

DNA 条形码技术在鱼类浮游生物鉴定中的应用及研究展望

刘守海^{1,2},程祥圣^{1,2},何彦龙^{1,2},秦玉涛^{1,2}

(1. 国家海洋局东海环境监测中心 上海 201206;2. 海洋赤潮灾害立体监测技术与应用国家海洋局重点实验室 上海 201206)

摘要: 鱼类浮游生物的准确鉴定是鱼类浮游生物研究的基础。传统的基于形态特征的鉴定不仅费时费力,而且由于缺乏足够信息,鉴定存在困难,导致物种多样性被低估。为了对物种进行准确、快速地鉴定,急需在传统形态分类学基础上,建立并结合便捷准确的分子鉴定手段。DNA 条形码技术是利用一段较短的 DNA 序列实现快速准确物种鉴定的工具,就像在商店里扫描仪读取条形码那样,对每一种生物也能通过快速分析其 DNA 中的一小段(线粒体细胞色素 c 氧化酶 I 亚基, mt COI) 加以识别。DNA 条形码提供了可信息化的分类标准和有效的分类学手段,已成为近年来生物类群的研究热点。文章介绍了 DNA 条形码的概念、原理、工作流程及其优点,分析了其在鱼类浮游生物鉴定中的应用可行性,并展望未来鱼类浮游生物学发展的前景:分子技术鉴定鱼类浮游生物相关规范标准的建立,传统形态鉴定与分子方法相结合的分类学研究,以及鱼类浮游生物的生态学研究。

关键词: DNA 条形码; 鱼类浮游生物; 形态分类; 物种鉴定

中图分类号: P735 文献标志码: A 文章编号: 1005—9857(2018)07—0056—07

Review and Outlook of DNA Barcoding in Identification of Ichthyoplankton

LIU Shouhai^{1,2}, CHENG Xiangsheng^{1,2}, HE Yanlong^{1,2}, QIN Yutao^{1,2}

(1. East China Sea Environmental Monitoring Center, State Oceanic Administration, Shanghai 201206, China; 2. Key Lab of Integrated Monitoring and Applied Technology for Marine Harmful Algal Blooms, State Oceanic Administration, Shanghai 201206, China)

Abstract: As the main components of marine biota, ichthyoplankton plays vital roles in the marine biodiversity. However, morphological identification of ichthyoplankton was time-consuming and even impossible for some taxa. Diversity of marine ichthyoplankton was believed to be underestimated. To enable accurate and fast identification of species, it is imperative to establish molecular techniques, to complement the traditional morphological methodology. DNA barcoding (a technology to provide rapid, accurate and automated species identifications by using short orthologous

DNA sequences) had been fundamentally important in the past few years in classification. Just like the barcodes on products are recognized, each living species can be identified by using a short fragment of the mitochondrial gene coding for cytochrome c oxidase subunit I (mt *COI*). DNA barcoding provides digitalized criteria and effective means for species identification. This paper reviewed some fundamental knowledge of DNA Barcoding, like the conception, principle, workflow and advantages of DNA barcoding. Meanwhile, the possibility and feasibility of DNA barcoding in identification of ichthyoplankton were discussed. And the outlook of ichthyoplankton was prospected, like the establishment of molecular standards for identification of ichthyoplankton, a taxonomic study combining morphological identification with molecular methods, ecological studies of ichthyoplankton.

Key words: DNA barcoding, Ichthyoplankton, Morphological taxonomy, Species identification

0 引言

鱼类浮游生物(Ichthyoplankton)包括鱼卵、仔鱼和稚鱼期。由于鱼卵和仔、稚鱼的游泳能力无或弱,多数时间只能随波逐流,联合国粮农组织咨询委员会海洋资源调查机构(FAO ACMRR)将鱼卵和仔、稚鱼统一简称为鱼类浮游生物。

鱼类浮游生物是海洋浮游生物的主要类群之一,是鱼类生活史早期发育的重要阶段。作为鱼类种群补充的重要来源,鱼卵和仔、稚鱼种类分布和数量变化是评估海域鱼类产卵场、亲鱼资源量、渔业资源补充量最直接有效的数据资料。仔、稚鱼既是生物能的消费者,又是生物能量的转换者,是海洋食物链中的重要环节之一^[1]。鱼类浮游生物已成为海洋生物多样性与海洋生态学的重要研究对象。

