

文章编号: 1674-5566(2024)04-0823-13

DOI: 10.12024/jsou.20240404528

基于CO I 基因构建西北太平洋常见鱼类DNA条形码参考数据库

徐颖琪¹, 梁绪虹¹, 陈新军^{1,2,3,4}, 宋成辉¹, 彭祖焜¹, 王丛丛^{1,2,3,4,5}

(1. 上海海洋大学 海洋生物资源与管理学院, 上海 201306; 2. 大洋渔业资源可持续开发教育部重点实验室, 上海 201306; 3. 国家远洋渔业工程技术研究中心, 上海 201306; 4. 农业农村部大洋渔业可持续利用重点实验室, 上海 201306; 5. 临港新片区海洋生物医药科技创新型平台, 上海 201306)

摘要: 西北太平洋以其独特的地理位置和复杂的海洋环境, 孕育了极为丰富的渔业资源, 成为全球海洋生物多样性保护和渔业资源管理的热点区域。为了更有效地进行鱼类种类识别和多样性的调查, 本研究建立了西北太平洋常见鱼类DNA条形码本地数据库。基于线粒体CO I 基因, 对2023年6—8月在西北太平洋海域所采集的307份样品进行扩增和测序, 共获得7目13科20属25种鱼类的CO I 基因序列。77.96%的CO I 序列在公共数据库中都能比对到高相似度序列。种间平均遗传距离为0.233, 种内平均遗传距离为0.003, 种间遗传距离是种内遗传距离的77.67倍, 且能够形成明显的条形码间隙, 不存在物种区分困难的现象。基于CO I 基因序列构建的系统发育树显示, 同一属的鱼类首先聚为一支, 随后与同一科的鱼类聚为一支, 最后, 同目不同科的鱼类聚为一支。综上所述, CO I 基因具有物种特异性, 能够有效地区分西北太平洋常见鱼类物种, 本数据库的初步建立, 有利于后期利用环境DNA技术进行西北太平洋鱼类多样性的监测和调查, 为西北太平洋海域生物多样性保护、资源管理和种群动态监测提供了技术支持。

关键词: 鱼类; CO I 基因; DNA条形码数据库; 西北太平洋

中图分类号: S 917 **文献标志码:** A

西北太平洋是指20°N以北、175°W以西, 与亚洲大陆包围的海域, 是世界上最大的海洋生态系统之一^[1]。该海域有多条寒暖流交汇, 最为典型的是黑潮延伸体(Kuroshio extension, KE)与亲潮(Oyashio, OY)交汇的海区, 称为西北太平洋黑潮-亲潮交汇区^[2]。交汇区北部的亲潮低温低盐, 南部的黑潮高温高盐。两水体相遇形成显著的海洋锋区, 促进了深层营养盐的上升和浮游生物的聚集, 提升了海域初级生产力, 促使秋刀鱼(*Cololabis saira*)、远东拟沙丁鱼(*Sardinops melanostictus*)、鲐鱼、鳀鱼、金枪鱼等大量经济鱼种在此聚集, 使之成为世界海洋捕捞的重点渔区^[3]。根据联合国粮食及农业组织统计, 西北太平洋2015年至2020年的产量约占太平洋海区总捕捞量的42%, 是联合国粮农组织所有统计区域

中产量最高的海区, 这也体现出西北太平洋海域在海洋捕捞上占有十分重要的地位^[1]。近几十年, 人类的各种开发活动对海洋生态系统造成的影响不断增强, 各沿海国对西北太平洋海域的捕捞力度也不断增加^[4], 致使该海区捕捞压力及渔业资源变动频繁。因此, 迫切需要对当前海域的鱼类多样性及种群动态进行全面的调查和监测。

对鱼类多样性数据收集的准确性和全面性是有效进行鱼类多样性保护和管理的基礎与前提^[5]。传统的鱼类调查一般以捕捞为主, 不仅会对调查对象及其所在生境造成一定的破坏, 同时还会因为部分鱼种的生态习性、栖息地要求、繁殖习性等不同而造成难以捕获的现象^[6]。此外, 在鱼类的鉴别过程中, 对研究人员的专业知识及经验要求较高。针对鱼类传统调查方法存在的

收稿日期: 2024-04-28 修回日期: 2024-06-03

基金项目: 农业农村部全球渔业资源调查监测评估(公海渔业资源综合科学调查)专项(D-8025-23-1002); 上海市高校特聘教授“东方学者”岗位跟踪计(GZ2022011)

作者简介: 徐颖琪(2000—), 女, 硕士研究生, 研究方向为海洋生物学。E-mail: 2631011022@qq.com

通信作者: 王丛丛, E-mail: ccwang@shou.edu.cn

版权所有 ©《上海海洋大学学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)

Copyright © Editorial Office of Journal of Shanghai Ocean University (CC BY-NC-ND 4.0)

<http://www.shhydx.com>

问题,亟须一种对生态环境友好、高灵敏度且更加经济有效的调查方法。随着分子生物学技术的发展,环境DNA(Environmental DNA, eDNA)宏条形码(Metabarcoding)技术被国内外学者越来越多地应用到鱼类的生物监测与物种多样性调查中,因其不受物种性别、发育阶段及个体完整度等的影响,在调查人员缺少生物学专业分类经验的情况下也能对物种进行鉴别,弥补了人为判断的不足^[7]。eDNA宏条形码技术整合DNA条形码和高通量测序技术,通过提取环境样品(包括水、土壤、粪便等)中的DNA,使用特异性引物进行PCR扩增,对扩增产物进行测序后得到可操纵分类单元(Operational taxonomic units, OTUs),从而实现物种鉴定^[8]。该技术最大的优势在于高通量、低成本,并且能快速地鉴定物种,最大的局限性在于公共数据库的不完善,PCR的偏向性导致条形码的解析度和普适性较低^[9]。目前,大部分鱼类eDNA宏条形码的研究主要采用NCBI、BOLD、MitoFish、FISH-BOL等公共数据库,但由于上传门槛低,数据量冗余庞大,经常会出现对比错误或者序列缺失等情况,制约着条形码技术的应用^[10]。要实现eDNA宏条形码技术高通量、准确、快速物种鉴定,最关键的是选择最优目标基因和建立一个准确且能够进行全面检索的专业条形码数据库。现在已有多种针对鱼类设计的eDNA宏条形码通用引物^[11],其目标基因各不相同。在现有的DNA条形码参考数据库中,线粒体CO I基因的使用占有很大比例^[12],CO I基因在多种生物中具有适度的变异,能够在不同物种之间表现出较为明显的差异性^[13],有着片段大小适宜、进化速度适中、相对保守、检测简单高效等特点,可以有效地区分物种^[4,10,14-15],因此许多学者^[13-14,16-17]将其作为水生生物鉴定的首选条形码。

西北太平洋鱼类种类丰富且数量众多,公共数据库对其序列的收录并不完整,使得相当多的数据得不到或没有准确注释,易造成物种漏检或错误鉴定。研究表明,包含已验证物种序列的高质量本地参考数据库有利于DNA片段的准确物种注释^[18],自建数据库的分析结果优于公共数据

库^[2]。因此,通过增加本地参考数据库来扩大现有的公共参考数据库是准确应用DNA方法进行鱼类检测的必要条件。本研究以西北太平洋常见鱼类为研究对象,基于CO I序列基因构建西北太平洋常见鱼类DNA本地参考数据库,通过分析CO I基因在物种鉴定与系统发育分析中的适用性,比较自建数据库与公共数据库在物种注释上的差异,验证自建数据库的可靠性,为后期基于eDNA宏条形码技术的西北太平洋鱼类多样性调查提供基础和参考。

