

基于 COI 基因的厦门海域鱼类 DNA 条形码鉴定

邢炳鹏, 林汝榕, 王彦国, 张稚兰

(国家海洋局第三海洋研究所, 福建 厦门 361005)

摘要:为研究 DNA 条形码技术在厦门海域鱼类分类鉴定中的可行性, 随机选取了厦门海域 23 种鱼类样品进行 COI 基因扩增, 结果共获取 23 条序列, 平均长度为 656 bp, 序列中 T、C、G、A 碱基的平均含量分别为: 29.40%、28.10%、18.40%、24.10%。样品种内、种间、科内和目内的遗传距离(K2P)分别为: 0.21%、20.50%、24.47% 和 25.62%, 遗传距离随着分类阶元的提高而增大, 种间遗传距离明显大于种内遗传距离。所选厦门海域鱼类样品仅蓝圆鲹鉴定到圆鲹属, 未能鉴定到种, 其余 22 种全部鉴定到种, 表明 COI 基因序列可以作为鱼类分类鉴定的有效 DNA 条形码。

关键词:海洋生物学; 鱼类; 细胞色素 C 氧化酶亚基 I 基因; DNA 条形码; 物种鉴定; 厦门海域

DOI:10.3969/J. ISSN. 2095-4972. 2016. 01. 018

中图分类号: P735

文献标识码: A

文章编号: 2095-4972 (2016)01-0144-07

全世界鱼类总共有 30 000 多种, 约占脊椎动物的一半以上, 是人类重要的动物蛋白质来源, 也被常用做补充和替代疗法的药物^[1-2]。鱼类的分类鉴定不仅是分类学研究的内容, 同时也是渔业调查、自然保护区评估、以及食品与药物原料鉴定的关键^[3-5]。当前, 鱼类鉴定的方法仍以传统形态分类为主。传统形态分类主要根据已有资料的形态、生态学特征描述对采集到的样品进行比对鉴定, 由于鱼类较高的形态多样性, 有时仅靠形态特征很难进行准确鉴定^[1,4]。随着分子生物学的发展, DNA 序列分析被用于物种鉴定中, 但是在不同类群的物种鉴定中并没有统一的 DNA 序列和数据库, 直到 Hebert 等(2003)明确提出了 DNA 条形码(DNA barcoding)的概念, 即通过使用短的、标准化的基因片段来进行物种鉴定, 以提高真核生物识别的效率, 同时使得 DNA 序列辅助分类方法得到一定程度的统一^[6]。研究发现动物的线粒体细胞色素 C 氧化酶亚基 I 基因 5'端序列种内的差异度明显低于种间, 因此线粒体细胞色素 C 氧化酶亚基 I (COI) 基因是动物分类以及 DNA 条形码研究中使用最为广泛的标准基因^[7]。研究证明以 COI 基因为条形码对脊椎动物和无脊椎动物分类鉴定是行之有效的, 并已广泛应用于各种生物类群^[8-10]。

厦门海域属亚热带性河口海湾, 海域初级生产力水平较高, 海洋生物资源丰富, 是多种名贵经济鱼类的重要产卵场, 以及仔稚鱼、幼鱼索饵育肥的场所, 现有鱼类 300 多种, 丰富的物种多样性给鱼类鉴定带来了困难, 尤其是处于生长发育阶段的鱼卵和仔稚鱼很难鉴定到种^[11-12]。因此本研究通过测定和比对厦门海域常见鱼类的线粒体细胞色素 C 氧化酶亚基 I (COI) 基因的 DNA 条形码序列, 分析该基因在厦门海域鱼类鉴定中的可行性, 并为建立厦门海域鱼类 DNA 条形码库提供方法和数据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

本研究所用样品均于 2013 ~ 2014 年在厦门海域采集, 根据鱼类的形态特征初步鉴定为 23 种, 隶属于 18 科 21 属(表 1), 每种各选 1 条用于分子实验, 样品均用体积分数为 95% 酒精固定保存。