由于鱼卵和仔、稚鱼处于鱼类生活史的早期发育阶段,其形态变化由鱼卵到仔、稚鱼到成鱼的变化非常大,有些鱼卵和仔、稚鱼缺少足够的形态特征在形态上无法鉴定到种,有些鱼卵和仔、稚鱼形态相似在形态上无法区分为不同种类,因此传统形态学鉴定结果对鱼卵和仔、稚鱼种类分布和数量变化缺乏准确的认识,从而限制了对鱼类浮游生物学的进一步研究。如何对鱼类浮游生物进行准确的鉴定是进行鱼类浮游生物研究的关键,也是目前亟须解决的问题。

1 鱼类浮游生物鉴定现状

目前 FishBase 收录的鱼类有 33 600 种^[2],但能够鉴别的仔、稚鱼种类仅占成鱼种类的 1/10,而鱼

卵则不到仔、稚鱼种类的 1/10^[3]。我国已知海洋鱼类已超过 3 000 种,但是有资料可查的鱼卵与仔、稚鱼种类不超过 300 种^[4]。

在鱼类生活史中,鱼类早期发育阶段时间较短,其形态变化复杂。种类鉴别通常是依据鱼类早期发育阶段的外部形态特征进行的,包括一些可数性状和可量性状:鱼卵的形状、卵径、卵膜构造,油球数量和油球径,胚体形态及色素出现的早晚、色素的形状以及分布的具体区域,胚体的肌节,鱼的主要器官出现的时间节点以及区域位置;仔、稚鱼体形的变化,肌节数的变化,鳃盖棘和齿系的构造和数量变化,消化系统(包括肛门)的形成和构造的变化,肛门的位置及肛前距与体长的比例,色素形状与分布位置;鳍膜的消长,各鳍的分化及发育的详细序列,棘和鳍条的数目,鳍条大小,发现鳍条的位置、时间以及移动的状况,尾鳍骨的发育状况及其形状变化^[5]。

我国关于鱼卵和仔、稚鱼鉴定的重要资料主要为 20 世纪 80 年代的出版物。《海洋水产资源调查手册》^[6]是较早归纳多种鱼卵和仔、稚鱼形态特征的出版书籍,但仅收录 10 种;《中国近海鱼卵与仔鱼》^[5]论述了中国近海常见的 44 科 100 种鱼卵和仔、稚鱼的形态特征及在我国各海域的分布状况并有相关发育阶段的鉴定图谱,是我国鱼卵和仔、稚鱼鉴定的重要参考书目之一;世纪之交,《台湾海域鱼卵图鉴》^[3]问世,记录了利用光学及电镜鉴定出的 150 余种鱼卵。除此之外,多为单个种类

仔、稚鱼研究文献^[7-13]。在以往的研究中,通过形态鉴定只有少数的样品可以鉴定到种,多数样品只能鉴定到科。Shao 等^[3]认为虽然通过使用扫描电镜获得了较多卵膜上微细构造的形态特征,此法仍难以保证鱼卵鉴定结果的准确性。另外,由于受获取样品所限,大多数种类只有某些阶段的形态特征描述及鉴定图谱,而无法呈现形态特征的连续变化。资料中对“鱼卵—仔鱼—稚鱼—成鱼”不同发育时期较全面描述的种类,多为养殖对象^[14-17],但养殖的仔、稚鱼与野生的会有一定差距^[18],且活体培养费时费力^[8]。

传统的形态分类学在鉴定仔、稚鱼和鱼卵方面存在许多不足,而导致这些不足的原因其中之一就是没有充足的可以用来鉴定的形态信息。此外,传统形态分类依赖研究者的个人经验和观察手段,同时,从事传统形态分类学的专家学者也越来越稀少,基于形态学特征的传统生物分类研究已难以对鱼卵和仔、稚鱼进行准确分类。因此,需要寻找新的出路,而分子方法可以很好地弥补鱼卵和仔、稚鱼传统形态分类上鉴定的不足。

2 DNA 条形码技术在鱼类浮游生物鉴定的可行性

2.1 DNA 条形码技术

DNA 条形码是分子系统发育学以及分子分类学发展的产物^[19]。Arnot 等^[20]最早提出了 DNA 条形码概念,2003 年,Hebert 等^[21]为了实现物种的快速鉴定,研究基于 DNA 条形码的数据库,这项技术受到了生物学界的关注和重视,在日后的研究中发展迅速。