1 材料与方法

1.1 样本的采集

样品依托于上海海洋大学“淞航”号科考船于2023年6月至8月通过拖网采集于西北太平洋。采样站点如图1所示,样本冷冻运至实验室后,根据《中国海洋及河口鱼类系统检索》^[19]进行初步的形态学分类鉴定,根据形态学共鉴定出8目16科23属30种鱼类。再根据采集到的鱼类大小,以直尺为比例,拍摄所有鱼类照片,并记录每尾鱼的基本生物学信息(体长、体质量、性腺成熟度等)。取背部肌肉放入-80℃冰箱进行冷冻保存。实验所用鱼类样品采集信息如表1所示。

1.2 基因组DNA提取、PCR扩增及测序

取鱼类样本肌肉组织20mg左右,采用生工Ezup柱式动物基因组DNA抽提试剂盒提取所有样本基因组DNA。用1%琼脂糖凝胶电泳检测后存放于-20℃冰箱备用。

采用WARD等^[20]设计的引物对CO I基因片段进行扩增,引物序列,Fish-F1:5'-TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC-3'和Fish-R1:5'-TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA-3'。PCR反应体系为25μL,包括DNA模板2μL, Premix 12.5μL,上游和下游引物各1μL,超纯水8.5μL。反应程序:94℃预变性5min;94℃变性30s,52℃退火45s,72℃延伸30s,共35个循环;最后72℃延伸7min,产物经1.0%左右的琼脂糖凝胶电泳检测后,将PCR产物送至上海生工生物工程有限公司进行测序。

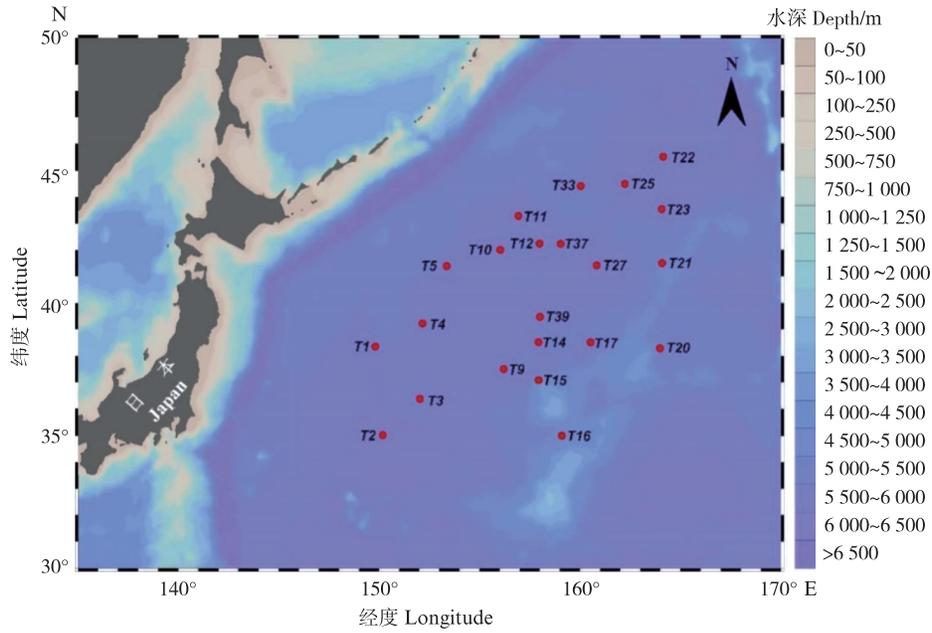


图 1 西北太平洋采样站位图

Fig. 1 Map of sampling stations in Northwest Pacific Ocean

表 1 建库鱼类样品采集信息表

Tab. 1 Information of samples used in this study for database building

目 Order	科 Family	属 Genus	物种 Species	站位 Station	
仙女鱼目 Aulopiformes	大鳞鲂鱼科 Notosudidae	弱鲂鱼属 <i>Scopelosaurus</i>	霍氏弱鲂鱼 <i>Scopelosaurus hoedti</i>	T39	
	鲂鱼科 Paralepididae	光鳞鱼属 <i>Lestrolepis</i>	中间光鳞鱼 <i>Lestrolepis intermedia</i>	T39	
		鲂鱼属 <i>Lestidium</i>	长裸鲂鱼 <i>Lestidium prolixum</i>	T10	
鲈形目 Perciformes	乌鲂科 Bramidae	长鳍乌鲂属 <i>Taractichthys</i>	凹尾长鳍乌鲂 <i>Taractichthys steindachneri</i>	T10	
	鲭科 Scombridae	鲭属 <i>Scomber</i>	澳洲鲭 <i>Scomber australasicus</i>	T17	
			日本鲭 <i>Scomber japonicus</i>	T37	
			金枪鱼属 <i>Thunnus</i>	长鳍金枪鱼 <i>Thunnus alalunga</i>	T23
				大眼金枪鱼 <i>Thunnus obesus</i>	T16
				黄鳍金枪鱼 <i>Thunnus albacares</i>	T25
		长鲳科 Centrolophidae	栉鲳属 <i>Hyperoglyphe</i>	日本栉鲳 <i>Hyperoglyphe japonica</i>	T2
		乌鲂科 Bramidae	乌鲂属 <i>Brama</i>	日本乌鲂 <i>Brama japonica</i>	T21
		旗鱼科 Istiophoridae	枪鱼属 <i>Makaira</i>	蓝枪鱼 <i>Makaira nigricans</i>	T37
		剑鱼科 Xiphiidae	剑鱼属 <i>Xiphias</i>	剑鱼 <i>Xiphias gladius</i>	T2
	带鲭科 Gempylidae	若蛇鲭属 <i>Nealotus</i>	三棘若蛇鲭 <i>Nealotus tripes</i>	T37	
巨口鱼目 Stomiiformes	巨口鱼科 Stomiidae	星衫鱼属 <i>Astronesthes</i>	费氏星衫鱼 <i>Astronesthes fedorovi</i>	T2	
胡瓜鱼目 Osmeriformes	深海鲑科 Bathylagidae	深海鲑属 <i>Lipolagus</i>	钝吻深海鲑 <i>Lipolagus ochotensis</i>	T39	
颌针鱼目 Beloniformes	竹刀鱼科 Scomberesocidae	秋刀鱼属 <i>Cololabis</i>	秋刀鱼 <i>Cololabis saira</i>	T21	
鲑形目 Salmoniformes	鲑鱼科 Salmonidae	大马哈鱼属 <i>Oncorhynchus</i>	大马哈鱼 <i>Oncorhynchus keta</i>	T22	
	鳀科 Engraulidae	鳀属 <i>Engraulis</i>	日本鳀 <i>Engraulis japonicus</i>	T3	
鲱形目 Clupeiformes	鲱科 Clupeidae	拟沙丁鱼属 <i>Sardinops</i>	远东拟沙丁鱼 <i>Sardinops melanostictus</i>	T37	
灯笼鱼目 Myctophiformes	灯笼鱼科 Myctophidae	泰勒灯鱼属 <i>Tarletonbeania</i>	扇形泰勒灯鱼 <i>Tarletonbeania crenularis</i>	T14、T15	
		角灯鱼属 <i>Ceratoscopelus</i>	汤氏角灯鱼 <i>Ceratoscopelus townsendi</i>	T33、T15、T5	
		灯笼鱼属 <i>Myctophum</i>	闪光灯笼鱼 <i>Myctophum nitidulum</i>	T15	
			粗鳞灯笼鱼 <i>Dasyscopelus asper</i>	T4	
			背灯鱼属 <i>Notoscopelus</i>	闪光背灯鱼 <i>Notoscopelus resplendens</i>	T15、T33
				尾棘背灯鱼 <i>Notoscopelus caudispinosus</i>	T15、T33
				日本背灯鱼 <i>Notoscopelus japonicus</i>	T11
			眶灯鱼属 <i>Diaphus</i>	华丽眶灯鱼 <i>Diaphus perspicillatus</i>	T17
				巨眶灯鱼 <i>Diaphus gigas</i>	T5
			标灯鱼属 <i>Symbolophorus</i>	长体标灯鱼 <i>Symbolophorus californiensis</i>	T14

