

鱼卵和仔稚鱼鉴定技术研究进展

金雨婷¹, 蒋日进², 赵进¹, 刘志坚³, 管峰^{1*}

(1. 中国计量大学生命科学学院, 浙江杭州 310018; 2. 浙江省海洋水产研究所, 浙江舟山 316021; 3. 温州市渔业技术推广站, 浙江温州 325000)

摘要 鱼卵和仔稚鱼是鱼类繁殖的早期幼体形态, 其分布、数量和种类对于渔业资源的可持续发展和生物学研究具有重要意义, 鱼卵和仔稚鱼鉴定是这一研究的重要环节。鱼卵和仔稚鱼的鉴定先后历经了形态学鉴定和分子鉴定两个技术发展阶段。简述鱼卵和仔稚鱼鉴定在渔业资源普查和科学研究中的重要意义以及2种主要鉴定技术的研究进展, 为鱼卵和仔稚鱼鉴定研究提供基础知识。

关键词 鱼卵和仔稚鱼; 物种鉴定; 形态学; 分子鉴定; DNA条形码

中图分类号 S917 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2019)15-0018-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2019.15.005



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Research Progress on Species Identification Techniques of Fish Eggs and Larvae

JIN Yu-ting¹, JIANG Ri-jin², ZHAO Jin¹ et al (1. College of Life Science, China Jiliang University, Hangzhou, Zhejiang 310018; 2. Marine Fisheries Research Institute of Zhejiang Province, Zhoushan, Zhejiang 316021)

Abstract Fish eggs and larvae are early juvenile forms of fish reproduction, and their distribution, quantity and species are of great significance for the sustainable development of fishery resources and biological research. And the key part of this study field is species identification of fish eggs and larvae. There had two stages of technological development had been gone in the species identification of fish eggs and larvae, i.e. morphological identification and molecular identification. In this review, the importance, significance, utilization and progress of fish eggs and larvae species identification in the fishery census and scientific research were focused, the aim is to provide some guidance for fish eggs and larvae study.

Key words Fish eggs and larvae; Species identification; Morphology; Molecular identification; DNA barcoding

海洋鱼类是人类生活甚至生存所需的重要自然资源, 历史记载在 2 000 多年前人们就开始捕捞并不断开发近海的渔业资源, 其为人们直接提供了诸多高营养价值的食品和经济产品。海洋渔业资源中不仅具有可开发利用价值较高的动物, 如海洋鱼类、头足类、甲壳类、贝类等, 还有大型藻类和植物资源等, 这些资源的利用效率和配置效率直接影响着海洋经济和生态的发展。另一方面, 海洋环境污染和资源的过度开发导致海洋渔业资源减少的案例不胜枚举。例如, 浙江舟山渔场的大黄鱼、小黄鱼、带鱼和乌贼即著名的舟山“四大海产”, 近年来捕捞量呈现逐年减少的趋势^[1-3], 甚至大黄鱼几乎绝迹。另一方面, 开展人工培育和饲养以保持渔业资源的可持续发展, 人工饲养的大黄鱼在我国渔业市场已经占据了一定市场份额^[4-5]。而在海洋渔业的循环和生态平衡中, 浮游生物是海洋生态系统中的重要组成部分, 鱼卵和仔稚鱼又是浮游生物的重要组分, 既是能量的消费者又是被捕食者, 对维持生态平衡具有重要意义^[6]。鱼类资源的调查鉴定是渔业资源监测、生态学和生物多样性研究、鱼类产地溯源保护和渔业资源开发利用以及海洋保护区建设的重要前提, 而鱼卵和仔稚鱼的鉴定是鱼类资源调查鉴定的重要基础。

笔者综述了鱼卵和仔稚鱼鉴定在渔业资源研究中的作用和地位, 同时对形态学鉴定和快速发展的 DNA 条形码鉴定技术做了系统阐述, 旨在为鱼卵和仔稚鱼鉴定研究工作者以及初学者提供理论基础。