1.2 DNA 提取、PCR 扩增及测序

取鱼类样品肌肉组织, 参考 Ivanova 等(2006)方法^[13], 提取基因组 DNA, 于 -20℃ 存放。COI 基因序列扩增引物采用 Ward 等(2005)使用的组合引物: FishF1: 5'-TCAACCAACCACAAAGACATTGGCA C-3'; FishF2: 5'-TCGACTAATCATAAAGATATCGGCA

收稿日期: 2015-03-20

基金项目: 福建省科技厅计划资助项目(2013N0021); 国家海洋局第三海洋研究所基本科研经费资助项目(海三科 2013001)

作者简介: 邢炳鹏(1983 ~), 男, 硕士研究生, 助理研究员; E-mail: bluprin@tio.org.cn

通讯作者: 王彦国(1982 ~), 男, 硕士研究生, 助理研究员; E-mail: wangyg@tio.org.cn

C-3'; FishR1: 5'-TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAAT-CA-3'; FishR2: 5'-ACTTCAGGGTGACCGAAGAATCA GAA-3'. 引物 F 与引物 R 可以组合成 4 对不同的引物^[1]. PCR 反应总体积为 25.00 mm³, 其中包含: 超纯水17.25 mm³, 10 × PCR buffer 2.25 mm³, MgCl₂ (50 mmol/dm³) 1.25 mm³, dNTPs 2.00 mm³, 4 个引物(0.01 mmol/dm³) 各 0.50 mm³, Taq 聚合酶 0.25 mm³ 和 DNA 模板 1.00 mm³. PCR 反应循环为: 起

始变性 95℃, 2 min; 35 个循环, 每循环包括 94℃ 变性 0.5 min, 54℃ 退火 0.5 min; 72℃ 延伸 1.0 min; 最后 72℃ 延伸 10 min, 4℃ 保存. 每次反应均设置阴性对照以检测是否存在污染. PCR 产物经质量分数为 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测, 确定 PCR 产物为目的条带后, 送至上海生工生物工程技术有限公司进行双向测序, 以确保序列的可靠性.

