

基于 *CO I* 基因的西南大西洋部分经济鱼类 DNA 条形码鉴定

张馨月¹ 刘岩² 张秀梅¹ 高天翔¹

(1. 中国海洋大学水产学院, 青岛 266003; 2. 中国水产科学研究院南海水产研究所, 广州 510300)

SPECIES IDENTIFICATION OF SOME COMMERCIAL FISHES IN SOUTHWEST ATLANTIC BASED ON *CO I* BARCODING

ZHANG Xin-Yue¹, LIU Yan², ZHANG Xiu-Mei¹ and GAO Tian-Xiang¹

(1. Fisheries College, Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2. South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, China)

关键词: 经济鱼类; *CO I*; DNA 条形码; 物种鉴定; 西南大西洋

Key words: Commercial fishes; *CO I*; DNA barcoding; Species identification; Southwest Atlantic

中图分类号: Q346⁺.5 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2014)06-1161-07

目前,国际上广泛使用 FishBase (<http://fishbase.org>)等鱼类分类检索系统进行鱼类形态学鉴定,但由于部分地区鱼类开发和研究水平不一,因此单一的形态学鉴定无法完全满足物种鉴定的需求。DNA 序列辅助分类作为一个理想的辅助形态学分类手段应运而生,迄今已有 30 多年历史。2003 年,Hebert 等^[1, 2]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,加快进程发展。目前, DNA 条形码技术已经成为一个被广泛接受的物种鉴定工具,它重点强调了标准化和数据验证^[3],亦被称为 DNA 分类学^[4]。目前,线粒体细胞色素 C 氧化酶亚基 I (*CO I*)基因是动物 DNA 条形码研究中使用最为广泛的标准基因^[5],因为它基本满足 DNA 条形码理想序列的 3 个基本判断标准: (1)序列变异水平适宜; (2)变异区域两端的序列高度保守; (3)序列长度适宜^[6]。这一结论在许多鱼类^[6, 7]、昆虫^[8, 9]和鸟类^[10]等动物中均得到很好验证。

西南大西洋公海渔场涵盖巴西北部至阿根廷南部的南美洲东部沿海,巴西暖流和福克兰寒流在此交汇产生涡流,为多种海洋渔业资源生物提供产卵场和索饵场。因此,西南大西洋公海渔场渔业资源丰富,许多国家、地区的拖网及鱿钓船只在此作业。我国在西南大西洋公海渔场拖网作

业始于 2008 年,起步较晚,因此我国对于该海域的相关研究相对较少,尤其关于该海域常见渔获种类的研究报道在国内仍属空白。同时,拖网作业对于物种的选择度不高,所得渔获物种十分丰富,为了更好地认识渔获物的生态习性和经济价值,正确鉴定所得渔获的种类显得尤为重要。本文旨在针对西南大西洋公海部分拖网渔获物进行 DNA 条形码研究,探索其在鱼类辅助物种鉴定中的适用性,以期填补我国对该海域鱼类 DNA 条形码相关研究的空白,为我国远洋拖网渔业发展提供更多的基础资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料与形态学鉴定

本研究样本来自于山东荣成某渔业集团有限公司的双拖网生产船在西南大西洋(44.8°—47.0°S, 59.5°—61.0°W)巴塔哥尼亚海域探捕作业生产时随机采集的渔获物,采集时间为 2011 年 1—4 月。

参考文献[11—14]、FishBase(<http://fishbase.org>)等进行形态学鉴定,样品初步判定为 14 个物种,参考综合分类学信息系统(Integrated Taxonomic Information System, ITIS)和《拉汉世界鱼类名典》^[15]对物种的有效名以及分类地位进行确定(表 1)。对每个样品拍照记录,取背部肌肉组织,用 95%乙醇固定,−20℃保存备用。

收稿日期: 2013-09-09; 修订日期: 2014-03-18

基金项目: 农业部西南大西洋公海变水层拖网探捕项目(2130135)资助

作者简介: 张馨月(1988—),女,山东济宁人;硕士;研究方向资源生物学。E-mail: zhangxuan_yz@126.com

通信作者: 高天翔, E-mail: gaozhang@ouc.edu.cn

表 1 物种的有效种名、分类地位与相应 DNA 条形码序列号
Tab. 1 The valid name, taxonomic status and GenBank accession number