1 鱼卵和仔稚鱼鉴定在渔业资源研究中的地位和作用

鱼卵和仔稚鱼是鱼类繁殖季节产生后代的一种重要方式, 鱼类生殖方式多种多样, 多数卵生为主, 也有卵胎生和假胎生的种类。鱼类繁殖除了具有严格的季节性规律, 还有固定的繁殖海域, 与水域温度、水质营养、盐度和浮游生物丰富度等多种指标相关。因此, 鱼卵和仔稚鱼的种类、分布区域和数量是海洋环境监测和渔业资源调查以及科学研究的重要指标。鱼卵和仔稚鱼是渔业可持续发展的根本, 其早期成活率决定了渔业资源的世代强弱, 其数量直接决定了成鱼资源的补充量。我国近年来陆续开展了江河流域和近海区域的鱼卵和仔稚鱼调查, 为了解掌握我国渔业资源和生物多样性提供了大量数据资料。例如, 郑惠东^[7]对福建东山湾海域不同季节的鱼卵和仔稚鱼数量和分布进行了调查, 明确了这一海域的鱼类分布和生态类型, 也对这一海域的生态环境有了更多了解。浒苔藻团是鱼类产卵的重要场所, 陈月华等^[8]研究了东海区域在浒苔藻团中鱼卵的数量和种类, 可以通过保护浒苔藻团为鱼类提供繁殖场所, 这一研究为资源恢复和生态环境的平衡维持提供了思路。我国三峡大坝的建设改变了局部水资源的分配, 建成后的调查表明, 磨刀溪是鱼类资源最为丰富的支流, 鲤鱼和鲫鱼是主要鱼种^[9], 为三峡库区的渔业资源保护和三峡大坝对渔业资源的影响提供了重要参考。由此可见, 鱼卵和仔稚鱼鉴定在资源调查、生态学研究和生态环境可持续发展研究中都具有重要的社会价值和生态意义, 也是当今社会发展和国家海洋战略的重要部分。

2 鱼卵和仔稚鱼鉴定技术研究概况

鱼卵和仔稚鱼的鉴定技术历经了形态学鉴定和分子鉴定两个主要发展过程, 现阶段主要以两者结合为主, 但两种鉴定技术在方法上各有优缺点, 在实际应用中两者可以相互

基金项目 浙江省科技计划项目(2017C32081, 2017F50015)。
作者简介 金雨婷(1996—), 女, 浙江杭州人, 硕士研究生, 研究方向: 动物生物技术。* 通信作者, 副教授, 博士, 从事动物生物技术研究。
收稿日期 2019-03-11

验证,互为补充,使得鉴定准确性提高,效率也大大增加。

2.1 形态学鉴定技术及应用 鱼卵和仔稚鱼的形态学鉴定是早期人们对于鱼类鉴定的基本手段,主要以形态观察比较为主,依据鱼卵和仔稚鱼的形态、大小、卵膜、卵黄、卵周隙、脂肪球、油球、内膜、绒毛膜、卵黄间隙和色素及分布等特征对鱼卵进行鉴定^[10-13],也可通过观察孵化过程的形态变化进行鉴定^[14],形态学鉴定和显微镜等成像技术的发展密不可分,且随着现代成像技术的发展准确性也有了更进一步的提高。但同时形态学鉴定技术也受到鉴定人员的经验和仪器设备的制约。另一方面,鱼卵和仔稚鱼早期发育阶段时间短,形态变化复杂,近缘物种间形态差异不明显,有记载可查的资料不超过 300 种,因此形态学鉴定的局限性限制了其在诸多未知鱼类鉴定中的应用^[15]。尽管受到人员经验和仪器的制约,但在分子鉴定技术普遍应用之前,形态学鉴定在鱼类的早期鉴定中一直是一项常规且普遍应用的技术,现如今形态学鉴定和分子鉴定技术互补,二者成为鱼卵和仔稚鱼现代鉴定方法的主要手段^[11,16]。资料报道,截至 2006 年已记载描述的大西洋鱼类就达 2 235 种,但是推测仅有 9% 的鱼类记载了可以用于鉴定的早期形态特征^[17],不足总量的 10%^[18];同样,印度洋-太平洋地区的仔稚鱼形态研究记录也不足 50%,在很大程度上限制了形态学技术在鱼卵和仔稚鱼鉴定中的应用。同时,随着海洋渔业从业人员的经验减少和人才更替,加上形态学鉴定仪器设备的更新换代成本较高,也制约了形态学鉴定技术的推广普及^[16],尽管如此,形态学鉴定技术在很多鱼类资源鉴定中仍发挥了重要作用。房恩军^[19]和周永东^[20]等对渤海和舟山海域鱼卵和仔稚鱼的调研显示,我国这两个渔业主产区的鱼类资源逐渐减少。对福建东山湾海域春夏鱼卵和仔稚鱼鉴定,明确了这一海域 34 种鱼类的分类关系、生态类型以及鱼卵的数量与海水盐度负相关关系,为海洋资源的合理开发利用提供了参考依据^[7],在舌鳎类亚种短吻红舌鳎分类方面进行的形态学和分子鉴定的对比验证,为分子鉴定提供了形态学证据^[21]。但另一方面,由于鱼类发育过程短,形态变化复杂,不同种间形态差异不明显,仔稚鱼生长期变化快且受到环境等因素的影响,加上鱼卵采集后的保存方法也会对形态学鉴定产生一定影响,这些因素在很大程度上制约了形态学鉴定技术在鱼卵和仔稚鱼鉴定中的应用^[13]。在一项对鱼卵和仔稚鱼五个实验室开展的独立鉴定对比实验中,形态学鉴定到种的准确率只有 13.5%,况且现代形态学鉴定需要借助电镜扫描、X 光等技术设备因而也受到仪器制约^[22-23]。因此,当今形态学鉴定在应用中往往与分子鉴定相结合,互为补充。陈永久等^[24]在对浙江舟山海域的鱼卵鉴定中以形态学鉴定作为分子鉴定的初步鉴定手段,即形态学鉴定到属,再用分子鉴定到种。Hofmann^[11]等则用形态学鉴定为参照,对鳕鱼、鲭鱼和竹荚鱼 3 种常见经济鱼类 DNA 条形码鉴定技术进行评测。随着分子鉴定的发展,形态学鉴定逐步成为与分子鉴定的辅助和验证手段,尤其在对于一些未知物种的鉴定识别中更是不可或缺或识别手段。黄镇宇等^[25]采用形态学测量和 DNA 条