表 1 样品信息
Tab. 1 Information of experimental samples

样品号	科	属	种	BOLD 鉴定	GeneBank 序列号
1	鲷科	仰口鲷属 (<i>Secutor</i>)	鹿斑鲷 (<i>Secutor ruconius</i>)	鹿斑鲷	KP260454
2		颈鲷属 (<i>Nuchequula</i>)	颈带鲷 (<i>Nuchequula nuchalis</i>)	颈带鲷	KP260478
3	鰕虎鱼科	狼牙鰕虎鱼属 (<i>Odontamblyopus</i>)	红狼牙鰕虎鱼 (<i>Odontamblyopus rubicundus</i>)	红狼牙鰕虎鱼	KP260455
4		孔鰕虎鱼属 (<i>Trypauchen</i>)	孔鰕虎鱼 (<i>Trypauchen vagina</i>)	孔鰕虎鱼	KP260458
5	鲷科	石斑鱼属 (<i>Epinephelus</i>)	玳瑁石斑鱼 (<i>Epinephelus quoyanus</i>)	玳瑁石斑鱼	KP260477
6		石斑鱼属 (<i>Epinephelus</i>)	青石斑鱼 (<i>Epinephelus awoara</i>)	青石斑鱼	KP260461
7	长鲳科	刺鲳属 (<i>Psenopsis</i>)	刺鲳 (<i>Psenopsis anomala</i>)	刺鲳	KP260466
8	鲈科	圆鲈属 (<i>Decapterus</i>)	蓝圆鲈 (<i>Decapterus maruadsi</i>)	* *	KP260472
9	鲷科	鲷属 (<i>Terapon</i>)	细鳞鲷 (<i>Terapon jarbua</i>)	细鳞鲷	KP260475
10	金钱鱼科	金钱鱼属 (<i>Scatophagus</i>)	金钱鱼 (<i>Scatophagus argus</i>)	金钱鱼	KP260476
11	髭鲷科	髭鲷属 (<i>Haplogenyis</i>)	横带髭鲷 (<i>Haplogenyis analis</i>)	横带髭鲷	KP260460
12	带鱼科	沙带鱼属 (<i>Lepturacanthus</i>)	沙带鱼 (<i>Lepturacanthus savala</i>)	沙带鱼	KP260456
13	牙鲆科	斑鲆属 (<i>Pseudorhombus</i>)	桂皮斑鲆 (<i>Pseudorhombus cinnamoneus</i>)	桂皮斑鲆	KP260465
14		木叶鲆属 (<i>Pleuronichthys</i>)	木叶鲆 (<i>Pleuronichthys cornutus</i>)	木叶鲆	KP260473
15	鳀科	棱鳀属 (<i>Thryssa</i>)	赤鼻棱鳀 (<i>Thryssa kammalensis</i>)	赤鼻棱鳀	KP260469
16	锯腹鲷科	鲷属 (<i>Ilisha</i>)	长鲷 (<i>Ilisha elongata</i>)	长鲷	KP260471
17	烟管鱼科	烟管鱼属 (<i>Fistularia</i>)	鳞烟管鱼 (<i>Fistularia petimba</i>)	棘烟管鱼 (<i>Fistularia commersonii</i>)	KP260463
18		海龙属 (<i>Syngnathus</i>)	舒氏海龙 (<i>Syngnathus schlegeli</i>)	舒氏海龙	KP260464
19	鲷科	华鲷属 (<i>Tachysurus</i>)	中华海鲷 (<i>Tachysurus sinensis</i>)	大头多齿海鲷 (<i>Netuma thalassina</i>)	KP260470
20		东方鲷属 (<i>Takifugu</i>)	横纹东方鲷 (<i>Takifugu oblongus</i>)	横纹东方鲷	KP260459
21	狗母鱼科	东方鲷属 (<i>Takifugu</i>)	暗纹东方鲷 (<i>Takifugu fasciatus</i>)	暗纹东方鲷	KP260468
22		龙头鱼属 (<i>Harpadon</i>)	龙头鱼 (<i>Harpadon nehereus</i>)	龙头鱼	KP260457
23		蛇鲻属 (<i>Saurida</i>)	长蛇鲻 (<i>Saurida elongata</i>)	长蛇鲻	KP260467

注: “* * ”表示无法确定物种; BOLD 为生物 DNA 条形码数据库 (barcode of life date systems) 的英文缩写

1.3 数据分析

利用 DNA Star 软件的 SeqMan 程序对每个样品正反向测序结果进行拼接, 结合人工校对, 确定每一碱基准确无误后提交至 GenBank 数据库 (表 1). 然后通过 MEGA6.0 软件中 ClustalW 对序列进行排

列, 计算所获序列的长度、GC 含量、多态位点、简约信息位点等参数. 利用 Kimura-2-parameter (K2P) 双参数模型计算种内距离 (distances within species) 和种间距离 (distances between species), 如表 2 所示^[14], 并结合数据库中与样品 DNA 条形码相似度

最高的序列,利用邻接法 (Neighbor-Joining) 构建系统发育树. 邻接法分支树的可信度采用 Bootstrap 检验,经 1 000 次重复抽样检验得到分支树节点的支持率.

表 2 各分类级别遗传距离
Tab. 2 Genetic divergences within various taxonomic levels

项目	数量	平均距离/%	最小距离/%	最大距离/%	标准误差/%
种	23	0.21	0	1.73	0.11
属	21	20.50	2.93	25.20	0.20
科	18	24.47	18.42	32.75	0.22
目	7	25.62	19.82	36.32	0.18