1.3 数据处理

使用NCBI Blast工具对所得样本序列进行物种鉴定。将生物公司返回的序列在NCBI(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)参考数据库中进行比对验证并记录相似度,当相似度大于98%时,确定为同种。从NCBI公共数据库下载这些物种的CO I序列,若公共数据库中没有CO I序列的,则下载该物种完整线粒体序列。使用MEGA7.0软件去除两边冗余的序列,随后分析序列特征,计算碱基组成。基于MEGA7.0软件中的Kimura 2 parameter model(K2P)双模型来计算物种间的遗传距离(Interspecific genetic distance)和种内遗传距离(Intraspecific genetic distance)。根据种内遗

传距离与种间遗传距离绘制遗传距离频率分布直方图^[10]。采用近邻相接法(Neighbor-joining method, NJ)构建鱼类CO I基因的系统发育树,系统发育树可信度均采用Bootstrap检验,经1 000次重复抽样检验得到分支树节点支持率。

2 结果

2.1 DNA提取和PCR结果

本研究共采集西北太平洋鱼类样本307尾,经过实验获得307条CO I序列,对其进行PCR扩增后,凝胶电泳结果如图2所示,条带单一且明亮,对应长度为500~750 bp,与目标序列(650 bp)相符。



M为核酸Marker,用于指示核酸条带的大小,从下至上依次为100~2 000 bp;1~19. 19个样本的CO I基因PCR产物。

M is a nucleic acid marker used to indicate the size of nucleic acid bands, ranging from 100~2 000 bp from bottom to top; 1~19. PCR products of the CO I gene from 19 samples.

图2 凝胶电泳图

Fig. 2 Gel electrophoresis diagram

2.2 数据库简介

经比对共鉴定出25种鱼类,隶属于7目13科20属,其中,鲈形目鱼类数量最多,占全部鱼类物种数的44.00%。NCBI中能比对到高相似度(数据库中序列相似度均 $\geq 98\%$)的CO I序列有237条,占77.96%,属于可注释到种的序列,但仍有少数的序列(22.04%)与NCBI数据库比对的相似度较低。如经形态学鉴定为费氏星衫鱼(*Astronesthes fedorovi*)、中间光鳞鱼(*Lestrolepis intermedia*)、尾棘背灯鱼(*Notoscopelus caudispinosus*)和日本背灯鱼(*Notoscopelus japonicus*)的4个物种在数据库中均比对不到高相似度序列,属于不可注释到种的序列,只能大致推测其隶属的科或属(表2)。此外,仍有6种鱼类是通过形态学观察无法鉴定或鉴定错误的物种,分别是长体标灯鱼(*Symbolophorus californiensis*)、汤氏角灯鱼(*Ceratoscopelus townsendi*)、闪光灯笼鱼(*Myctophum nitidulum*)、细

鳞大马哈鱼(*Oncorhynchus gorbuscha*)、银大马哈鱼(*Oncorhynchus kisutch*)和大西洋鲟蜥鱼(*Magnisudis atlantica*)。其中,形态学初步鉴定为巨眶灯鱼(*Diaphus gigas*),经分子学鉴定为长体标灯鱼;形态学鉴定为闪光背灯鱼(*Notoscopelus resplendens*),经分子学鉴定为闪光灯笼鱼;形态学归为大马哈鱼(*Oncorhynchus keta*)的鱼类,经分子学鉴定为银大马哈鱼和细鳞大马哈鱼;形态学初步鉴定为霍氏弱蜥鱼(*Scopelosaurus hoedti*)和长裸蜥鱼(*Lestidium prolixum*)的鱼类,经分子学鉴定均为大西洋鲟蜥鱼。

虽然本次建库实地采集到的鱼类样本数量较少,但其中包含了西北太平洋海域的主要经济鱼类,如日本鲈(*Scomber japonicus*)、秋刀鱼和远东拟沙丁鱼等,这几种鱼类同时也是该海域的主要栖息类群,既具有重要的经济价值,也是生态系统中的关键物种^[21-23]。

表 2 西北太平洋鱼类形态学鉴定和 NCBI 数据库比对表
 Tab. 2 Morphological identification of Northwest Pacific Ocean fishes and NCBI database comparison table

序号 Serial number	形态学鉴定 Morphological identification	数量 Quantity/ 尾	序列长度 Sequence length/bp	NCBI 序列一致性 NCBI sequence identity		
				与 NCBI 相似性 Similarity to NCBI	相似性 Similarity/%	序列号 Accession number
1	澳洲鲭 <i>Scomber australasicus</i>	6	691	<i>Scomber australasicus</i>	100.00	MK843723.1
				<i>Scomber colias</i>	98.08	OK501307.1
2	粗鳞灯笼鱼 <i>Dasyscopelus asper</i>	19	691	<i>Dasyscopelus asper</i>	100.00	ON602081.1
				<i>Myctophum lychnobium</i>	86.88	KJ555429.1
3	霍氏弱蜥鱼 <i>Scopelosaurus hoedti</i>	10	685	<i>Magnisudis atlantica</i>	99.69	KF930102.1
				<i>Scopelosaurus lepidus</i>	92.67	MT323585.1
4	钝吻深海鲑 <i>Lipolagus ochotensis</i>	10	691	<i>Lipolagus ochotensis</i>	99.54	MK907484.1
				<i>Nansenia candida</i>	99.39	FJ164896.1
5	华丽眶灯鱼 <i>Diaphus perspicillatus</i>	10	693	<i>Diaphus perspicillatus</i>	99.85	OQ651177.1
				<i>Diaphus thiollierei</i>	99.55	KJ555376.1
6	日本鲈 <i>Scomber japonicus</i>	20	692	<i>Scomber japonicus</i>	99.70	MH638665.1
				<i>Scomber australasicus</i>	98.62	MK843723.1
7	日本鳀 <i>Engraulis japonicus</i>	10	691	<i>Engraulis japonicus</i>	99.55	MW389055.1
				<i>Engraulis encrasicolus</i>	97.87	HM007778.1
8	日本栉鲳 <i>Hyperoglyphe japonica</i>	10	685	<i>Hyperoglyphe japonica</i>	99.11	AB205436.1
				<i>Ichthyos lockingtoni</i>	93.36	JQ354147.1
9	三棘若蛇鲭 <i>Nealotus tripes</i>	24	687	<i>Nealotus tripes</i>	98.97	AP012521.1
				<i>Ichthyococcus irregularis</i>	85.49	MK907457.1
10	闪光灯灯笼鱼 <i>Myctophum nitidulum</i>	10	729	<i>Myctophum nitidulum</i>	99.23	AP012255.1
				<i>Myctophum affine</i>	97.24	KJ555425.1
11	大马哈鱼 <i>Oncorhynchus keta</i> (1)	3	688	<i>Oncorhynchus gorbuscha</i>	99.25	JX960913.1
				<i>Oncorhynchus keta</i>	94.54	MN604325.1
12	大马哈鱼 <i>Oncorhynchus keta</i> (2)	3	688	<i>Oncorhynchus kisutch</i>	99.40	MH003640.1
				<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	95.82	OL457394.1
13	远东拟沙丁鱼 <i>Sardinops melanostictus</i>	10	692	<i>Sardinops sagax</i>	99.56	NC_057117.1
				<i>Sardinops melanostictus</i>	99.09	JF952840.1
14	凹尾长鳍乌鲂 <i>Taractichthys steindachneri</i>	2	683	<i>Taractichthys steindachneri</i>	100.00	OM084956.1
				<i>Taractichthys longipinnis</i>	96.31	EF609476.1
15	大眼金枪鱼 <i>Thunnus obesus</i>	3	688	<i>Thunnus obesus</i>	100.00	MW826624.1
				<i>Thunnus albacares</i>	99.40	MK301244.1
16	黄鳍金枪鱼 <i>Thunnus albacares</i>	5	688	<i>Thunnus albacares</i>	99.42	KP259550.1
				<i>Thunnus tonggol</i>	99.27	MW232431.1
17	剑鱼 <i>Xiphias gladius</i>	1	681	<i>Xiphias gladius</i>	99.70	HM007787.1
					99.26	KJ739601.1
18	蓝枪鱼 <i>Makaira nigricans</i>	4	680	<i>Makaira nigricans</i>	99.70	MZ562772.1
				<i>Makaira mazara</i>	98.66	NC_012680
19	秋刀鱼 <i>Cololabis saira</i>	13	684	<i>Cololabis saira</i>	99.70	JQ354057.1
				<i>Scomberesox saurus</i>	97.54	OQ819315.1
20	日本乌鲂 <i>Brama japonica</i>	16	681	<i>Brama japonica</i>	99.26	OP057052.2
				<i>Brama brama</i>	96.12	KJ128433.1
21	长鳍金枪鱼 <i>Thunnus alalunga</i>	6	686	<i>Thunnus alalunga</i>	99.26	KP259549.1
				<i>Thunnus thynnus</i>	99.12	AP006034.1
22	闪光背灯鱼 <i>Notoscopelus resplendens</i> (1)	10	685	<i>Myctophum nitidulum</i>	98.63	AP012255.1
				<i>Myctophum affine</i>	96.24	KJ555425.1
23	扇形泰勒灯鱼 <i>Tarletonbeania crenularis</i>	8	669	<i>Tarletonbeania crenularis</i>	99.38	MK907488.1

