱系C侧线鳞的数目(41—42)及背鳍前鳞的数目(12—13)与严格意义似鲈侧线鳞的数目(40—41)及背鳍前鳞的数目(10—12)也有一定差异。依据罗云林等^[5]对我国似鲈属鱼类的分类厘

订, 似鲈谱系C为他们描述的长吻似鲈亚种。因此, 结合分子证据、形态证据、系统发育关系与地理分布, 本研究恢复长吻似鲈(*Pseudogobio longirostris* Mori, 1934, 模式地辽河水系辽宁凌源)给予似鲈谱系C分类名。本研究系统发育关系结果亦表明严格意义似鲈(=似鲈谱系A+B)、长吻似鲈(=似鲈谱系C)和似鲈谱系D+E均不是姊妹群关系, 暗示似鲈谱系D+E属于不同种。分子证据和形态证据进一步确认分布于长江的似鲈谱系D与分布于瓯江的似鲈谱系E各自是不同种, 并支持平江似鲈是有效种, 它们一起形成一单系群。

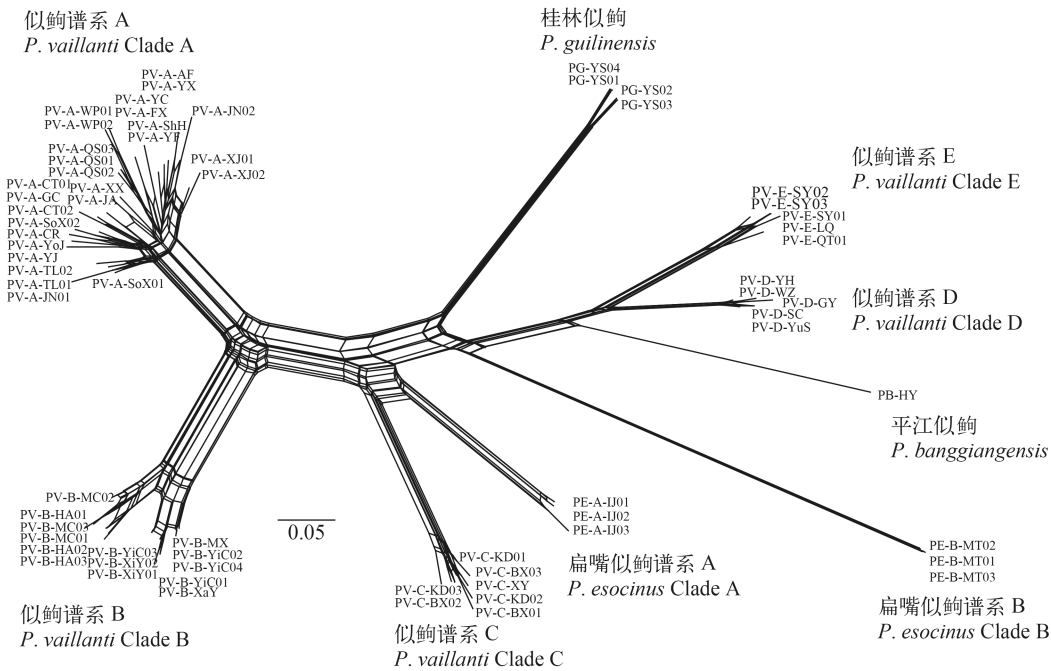


图3 基于Genpofad距离重建的似鮡属鱼类邻接网络图

Fig. 3 NeighborNet network of *Pseudogobio* fishes based on Genpofad distances

似鮡谱系定义依据图2

Pseudogobio vaillanti Clades defined as in Fig. 2

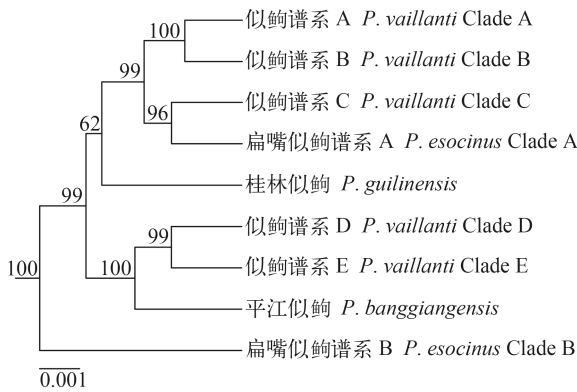


图4 基于核基因多位点的似鮡属鱼类*BEAST物种树

Fig. 4 BEAST species tree of *Pseudogobio* fishes based on nuclear loci

节点上方为后验概率值, 外类群没有显示。似鮡谱系定义依据图2

Above nodes are posterior probabilities, and outgroup taxa are not shown. *Pseudogobio vaillanti* Clades defined as in Fig. 2