实验编号 ID	物种名(拉丁名) Species (Latin name)	分类地位 Taxonomic status	样品数 Number of sample	对应 GenBank 序列号 GenBank accession number
Yg1	鞍斑杜父鲳 (<i>Cottoperca gobio</i> Günther, 1861) [▲]	辐鳍鱼纲(Actinopterygii), 鲈形目(Perciformes), 牛鱼科(Bovichtiidae), 杜父鲳属(<i>Cottoperca</i>)	3	EU074391—EU074394
Yg2	乌鲂(<i>Brama brama</i> Bonnatere, 1788)	乌鲂科(Bramidae), 乌鲂属(<i>Brama</i>)	3	EU074367、JF492978—JF492982
Yg3	腹翼鲳(<i>Gasterochisma melampus</i> Richardson, 1845)	鲭科(Scombridae), 腹翼鲳属(<i>Gasterochisma</i>)	2	DQ107687—DQ107691 HM007708—HM007710
Yg4	拉氏南美南极鱼(<i>Patagonotothen ramsayi</i> Regan, 1913)	南极鱼科(Nototheniidae), 南美南极鱼属(<i>Patagonotothen</i>)	3	EU074526—EU074533
Yg5	眼点平鲷(<i>Sebastes oculatus</i> Valenciennes, 1833) [※]	鲷形目(Scorpaeniformes), 平鲷科(Scorpaenidae), 平鲷属(<i>Sebastes</i>)	1	EU074587—EU074590
Yg6	秘鲁前鳍鲷(<i>Congiopodus peruvianus</i> Cuvier, 1829)	前鳍鲷科(Congiopodidae), 前鳍鲷属(<i>Congiopodus</i>)	1	EU074386—EU074390
Yg7	阿根廷无须鲳(<i>Merluccius hubbsi</i> Marini, 1933)	鲈形目(Gadiformes), 无须鲳科(Merlucciidae), 无须鲳属(<i>Merluccius</i>)	20	EU074469—EU074478、JQ365421 GU702478—GU702480、GU324174
Yg8	南美尖尾无须鲳(<i>Macrurus magellanicus</i> Lönnerberg, 1907)	尖尾无须鲳属(<i>Macrurus</i>)	3	EU074456—EU074460、GU324175 JN204578—JN204595、EU418254
Yg9	阿根廷鳕(<i>Engraulis anchoita</i> Hubbs & Marini, 1935)	鲱形目(Clupeiformes), 鳕科(Engraulidae), 鳕属(<i>Engraulis</i>)	20	EU074422—EU074424、HQ167624
Yg10	羽鳔鲷(<i>Genypterus blacodes</i> Forster, 1801)	鲈形目(Ophidiiformes), 鳔鲷科(Ophidiidae), 羽鳔鲷属(<i>Genypterus</i>)	2	EU074426—EU074430
Y1	多氏钝头鳕(<i>Amblyraja doellojuradoi</i> Pozzi, 1935)	软骨鱼纲(Chondrichthyes), 鳕目(Rajiformes), 鳕科(Rajidae), 钝头鳕属(<i>Amblyraja</i>)	3	EU074310—EU074313
Y2	糙皮砂鳕(<i>Psammodontus radis</i> Günther, 1870)	砂鳕属(<i>Psammodontus</i>)	7	EU074560—EU074569
Y3	智利长吻鳕(<i>Dipturus chilensis</i> Guichenot, 1848) [*]	长吻鳕属(<i>Dipturus</i>)	2	EU074400—EU074404
Y4	阿根廷长吻鳕(<i>Dipturus argentinensis</i> Diaz de Astarloa, 2008)	长吻鳕属(<i>Dipturus</i>)	1	EU074405—EU074411

注: ▲NCBI 与 BOLD 两者比对结果不一致; ※NCBI 网站比对结果与形态学鉴定有出入; * 存在同种异名情况, Fishbase 网站中记载为智利壳鳕(*Zearaja chilensis*)

Note: ▲The blastn results are different from NCBI and BOLD. ※The blastn result of NCBI is different from the result of morphological identification. * *Dipturus chilensis* is syn. of *Zearaja chilensis*

1.2 DNA 提取、PCR 扩增及测序

取约 100 mg 的肌肉组织经蛋白酶 K 消化后, 参考《分子克隆实验指南》的酚/氯仿抽提法^[16], 提取基因组 DNA, 于 -20℃ 存放。CO I 基因序列扩增引物为^[6]: F1: 5'-TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC-3' F2: 5'-TCGACTAATCATAAAGATATCGGCAC-3'; R1: 5'-TAGACTTCTGGGTGGCCA AAGAATCA-3'; R2: 5'-ACTTCAGG GTGACCGAAGAATCAGAA-3'。