·续表 2·

序号 Serial number	形态学鉴定 Morphological identification	数量 Quantity/ 尾	序列长度 Sequence length/bp	NCBI 序列一致性 NCBI sequence identity		
				与 NCBI 相似性 Similarity to NCBI	相似性 Similarity/%	序列号 Accession number
24	汤氏角灯鱼 <i>Ceratoscopelus townsendi</i>	26	666	<i>Loweina rara</i>	91.30	OR582659.1
				<i>Ceratoscopelus townsendi</i>	98.34	OP057126.2
				<i>Ceratoscopelus warmingii</i>	95.93	OQ651067.1
25	巨眶灯鱼 <i>Diaphus gigas</i>	10	666	<i>Symbolophorus californiensis</i>	99.54	OP057091.2
				<i>Symbolophorus rufinus</i>	89.74	MG856821.1
26	费氏星衫鱼 <i>Astronesthes fedorovi</i>	10	727	<i>Astronesthes chrysophekadion</i>	90.63	KC442067.1
				<i>Astronesthes lucifer</i>	89.99	AP012959.1
27	中间光鳞鱼 <i>Lestodius intermedia</i>	10	683	<i>Lestidium rofeni</i>	84.54	MN486247.1
				<i>Lestidiops ringens</i>	83.59	JQ354169.1
28	长裸蜥鱼 <i>Lestidium prolixum</i>	4	684	<i>Magnisudis atlantica</i>	99.38	KF930102.1
				<i>Magnisudis atlantica</i>	92.67	MT323585.1
29	尾棘背灯鱼 <i>Notoscopelus caudispinosus</i>	14	683	<i>Notoscopelus caudispinosus</i>	90.08	MH777709.1
				<i>Notoscopelus resplendens</i>	88.24	KJ555451.1
30	闪光背灯鱼 <i>Notoscopelus resplendens</i> (2)	3	682	<i>Notoscopelus resplendens</i>	98.96	NC_083188.1
				<i>Notoscopelus bolini</i>	91.08	EU148275.1
31	日本背灯鱼 <i>Notoscopelus japonicus</i>	10	685	<i>Notoscopelus caudispinosus</i>	90.34	MH777709.1
				<i>Notoscopelus resplendens</i>	88.18	KJ555451.1
32	长体标灯鱼 <i>Symbolophorus californiensis</i>	4	666	<i>Symbolophorus californiensis</i>	99.54	OP057091.2
				<i>Symbolophorus rufinus</i>	89.74	MG856821.1

2.3 CO I 基因序列特征

将本研究所获得的 237 条经 NCBI 比对后具有高相似度的 CO I 序列进行筛选(若比对出为同一种鱼类的数量 ≥ 10 尾,则保留相似度最高的 10 条序列,若比对出为同一种鱼类的数量不足 10 尾,则将该种鱼的序列全部保留),最后得到 25 种鱼类的 179 条 CO I 序列,再与 NCBI 数据库中下载的 25 种鱼类的 25 条 CO I 序列经比对剪切后,共得到 204 条长度为 461 bp 的序列,平均碱基颠换值为 1.3。如表 3 所示,A、T、C、G 碱基平均含量分别

为 23.7%、29.3%、30.1%、16.9%,碱基 A+T 的含量(53.0%)高于碱基 C+G 的含量(47.0%),表现出 A+T 的偏倚性。密码子第 1 位中 A-1 含量最高,占 29.2%,而 T-1 的含量仅有 17.6%;密码子第 2 位 T-2 的含量明显高于其他 3 种,占 43.6%,A-2 含量最低,占 12.3%;密码子第 3 位中 C-3 含量最高,占 33.0%,G-3 含量明显低于其他 3 种碱基,仅有 10.2%,存在一定的反 G 偏倚。此外,共检测到序列保守位点数 260 个,变异位点数 201 个,其中包括简约信息位点数 196 个及单突变位点数 5 个。

表 3 CO I 基因序列碱基组成
Tab. 3 Composition of CO I gene sequence

碱基组成 Base composition	A/%	T/%	C/%	G/%	(A+T)/%	(C+G)/%	转换/颠换 Conversion/Transversion
平均含量 Average	23.7	29.3	30.1	16.9	53.0	47.0	1.3
密码子第 1 位 1st codon	29.2	17.6	26.0	27.2	46.8	53.2	3.0
密码子第 2 位 2nd codon	12.3	43.6	31.1	13.0	55.9	44.1	0.4
密码子第 3 位 3rd codon	29.6	27.2	33.0	10.2	56.8	43.2	1.2