杨秀平等^[6]基于形态可量性状的主成分分析结果认为桂林似鮡是似鮡的同物异名。本研究基于形态可量性状的主成分分析结果亦不能分开桂林似鮡和严格意义似鮡, 但它们一起能很好地与长吻似鮡、似鮡谱系D及E分开。然而, 系统发育关系结果表明桂林似鮡与严格意义似鮡+长吻似鮡+扁嘴似鮡谱系A形成姊妹群关系, 暗示桂林似鮡是有效种。分子的物种界定分析结果确认桂林

似鮡是有效种。侧线鳞的数目亦能够很好地区分桂林似鮡(43)和我国分布的似鮡属鱼类其他种(40—42)。因此, 结合分子证据、形态证据与系统发育关系, 本研究支持桂林似鮡是有效种。

3.2 似鮡属鱼类的系统发育关系与生物地理过程推测

夏曦中等^[13]采纳杨秀平等^[6]基于形态可量性状的主成分分析结果认为我国似鮡属鱼类仅似鮡单种, 并利用线粒体细胞色素*b*基因开展了我国广义似鮡的谱系地理研究。随后Tominaga等^[17, 18]使用线粒体细胞色素*b*基因对分布于日本的扁嘴似鮡进行了谱系地理研究。他们的研究均发现似鮡属鱼类包括多个遗传谱系, 但都没有清晰解决似鮡属鱼类谱系间的系统发育关系。本研究利用核基因多位点数据首次清楚地解析了似鮡属鱼类的系统发育关系, 揭示平江似鮡是似鮡谱系D+E的姊妹群; 桂林似鮡是严格意义似鮡(=似鮡谱系A+B)+长吻似鮡(=似鮡谱系C)+扁嘴似鮡谱系A的姊妹群; 所有谱系一起与扁嘴似鮡谱系B形成姊妹群关系。依据Tominaga等^[18]的广义扁嘴似鮡谱系地理研究, 扁嘴似鮡谱系A与B均为日本本岛特有。依据本研究对我国似鮡属鱼类的分类厘定, 平江似鮡与桂林似鮡分布于珠江水系, 严格意义似鮡分布于韩江至长江的水系, 长吻似鮡分布于辽河、大洋河与鸭绿江水系, 似鮡谱系D分布于长江, 似鮡谱系E分

表 3 似鮡谱系A至E、桂林似鮡和平江似鮡的形态特征

Tab. 3 Morphological characters of *Pseudogobio vaillanti* Clades A-E, *Pseudogobio guilinensis* and *Pseudogobio banggiangensis*