将 F1 与 F2 等体积混匀标记为引物 F, R1 与 R2 等体积混匀标记为引物 R, -20℃ 保存备用。PCR 反应总体积为 25 μL, 其中包含: 超纯水 17.25 μL, 10×Buffer 2.5 μL, dNTPs 2 μL, 5 μmol/L 浓度的引物各 1 μL, Taq 聚合酶 0.25 μL 和 DNA 模板 1 μL。PCR 反应条件为: 95℃ 预变性 2min; 94℃ 变性 0.5min, 52℃ 退火 0.5min 和 72℃ 延伸 1min, 35 个循环; 72℃ 延伸 10min; 最后保持在 4℃^[6]。所有的 PCR 反应均在 Biometra 热循环仪上完成。每组 PCR 反应均设置阴性对照用来检测是否存在污染。扩增产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测, 目的产物经小量胶回收试剂盒(上海华舜)纯化后, 送上海桑尼生物科技有限公司进行双向测序, 以确保序列的可靠性。

1.3 物种核对与序列分析

利用 Dnastar 软件包(DNASTAR, Inc., Madison, USA)进行序列比对、拼接, 并辅以手工调整。利用 DNASP^[17] 软件计算序列的变异位点数、单倍型数和单倍型多样性等。用 MEGA4.0 软件^[18] 分析核苷酸组成, 基于 Kimura-2-parameter 双参数模型(K2P)计算遗传距离, 利用邻接法(Neighbor joining)构建分子系统进化树, 经 1000 次重复抽样(Bootstraps)检测其置信度。

同时将所测得序列与 NCBI (National Center for Biotechnology Information) 网站以及 BOLD 参考条码库(Reference Barcode Database)中的同源片段序列进行比对, 辅助评估形态学分类的准确性。

2 结果

2.1 形态学鉴定及有效种名的确定

经形态学鉴定, 最终确认的鱼类有效种名及其分类地位如表 1 所示。71 个样本分属于 2 纲 6 目 10 科 14 种。通过综合比较, 发现文献[11—14]中相关鱼类的物种信息存在一定差异。因此, 样本的物种鉴定又辅以 FishBase 网站, 采用三种资料中一致性良好的物种描述信息进行种类鉴定。并最终参考分类学信息系统(Integrated Taxonomic Information System, ITIS)和《拉汉世界鱼类名典》^[15] 确定所研究样本的有效种名(图 1)。

2.2 CO I 基因片段序列分析

所测定的 71 条序列长度均约为 652 bp, 没有插入和缺失。辐鳍鱼纲的 58 条 CO I 序列的平均碱基组成为 T: 29.7%、C: 28.1%、A: 23.5%、G: 18.8%, 其中, A+T 含量

(53.2%) 高于 G+C 含量(46.9%); 软骨鱼纲的 13 条 COI 序列的平均碱基组成为 T: 31.8%、C: 26.2%、A: 25.2%、G: 16.9%, 其中 A+T 含量(57%) 明显高于 G+C 含量(43.1%)。同时, 硬骨鱼纲的 GC 含量高于软骨鱼纲鱼类的 GC 含量, 这与 Ward 等^[6] 的研究结果相一致。各密码子的碱基含量结果显示, 第 1 密码子位点 GC 含量(54.3%) 显著高于第 2 和第 3 密码子位点(44.5% 和 38.6%), 碱基组成表现出明显偏倚性。

各分类阶元遗传距离(K2P)如表 2 所示, 种内遗传距离平均为 0.0028, 而同属物种间的遗传距离为 0.0335, 约为种内遗传距离的 12 倍, 这与 Hebert 等^[8] 提出的“10×规则”相一致。同样, 科内属间遗传距离平均为 0.1866, 同目的科间平均为 0.2361, 同纲内平均为 0.2369 以及不同纲间平均值为 0.3184。由此可见, 遗传距离(K2P)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(K2P)的增长明显减缓。

2.3 DNA 条形码序列比对

将本研究获得的 CO I 基因序列与 GenBank 数据库进行序列比对分析, 结果显示, 除眼点平鲷(*Sebastes oculatus*)外, 所有物种均具有一致性大于 98% 的同源 DNA 条形码序列, 其中 13 个鱼种形态学鉴定结果与一致性最高的比对结果相对应。数据库中与形态鉴定为眼点平鲷(*Sebastes oculatus*)一致性最高的序列为南太平洋密星平鲷(*Sebastes constellatus*)(100%), 但后者形态特征与分布情况同该鱼种差距甚大, 因此将该样本确定为比对结果中一致性为 99% 的眼点平鲷。