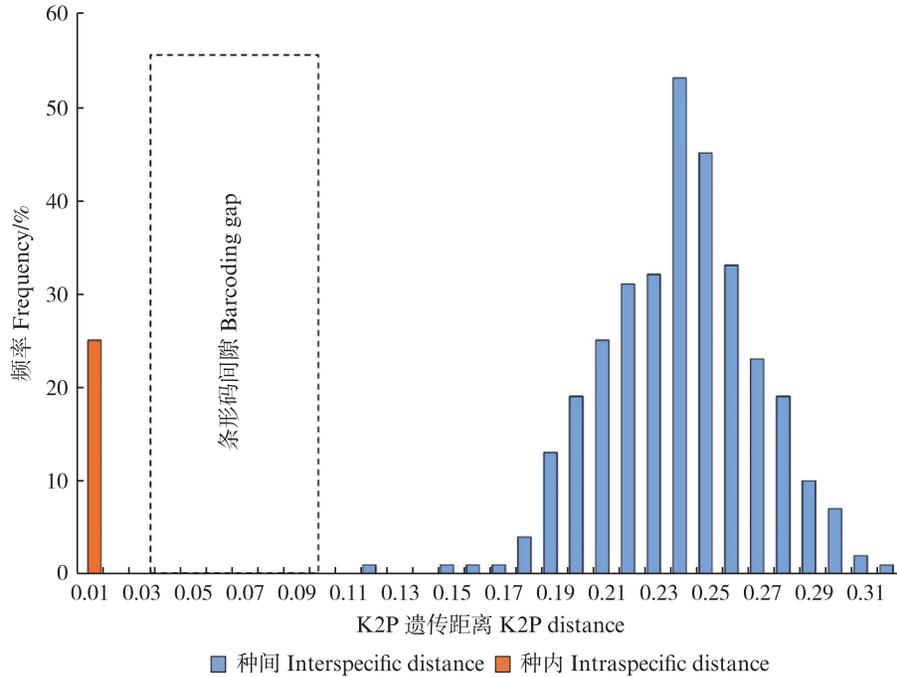
2.4 种间与种内遗传距离

除了仅有 1 个样品的剑鱼(*Xiphias gladius*),

其他 24 种鱼类的种内遗传距离范围为 0~0.008,平均遗传距离为 0.003,最小值出现在粗鳞灯笼

鱼 (*Dasyscopelus asper*)、蓝枪鱼 (*Makaira nigricans*)、银大马哈鱼、秋刀鱼、远东拟沙丁鱼和闪光背灯鱼,最大值为日本鳀 0.008。25 种鱼类种间遗传距离范围为 0.009~0.311,平均遗传距离为 0.232,所有样本中,最小的种间遗传距离 (0.009) 出现在近缘种间,为黄鳍金枪鱼 (*Thunnus albacares*) 和大眼金枪鱼 (*Thunnus obesus*); 种间遗传

距离最大为远东拟沙丁鱼和日本栉鲳 (*Hyperoglyphe japonica*)。种间平均遗传距离是种内平均遗传距离的 77.33 倍。基于 CO I 基因的种内和种间遗传距离频率分布直方图显示存在明显的条形码间隙,说明 CO I 序列能对西北太平洋鱼类物种进行有效地区分鉴定 (图 3)。



虚线之间的区域显示种内遗传距离和种间距离之间的“条形码间隙”。
The area between dashed lines displays the 'barcoding gap' between the intraspecific and interspecific distance.

图 3 基于 CO I 基因的种内和种间 K2P 遗传距离频率分布直方图

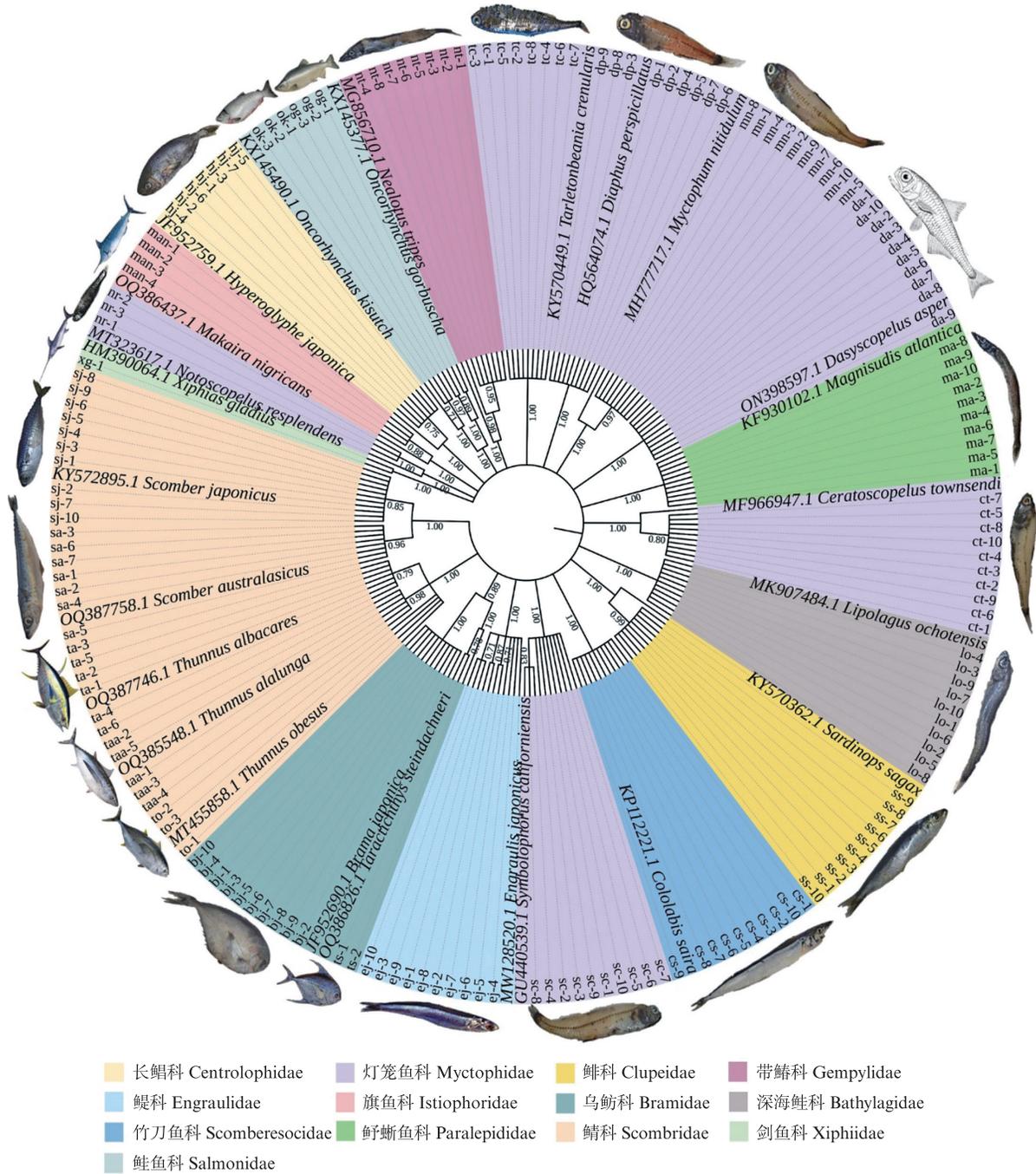
Fig. 3 Frequency distributions of intraspecific and interspecific pairwise genetic K2P distance based on CO I gene

2.5 系统发育关系

基于 CO I 基因序列构建的 NJ 系统发育树如图 4 所示。其中,同一物种的个体均聚到一起形成一个单系,且自展分析的节点支持率较高,同一属的物种也聚到一起。在种水平上,NJ 进化树生物分类节点支持率约为 99%,鱼类能得到有效区分。在物种较多的科中,鲭科 (Scombridae)、鲑鱼科 (Salmonidae) 和乌鲂科 (Bramidae) 均能形成各科的单系支,但包含物种数量最多的灯笼鱼科 (Myctophidae) 聚类效果不明显,同科的鱼类没有很好地聚到一起,其中,在属水平上,仅有灯笼鱼属 (*Myctophum*)、泰勒灯鱼属 (*Tarletonbeania*) 和框灯鱼属 (*Diaphus*) 聚在一起,而标灯鱼属

(*Symbolophorus*)、背灯鱼属 (*Notoscopelus*) 和角灯鱼属 (*Ceratoscopelus*) 分别形成独立的单系支。

为探究自建数据库鱼类的遗传发育特征,针对对于未独立聚到一起的灯笼鱼科的鱼类进行系统发育树的重新构建 (图 5)。为了结果的准确性,加入本次样本外的鲆鲽鱼科 (Paralepididae) 鲆鲽鱼属 (*Lestidium*) 的长裸鲽鱼 (*Lestidium prolixum*, NCBI 序列号为 MN486232.1) 作为外类群,进行 1 000 次自展分支检验构建进化树。从进化树可以看出,灯笼鱼科的鱼类与外类群存在于不同的分支,科内不同属的物种都能聚到一起,且自展支持率都超过了 99%。



不同颜色代表不同鱼类的分科;外圈为各鱼类物种所对应的图片,其中日本鳀(*E. japonicus*)、细鳞大马哈鱼(*O. gorbusha*)、银大马哈鱼(*O. kisutch*)、凹尾长鳍乌鲂(*T. steindachneri*)、大眼金枪鱼(*T. obesus*)、黄鳍金枪鱼(*T. albacares*)、剑鱼(*X. gladius*)、蓝枪鱼(*M. nigricans*)、长鳍金枪鱼(*T. alalunga*)、闪光背灯鱼(*N. resplendens*)、扇形泰勒灯鱼(*T. crenularis*)、长体标灯鱼(*S. californiensis*)图片来自FishBase。
 Different colors represent different fish families. The outer circle is a picture of each fish species. Pictures of *E. japonicus*, *O. gorbusha*, *O. kisutch*, *T. steindachneri*, *T. obesus*, *T. albacares*, *X. gladius*, *M. nigricans*, *T. alalunga*, *N. resplendens*, *T. crenularis*, *S. californiensis* are from FishBase.