2 结果与分析

2.1 COI 基因序列与遗传距离分析

本研究共获取 23 种鱼类的 23 条序列,序列长度均为 655 ~ 670 bp,平均长度为 656 bp,所有序列没有插入、缺失密码子以及不含终止密码子. 所获序列 T、C、G、A 的平均含量分别为:29.40%、28.10%、18.40%、24.10%. 可以看出,A + T 含量(53.50%)稍高于 G + C 含量(46.50%),和以往研究结果相似^[15-16]. 序列对比发现存在多态位点 288 个,简约信息位点 269 个,分别占总长度的 43.9% 和 41.0%. 将所获序列同 GenBank 数据库序列进行比对,发现除样品 8、17、19 外,其余分子鉴定结果同形态分类结果均一致. 样品 8 形态鉴定为蓝圆鲹的样品,分子鉴定只能鉴定其为圆鲹属样品,无法鉴定到种的水平;样品 17、19 外形态鉴定结果为鳞烟管鱼和中华海鲶,分子鉴定结果却为棘烟管鱼和大头多齿海鲶.

K2P 双参数模型为生物条形码协会 (Consortium for the Barcode of Life, CBOL) 推荐的遗传距离计算方法^[14,17]. 本研究采用 K2P 双参数模型,结合 GenBank 数据库检索到的 22 条序列,统计试验中鱼类的种内、种间、科和目的遗传距离. 如表 2 所示,COI 序列种内的遗传距离为 0 ~ 1.73%,平均为 0.21%,其中最小距离为 0,最大为红狼牙鰕虎鱼 1.73%,其余均小于 1.00%. 种间遗传距离为 2.93% ~ 25.20%,平均为 20.50%,是种内遗传距离的 100 倍. 科内遗传距离为 18.42% ~ 32.75%,平均为 24.47%,目内的遗传距离为 19.82% ~ 36.32%,平均为 25.62%. 对比各分类阶元遗传距离可以发现,只有种间和种内存在遗传距离小于 5.00%,科和目的遗传距离均大于 15.00%,高于种间和种内的距离. 由此可见,遗传距离随着分类阶元的提高而增大,且种以上分类阶元随着其等级的升高,其遗传距离的增长明显减缓.

2.2 系统进化分析

利用邻接法构建的 NJ 树由 45 条序列构成,在种的水平上,所有的序列均与 BOLD 序列聚合,和形态鉴定结果一致. 同一物种的序列聚合后,再与同一属的样品序列聚合,21 个属的序列共形成 21 个分支,然后聚合成 18 个科. 同属和同科的样品序列均聚合在一起,同形态分类一致. 在科以上阶元中,NJ 树与形态学不一致,各目未能完全聚集在一起,存在一定的交叉(图 1).

3 讨论

3.1 COI 基因在鱼类鉴定中的应用

DNA 条形码技术是利用生物共有的、种间差异明显的一段 DNA 序列来鉴定物种,突破了传统形态分类对鉴定者个人能力和经验的过度依赖,使物种鉴定过程实现信息化和标准化^[18-19]. DNA 条形码技术能够准确地鉴定形态相似种、隐存种以及处于不同生活史阶段的物种,为海洋生态调查、物种遗传进化以及环境资源保护提供数据和支持. 在海洋鱼类分类鉴定中,DNA 条形码技术具有以下几个方面的优势:不受形态特征的影响,准确地鉴定形态相似度较高的鱼类;可以鉴定处于不同发育阶段的个体,包括鱼卵和仔稚鱼;可以避开趋同进化的影响,发现隐存种^[20].

COI 基因长度较短、易于扩增、变异率适度,种间遗传距离明显大于种内遗传距离,适合作为物种 DNA 条形码,其有效性在鸟类、鳞翅目昆虫以及软体动物等研究中得到了验证^[21-23]. 2005 年 Ward 等用 COI 基因片段对澳大利亚 207 种海洋鱼类进行分析,发现 COI 基因能有效区分所有物种,可作为海洋鱼类的 DNA 条形码标准序列^[1]. 2009 年 Zemlak 等用 COI 基因研究了印度洋沿岸 35 种鱼的 229 条个体,发现南非和澳大利亚海域的同种鱼类存在很大差异,揭示了大量隐存种的存在^[24]. Hubert 等 (2010) 利用 COI 基因片段对 40 条刺尾鱼科和鰕科