将所有序列再导入 BOLD 系统 v3 中进行检索, 以进一步核实物种的分类地位以及有效的物种名。BOLD 中检索结果与 NCBI 网站比对结果基本一致。但鞍斑杜父鲈(*Cottoperca gobio*)在 BOLD 系统中比对结果为似杜父鲈(*Cottoperca trigloides*)(99%), 二者均为牛鱼科杜父鲈属(*Cottoperca*), 似杜父鲈(*Cottoperca trigloides*)在综合分类学信息系统(Integrated Taxonomic Information System, ITIS)和《拉汉世界鱼类名典》中均无记录, 且 FishBase 等数据库中也仅对其分布区域有所描述, 为南极洲海域底栖性鱼类, 其形态学描述和图片处于缺少状态。由于 FishBase 所描述的物种似杜父鲈(*Cottoperca trigloides*)分布区域与本实验样品采集地点不一致, 故此鱼种种名最终根据形态鉴定和 GenBank 比对的结果确定为鞍斑杜父鲈(*Cottoperca gobio*)。

2.4 分子系统学分析

本文涉及 14 个物种的 71 条 CO I 序列共有 28 个单倍型, 基于 28 个单倍型构建系统树(图 2)。由图可以看出, 各物种的个体均各自聚为独立的一支, 且不同物种界限清晰。各分类阶元内的聚类结果基本与形态学分类相一致。例如: 鳐科(Rajidae)的长吻鳐属(*Dipturus*)鱼类先聚为

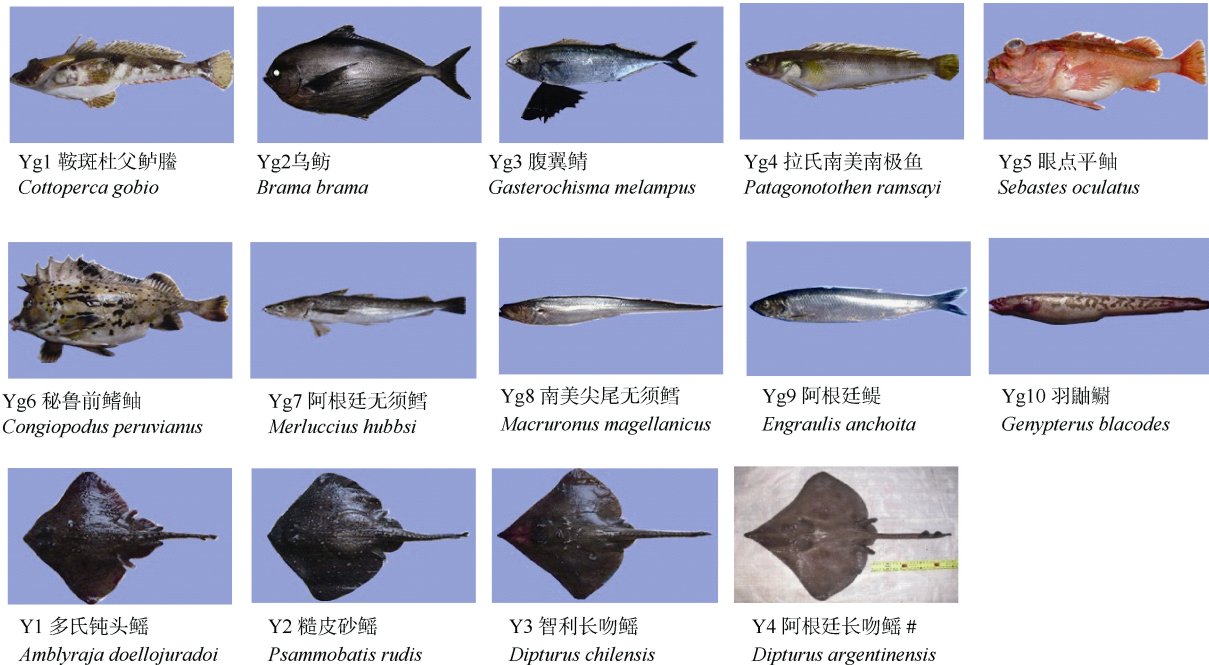


图 1 鱼类样本图片

Fig. 1 Photos of fish samples

#Y4 图片来自 FishBase([http:// fishbase. org/](http://fishbase.org/)), 拍摄作者为 Díaz de Astarloa, J.M.; 其余图片均为作者拍摄
#Y4 was photoed by Díaz de Astarloa, J.M. from FishBase ([http://fishbase. org/](http://fishbase.org/)), others were pictured by the author