图4 西北太平洋鱼类 CO I 序列系统发育树
 Fig. 4 Phylogenetic tree of CO I sequences of Northwest Pacific Ocean fishes

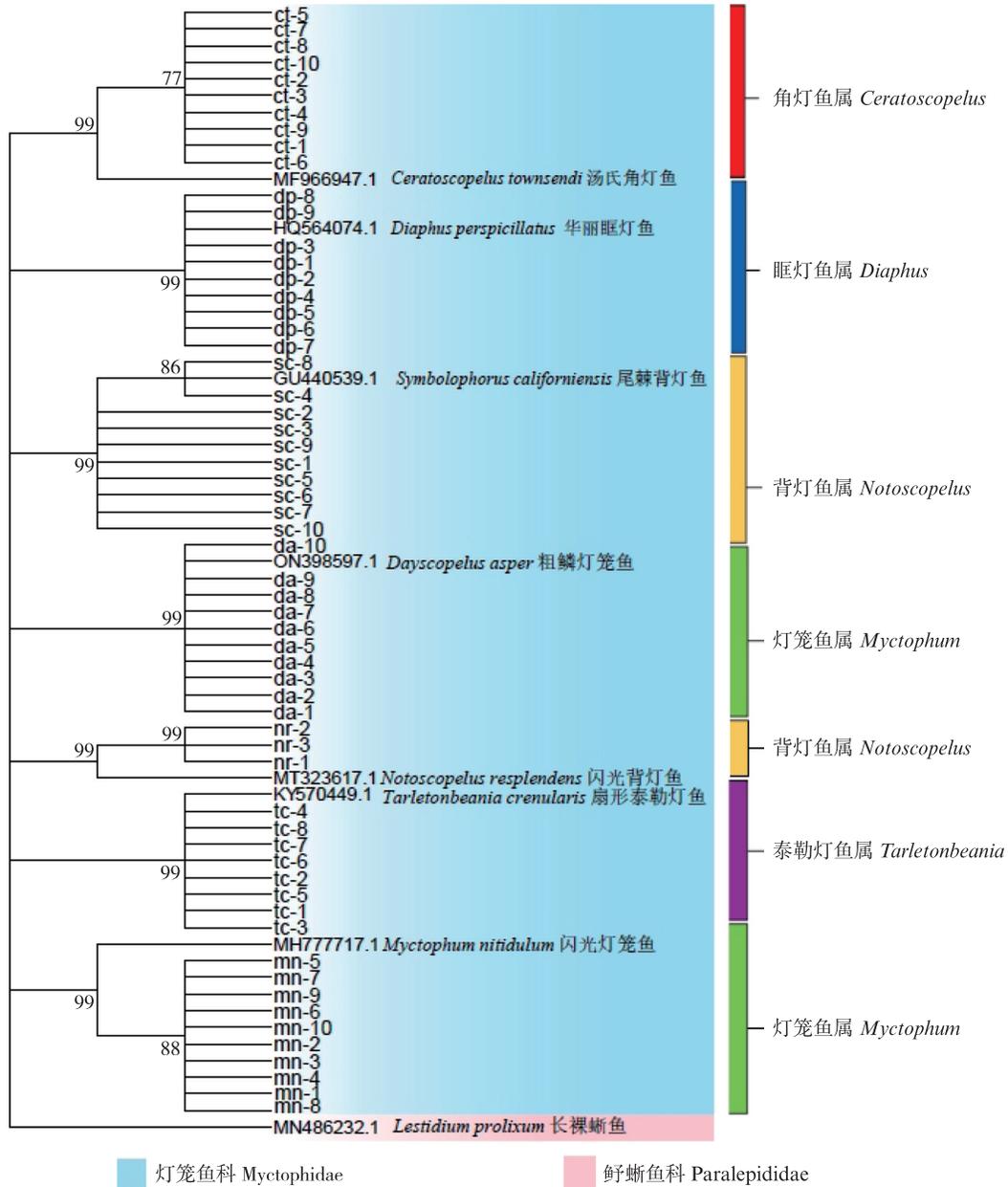


图5 灯笼鱼科 Myctophidae 系统发育树
 Fig. 5 Phylogenetic tree of the Myctophidae

3 讨论

为了使 eDNA 宏条形码技术在西北太平洋鱼类多样性的调查中得到有效的应用,更好地实现物种快速、准确、低成本的鉴定。本研究建立了西北太平洋基于 CO I 基因的常见鱼类 DNA 条形码本地参考数据库。

3.1 数据库覆盖率

在本研究中,大部分鱼类 CO I 序列能够在 NCBI 数据库中比对到高相似度序列,但仍有 22.04% 的序列无法比对到高相似度的序列,说明

西北太平洋鱼类的遗传信息在现有的公共数据库中是相对缺乏的,这直接限制了基于公共数据库的物种注释的可靠性^[24]。NICHOLAS 等^[25]和 JERDE 等^[26]的研究也表明,NCBI 数据库对一些地方特有种的条形码收集十分不健全,难以满足鱼类多样性的调查需求。对于常见种,虽然 NCBI 数据库已经收录了较多的参考序列,但仍然存在定种错误(同物异名)等情况^[13],这导致基于公共数据库比对后得到的候选物种数量较多,序列注释受到错误信息干扰程度也随之增大^[26-27],增加了判定自测序列所对应的真实物种的工作量。

在本研究中,经形态学鉴定为费氏星衫鱼、中间光鳞鱼、尾棘背灯鱼和日本背灯鱼的4个物种在NCBI数据库中均比对不到高相似度序列,只能大致推断其隶属的科或属。由于NCBI数据库中缺乏上传序列的相关作者对该物种序列的详细分类验证和支持信息,可能产生物种的错误识别^[18]。根据RIMET等^[28]的观点,条形码序列的可靠性取决于其元数据(包括DNA条形码的主要数据和所有辅助信息)是否可用,这包括准确鉴定的样本凭证、照片、分类名称、收集地点、储存设施信息和条形码作者;使用DNA条形码的方法鉴定识别类群还取决于条形码参考数据库中当地物种的地理覆盖范围^[29]。由于NCBI数据库中存在的该4种鱼类CO I参照序列内容较为陈旧,数据长时间未更新,所以不能确定NCBI数据库中的这4种鱼类是否和本研究中所捕获鱼类来自同一片海域,从而造成比对到的序列相似度较低。综上,由于条形码详细信息的缺失和巨大差异,导致大量物种无法被正确识别,亟须建立规范化的物种条形码数据库,为相关海域快速准确地进行物种多样性调查提供基础支撑。

3.2 CO I条形码在西北太平洋常见鱼类物种鉴定中的适用性

由于CO I基因在鱼类中表现出较高的物种特异性,具有进化速度适中、相对保守的特点,在多种不同群体中,CO I基因展现出明显的种内与种间遗传距离的分离,即存在“条形码间隙”,同时CO I基因的序列变化可以提供有关物种之间进化关系的信号,有助于构建系统发育树来理解物种之间的亲缘关系^[10-11]。此外CO I基因的片段大小适宜,易于通过PCR扩增和测序,检测简单高效。这些特点都充分阐明了CO I基因是鱼类鉴定中一个有效且适用的分子标记,尤其适合快速准确的物种鉴定和生物多样性评估。