的仔稚鱼进行了鉴定,结果显示 40 条仔稚鱼全部鉴定到种^[25]. Zhang 等(2011)对日本 158 条海洋鱼类的 COI 基因进行了扩增分析,结果显示所有物种都能被有效区分鉴定^[26]. Chakraborty 等(2014)对印度鱼类的 COI 基因进行了分析,研究表明种内的遗传

距离明显小于种间,能有效区分物种^[27]. 越来越多的研究表明,DNA 条形码在鱼类分类、物种鉴定、隐存种的发掘、系统发生研究等方面都具有重要应用价值^[28-29].

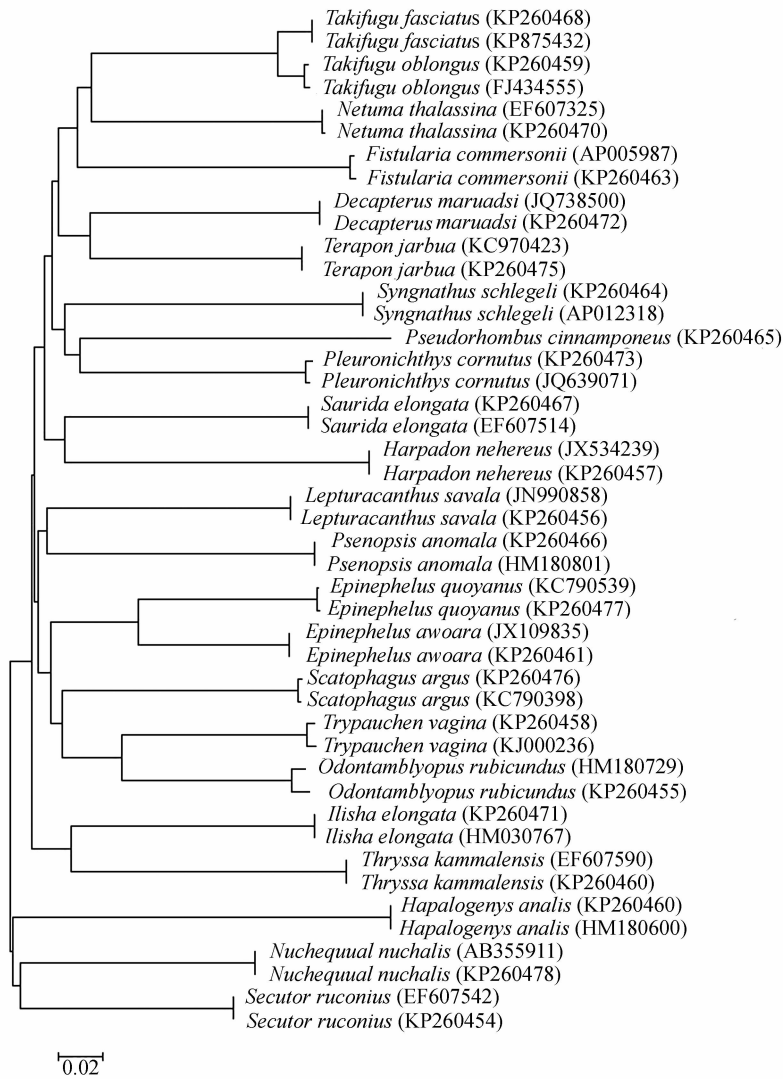


图 1 基于 COI 序列的邻接关系树

Fig. 1 Neighbor-joining tree of COI sequences

3.2 COI基因在厦门海域鱼类鉴定中可行性分析

本研究共获取 23 条厦门海域鱼类 COI 序列,通过 DNA 条形码技术可以准确鉴定除蓝圆鲹以外的其他 22 个样品. 样品序列种内的遗传距离平均为 0.21%,小于 1.00%,其中有 14 个样品的种内遗传距离为 0;种间遗传距离平均为 20.50%,是种内遗传距离的 100 倍,完全满足 Hebert 等(2004)提出的 10 倍平均种内差异的遗传差异阈值,能有效区分物种^[30]. 样品序列同 BOLD 数据库进行比对,比对结果和形态鉴定结果基本一致,充分证明了 DNA 条形