表 2 各分类阶元遗传距离(K2P)统计表

Tab. 2 Summary of genetic divergences (K2P) within various taxonomic levels

比较范围 Coverage	最大值 Maximum	最小值 Minimum	平均值 Mean	标准方差 Standard deviation
种内个体间 Within species	0.0052	0.0000	0.0028	0.0017
软骨鱼纲 Chondrichthyes	0.0031	0.0000	0.0021	0.0018
辐鳍鱼纲 Actinopterygii	0.0052	0.0010	0.0030	0.0017
属内种间▲ Between species	0.0335	—	—	—
科内属间 Between genus	0.2185	0.1228	0.1866	0.0434
无须鳕科 Merlucciidae	0.2185	—	—	—
鳀科 Rajidae	0.2075	0.1228	0.1759	0.0463
目内科间 Between family	0.2817	0.1900	0.2361	0.0360
鲈形目 Perciformes	0.2817	0.1900	0.2427	0.0344
鲉形目 Scorpaeniformes	0.1960	—	—	—
纲内目间※ Between order	0.2624	0.2191	0.2369	0.0132
纲间 Between class	0.3184	—	—	—

注: ▲由于实验样本限制, 同属不同种间遗传距离的获得仅来自长吻鳐属的两种鳐类; ※为辐鳍鱼纲 4 目间遗传距离计算所得

Note: ▲Due to the samples limit, K2P distance intra-species is based on only Genus *Dipturus*. ※K2P distances are calculated from the four orders of Class Actinopterygii

一支, 然后与鳀科的其他属聚为一支; 无须鳕科(Merlucciidae)的无须鳕属(*Merluccius*)和尖尾无须鳕属(*Macruronus*)也聚为独立的一支; 鲉形目(Scorpaeniformes)的两种鱼独立聚为一支; 鲈形目(Perciformes)的鞍斑杜父鲈与拉氏南美南极鱼也独立聚为一支。但目内属间的聚类出现一些异常, 鲈形目(Perciformes)乌鲂、腹翼鲭分别与其他目的鱼类先聚在一起。

3 讨论

本文运用 *CO I* 基因 DNA 序列标记对我国西南大西洋远洋渔业的部分渔获鱼种的形态学鉴定结果进行进一步探讨与分析。资料收集阶段发现我国目前仅针对本国近海海域进行鱼类学相关研究, 但有关其他外海海域的鱼类学相关资料极度匮乏, 鱼类形态学分类系统亟待补充