DNA 条形码是指利用一段短的 DNA 序列为标记,建立条形码和生物实体之间的对应关系^[21-22],从而实现对物种的快速鉴定。DNA 条形码是以传统的 DNA 序列标记技术为基础,在概念上与基因分型类似,即通过对一组来自不同生物个体的短的同源 DNA 序列进行 PCR 扩增和测序后,对测得的序列进行多重序列比对和聚类分析,从而将某个个体精确定位到一个已描述过的分类群中,因此是综合了基因分型、系统发育和分类学的一门技术^[23]。

实现 DNA 条形码技术的首要问题是寻找合适的 DNA 序列。而能作为鉴定某一物种 DNA 条形码的序列,不仅具有相对的保守性,还要有足够的变异能够将物种区别开来;扩增序列要尽量短,最好是能一个反应就完成测序。基于长度和进化速率的考虑,线粒体的 13 个编码基因中只有细胞色素氧化酶 I(coxidase subunit I, COI)、细胞色素 B(cytochrome b, Cyt b)符合要求,其中 COI 因其 5' 端 (COI-5P) 区域更容易设计较保守的通用性引物,且很少出现内含子和插入缺失现象,因此线粒体 COI 基因被认为是鱼类等物种的理想 DNA 条形码^[24-27]。其优点主要体现在:①进化速率快。由于核内基因片段长度是线粒体 DNA 片段长度的 5~10 倍,故线粒体 DNA 进化速率快,物种间差异较大,利用较短的片段就可以区分物种^[28]。②拷贝数多。每个细胞中,线粒体 DNA 有 100~10 000 个拷贝。因此,如果采集到的样品数量不足以支撑研究或者是部分降解的时候,线粒体 DNA 的拷贝数量非常多,完全可以供给进行鉴定。③绝大多数情况下,物种内的差异相对很小。小的种内差异和巨大的种间差异表明大多数物种间有明显的遗传界线,用一个条码能精确鉴别。线粒体基因的种内遗传距离往往小于 1%,若利用线粒体 COI 基因条形码鉴定物种时,种间遗传距离应是种内遗传距离的 10 倍以上,故最小种间遗传距离应为 10%。④绝大多数物种的线粒体 DNA 没有内含子,使扩增更顺利^[21]。

大量研究发现,线粒体 COI 基因是物种鉴别的理想 DNA 条形码,这是因为组成 COI 基因编码的氨基酸序列是非常严格的,受到约束,因此,这种通用引物的设计就变得非常方便,在鱼类等动物的鉴定中使用广泛^[28-31]。

2.2 鱼类 DNA 条形码

随着条形码技术的逐步应用,各类物种传统分类信息和 DNA 条形码数据相继在网络数据库上发布。很多国际组织建立了自己的 DNA 条形码数据库,如 BOLD, ABBI, AllLeps, TBI, MBI 等。BOLD 数据库收录的鱼类 DNA 条形码信息基本上都来自于 COI 基因。截至 2017 年 7 月, BOLD 数据库收

录了近 21.6 万条辐鳍鱼纲(Actinopterygii)鱼类的 DNA 条形码序列信息,包括 1.88 万种。其中 DNA 条形码序列数最多的类群为鱼类中最大目——鲈形目(Perciformes),占辐鳍鱼纲鱼类 DNA 条形码总数的 48.0%。位居第二和第三的分别是鲤形目(Cypriniformes)与鲇形目(Siluriformes),分别占辐鳍鱼纲鱼类 DNA 条形码总数的 14.8%和 8.5%。较前几年 BOLD 数据库收录情况统计结果^[32],DNA 条形码序列数量增加明显。

BOLD 等数据库收录的鱼类 DNA 条形码信息极大地方便鱼类研究人员准确地掌握鱼类在分类地位、遗传结构、分布地区和进化历史等方面的信息,为开展鱼类鉴定研究和生物多样性保护工作奠定了坚实的基础^[33-39]。基于线粒体 COI 基因的 DNA 条形码技术在鱼类分类鉴定等方面的应用,鱼类条形码数据库收录的条形码信息不断丰富,这为该技术在鱼卵和仔、稚鱼鉴定的应用提供了可对比的鱼类条形码数据(表 1)。