码在类鉴定中的可行性. 对比形态分类结果和分子鉴定结果,23 个样品中共发现 3 处分歧,2 处 DNA 条形码鉴定与形态鉴定不符,1 处 DNA 条形码无法鉴定. 样品 17、19 形态鉴定结果为鳞烟管鱼和中华海鲶,分子鉴定结果却是棘烟管鱼和大头多齿海鲶. 本研究将样品 17 的 COI 序列同数据库中序列进行比对,发现样品序列同棘烟管鱼 (GenBank 序号 JQ431740、JQ431741 等) 的序列相似度高达 99.54%,同鳞烟管鱼序列 (GenBank 序号 JQ365356、JQ365357) 的相似度却仅有 86.48%,因此可以判定

样品 17 为棘烟管鱼. 样品 19 也出现同样的问题. 将样品 19 的 COI 序列同数据库中序列进行比对, 发现样品序列同大头多齿海鲶的序列 (GenBank 序号 EF607326、EF607325 等) 相似度高达 99.85%, 同中华海鲶序列 (GenBank 序号 EU595057) 的相似度却仅有 83.3%, 因此可以判定样品 19 为大头多齿海鲶. 出现上述情况的主要原因是有些物种外部形态极其相似, 如鳞烟管鱼和棘烟管鱼、中华海鲶和大头多齿海鲶, 单利用形态特征很难辨别, 且容易出现误判的现象, 利用 DNA 条形码技术可以避开样品外部形态特征因素的影响, 对样品进行准确鉴定.

COI 序列做为 DNA 条形码可以有效区分大部分实验样品, 23 条厦门海域鱼类样品仅有一条无法鉴定到种. 样品 8 形态鉴定结果为蓝圆鲹, 但将其序列与 BOLD 数据库中序列比对过程中发现, 样品序列与数据库中红尾圆鲹 (*Decapterus akaadsi*)、红鳍圆鲹 (*Decapterus russelli*)、以及蓝圆鲹序列的相似度均为 100%, 遗传距离为 0, 因此 COI 序列只能将样品鉴定为红尾圆鲹、红鳍圆鲹或蓝圆鲹, 无法确定其具体为哪一种, 但将 DNA 条形码鉴定结果同形态鉴定结果相结合, 即可准确鉴定其为蓝圆鲹. 可见某些属 (如圆鲹属) 的 COI 序列变异率低, 相似度非常高, 在对此类样品进行分类鉴定时, 只利用 COI 序列无法完成, 必需结合形态特征或者其他 DNA 条形码. 目前全球鱼类基因条码计划 (Fish-BOL) 已经率先启动, 虽然国际上很多国家收集 DNA 条形码的工作已经取得较多成果, 但不同国家的鱼类物种各具特点, 我国成鱼基因资料库的建立才刚刚起步, 还存在许多不足, 如序列少、序列错误或样品 DNA 样品

污染等问题, 在分子鉴定遇到无法解决或者争议时, 结合形态学分析尤其重要.

在系统进化方面, 主要通过 NJ 树进行研究, 23 条鱼类样品序列首先与同种序列聚合, 验证了 COI 序列在厦门海域鱼类鉴定中的可行性. 同一物种的序列聚合后, 再与同一属的样品序列聚合, 21 个属的序列共形成 21 个分支, 然后聚合成 18 个科. 同属和同科的样品序列均聚合在一起, 同形态学一致. 在科以上阶元中, NJ 树与形态学不一致, 各目未能完全聚集在一起, 存在一定的交叉, 说明 COI 序列适合用在亲缘关系比较近的鱼类分子系统发育研究, 特别是科以内的较低阶元, 但对于较高级阶元尚不适用.