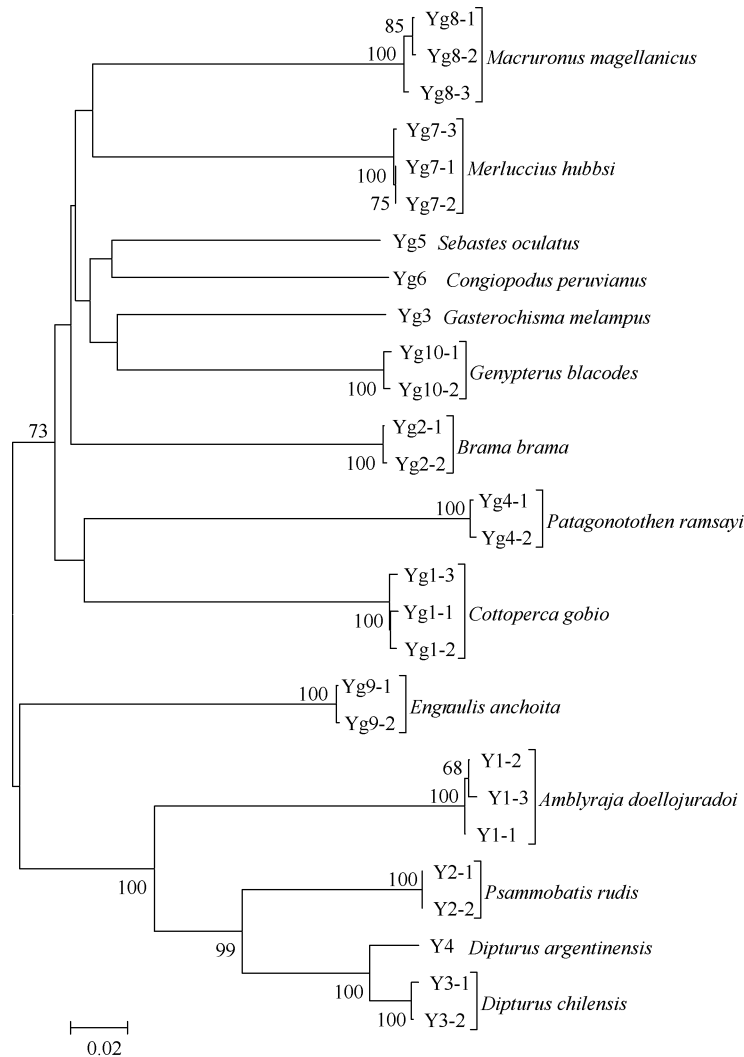


图 2 基于 14 个物种的 *CO I* 序列单倍型构建的邻接关系树

Fig. 2 The neighbor-joining tree of 14 species resulted from haplotypes of *CO I* sequences

与修订。因此, 本研究中形态学鉴定主要依据文献[11—14]等国外研究报道。但由于不同材料编纂角度有所区别, 导致部分内容出现分歧, 为避免形态学分类结果的不确定性, 本文从分子辅助分类的角度进行一定程度的修正, 保证了物种鉴定的准确性。

3.1 *CO I* 条形码鉴定存在的问题

自Hebert等^[1]提出以*CO I* 基因作为DNA条形码以来, 该基因在不同生物类群中应用的有效性得到了越来越多的验证^[6—10, 19], 由此可见*CO I* 基因在动物条形码应用中具有一定的优势。其中*CO I* 通用引物^[6]的广泛适用性在本研究中得到良好证明。本研究采用的通用引物对辐鳍鱼纲10种及软骨鱼纲鳐科4种进行扩增, 均顺利获得相应的序列(表1), 表明该通用引物在鱼类物种中具有较普遍的适用性。

然而, *CO I* 条形码在鉴定物种过程中仍存在一定局限性。在确定物种的有效种名时, ITIS分类系统与

FishBase网站中关于编号Y3的记载出现分歧。根据样本*CO I* 序列与NCBI网站和BOLD系统的比对结果, 此物种的拉丁文名为*Dipturus chilensis*, 而FishBase网站中认为此种与*Zearaja chilensis*为同种异名。比较发现, *Dipturus chilensis*属于长吻鳐属(*Dipturus*), 而*Zearaja chilensis*为壳鳐属(*Zearaja*)物种。为确定准确的种名, 本研究根据种间遗传距离进行分析, Y3与本研究中阿根廷长吻鳐间的遗传距离仅为0.0335, 且在N-J系统树中, 两者首先聚为一支, 因此判断Y3为长吻鳐属的一种。故选择*Dipturus chilensis*为其有效种名。分析产生此类同种异名情况的原因: (1)缺乏足够的样本资料, 导致形态学鉴定出现偏差, 命名错误; (2)外形相似且物种间遗传分化水平不高, *CO I* 条形码序列难于分辨^[20]; (3)研究时间久远, 鉴定方法不够完善, 且后期研究结果未及时更新至数据库。

3.2 *CO I* 条形码序列在系统进化分析中的适用性

根据本研究*CO I* 条形码序列得到属内种间的遗传距

离为 0.0335, 约为种内遗传距离(0.0028)的 12 倍, 这满足了 Hebert 等提出的“10×规则”, 即利用 *CO I* 序列进行有效物种鉴定的关键是种间遗传距离必须大于种内遗传距离, 且距离差异大于 10 倍^[8], 这也表明了 *CO I* 条形码序列适用于物种鉴定的内在特征。同时, 通过本研究所得 NJ 系统进化树(图 2)分析得出, *CO I* 条形码序列不但可以进行物种水平分类鉴定, 还可以用来进行一定程度的系统进化分析。但是, 由于 *CO I* 序列长度仅为 650 bp 左右, 信息位点数目有限, 且科间变异较大, 碱基的转换颠换比趋于饱和, 因此对于深入的系统进化分析来讲其参考价值不高。正如本文结果所示, 基于 *CO I* 基因所建 NJ 树仅对属内阶元具有较为准确的辨识力, 而对于其他高级阶元的准确性明显降低, 这与随着其分类阶元的升高, 种间遗传距离(K2P)的增值明显减缓的趋势相一致。