种内遗传距离和种间遗传距离的计算有助于了解自建数据库中遗传距离的分布,为今后物种注释时确定遗传距离阈值提供参考信息;遗传距离的比较及系统发育树的构建则有助于判断多条序列的遗传关系,以检验用于测序的鱼类样本鉴定分类的正确性。本研究中所有鱼类的种内平均遗传距离为0.003,种间平均遗传距离是

种内平均遗传距离的77.33倍,这一结果符合HEBERT等^[30]提出的“0.02”原则和“ $\times 10$ ”原则。此外,有5个鲭科物种对应的4个种间遗传距离均 ≤ 0.02 (表2),分别是澳洲鲭(*Scomber australasicus*)和日本鲈、大眼金枪鱼和黄鳍金枪鱼、大眼金枪鱼和长鳍金枪鱼、黄鳍金枪鱼和长鳍金枪鱼。由于澳洲鲭和日本鲈都为鲭属鱼类,3种金枪鱼都为金枪鱼属鱼类,分布区域重叠,存在混栖现象,且西北太平洋复杂的洋流体系可能促进不同地理群体之间的基因交流,因此会出现种间遗传距离较小的情况^[31]。通过对澳洲鲭和日本鲈这两种鱼类的CO I序列进行比较,发现二者相似度为98.46%,存在10个碱基的差异;大眼金枪鱼和黄鳍金枪鱼CO I序列相似性高达99.24%,仅有5个碱基的差异;大眼金枪鱼和长鳍金枪鱼CO I序列相似性为98.17%,存在12个碱基的差异;黄鳍金枪鱼和长鳍金枪鱼CO I序列相似性为98.63%,存在9个碱基的差异。由于以上几种鱼类同属之间的相似度都高于98%,仅存在少数几个碱基的差异,导致该类型的物种无法被区分开,说明CO I基因可能无法对亲缘关系很近且生活海域相同的同属物种进行准确鉴定。但基于CO I序列构建的NJ系统发育树显示,同属和同种的鱼类可以很好地聚为一支,表明CO I基因可以较好地对比西北太平洋常见鱼类物种进行区分,而且可以分析不同物种间的亲缘关系。

综上所述,本研究初步构建了西北太平洋鱼类DNA条形码数据库,通过比对证明了建立本土数据库的必要性。同时,证明了CO I条形码基本能够很好地适用于海洋鱼类的鉴定,但只依靠单一的条形码基因往往不能准确地鉴定区分一些物种。未来可以利用多基因条形码进行验证和补充^[32],例如常用的线粒体12S rRNA基因,由于其物种内的变异较低,物种间的变异较高,进化速度相对较快,同时序列中含有变异较大的一些区域,可以很好地进行鱼类物种鉴定^[5,10,14],与CO I基因联合使用可以通过对结果的相互印证来提高鱼类物种鉴定的准确度。完整的西北太平洋鱼类DNA条形码数据库的构建是一项长期的工作,仍需要不断地积累和丰富鱼类物种,从而提高物种鉴定的准确度。

参考文献:

- [1] 陈新军. 我国远洋渔业高质量发展的思考[J]. 上海海洋大学学报, 2022, 31(3): 605-611.
CHEN X J. Reflections and suggestions on high-quality development of distant-water fisheries in China [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2022, 31 (3) : 605-611.
- [2] 刘思源, 张衡, 杨超, 等. 基于最大熵模型的西北太平洋远东拟沙丁鱼和日本鲭栖息地差异[J]. 上海海洋大学学报, 2023, 32(4): 806-817.
LIU S Y, ZHANG H, YANG C, et al. Differences in habitat distribution of *Sardinops melanostictus* and *Scomber japonicus* in the northwest Pacific based on a maximum entropy model [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2023, 32(4) : 806-817.
- [3] 梁绪虹, 王丛丛, 刘必林, 等. 基于环境 DNA 技术的黑潮-亲潮交汇区夏季鱼类物种多样性分析[J/OL]. 上海海洋大学学报: 1-19. (2024-06-03). <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2024.20240312.0921.002.html>.
LIANG X H, WANG C C, LIU B L, et al. Study on fish diversity in the Kuroshio-Oyashio confluence region in summer based on environmental DNA technology [J/OL]. Journal of Shanghai Ocean University: 1-19. (2024-06-03). <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2024.20240312.0921.002.html>.
- [4] 丁琪, 陈新军, 方舟, 等. 西北太平洋沿海国海洋渔业资源可持续利用评价[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2015, 45(3): 54-66.
DING Q, CHEN X J, FANG Z, et al. Evaluate sustainable utilization of marine fishery resources in coastal states of the Northwest Pacific Ocean [J]. Periodical of Ocean University of China, 2015, 45(3) : 54-66.
- [5] 王月. 赤水河鱼类环境 DNA 宏条形码参考数据库的构建及应用[D]. 大连: 大连海洋大学, 2022.
WANG Y. Establishment and application of metabarcoding reference database for fish environmental DNA in Chishui River [J]. Dalian: Dalian Ocean University, 2022.
- [6] MENG H, LIN Y Y, ZHONG W J, et al. Fish biomonitoring and ecological assessment in the Dianchi Lake Basin based on environmental DNA [J]. Water, 2023, 15(3): 399.
- [7] 邢超, 林依, 周智强, 等. 基于 DNA 条形码技术构建王朗国家级自然保护区陆生脊椎动物遗传资源数据库及物种鉴定[J]. 生物多样性, 2023, 31(7): 22661.
XING C, LIN Y, ZHOU Z Q, et al. The establishment of terrestrial vertebrate genetic resource bank and species identification based on DNA barcoding in Wanglang National Nature Reserve [J]. Biodiversity Science, 2023, 31(7): 22661.
- [8] JI Y Q, ASHTON L, PEDLEY S M, et al. Reliable, verifiable and efficient monitoring of biodiversity via metabarcoding [J]. Ecology Letters, 2013, 16(10): 1245-1257.
- [9] 陈炼, 吴琳, 刘燕, 等. 环境 DNA metabarcoding 及其在生态学研究中的应用[J]. 生态学报, 2016, 36(15): 4573-4582.
CHEN L, WU L, LIU Y, et al. Application of environmental DNA metabarcoding in ecology [J]. Acta Ecologica Sinica, 2016, 36(15) : 4573-4582.
- [10] 蒋佩文, 李敏, 张帅, 等. 基于线粒体 CO I 和 12S rDNA 基因构建珠江河口鱼类 DNA 宏条形码数据库[J]. 南方水产科学, 2022, 18(3): 13-21.
JIANG P W, LI M, ZHANG S, et al. Construction of DNA meta-barcode database of fish in Pearl River Estuary based on mitochondrial cytochrome CO I and 12S rDNA gene [J]. South China Fisheries Science, 2022, 18(3) : 13-21.
- [11] 陈治, 蔡杏伟, 张清风, 等. 海南岛淡水鱼类环境 DNA 宏条形码参考数据库的初步构建及比较分析[J]. 南方水产科学, 2022, 18(3): 1-12.
CHEN Z, CAI X W, ZHANG Q F, et al. Preliminary construction and comparative analysis of environmental DNA metabarcoding reference database of freshwater fishes in Hainan Island [J]. South China Fisheries Science, 2022, 18(3) : 1-12.
- [12] WEIGAND H, BEERMANN A J, ČIAMPOR F, et al. DNA barcode reference libraries for the monitoring of aquatic biota in Europe: Gap-analysis and recommendations for future work [J]. Science of the Total Environment, 2019, 678: 499-524.
- [13] 汪曦. 河南省鱼类 DNA 条形码数据库构建及隐存种挖掘[D]. 河南: 河南师范大学, 2019.
WANG X. Construction of fish DNA barcode database and excavation of cryptic species in Henan Province [D]. Henan: Henan Normal University, 2019.
- [14] 陈治, 高天翔. 线粒体 12S 与 CO I 条形码对海洋鱼类的鉴定差异[J]. 海南热带海洋学院学报, 2023, 30(2): 10-16.
CHEN Z, GAO T X. Differences in the identification of marine fish by mitochondrial 12S and CO I barcodes [J]. Journal of Hainan Tropical Ocean University, 2023, 30 (2) : 10-16.
- [15] 程静, 陈玉佩, 叶嘉文, 等. 我国蓑鲉亚科鱼类 DNA 条形码及分子系统进化研究[J/OL]. 海洋渔业, (2024-03-26). <https://doi.org/10.13233/j.cnki.mar.fish.20240325.001>.
CHENG J, CHEN Y P, YE J W, et al. DNA barcoding and molecular phylogeny of pteroninae species in China Sea [J/OL]. Marine Fishery, (2024-03-26). <https://doi.org/10.13233/j.cnki.mar.fish.20240325.001>.
- [16] WARD R D, HANNER R, HEBERT P D N. The campaign to DNA barcode all fishes, FISH-BOL [J]. Journal of Fish Biology, 2009, 74(2): 329-356.