表 1 截至 2017 年 7 月为止 BOLD 数据库收录的 41 个目鱼类 DNA 条形码序列数量

序号	分类	拉丁名	不同时间 DNA 条形码数		
			2017 年 7 月	2016 年 4 月	2013 年 10 月
1	鲈形目	Perciformes	103 652	100 233	77 724
2	鲤形目	Cypriniformes	32 039	26 833	17 124
3	鲇形目	Siluriformes	18 410	14 892	10 145
4	脂鲤目	Characiformes	17 561	15 479	9 275
5	鲉形目	Scorpaeniformes	14 565	10 899	8 805
6	鲹形目	Pleuronectiformes	6 427	5 249	4 469
7	鲳形目	Gadiformes	5 768	4 949	3 920
8	鲑形目	Salmoniformes	5 660	4 119	3 205
9	鲱形目	Clupeiformes	4 928	4 233	3 373
10	鲀形目	Tetraodontiformes	4 899	4 085	3 655
11	鳗形目	Anguilliformes	4 680	4 068	3 361
12	鲮形目	Cyprinodontiformes	4 298	4 098	3 402
13	灯笼鱼目	Myctophiformes	4 005	3 460	2 512
14	海龙目	Syngnathiformes	3 371	2 820	1 223
15	仙女鱼目	Aulopiformes	2 474	2 213	1 884
16	巨口鱼目	Stomiiformes	2 214	1 987	1 582
17	银汉鱼目	Atheriniformes	2 206	1 804	1 353
18	金眼鲷目	Beryciformes	2 022	1 912	1 705
19	颌针鱼目	Beloniformes	2 013	1 614	1 233
20	裸背鱼目	Gymnotiformes	1 568	1 143	692
21	鲛鲽目	Lophiiformes	1 554	1 281	1 153
22	胡瓜鱼目	Osmeriformes	1 272	2 224	1 721
23	魮鱼目	Ophidiiformes	1 264	1 095	989
24	合鳃鱼目	Synbranchiformes	1 041	831	550
25	骨舌鱼目	Osteoglossiformes	1 040	1 014	722
26	狗鱼目	Esociformes	941	676	562
27	鲟形目	Acipenseriformes	683	624	577

续表

序号	分类	拉丁名	不同时间 DNA 条形码数		
			2017 年 7 月	2016 年 4 月	2013 年 10 月
28	北梭鱼目	Albuliformes	648	626	615
29	海鲂目	Zeiformes	504	476	416
30	喉盘鱼目	Gobiesociformes	383	371	279
31	背棘鱼目	Notacanthiformes	303	273	181
32	月鱼目	Lampriformes	248	188	153
33	蟾鱼目	Batrachoidiformes	214	208	191
34	海鲢目	Elopiformes	191	158	145
35	鼠鲭目	Gonorynchiformes	158	138	122
36	多鳍鱼目	Polypteriformes	135	125	141
37	雀鲷目	Lepisosteiformes	111	107	104
38	鲑鲈目	Percopsiformes	96	84	83
39	须鲰目	Polymixiiformes	81	65	54
40	辫鱼目	Ateleopodiformes	38	34	33
41	弓鳍鱼目	Amiiformes	22	21	17

2.3 DNA 条形码技术在鱼类浮游生物鉴定的实践

随着 DNA 条形码技术在鱼类研究上的普遍应用,逐渐有学者开始尝试采用 DNA 条形码来解决鱼卵和仔、稚鱼的种类鉴定问题。但国内外相关研究的报道较少。Pegg 等^[40]利用 COI 基因对澳大利亚南部大堡礁的仔鱼进行了鉴定。Valdez-Moreno 等^[41]用 DNA 条形码对墨西哥尤卡坦半岛附近海域的成鱼和仔鱼(早期鱼类)进行研究,分析了渔业管理的潜力。Ko Huiling 等^[42]应用 DNA 条形码评估了 5 家研究机构仔鱼形态鉴定结果的精确度,通过 DNA 条形码鉴定到种水平的有 69%。认为 DNA 条形码技术是种类鉴定的最好方法之一。周美玉等^[43]将形态学特征分为两种类型鱼卵和 3 种类型仔、稚鱼的样品,应用 DNA 条形码技术分析鉴定得到 3 个鱼卵种类和 4 个仔、稚鱼种类。2015 年刘守海对 DNA 条形码技术在鱼类浮游生物样品鉴定进行了尝试:采用专家形态学鉴定的成鱼进行基因测序,验证鱼类条形码数据库中该种的准确性。选取常见仔、稚鱼,对其进行基因测序,将结果与鱼类条形码数据库进行比对,再鉴定仔、稚鱼样品的种类。经序列比对,洋山海域获得的侧带小公鱼(*Stolephorus*)仔、稚鱼为康氏侧带小公鱼(*Stole-*