可数性状与可量性状 Morphometrics and Meristics	似鮡谱系A <i>P. vaillanti</i> Clade A (n=12)	似鮡谱系B <i>P. vaillanti</i> Clade B (n=10)	似鮡谱系C <i>P. vaillanti</i> Clade C (n=7)	似鮡谱系D <i>P. vaillanti</i> Clade D (n=5)	似鮡谱系E <i>P. vaillanti</i> Clade E (n=5)	桂林似鮡 <i>P. guilinensis</i> (n=4)	平江似鮡 <i>P. banggiangensis</i> (n=1)
背鳍Dorsal fin	iii-7 (12)	iii-7 (10)	iii-7 (7)	iii-7 (5)	iii-7 (5)	iii-7 (4)	iii-7
胸鳍Pectoral fin	i-13 (3), i-14 (9)	i-13 (4), i-14 (6)	i-12 (1), i-13 (6)	i-14 (4), i-15 (1)	i-14 (5)	i-14 (4)	i-15
腹鳍Pelvic fin	i-7 (12)	i-7 (10)	i-6 (1), i-7 (6)	i-7 (5)	i-7 (5)	i-7 (4)	i-8
臀鳍Anal fin	iii-6 (12)	iii-6 (10)	iii-6 (7)	iii-6 (5)	iii-6 (5)	iii-6 (4)	iii-6
侧线鳞Lateral-line scales	40 (7), 41 (5)	40 (9), 41 (1)	41 (3), 42 (4)	41 (3), 42 (2)	40 (1), 41 (4)	43 (4)	41
侧线上鳞Scales between lateral line and dorsal-fin origin	5 (7), 6 (5)	6 (10)	6 (7)	6 (5)	6 (5)	6 (4)	6
至腹鳍侧线下鳞Scales between lateral line and pelvic-fin origin	3 (12)	3 (10)	3 (7)	3 (5)	3 (5)	3 (4)	3
至臀鳍侧线下鳞Scales between lateral line and anal-fin origin	4 (12)	4 (10)	4 (7)	4 (5)	4 (5)	4 (4)	4
背鳍前鳞Pre-dorsal scales	10 (2), 11 (8), 12 (2)	11 (7), 12 (3)	12 (5), 13 (2)	11 (2), 12 (3)	11 (2), 12 (3)	12 (4)	15
围尾柄鳞Circumpeduncular scales	12 (12)	12 (10)	12 (7)	12 (5)	12 (5)	12 (4)	12
体长Standard length (mm)	92.7—117.9	90.8—136.7	94.83—114.94	97.2—139.7	96.0—119.5	86.4—120.7	113.13
体长的百分比(%)							
头长Head length	24.2—29.2	25.8—31.0	25.2—29.3	27.1—28.4	24.9—28.5	26.6—30.1	28.1
背侧头长Dorsal head length	22.1—25.9	23.3—26.8	22.7—26.6	24.1—26.4	22.4—26.1	24.2—27.8	24.6
体高Body depth	16.0—21.4	17.5—21.0	16.0—19.3	17.9—19.6	17.1—20.4	16.2—22.0	19.3
背鳍前长Pre-dorsal length	41.4—46.8	42.7—46.4	43.2—47.3	44.6—47.2	42.7—46.2	44.4—48.2	47.9
背鳍后长Post-dorsal length	39.7—46.1	41.0—45.1	40.2—44.9	40.1—42.9	40.7—43.9	38.9—43.1	37.5
腹鳍前长Pre-pelvic length	46.7—53.6	47.5—52.6	47.3—50.6	47.2—50.3	46.3—48.6	48.6—52.7	51.0
臀鳍前长Pre-anal length	76.2—82.6	77.5—82.1	79.0—83.9	76.6—82.8	76.6—79.5	78.1—82.3	83.0
胸腹鳍起点间距离Distance between pectoral- and pelvic-fin origins	21.1—27.2	20.4—24.3	20.9—24.7	21.5—25	19.5—23.0	21.7—25.1	24.4
腹鳍肛门起点间距离Distance between pelvic-fin and anus origins	5.9—7.4	6.4—8.3	7.0—8.2	5.6—7.4	6.5—7.6	6.3—6.8	7.3
肛门臀鳍起点间距离Distance between anus and anal-fin origins	18.0—27.0	20.1—25.4	21.1—25.4	22.8—25.4	22.1—24.4	21.2—25.0	24.7
背鳍长Length of dorsal fin	20.0—23.6	19.7—23.1	21.5—22.7	19.8—23.7	19.8—22.6	21.1—22.1	22.1
胸鳍长Length of pectoral fin	19.2—22.8	20.2—23.8	21.4—23.2	21.8—26	20.1—21.1	20.4—24.0	21.6
腹鳍长Length of pelvic fin	15.4—18.5	15.2—18.7	16.5—18.4	16.3—20	16.2—17.9	17.2—18.1	18.0
背鳍基长Length of dorsal-fin base	11.5—13.5	11.8—13.7	11.4—13.1	11.5—12.7	12.3—13.9	12.0—13.2	14.5
臀鳍基长Length of anal-fin base	6.5—8.6	6.0—7.1	6.2—7.0	6.1—7.2	6.5—7.2	6.2—7.1	6.6
尾柄高Depth of caudal peduncle	6.9—8.3	6.8—7.5	6.9—7.6	6.5—7.2	7.0—7.6	6.4—6.9	7.4
尾柄长Length of caudal peduncle	11.9—16.5	13.6—15.6	12.7—16.4	12.3—14.3	12.7—16.1	14.1—16.2	11.4
头长的百分比(%)							
吻长Snout length	40.6—51.9	45.5—50.5	45.7—52.0	48.1—51.2	46.4—49.7	47.2—51.0	43.9
眼后头长Postorbital length	25.5—35.1	26.8—33.7	25.1—30.6	23.1—30.5	27.2—29.4	27.4—30.8	31.8
眼间距Interorbital width	14.7—21.2	18.4—23.1	15.9—18.7	19.0—20.2	18.3—21.6	18.4—20.1	18.6
眼径Eye diameter	20.9—26.2	20.4—23.2	22.0—24.8	21.3—25.7	22.4—25.4	21.2—23.6	24.3