- [17] WANG L J, WU Z H, SUN G Q, et al. The preliminary DNA barcoding dataset of fishes from Chinese coastal waters [J]. *Regional Studies in Marine Science*, 2022, 56: 102699.
- [18] MEIKLEJOHN K A, DAMASO N, ROBERTSON J M. Assessment of BOLD and GenBank - their accuracy and reliability for the identification of biological materials [J]. *PLoS ONE*, 2019, 14(6): e0217084.
- [19] 伍汉霖, 钟俊生. 中国海洋及河口鱼类系统检索[M]. 北京: 中国农业出版社, 2021.
WU H L, ZHONG J S. Key to marine and estuaries fishes of China[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2021.
- [20] 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: Biological Sciences*, 2005, 360(1462): 1847-1857.
- [21] 刘思源, 张衡, 杨超, 等. 西北太平洋远东拟沙丁鱼与日本鲭种群动态特征及其与环境因子关系研究进展 [J]. *大连海洋大学学报*, 2023, 38(2): 357-368.
LIU S Y, ZHANG H, YANG C, et al. Relationship between stock dynamics and environmental variability for Japanese sardine (*Sardinops sagax*) and chub mackerel (*Scomber japonicus*) in the Northwest Pacific Ocean: a review [J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2023, 38(2): 357-368.
- [22] 王良明. 西北太平洋游泳动物种类组成及主要优势种的生物学特征[D]. 厦门: 国家海洋局第三海洋研究所, 2018.
WANG L M. The composition of nekton an biological characteristic of main dominant species in northwestern Pacific Ocean [D]. Xiamen: Third Institute of Oceanography, State Oceanic Administration, 2018.
- [23] 赵国庆. 西北太平洋公海日本鲭(*Scomber japonicus*)渔业生物学及渔场变动研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2023.
ZHAO G Q. Study on fishery biology and fishing ground changes of chub mackerel (*Scomber japonicus*) in the high seas of the Northwest Pacific [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2023.
- [24] 金珂. 太湖大型底栖动物环境DNA宏条形码快速监测技术应用研究[D]. 南京: 南京大学, 2021.
- JIN K. Application Research on environment DNA metabarcoding rapid monitoring technology of Macroenthos in Taihu Lake [D]. Nanjing: Nanjing University, 2021.
- [25] LIM N K M, TAY Y C, SRIVATHSAN A, et al. Next-generation freshwater bioassessment: eDNA metabarcoding with a conserved metazoan primer reveals species-rich and reservoir-specific communities [J]. *Royal Society Open Science*, 2016, 3(11): 160635.
- [26] JERDE C L, MERDE A R, CAMPBELL T, et al. Are genetic reference libraries sufficient for environmental DNA metabarcoding of Mekong River Basin fish? [J]. *Water*, 2021, 13(13): 1767.
- [27] ALAM M J, KIM N K, ANDRIYONO S, et al. Assessment of fish biodiversity in four Korean rivers using environmental DNA metabarcoding [J]. *PeerJ*, 2020, 8: e9508.
- [28] RIMET F, AYLAGAS E, BORJA A, et al. Metadata standards and practical guidelines for specimen and DNA curation when building barcode reference libraries for aquatic life [J]. *Metabarcoding and Metagenomics*, 2021, 5: e58056.
- [29] LI F L, ZHANG Y, ALTERMATT F, et al. Gap analysis for DNA-based biomonitoring of aquatic ecosystems in China [J]. *Ecological Indicators*, 2022, 137: 108732.
- [30] HEBERT P D N, CYWINSK A, BALL S L, et al. Biological identifications through DNA barcodes [J]. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 2003, 270(1512): 313-321.
- [31] LIU J X, GAO T X, WU S F, et al. Pleistocene isolation in the Northwestern Pacific marginal seas and limited dispersal in a marine fish, *Chelon haematocheilus* (Temminck & Schlegel, 1845) [J]. *Molecular Ecology*, 2007, 16(2): 275-288.
- [32] 曲欣宇, 刘璐, 李纯厚, 等. 黄、渤海鱼类DNA条形码信息平台构建及应用 [J]. *水产学杂志*, 2022, 35(6): 37-44.
QU X Y, LIU L, LI C H, et al. Construction and application of DNA barcoding system for fishes in Yellow Sea and Bohai Sea [J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2022, 35(6): 37-44.

Construction of DNA barcode reference database of common fish in Northwest Pacific Ocean based on *CO I* gene

XU Yingqi¹, LIANG Xuhong¹, CHEN Xinjun^{1,2,3,4}, SONG Chenghui¹, PENG Zukun¹, WANG Congcong^{1,2,3,4,5}

(1. College of Marine Living Resource Sciences and Management, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Key Laboratory of Sustainable Exploitation of Oceanic Fisheries Resources, Ministry of Education, Shanghai 201306, China; 3. National Distant-water Fisheries Engineering Research Center, Shanghai 201306, China; 4. Key Laboratory of Sustainable Utilization of Oceanic Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai 201306, China; 5. Marine Biomedical Science and Technology Innovation Platform of Lin-gang Special Area, Shanghai 201306, China)

Abstract: With the unique geography and complex environment, the Northwest Pacific Ocean has nurtured extremely rich fishery resources, becoming a hotspot for global marine biodiversity conservation and fishery management. In order to more effectively identify and investigate the diversity of fish species, a local DNA barcodes database of common fish in Northwest Pacific Ocean was established. Based on the *CO I* gene sequences of fish, 307 samples of common fish were collected in Northwest Pacific Ocean from June to August 2023. These common fish belonged to 20 genera, 13 families, 7 orders, and 25 fish species. 77.96% of *CO I* sequences can be compared to high similarity sequences in public database. The average interspecific genetic distance was 0.233, and the average intraspecific genetic distance was 0.003, and the interspecific genetic distance was 77.67 times that of the intraspecific genetic distance, and it could form obvious barcode gap. The phylogenetic tree based on *CO I* gene sequences showed that fishes of the same genus first clustered into a single branch, then with fishes of the same family, and finally with fish of different families of the same order. In summary, the *CO I* gene has species specificity and can effectively distinguish common fish species in the Northwest Pacific Ocean. The initial establishment of the DNA barcode database of common fish is conducive to the monitoring and investigation of fish diversity in Northwest Pacific Ocean using environmental DNA technology, providing technical support for biodiversity conservation, resource management, and population dynamic monitoring in Northwest Pacific Ocean.

Key words: fish; *CO I* gene; DNA barcode database; Northwest Pacific Ocean