4 结论

本研究可以得出以下结论:

(1) 基于 COI 基因的 DNA 条形码技术将随机选取的 23 个样品中的 22 个样品准确鉴定到种, 表明 COI 基因序列适用于厦门海域鱼类分类鉴定. 在形态学分类资料缺乏或者样品形态特征缺失的情况下, DNA 条形码技术可以作为鱼种鉴定的一种便捷有效的方式, 同时可以用来对鱼类形态学分类系统进行补充和修订.

(2) 由于 COI 基因的突变速率相对线粒体 DNA 控制区低, 在鉴定分化程度低的物种时, 如圆鲹属, 仅利用 COI 序列无法准确鉴定到种. 为了更好地发挥 DNA 条形码技术在物种鉴定中的作用, DNA 条形码数据库在数量和种类上亟需完善, 以求达到物种鉴定更加准确的需求.

参考文献:

- [1] Ward R D, Zemlak T S, Innes B H, et al. DNA barcoding Australia's fish species[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society B, 2005, 360(1 462): 1 847-1 857.
- [2] Rasmussen R S, Morrissey M T, Hebert P D. DNA barcoding of commercially important salmon and trout species (*Oncorhynchus* and *Salmo*) from North America[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(18): 8 379-8 385.
- [3] Vartak V R, Narasimmalu R, Annam P K, et al. DNA barcoding detected improper labelling and supersession of crab food served by restaurants in India[J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 2015, 95(2): 359-366.
- [4] Keskin E, Atar H H. DNA barcoding commercially important fish species of Turkey[J]. Molecular Ecology Resources, 2013, 13(5): 788-797.
- [5] Ardura A, Planes S, Garcia-Vazquez E. Applications of DNA barcoding to fish landings: authentication and diversity assessment[J]. Zookeys, 2013, 365: 49-65.
- [6] Hebert P D, Ratnasingham S, de Waard J R. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society of London B Biological Science, 2003, 270(s1): 96-99.
- [7] Hebert P D, Penton E H, Burns J M, et al. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astrartes fuligator*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2004, 101(41): 14 812-14 817.
- [8] Dona J, Diaz-Real J, Mironov S, et al. DNA barcoding and minibarcoding as a powerful tool for feather mite studies[J]. Mo-