形码技术结合的鉴定技术对我国鲱科鱼类进行了分类研究,凸显了两种鉴定方法结合的重要性和必要性。总之,形态学鉴定是鱼卵和仔稚鱼鉴定发展过程中的重要技术发展阶段,并伴随着分子鉴定技术的发展在不断革新,并与现代分子鉴定技术互为补充,在实际应用中具有不可替代的作用。

2.2 分子鉴定技术及应用 随着分子生物学的发展和多种基因组数据库不断丰富以及测序技术的发展,从常见的牛羊等家养动物的物种鉴定发展到依据基因数据库可以对大量稀有甚至未知物种的鉴定,分子鉴定技术获得了快速发展,如今已有鱼类鉴定的专有数据库^[26]。物种鉴定的多种分子鉴定技术中,以 DNA 条形码技术为代表,具有相对简单且易于掌握操作的优点^[10-11,27],基因靶标以线粒体 COI 基因为代表,还有基于 12S rRNA、16S rRNA 和 CytB 基因鉴定的方法^[28-30],这些技术基本相似,其大致过程如图 1 所示,即收集待测样品后提取 DNA,PCR 扩增目的基因序列,经测序后对序列作对比分析即可鉴定物种。

DNA 条形码技术始于 2003 年,2006 年首次报道用于鱼卵和仔稚鱼的鉴定^[31],随着该技术的发展现已用于多种动物的物种鉴定,在鱼卵鉴定中已经有了大量的实践应用^[10,23,32-35],且显示出比传统形态学鉴定的优势^[23-24],尤其在近缘物种鉴别、隐种发现和自动化检测方面更具有优势。阮瑞等^[9]采用 DNA 条形码技术分析确定了三峡大坝消落区 733 粒鱼卵和 108 尾仔稚鱼的种类,陈月华等^[8]也利用这一技术确定了东海浒苔藻团中所产卵鱼的种类,刘守海等^[15]鉴定了长江入海口的仔稚鱼种类,把近缘物种且形态上难以鉴定的矛尾虾虎鱼、斑尾刺虾虎鱼以及虾虎鱼科的 5 个亚种进行了分类,提高了仔稚鱼鉴定的精确度。张楠等^[36]利用 DNA 条形码技术鉴定广东省江门沿岸海域鱼卵为鲈形目和鲱形目并阐明了环境变化对产卵鱼类的影响,为这一海域的鱼类保护和环境保护提供了证据。李渊等^[37]在浙江省苍南海域的仔稚鱼中鉴定出一个形态学未能鉴定的物种,显示出该技术在物种鉴定中的优势。尤卡坦半岛海域的鱼卵和仔稚鱼形态学非常相似,Leyva-Cruz 等^[10]在该海域的 300 颗鱼卵获得 139 条序列,归类分析属 42 个类群 35 属 33 个种,其中无齿鲳是第一次在该海域发现的新物种。Kawakami 等^[38]用 16S rRNA 基因对马里亚纳群岛西海域鱼卵的分子鉴定中发现了 3 个新种,证明这一海域以加曼氏底鳕、密斑刺鲀和大鳞鳞孔鲷为优势物种并具有分布差异,为这一海域的鱼类保护和资源开发利用提供了重要证据材料。由此可见,DNA 条形码技术比形态学鉴定在发现新物种、易于掌握和适用的广泛性方面的优势,但也有其不足的一面,如必须依赖基因数据库,若基因库中没有收录的物种则只能鉴定到近缘物种甚至会出现错误。