注: 显示可数性状的记数(括号中是个体数)和可量性状的测量范围, 似鮡谱系定义依据图 2

Note: The count of meristic characters (individual numbers in bracket) and the range of morphometric characters were shown.

Pseudogobio vaillanti Clades defined as in Fig. 2

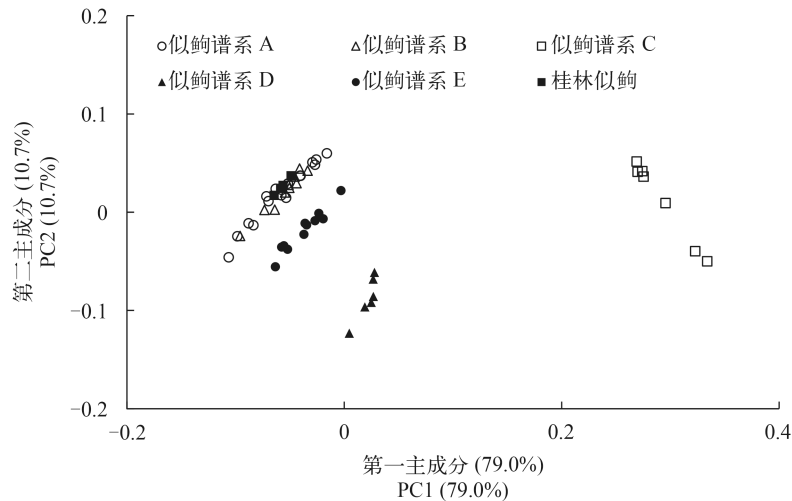


图5 似鲃谱系A至E和桂林似鲃的第一与第二主成分得分散点图

Fig. 5 Scatter plots of scores on the first and second principal components for *Pseudogobio vaillanti* Clades A-E and *P. guilinensis*

布于瓯江。结合上述系统发育关系与谱系的地理分布,本研究提出以下生物地理过程是似鲃属鱼类物种分化的可能原因:(1)扁嘴似鲃谱系B位于系统发育树的基部位置,暗示似鲃属鱼类可能起源于东亚北部地区,扁嘴似鲃谱系B的物种形成可能是地理隔离造成;(2)桂林似鲃、严格意义似鲃、长吻似鲃与扁嘴似鲃谱系A一起构成一单系群,四者地理分布不重叠,推测四者的物种形成可能是地理隔离造成。同时,扁嘴似鲃谱系A是长吻似鲃的姊妹群,嵌套在似鲃属鱼类内部,暗示扁嘴似鲃谱系A的物种形成亦可能是扩散过程造成,即从大陆扩散到日本后的地理隔离;(3)平江似鲃、似鲃谱系D与E一起构成一单系群,三者地理分布不重叠,推测三者的物种形成可能是地理隔离造成;(4)平江似鲃与桂林似鲃均分布于珠江水系,且两者不是姊妹群,其系统位置均嵌套在似鲃属鱼类内部,推测平江似鲃与桂林似鲃的物种形成亦可能是扩散过程造成,即似鲃属鱼类祖先通过两次扩散进入珠江水系,随后的地理隔离造成。

综上所述,本研究清楚地对我国似鲃属鱼类进行了物种界定,解析了似鲃属鱼类的系统发育关系。进一步的研究应基于动物命名法则给予似鲃谱系D与E相应的分类名称,结合形态数据厘清广义扁嘴似鲃的分类。同时,运用分子钟技术与祖先重建技术测试本研究提出的似鲃属鱼类物种分化的生物地理过程,为理解东亚地区淡水鱼类多样性空间格局形成过程提供案例。

参考文献:

- [1] Bănărescu P, Nalbant T T. Pisces, Teleostei, Cyprinidae (Gobioninae) [M]. Das Tierreich, Lieferung 93, Berlin: Walter de Gruyter. 1973, 1—304
- [2] Yue P Q. *Pseudogobio* Bleeker, 1860 [A]. In: Chen Y Y (Eds.), Fauna Sinica, Osteichthyes, Cypriniformes (II) [C]. Beijing: Science Press. 1998, 374—378 [乐佩琦. 似鲃属. 见: 陈宜瑜, 中国动物志硬骨鱼纲鲤形目(中卷). 北京: 科学出版社. 1998, 374—378]
- [3] Xie C X, Liu Q D. A Preliminary study on the biology of *Pseudogobio vaillanti vaillanti* (Sauvage) [J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 1986, 5(1): 73—82 [谢从新, 刘齐德. 似鲃生物学的初步研究. 华中农业大学学报, 1986, 5(1): 73—82]
- [4] Eschmeyer W N, Fricke R, Van der Laan R. Catalog of Fishes: Genera, Species, References, <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>
- [5] Luo Y L, Yue P Q, Chen Y Y. *Pseudogobio* Bleeker, 1860 [A]. In: Wu X W (Eds.), Fauna of Cyprinidae in China (II) [C]. Shanghai: Shanghai People's Publishing House. 1977, 512—516 [罗云林, 乐佩琦, 陈宜瑜. 似鲃属. 见: 伍献文, 中国鲤科鱼类志(下卷). 上海: 上海人民出版社. 1977, 512—516]
- [6] Yang X P, Zhang M Y, Liu H Z. Morphological variations and geographical differentiation of the genus *Pseudogobio* (Teleostei: Cyprinidae) in China [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2002, 26(3): 281—285 [杨秀平, 张敏莹, 刘焕章. 中国似鲃属鱼类的形态变异及地理分化研究. 水生生物学报, 2002, 26(3): 281—285]
- [7] Hosoya K. Interrelationships of the Gobioninae (Cyprinidae) [A]. In: Uyeno T, Arai T, Taniuchi T, et al. (Eds.), Indo-Pacific Fish Biology: Proceeding of the Second International Conference on Indo-Pacific Fishes [C]. Tokyo: The Ichthyological Society of Japan. 1986, 484—501
- [8] Yu L R, Yue P Q. Studies on phylogeny of the *Pseudogobiini* fishes (Cypriniformes: Cyprinidae) [J]. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 1996, 21(2): 244—255 [俞利荣, 乐佩琦]