phorus commersonii)。高东奎^[44]将采集到的大量鳊属受精卵样品,利用 Chelex 100 分子生物螯合树脂提取其 DNA,并通过线粒体 COI 基因序列测定分析将其鉴定为少鳞鳊(*Sillago japonica*)。陈定标^[45]于 2014 年 5 月至 2015 年 11 月采用大型浮游生物网收集浙江沿海水域的鱼卵仔鱼样品。通过形态学初步鉴定,可以鉴定到科的占样品总数的 16.9%,鉴定到种的占 1.4%。基于 COI 序列与 Genbank 数据库比对,结果显示从 73 个样本序列中一共鉴定出 21 个鱼类物种,其中鉴定到种的比例达到 91.8%。以上结果说明 DNA 条形码应用于鱼卵和仔、稚鱼的鉴定可大大提高种类鉴定结果的精确性。

DNA 条形码应用于鱼卵和仔、稚鱼的鉴定可对形态学较难鉴定或形态相似种类进行有效的物种鉴定。刘守海等^[46]通过 DNA 条形码技术将调查所获得的 7 目 10 科样品鉴定到种的比例高达 94.7%。其中,形态学较难鉴定的虾虎鱼科鉴定出 5 个种:矛尾虾虎鱼(*Chaeturichthys stigmatias*)、睛尾蝌蚪虾虎鱼(*Lophiogobius ocellicauda*)、褐吻虾虎鱼(*Rhinogobius brunneus*)、斑尾刺虾虎鱼(*Acanthogobius ommaturus*)和斑点竿虾虎鱼(*Lu-*

ciogobius guttatus)等 5 个,形态学相似种类鰕科龟鲽属鉴定出前鳞龟鲽(*Chelon affinis*)、龟鲽(*Chelon haematocheilus*)。这一结果表明 DNA 条形码突破传统形态分类不足的束缚,在缺少足够的鉴定特征或形态相似的类群分类上成功区分,从而提高鱼类浮游生物鉴定的准确性。

3 展望

鱼类浮游生物学的生物多样性和生态学研究是当前海洋生态研究领域的热点之一,但由于鱼卵和仔、稚鱼这一发育阶段的特殊性,种类鉴定一直是鱼类浮游生物研究的薄弱环节。根据国内外的研究现状和发展趋势,笔者认为随着分子技术应用于鱼类浮游生物的种类鉴定,该领域目前成果较少,还处于技术空白阶段,很少有重大的突破,因此,只要研究者投入精力与时间,国家政府层面加大重视力度,我国的鱼类浮游生物学研究将在国际上名列前茅,在未来几年里,鱼类浮游生物学研究的主要发展趋势有以下 3 个方面。

(1)分子技术鉴定鱼类浮游生物相关规范标准的建立。由于鱼卵和仔、稚鱼的形态变化复杂,许多种类很难通过形态学特征加以区分,利用分子技术等手段来解决种类识别问题已成为鱼类浮游生物分类学研究的重要发展趋势。规范标准的建立,会加快这一技术的推广应用,促进这一领域的发展。

(2)传统形态鉴定与分子方法相结合的分类学研究。采用传统形态显微镜分析和现代分子生物学方法相结合的研究思路,每一物种的鉴定必须依靠分子证据和形态分类结果的相互参照及验证,基于 DNA 条形码结果进行种类的形态学研究,发掘重点物种重点科属的形态分类信息。在此基础上,通过调查摸清我国近海鱼类浮游生物的种类组成、生物分布及其季节变化等基本特点。

(3)鱼类浮游生物的生态学研究。鱼卵和仔、稚鱼在生态系统的物质循环和能量流动中,扮演着重要的角色。在纷繁复杂的食物链中,鱼卵和仔、稚鱼处于食物链的次低端,鱼卵和仔、稚鱼为其他海洋生物的重要营养来源,同时仔、稚鱼也是消费者,是食物链中不可缺少的一环。此外,鱼卵和仔、稚鱼对鱼类种群资源有补充作用。因此,在鱼卵和