在鉴定技术方法上,由于鱼卵组织少,传统方法提取 DNA 的过程容易造成 DNA 丢失,而用于 DNA 条形码 COI 基因的引物也有多组,不同引物与样品 DNA 的特异性也直接影响到 PCR 扩增效率和测序成功率。对鱼卵的鉴定大多使用了 Ward 等^[39]和 Folmer^[40-41]等报道的鱼类鉴定的引物,包

括特异性引物和简并引物^[10,13,15,23,36],由于这些引物在某些物种的特异性不强也会影响鉴定成功率(部分60%左右)。基于COI通用引物改造而来的加尾引物采用2对上下游引物组合和M13载体的通用测序引物,弥补了原有COI基因引物扩增量的不足^[42-44],还简化了对引物需要多次组合优化的

繁琐过程,大大提高了鉴定成功率^[45],成为鱼类物种鉴定优先选择的引物组合^[11,28,35,46-47]。DNA条形码鉴定技术也在不断改进,已有可以用于鉴定多个未知物种的宏条形码技术,这些不断发展的分子鉴定技术在实用中和形态学鉴定互为补充,使得鱼类和仔稚鱼鉴定变得越来越更为简单便捷。

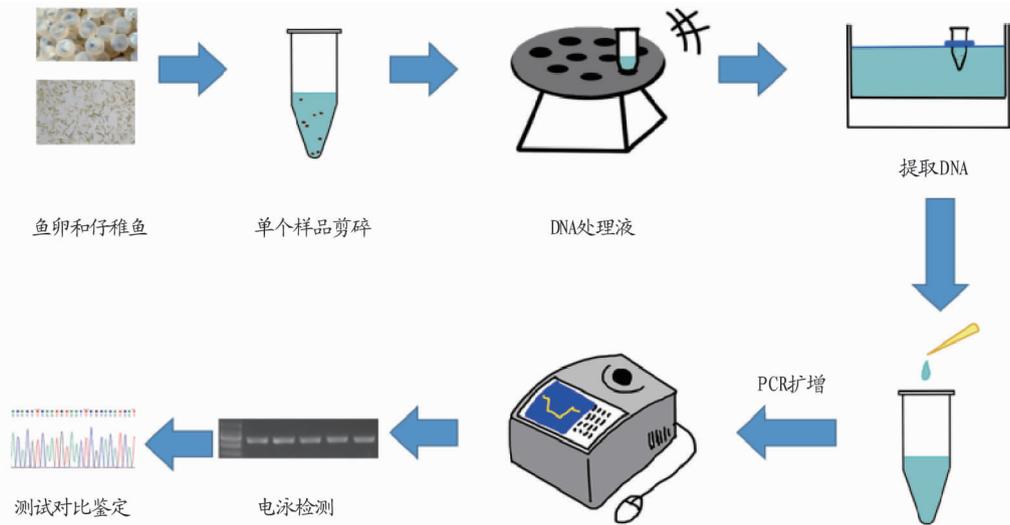


图1 DNA条形码鉴定鱼卵和仔稚鱼基本过程

Fig. 1 The basal process of species identification for fish eggs and larvae using DNA barcoding