- 琦. 似鲟类鱼类的系统发育研究(鲤形目: 鲤科). 动物分类学报, 1996, **21**(2): 244—255]
- [9] Yang J Q, He S P, Freyhof J, *et al.* The phylogenetic relationships of the *Gobioninae* (Teleostei: Cyprinidae) inferred from mitochondrial cytochrome *b* gene sequences [J]. *Hydrobiologia*, 2006, **553**(1): 255—266
- [10] Liu H Z, Yang J Q, Tang Q Y. Estimated evolutionary tempo of East Asian gobionid fishes (Teleostei: Cyprinidae) from mitochondrial DNA sequence data [J]. *Hydrobiologia*, 2010, **55**(15): 1502—1510
- [11] Tang K L, Agnew M K, Chen W J, *et al.* Phylogeny of the gudgeons (Teleostei: Cyprinidae: Gobioninae) [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2011, **61**(1): 103—124
- [12] Jiang Z G, Zhang E. Molecular evidence for taxonomic status of the gudgeon genus *Huigobio* Fang, 1938 (Teleostei: Cypriniformes), with a description of a new species from Guangdong Province, South China [J]. *Zootaxa*, 2013, **3731**(1): 171—182
- [13] Xia X Z, Zhang X P, Liu H Z. Molecular biological geography analysis of *Pseudogobio vaillanti* [J]. *Progress in Natural Science*, 2005, **15**(9): 1064—1069 [夏曦中, 张训蒲, 刘焕章. 似鲟(*Pseudogobio vaillanti*)的分子生物地理学分析. 自然科学进展, 2005, **15**(9): 1064—1069]
- [14] Ward R D. DNA barcode divergence among species and genera of birds and fishes [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2009, **9**(4): 1077—1085
- [15] Guo L, Li J, Wang Z S, *et al.* Phylogenetic relationships of noodle-fishes (Osmeriformes: Salangidae) based on four mitochondrial genes [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2011, **35**(3): 449—459 [郭立, 李隽, 王忠锁, *et al.* 基于四个线粒体基因片段的银鱼科鱼类系统发育. 水生生物学报, 2011, **35**(3): 449—459]
- [16] Chen H, Polgar G, Fu C Z, *et al.* Cryptic species and evolutionary history of *Boleophthalmus pectinirostris* complex along the northwestern Pacific coast [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2014, **38**(1): 75—86 [陈卉, Polgar G, 傅萃长, 等. 西北太平洋海岸带大弹涂鱼复合体的隐存种与进化历史. 水生生物学报, 2014, **38**(1): 75—86]
- [17] Tominaga K, Watanabe K, Kakioka R, *et al.* Two highly divergent mitochondrial DNA lineages within *Pseudogobio esocinus* populations in central Honshu, Japan [J]. *Ichthyological Research*, 2009, **56**(2): 195—199
- [18] Tominaga K, Nakajima J, Watanabe K. Cryptic divergence and phylogeography of the pike gudgeon *Pseudogobio esocinus* (Teleostei: Cyprinidae): a comprehensive case of freshwater phylogeography in Japan [J]. *Ichthyological Research*, 2016, **63**(1): 79—93
- [19] Hedin M. High-stakes species delimitation in eyeless cave spiders (Cicurina, Dictynidae, Araneae) from central Texas [J]. *Molecular Ecology*, 2015, **24**(2): 346—361
- [20] Karanovic T, Djurakic M, Eberhard S M. Cryptic species or inadequate taxonomy? implementation of 2D geometric morphometrics based on integumental organs as landmarks for delimitation and description of copepod taxa [J]. *Systematic Biology*, 2016, **65**(2): 304—327
- [21] Ojanguren-Affilastro A A, Mattoni C I, Ochoa J A, *et al.* Phylogeny, species delimitation and convergence in the South American bothriurid scorpion genus *Brachistosternus* Pocock 1893: Integrating morphology, nuclear and mitochondrial DNA [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2016, **94**(2016): 159—170
- [22] Miller S A, Dykes D D, Polesky H F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells [J]. *Nucleic Acids Research*, 1988, **16**(3): 12—15
- [23] Kim K Y, Bang I C. Molecular phylogenetic position of *Abbottina springeri* (Cypriniformes, Cyprinidae) based on nucleotide sequences of RAG1 gene [J]. *Korean Journal of Ichthyology*, 2010, **22**(4): 273—278
- [24] Chow S, Hazama K. Universal PCR primers for S7 ribosomal protein gene introns in fish [J]. *Molecular Ecology*, 1998, **7**(9): 1255—1256
- [25] Xia X H. DAMBE5: A comprehensive software package for data analysis in molecular biology and evolution [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2013, **30**(7): 1720—1728
- [26] Katoh K, Standley D M. MAFFT Multiple Sequence Alignment Software Version 7: Improvements in performance and usability [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2013, **30**(4): 772—780
- [27] Tamura K, Stecher G, Peterson D, *et al.* MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0 [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2013, **30**(12): 2725—2729
- [28] Darrriba D, Taboada G L, Doallo R, *et al.* jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing [J]. *Nature Methods*, 2012, **9**(9): 772
- [29] Ronquist F, Teslenko M, Van der Mark P, *et al.* MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space [J]. *Systematic Biology*, 2012, **61**(3): 539—542
- [30] Joly S, Bruneau A. Incorporating Allelic Variation for Reconstructing the Evolutionary History of Organisms from Multiple Genes: An Example from Rosa in North America [J]. *Systematic Biology*, 2006, **55**(4): 623—636
- [31] Huson D H, Bryant D. Application of phylogenetic networks in evolutionary studies [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2006, **23**(2): 254—267
- [32] Huelsenbeck J P, Andolfatto P. Inference of population structure under a Dirichlet process model [J]. *Genetics*, 2007, **175**(4): 1787—1802
- [33] Yang Z H, Rannala B. Bayesian species delimitation using multilocus sequence data [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2010, **107**(20): 9264—9269
- [34] Yang Z H, Rannala B. Unguided species delimitation using DNA sequence data from multiple loci [J]. *Molecular*