仔、稚鱼分类“瓶颈”被突破的情况下,大力发展基于鱼卵和仔、稚鱼的海洋生态健康评估、指示物种以及海洋环境影响评价等生态学研究。

参考文献

- [1] 沈国英,施并章.海洋生态学[M].北京:科学出版社.2002.
- [2] NELSON J S.Fishes of the world[M].Tokyo: John Wiley & Sons,Inc.2006.
- [3] SHAO KT,YANG JS,CHEN KC,et al.An identification guide of marine fish eggs from Taiwan[M].Taiwan: Institute of Zoology,Academia Sinica.2001.
- [4] 卞晓东,张秀梅,高天翔,等.沙氏下鱚鱼卵的形态学及遗传学鉴别[J].水产学报,2008,32(3):342—352.
- [5] 张仁斋,陆穗芬,赵传纲,等.中国近海鱼卵与仔鱼[M].上海,上海科学技术出版社,1985.
- [6] 黄海水产研究所.海洋水产资源调查手册[M].上海:上海科学技术出版社,1981.
- [7] 张孝威,何桂芬,沙学坤.牙鲆和条鳎卵子及仔、稚鱼的形态观察[J].海洋与湖沼,1965,7(2):158—174.
- [8] 陈真然,张孝威.斑鲈卵子和仔、稚、幼鱼的形态特征[J].海洋与湖沼,1965,7(3):205—214.
- [9] 许波涛,李加儿,周宏团.赤点石斑鱼的胚胎和仔鱼形态发育[J].水产学报,1985,9(4):369—374.
- [10] 陈昌生,黄佳鸣,何华武,等.高体鲱胚胎及仔稚幼鱼的形态观察[J].中国水产科学,1998,5(1):25—29.
- [11] 谢仰杰,张雅芝,胡家财,等.斜带髯鲷早期发育的形态观察[J].中国水产科学,2004,11(2):89—94.
- [12] 夏连军,施兆鸿,王建钢,等.黄鲷胚胎及卵黄囊仔鱼的形态发育[J].中国水产科学,2005,12(5):533—538.
- [13] 马学坤,柳学周,温海深,等.漠斑牙鲆胚胎及仔稚鱼发育的形态学观察[J].南方水产,2008,4(1):41—47.
- [14] 方家仲,褚茂兵,肖勤,等.大黄鱼早期发育的形态学研究[J].海洋科学,2003,27(6):1—6.
- [15] 钟俊生,楼宝,袁锦丰.鳊鱼仔稚鱼早期发育的研究[J].上海水产大学学报,2005,14(3):231—237.
- [16] 王波,刘振华,孙丕喜,等.星斑川鲈胚胎发育的形态观察[J].海洋学报,2008,30(2):130—136.
- [17] 柳凌,张洁明,郭峰,等.人工条件下日本鳗鲡胚胎及早期仔鱼发育的生物学特征[J].水产学报,2010,34(12):1800—1811.
- [18] OKIYAMA M.An atlas of the early stage fisher in Japan[M].Tokyo:Tokai University Press,1988.
- [19] BUCKLIN A,STEINKE D,BLANCO-BERCIAL L. DNA barcoding of marine metazoan[J].Marine Science,2011(3):471—508.
- [20] ARNOT DE,ROPER C,BAYOUMI RAL.Digital codes from