- lecular Ecology Resources, 2015,15(5):1-10.
- [9] Nzelu C O, Caceres A G, Arrunategui-Jimenez M J, et al. DNA barcoding for identification of sand fly species (Diptera: Psychodidae) from leishmaniasis-endemic areas of Peru[J]. Public Library of Science One, 2015,145:45-51.
- [10] Weigt L A, Baldwin C C, Driskell A, et al. Using DNA barcoding to assess Caribbean reef fish biodiversity: expanding taxonomic and geographic coverage[J]. Public Library of Science One, 2012,7(7):e41059.
- [11] 周美玉, 陈骁, 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):120-125.
- [12] 黄良敏, 谢仰杰, 李军, 等. 厦门海域鱼类群落分类学多样性的研究[J]. 海洋学报, 2013,35(2):126-132.
- [13] Ivanova N V, Dewaard J R, Hebert P D N. An inexpensive, automation-friendly protocol for recovering high-quality DNA[J]. Molecular Ecology Notes, 2006,6(4):998-1 002.
- [14] Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences[J]. Journal of Molecular Evolution, 1980,16(2):111-120.
- [15] 张馨月, 刘岩, 张秀梅, 等. 基于 COI 基因的西南大西洋部分经济鱼类 DNA 条形码鉴定[J]. 水生生物学报, 2014,38(6):1 161-1 167.
- [16] 顾翠平, 高鹏, 陈永久. 浙江沿海斑尾刺虾虎鱼的 DNA 条形码[J]. 浙江海洋学院学报:自然科学版, 2013,32(6):488-493.
- [17] 尤欢, 周力兵, 邓裕亮, 等. 云南边境地区果实蝇属种类 DNA 条形码鉴定[J]. 昆虫学报, 2014,57(11):1 343-1 350.
- [18] 孟玮, 杨天燕, 海萨, 等. 基于线粒体 COI 基因序列的亚东鲑 DNA 条形码研究[J]. 水产学杂志, 2010,23(1):6-10.
- [19] 韦健红, 吴文如, 喻良文, 等. DNA 条形码技术在生物分类中的应用[J]. 广东药学院学报, 2010,50(4):430-433.
- [20] 李琪, 邹山梅, 郑小东, 等. DNA 条形码及其在海洋生物中的应用[J]. 中国海洋大学学报:自然科学版, 2010,40(8):43-47.
- [21] 傅美兰, 彭建军, 王莹, 等. DNA 条形码技术的应用与分析[J]. 河南师范大学学报:自然科学版, 2010,38(4):118-122.
- [22] 葛家文, 王好转. DNA 条形码与生物分类学研究[J]. 畜牧与饲料科学, 2009,30(5):52-53.
- [23] 谭玲, 何建伟, 王志杰, 等. DNA 条形码在国境卫生检疫中的应用[J]. 中国国境卫生检疫杂志, 2009,32(5):425-431.
- [24] Zemlak T S, Ward R D, Connell A D, et al. DNA barcoding reveals overlooked marine fishes[J]. Molecular Ecology Resources, 2009,9(s1):237-242.
- [25] Hubert N, Delrieu-Trottin E, Irisson J O, et al. Identifying coral reef fish larvae through DNA barcoding: a test case with the families Acanthuridae and Holocentridae[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2010,55(3):1 195-1 203.
- [26] Yancy H F, Zemlak T S, Mason J A, et al. Potential use of DNA barcodes in regulatory science: applications of the regulatory fish encyclopedia[J]. Journal of Food Protection, 2008,71(1):210-217.
- [27] Chakraborty M, Ghosh S K. An assessment of the DNA barcodes of Indian freshwater fishes[J]. Gene, 2014,537(1):20-28.
- [28] Costa F O, Landi M, Martins R, et al. A ranking system for reference libraries of DNA barcodes: application to marine fish species from Portugal[J]. Public Library of Science One, 2012,7(4):e35858.
- [29] Handy S M, Deeds J R, Ivanova N V, et al. A single-laboratory validated method for the generation of DNA barcodes for the identification of fish for regulatory compliance[J]. Journal of AOAC International, 2011,94(1):201-210.
- [30] Hebert P D, Stoeckle M Y, Zemlak T S, et al. Identification of birds through DNA barcodes[J]. Public Library of Science Biology, 2004,2(10):e312.

Species identification for fishes in Xiamen sea waters based on COI barcoding

XING Bing-peng, LIN Ru-rong, WANG Yan-guo, ZHANG Zhi-lan
(Third Institute of Oceanography, SOA, Xiamen 361005, China)

Abstract: In this study, we collected DNA barcodes based on cytochrome oxidase subunit I (COI) sequences from 23 species of fish specimens captured in Xiamen sea waters. The mean length of the sequences was 656 bp and the

average content of T, C, G and A were 29.4% , 28.1% , 18.4% and 24.1% , respectively. The average Kimura two parameter (K2P) distances within-species, genus, family and order were 0.21% , 20.50% , 24.47% and 25.62% , respectively. Interspecific genetic distance was much larger than intraspecific distance from composition. K2P genetic distance values were found increasing with taxonomic level. All species, except for *Decapterus maruadsi*, can be differentiated by their COI sequence. High efficiency of species identification was demonstrated in the present study by DNA barcoding, and we conclude that COI sequencing can be used to identify fish species.

Key words: marine biology; fishes; cytochrome oxidase subunit I (COI); DNA barcoding; species identification; Xiamen sea waters

DOI:10.3969/J. ISSN. 2095-4972. 2016. 01. 018

(责任编辑:王 静)