- Biology and Evolution*, 2014, **31**(12): 3125—3135
- [35] Bouckaert R, Heled J, Kuhnert D, *et al.* BEAST 2: A software platform for bayesian evolutionary analysis [J]. *PLoS Computational Biology*, 2014, **10**(4): 1—6
- [36] Rambaut A, Drummond A. Tracer v1. 5. 2007. Available at: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/tracer>.
- [37] Chen Y Y. Fauna Sinica, Osteichthyes, Cypriniformes (II) [M]. Beijing: Science Press. 1998, 16—18 [陈宜瑜. 中国动物志硬骨鱼纲鲤形目(中卷). 北京: 科学出版社. 1998, 16—18]
- [38] Kottelat M, Freyhof J. Handbook of European freshwater fishes [M]. Delémont: Imprimerie du Démocrate SA. 2007, 15—16
- [39] Hammer Ø, Harper D A T, Ryan P D. Past: Paleontological statistics software package for education and data analysis [J]. *Palaeontologia Electronica*, 2001, **4**(1): 9
- [40] Burnaby T P. Growth-invariant discriminant functions and generalized distances [J]. *Biometrics*, 1966, **22**(1): 96—110
- [41] Rolf F J, Bookstein F L. A comment on shearing as a method for ‘size correlation’ [J]. *Systematic Zoology*, 1987, **36**(4): 356—367
- [42] Waters J M, Rowe D L, Burrige C P. Gene trees versus species trees: reassessing life-history evolution in a freshwater fish radiation [J]. *Systematic Biology*, 2010, **59**(5): 504—517
- [43] Fu C Z, Guo L, Xia R. A multilocus phylogeny of Asian noodlefishes Salangidae (Teleostei: Osmeriformes) with a revised classification of the family [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2012, **62**(3): 848—855
- [44] Xia R, Durand J D, Fu C Z. Multilocus resolution of Mugilidae phylogeny (Teleostei: Mugiliformes): Implications for the family’s taxonomy [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2016, **96**: 161—177
- [45] Sauvage H E. *Rhinogobio Vaillanti*, n. sp [A]. In: Bulletin de la Societe philomathique de Paris [C]. Paris: Societe philomathique de Paris. 1878, 87

SPECIES DELIMITATION AND PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS OF *PSEUDOGOPIO* FISHES IN THE SUBFAMILY GOBIONINAE

CAO Kai, LI Yu-Huo, HE Huan, LI Ming-Yue and FU Cui-Zhang

(Ministry of Education Key Laboratory for Biodiversity Science and Ecological Engineering, Institute of Biodiversity Science and School of Life Science, Fudan University, Shanghai 200438, China)

Abstract: Species delimitation and phylogenetic relationships of the genus *Pseudogobio* fishes in the subfamily Gobioninae remain debated and unresolved. This study used molecular species delimitation methods and morphological analyses to reconstruct phylogenetic relationships of *Pseudogobio* fishes based on nuclear loci and the classification of this genus in China. The results of Bayesian tree showed that *Pseudogobio guilinensis* and *P. banggiangensis* were monophyletic specie, and that *P. vaillanti* and *P. escocinus* were polyphyletic species that the former included five Clades A-E and the latter was comprised of two Clades A and B. The analyses of POFAD and Structurama showed that each clade of *P. vaillanti* and *P. escocinus* were independent genetic populations, and BP & P analysis strongly supported them as different species. The results of *Beast species tree revealed that *P. escocinus* Clade B occupied a basal position of *Pseudogobio* fishes; Clades A and B of *P. vaillanti* were the sister taxon relationship, and *P. vaillanti* Clade C was the sister taxon of *P. escocinus* Clade A, and all of them together were the sister group of *P. guilinensis*; Clades D and E of *P. vaillanti* were the sister taxon relationship, which were the sister group of *P. banggiangensis*. A revised classification of *Pseudogobio* fishes in China by molecular and morphological evidence as follows: *P. vaillanti* sensu stricto was limited to *P. vaillanti* Clades A and B; A resurrection of *P. longirostris* Mori, 1934 was assigned to *P. vaillanti* Clade C; Clades D and E of *P. vaillanti* were cryptic species, and *P. guilinensis* and *P. banggiangensis* were valid species, respectively.

Key words: Cyprinidae; Gobioninae; *Pseudogobio*; Species delimitation; Phylogeny