- hypervariable tandemly repeated DNA-sequences in the Plasmodium-Falciparum Circumsporozoite gene can genetically barcode isolates[J]. Molecular and Biochemical Parasitology, 1993, 61(1): 15—24.
- [21] HEBERT PDN, CYWINSKA A, BALL SL, et al. Biological identifications through DNA barcodes[J]. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 2003, 270: 313—322.
- [22] HEBERT PDN, RATNASINGHAM S, DEWAARD JR. Barcoding animal life: cytochrome *c* oxidase subunit 1 divergences among closely related species[J]. Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences, 2003b, 270(Suppl.): S96—S99.
- [23] 尹晓宏, 王江峰. DNA 条形码技术在法医昆虫学中的研究进展[J]. 政法学刊, 2010(2): 4—15.
- [24] WARD R D, ZEMLAK T S, INNES B H, et al. DNA barcoding Australia fish species[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society B Biological Sciences, 2005, 360(1462): 1847—1857.
- [25] WARD R D, COSTA F O, HOLMES B H, et al. DNA barcoding of shared fish species from the North Atlantic and Australasia: minimal divergence for most taxa, but *Zeus faber* and *Lepidopus caudatus* each probably constitute two species[J]. Aquatic Biology, 2008, 3(1): 71—78.
- [26] SMITH P J, MCVEAGH S M, STEINKE D. DNA barcoding for the identification of smoked fish products[J]. Journal of Fish Biology, 2008, 72(2): 464—471.
- [27] SWARTZ E R, MWALE M, HANNER R. A role for barcoding in the study of African fish diversity and conservation[J]. South African Journal of Science, 2008, 104: 293—298.
- [28] WAUGH J. DNA barcoding in animal species: progress, potential and pitfalls[J]. BioEssays, 2007, 29(2): 188—197.
- [29] ROCK J, COSTA F O, WALKER D I, et al. DNA barcodes of fish of the Scotia Sea, Antarctica indicate priority groups for taxonomic and systematics focus[J]. Antarctic Science, 2008, 20(3): 253—262.
- [30] 高连明. DNA 条形码在生物多样性编目与评价中的应用[J]. 生物多样性, 2015, 23(3): 286—287.
- [31] 王太, 张艳萍, 管丽红, 等. 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[J]. 生物多样性, 2015, 23(3): 306—313.
- [32] 杨倩倩, 刘苏汶, 茹炜棠, 等. 基于 DNA 条形码技术对浙江省外来入侵福寿螺进行分子鉴定[J]. 生物多样性, 2016, 24(3): 341—350.
- [33] 林森杰, 王路, 郑连明, 等. 海洋生物 DNA 条形码研究现状与展望[J]. 海洋学报, 2014, 36(12): 1—17.
- [34] LAKRA WS, GOSWAMI M, GOPALAKRISHNAN A. Molecular identification and phylogenetic relationships of seven Indian Sciaenids (Pisces: Perciformes, Sciaenidae) based on 16S rRNA and cytochrome *c* oxidase subunit I mitochondrial genes[J]. Molecular Biology Reports, 2009, 36(5): 831—839.
- [35] 王中锋, 郭昱嵩, 陈荣玲, 等. 南海常见硬骨鱼类 COI 条码序列[J]. 海洋与湖沼, 2009, 40(5): 608—614.
- [36] 柳淑芳, 陈亮亮, 戴芳群, 等. 基于线粒体 COI 基因的 DNA 条形码在石首鱼科鱼类系统分类中的应用[J]. 海洋与湖沼, 2010, 41(2): 223—232.
- [37] 程宝国, 李三磊, 徐冬冬, 等. 梭鱼和鲻鱼线粒体 16SrRNA 和 COI 基因片段的比较分析[J]. 浙江海洋学院学报(自然科学版), 2012, 31(2): 103—106.
- [38] 宋超, 于亚男, 张涛, 等. 基于线粒体 COI 基因部分序列的长江口舌鳎科鱼类系统分类研究[J]. 动物学杂志, 2014, 49(5): 716—726.
- [39] 于亚男, 宋超, 侯俊利, 等. 基于线粒体 COI 基因部分序列的长江口虾虎鱼科鱼类系统分类[J]. 淡水渔业, 2014, 44(5): 3—8.
- [40] PEGG G G, SINCLAIR B, BRISKEY L, et al. mtDNA barcode identification of fish larvae in the southern Great Barrier Reef Australia[J]. Sei Mar, 2006, 70(S2): 7—12.
- [41] VALDEZ-MORENO M, VÁSQUEZ-YEOMANS L, ELÍAS-GUTIÉRREZ M, et al. Using DNA barcodes to connect adults and early life stages of marine fishes from the Yucatan Peninsula, Mexico: potential in fisheries management[J]. Marine and Freshwater Research, 2010, 61(6): 655—671.
- [42] KO H L, WANG Y Z, CHIU T S, et al. Evaluating the Accuracy of Morphological Identification of Larval Fishes by Applying DNA Barcoding[J]. PLOS ONE, 2013, 8(1): 1—7.
- [43] 周美玉, 陈晓, 杨圣云. 采用 DNA 条形码技术对厦门海域鱼卵、仔稚鱼种类的鉴定[J]. 海洋环境科学, 2015, 34(1): 120—135.
- [44] 高东奎. 鱼类浮游生物形态及分子鉴定方法的应用基础研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015.
- [45] 陈定标. 浙江沿海鱼类 DNA 条形码及其在鱼卵仔鱼鉴定中的应用[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2017.
- [46] 刘守海, 秦玉涛, 刘材材, 等. DNA 条形码技术在仔稚鱼鉴定中的实践[J]. 海洋开发与管理, 2017, 34(2): 92—95.