4 结论

研究认为, 在形态学分类资料缺乏的情况下, *CO I* 基因序列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。但是, *CO I* 条形码序列对种以上阶元的物种鉴定存在其局限性。由于 *CO I* 基因的突变速率相对线粒体 DNA 控制区的要慢些^[21], 因此若针对分化程度低的物种, 选择 *Cytb* 或控制区可能更为有效。目前, 由于 *CO I* 序列数据仍然有所欠缺, 本研究的拖网渔获物中仍有一些物种未能进行序列比对鉴定。因此, 为了更好地发挥 *CO I* 基因序列在物种鉴定中的桥梁作用, *CO I* 条形码数据库亟需完善, 以求达到高质量高库容要求。与此同时, 为突破 *CO I* 条形码序列的一些固有限制, 一方面要加强标本的形态学数据以及标准图片的收集和整理, 另一方面应及时补充低分化物种的其他相关数据(如线粒体 DNA 控制区等)进行更进一步的分析。

参考文献:

- [1] Hebert P D N, Ratnasingham S, deWaard J R. Barcoding animal life: cytochrome oxidase subunit 1 divergences among closely related species [J]. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 2003, **270**(Suppl. 1): S96—S99
- [2] Hebert P D N, Cywinska A, Ball S L, et al. Biological identifications through DNA barcodes [J]. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society*, 2003, **270**(1512): 313—321
- [3] Teletchea F. After 7 years and 1000 citations: comparative assessment of the DNA barcoding and the DNA taxonomy proposals for taxonomists and non-taxonomists [J]. *Mitochondrial DNA*, 2010, **21**(6): 206—226
- [4] Tautz D, Arctander P, Minelli A, et al. DNA points the way ahead in taxonomy [J]. *Nature*, 2002, **418**(6897): 479
- [5] Liu J, Li Q, Kong L F, et al. *CO I* -based DNA barcoding in mytilidae species (Mollusca: Bivalvia) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2011, **35**(5): 874—881 [刘君, 李琪, 孔令锋, 等. 基于线粒体 *CO I* 的 DNA 条形码技术在贻贝科种类鉴定中的应用. 水生生物学报, 2011, **35**(5): 874—881]
- [6] Cheng X T, Wang A M, Gu Z F, et al. Current progress of DNA barcoding [J]. *Genomics and Applied Biology*, 2011, **30**(6): 748—758 [程希婷, 王爱民, 顾志峰, 等. DNA 条形码研究进展. 基因组学与应用生物学, 2011, **30**(6): 748—758]
- [7] Ward R D, Zemlak T S, Innes B H, et al. DNA barcoding Australia's fish species [J]. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 2005, **360**(1462): 1847—1857
- [8] Mabraga A E, Diaz De Astarloa J M, Hanner R, et al. DNA barcoding identifies Argentine fishes from marine and brackish waters [J]. *PLoS One*, 2011, **6**(12): e28655
- [9] Hebert I D H. Biological identification of springtails (Hexapoda: Collembola) from the Canadian Arctic, using mitochondrial DNA barcodes [J]. *Canadian Journal of Zoology*, 2004, **82**(5): 749—754
- [10] Hebert P D N, Stoeckle M Y, Zemlak T S, et al. Identification of birds through DNA Barcodes [J]. *The Public Library of Science Biology*, 2004, **2**(10): 1657—1663
- [11] Cohen D M, Lnada T, Lwamoto T, et al. Vol.10 Gadiform Fishes of the World (Order Gadiformes). An Annotated and Illustrated Catalogue of Cods, Hakes, Grenadiers and other Gadiform Fishes Known to Date. FAO Species Catalogue [M]. Rome: FAO. 1990, 442
- [12] Roper C F E, Sweeney M J, Nauen C E. Vol.3 Cephalopods of the world. An Annotated and Illustrated Catalogue of Species of Interest to Fisheries. FAO Species Catalogue [M]. Rome: FAO, 1990, 277
- [13] Nielsen G J, Cohen D M, Markle D F, et al. Vol.18. Ophidiiform Fishes of the World (Order Ophidiiformes). An Annotated and Illustrated Catalogue of Pearlfishes, Cuskeels, Brotulas and Other Ophidiiform Fishes Known to Date. FAO Species Catalogue [M]. Rome: FAO. 1999, 178
- [14] Nakamura I T I M, Takeda, Hatanaka H. Important fishes trawled off Patagonia [M]. Tokyo: Japan Marine Fishery Resource Research Center. 1986, 369
- [15] Wu H L, Shao K T, Lai C F, et al. Latin-Chinese Dictionary of Fish Names by Classification System [M]. The Sueichan Press. 2012, 620 [伍汉霖, 邵广昭, 赖春福, 等. 拉汉世界鱼类系统名典. 水产出版社. 2012, 620]
- [16] Sambrook J, Russell D. W, Huang P T. The Condensed Protocols From Molecular Cloning: A Laboratory Manual [M]. Chemical Industry Press. 2008, 693 [Sambrook J, Russell D. W, 黄培堂. 分子克隆实验指南. 化学工业出版社. 2008, 693]
- [17] Librado P, Rozas J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data [J]. *Bioinformatics*, 2009, **25**(11): 1451—1452