3 小结与展望

鱼卵和仔稚鱼是海洋渔业资源循环发展的储备和资源补充,其种类鉴定有着重要的生态学研究价值和社会经济意义。鱼卵和仔稚鱼的鉴定历经了形态学鉴定的发展阶段,但受到鱼卵发育过程短、形态变化大和数据资料少以及鉴定所需人力物力大,耗时长等因素的制约而未能在鱼类研究中得到普遍应用。而近年来发展起来的DNA鉴定技术尤其DNA条形码技术显现了诸多的优势,在鱼卵鉴定中不受其形态和发育阶段的影响,加上其诸多优势已经在鉴定中广泛应用。这一技术在发展中与形态学鉴定互为补充,随着测序技术发展、物种数据库的完善和数字PCR以及前处理技术的发展,相信在渔业资源的鉴定中会发挥越来越大的作用。

参考文献

- [1] 李鹏飞,朱文斌,贺舟挺,等.东海带鱼DNA条形码的建立及COI序列变异分析[J].浙江海洋学院学报(自然科学版),2013,32(1):6-9.
- [2] 励迪平,王春琳,朱悦.曼氏无针乌贼遗传多样性的RAPD分析[J].水利渔业,2008,28(4):21-24.
- [3] 赵盛龙,王日昕,刘绪生.舟山渔场大黄鱼资源枯竭原因及保护和增殖对策[J].浙江海洋学院学报(自然科学版),2002,21(2):160-165.
- [4] 韩坤煌,黄伟卿,戴燕彬.围网与普通网箱养殖大黄鱼营养成分的比较与分析[J].河北渔业,2011(12):24-28,57.
- [5] 徐嘉杰,苏秀榕,邵明亮,等.养殖大黄鱼不同部位营养成分研究[J].中国水产,2009(6):45-46.
- [6] 万瑞景,孙珊.黄、东海生态系统中鱼卵、仔稚鱼种类组成与数量分布[J].动物学报,2006,52(1):28-44.
- [7] 郑惠东.福建东山湾春、夏季鱼卵和仔稚鱼丰度分布特征及其与环境因子的关系[J].应用海洋学报,2016,35(1):87-94.
- [8] 陈月华,何培民,杨金权.基于DNA条形码的如东海域浒苔附着鱼卵的物种鉴定[J].上海海洋大学学报,2018,27(1):1-7.
- [9] 阮瑞,张燕,沈子伟,等.三峡消落区鱼卵、仔稚鱼种类的鉴定及分布[J].中国水产科学,2017,24(6):1307-1314.
- [10] LEYVA-CRUZ E, VÁSQUEZ-YEOMANS L, CARRILLO L, et al. Identifying pelagic fish eggs in the southeast Yucatan Peninsula using DNA barcodes[J]. Genome, 2016, 59(12): 1117-1129.

- [11] HOFMANN T, KNEBELSBERGER T, KLOPPMANN M, et al. Egg identification of three economical important fish species using DNA barcoding in comparison to a morphological determination[J]. Journal of applied ichthyology, 2017, 33(5): 925-932.
- [12] AHLSTROM E H, GEOFFREY H. Characters useful in identification of pelagic marine fish eggs[J]. California cooperative oceanic fisheries investigations report, 1980, 21: 121-131.
- [13] 吴娜,张楠,曹明,等.基于DNA条形码技术的永暑礁泻湖鱼卵鉴定研究[J].淡水渔业,2018,48(2):51-57.
- [14] IKEDA T, CHUMA S, OKIYAMA M. Identification of pelagic eggs of marine fishes by rearing method[J]. Japanese journal of ichthyology, 1991, 38(2): 199-206.
- [15] 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.
- [16] LEIS J M. Taxonomy and systematics of larval Indo-Pacific fishes: A review of progress since 1981[J]. Ichthyological research, 2015, 62(1): 9-28.
- [17] HOW J C. Early stages of atlantic fishes: An identification guide for the western central North Atlantic[J]. Fisheries research, 2006, 80(2/3): 353-354.
- [18] RICHARDS W J. Status of the identification of the early life stages of fishes[J]. Bulletin of marine science, 1985, 37(2): 756-760.
- [19] 房恩军,于洁,李文雯,等.渤海湾浮性鱼卵和仔稚鱼种类组成及数量分布[J].中国水产,2011(11):60-62.
- [20] 周永东,金海卫,蒋日进,等.浙江中北部沿岸春、夏季鱼卵和仔稚鱼种类组成与数量分布[J].水产学报,2011,35(6):880-889.
- [21] 周晓梦,郭书新,宋娜,等.短吻红舌鳎鱼卵、仔鱼的DNA条形码和形态学鉴定[J].生物多样性,2017,25(8):847-855.
- [22] KO H L, WANG Y T, 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.
- [23] LI Y, ZHANG L Y, ZHAO L L, et al. New identification of the moray eel *Gymnothorax minor* (Temminck & Schlegel, 1846) in China (Anguilliformes, Muraenidae)[J]. Zookeys, 2018, 752: 149-161.
- [24] 陈永久,陈定标,蒋日进. DNA条形码在浙江沿海浮游鱼卵和仔鱼分类鉴定中的应用[J].浙江海洋学院学报(自然科学版),2017,36(3): 202-206,247.
- [25] 黄镇宇,章群,卢丽锋,等.基于形态测量和DNA条形码的中国鳎科鱼类分类研究[J].海洋渔业,2018,40(1):1-9.