- [18] Tamura K, Dudley J, Nei M, *et al.* MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0 [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2007, **24**(8): 1596—1599
- [19] Weng Z H, Xie Y J, Xiao Z Q, *et al.* Molecular identification of the taxonomic status of *Sinonovacula rivularis* and genus *Sinonovacula* using mitochondrial CO I and 16S rRNA fragments [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2013, **37**(4): 684—690 [翁朝红, 谢仰杰, 肖志群, 等. 线粒体 CO I 和 16S rRNA 片段确定近江蛭和缢蛭属的分类地位. 水生生物学报, 2013, **37**(4): 684—690]
- [20] Wang Z D, Guo Y S, Chen R L, *et al.* CO I barcoding sequences of teleosts in the South China Sea [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2009, **40**(5): 608—614 [王中锋, 郭昱嵩, 陈荣玲, 等. 南海常见硬骨鱼类 CO I 条码序列. 海洋与湖沼, 2009, **40**(5): 608—614]
- [21] Qi X Z, Luo J, Liu Z L, *et al.* Application of CO I -based DNA barcoding in *Gymnothorax* species in South China Sea [J]. *Journal of Tropical Organisms*, 2010, **1**(4): 321—326 [齐兴柱, 骆剑, 刘志亮, 等. 基于 CO I 序列的 DNA 条形码在中国南海裸胸鲷属鱼类中的应用. 热带生物学报, 2010, **1**(4): 321—326]

《水生生物学报》2014 年期刊征订启事

欢迎订阅《水生生物学报》，本刊是由中国科学院水生生物研究所、中国海洋湖沼学会主办的水生生物学领域的综合性学术刊物，现任主编桂建芳院士。本刊创刊于 1955 年，为大 16 开本双月刊，国内外公开发行。主要刊登水生态的评价与治理，水生物的生化、遗传、病理、毒理和分类区系，水生物的育种、培养、开发利用和病害防治，渔业生物学及有关湖沼学的综合调查与研究等相关的中、英文研究论文、研究简报及综述。本刊读者对象为大专院校生物系、水产系、养殖系及环境、生态有关专业的师生；从事水产、淡水生物、水生态和环境保护等方面的科研人员和生产技术工作者及有关科技情报工作者。

《水生生物学报》是中国科技核心期刊、中文核心期刊、中国科技论文统计源期刊，国内主要被中国期刊全文数据库(CNKI)、万方数据、中文科技期刊数据库(维普网)、《中国科学引文数据库》(CSCD)、《中国科技论文与引文数据库》、中国生物学文摘、环境科学文摘、中国水产文摘、中国地理科学文摘等收录，国外主要被美国《生物文摘》(BA)、《化学文摘》(CA)、《剑桥科学文摘》(CSA)、《水利学与渔业文摘》(ASFA)、英国《动物学记录》(ZR)、《农业与生物科学研究中心文摘》(CAB)等收录。

国内订购处: 全国各地邮电局

国内刊号: CN 42-1230/Q

国内邮发代号: 82-329

国际刊号: ISSN 1000-3207

国外发行代号: BM 856

总发行处: 科学出版社

(地址: 北京东黄城根北街 16 号)

邮编: 100717

电话: 010-64017032

电子邮箱: sales_journal@mail.sciencep.com)

国外总发行单位: 中国国际图书贸易总公司

(地址: 北京 399 信箱 邮编 100044)

每期定价: 40 元