之间对光照、肥水等的需求矛盾,而且消除了大苗欺小苗、壮苗欺弱苗的现象^[7],能够最大限度地发挥单株花生的增产潜

力,创建合理的生产群体,达到降低成本和增加产出的目标^{〔8-9〕}。

表 5 不同处理对泰花 8 号荚果性状的影响

Table 5 Effects of different treatments on the pods traits of Taihua 8

处理编号 Treatment code	1 kg 荚果 1 kg pods					百果重 100-fruit weight g	百仁重 100-kernel weight g	出仁率 Kernel percentage %	荚果饱满度 Pod plump- ness rate /%
	果数 Fruit number 个	果果重 Full-fruit weight//g	仁重 Kernel weight//g	仁数 Kernel number//个	仁仁重 Full-kernel weight//g				
①	464	978.4	783.6	858	760.8	257.3	119.5	78.36	76.7
②	468	974.8	783.0	868	756.6	257.3	117.3	78.30	76.3
③	488	974.2	780.2	874	756.6	257.2	115.4	78.02	76.0
④	468	965.2	772.6	882	748.4	256.8	115.6	77.26	74.6
⑤	452	966.2	769.4	884	746.6	256.3	114.8	76.94	74.3
⑥	508	960.6	768.2	912	740.8	253.8	111.9	76.82	73.8
⑦	520	950.4	762.2	934	740.2	242.1	107.6	76.22	72.4

该试验结果表明,高沙土地地区泰花 8 号单粒播种易于形成壮苗,这主要是由于结果多、产量高。单粒播种技术既可节约用种成本,又可获得较高产量,但种植密度不宜过稀或过密,采用垄作双行栽培,株距应控制在 11~13 cm。

参考文献

[1] 陈志德,俞春涛,谢吉先,等.江苏省花生生产的特点和发展对策[J].江苏农业科学,2010,38(5):30-31.
 [2] 谢吉先,王书勤,陈志德,等.花生新品种——泰花 8 号选育[J].花生学报,2012,41(4):45-47.
 [3] 王书勤,谢吉先,韩桂琴.花生新品种泰花 8 号的特征特性及高产栽培技术[J].江苏农业科学,2014,42(12):134-136.

[4] 李安国,任卫国,王才斌,等.花生单粒精播高产栽培生育特点及配套技术研究[J].花生学报,2004,33(2):17-22.
 [5] 陈雷,吴继华,李可,等.花生单粒播种模式初探[J].农学学报,2013,3(7):5-7.
 [6] 朱统国,周玉萍,何中国,等.单粒精播技术在花生新品种快速繁育上的应用研究[J].安徽农业科学,2014,42(30):10494-10496.
 [7] 孙彦浩,陶寿祥,王才斌.麦田夏直播花生生育特点及麦油两熟双高产配套技术[J].花生科技,1992(2):13-17.
 [8] 孔磊,徐民,孔琳,等.花生单粒播种模式试验初报[J].种子世界,2014(6):55-56.
 [9] 王亮,李艳,王桥江,等.滴灌条件下花生单粒播种密度对产量及其相关性状的影响[J].安徽农业科学,2015,43(30):380-382,385.

(上接第 20 页)

[26] RATNASINGHAM S, HEBERT P D N A DNA-based registry for all animal species: The barcode index number (BIN) system [J]. PLoS One, 2013, 8(7): 1-16.
 [27] 薛超波,王萍亚,李素芳,等.基于 PCR 多物种鉴定技术及其在肉类鉴定中的应用[J].食品安全质量检测学报,2016,7(2):561-566.
 [28] CHOI H Y, OH J, KIM S. Genetic identification of eggs from four species of Ophichthidae and Congridae (Anguilliformes) in the northern East China Sea [J]. PLoS One, 2018, 13(4): 1-17.
 [29] NAUE J, HANSMANN T, SCHMIDT U. High-resolution melting of 12S rRNA and cytochrome b DNA sequences for discrimination of species within distinct European animal families [J]. PLoS One, 2014, 9(12): 1-17.
 [30] PARSON W, PEGORARO K, NIEDERSTÄTTER H, et al. Species identification by means of the cytochrome b gene [J]. Int J Legal Med, 2000, 114(1/2): 23-28.
 [31] PEGG G G, SINCLAIR B, BRISKEY L, et al. MtDNA barcode identification of fish larvae in the southern Great Barrier Reef, Australia [J]. Scientia marina, 2006, 70: 7-12.
 [32] SHEN Y J, GUAN L H, WANG D Q, et al. DNA barcoding and evaluation of genetic diversity in Cyprinidae fish in the midstream of the Yangtze River [J]. Ecol Evol, 2016, 6(9): 2702-2713.
 [33] DÍAZ J, VILLANOVA G V, BRANCOLINI F, et al. First DNA barcode reference library for the identification of South American freshwater fish from the lower Paraná river [J]. PLoS One, 2016, 11(7): 212.
 [34] 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.
 [35] STEINKE D, CONNELL A D, HEBERT P D. Linking adults and immatures of South African marine fishes [J]. Genome, 2016, 59(11): 959-967.
 [36] 张楠,吴娜,郭华阳,等.基于 DNA 条形码技术对江门沿岸海域夏季鱼

卵的鉴定[J].中国水产科学,2018,25(4):721-727.

[37] 李渊,张丽艳,张然,等.基于 DNA 条形码技术对苍南海域仔稚鱼的物种鉴定[J].中国海洋大学学报(自然科学版),2017,47(12):72-79.
 [38] KAWAKAMI T, AOYAMA J, TSUKAMOTO K. Morphology of pelagic fish eggs identified using mitochondrial DNA and their distribution in waters west of the Mariana Islands [J]. Environmental biology of fishes, 2010, 87(3): 221-235.
 [39] WARD R D, ZEMBLAK T S, INNES B H, et al. DNA barcoding Australia's fish species [J]. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2005, 360(1462): 1847-57.
 [40] FOLMER O, BLACK M, HOEH W, et al. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates [J]. Mol Mar Biol Biotechnol, 1994, 3(5): 294-299.
 [41] FERROZ KHAN K, SANKER G, PRASANNA KUMAR C. Linking eggs and adults of *Argulus* spp. using mitochondrial DNA barcodes [J]. Mitochondrial DNA A DNA Mapp Seq Anal, 2016, 27(6): 3927-3931.
 [42] 邢陈鹏,林汝榕,王彦国,等.基于 COI 基因的厦门海域鱼类 DNA 条形码鉴定[J].应用海洋学报,2016,35(1):144-150.
 [43] CHAKRABORTY M, GHOSH S K. An assessment of the DNA barcodes of Indian freshwater fishes [J]. Gene, 2014, 537(1): 20-28.
 [44] CHEN W T, MA X H, SHEN Y J, et al. The fish diversity in the upper reaches of the Salween River, Nujiang River, revealed by DNA barcoding [J]. Sci Rep, 2015, 5: 1-12.
 [45] 王梦怡,赵庆珠,刘博,等.运用 DNA 条形码技术分析市售鱼类及制品的物种真实性[J].食品工业科技,2016,37(10):49-56,61.
 [46] 王萍亚,黄竹梁,金雨婷,等.4 组鱼类 DNA 条形码引物的筛选与优化[J].食品安全质量检测学报,2018,9(16):4387-4392.
 [47] PAPPALARDO A M, CUTTITTA A, SARDELLA A, et al. DNA barcoding and COI sequence variation in Mediterranean lanternfishes larvae [J]. Hydrobiologia, 2015, 749(1): 155-167.