

# 台湾海峡多管水母属——新种及基于线粒体 COI 序列分析鉴定多管水母

郑连明<sup>1</sup>, 林元烧<sup>1\*</sup>, 李少菁<sup>1</sup>, 曹文清<sup>1</sup>, 许振祖<sup>1</sup>, 黄加祺<sup>1</sup>

(1 厦门大学海洋系, 福建 厦门 361005)

**摘要:** 报道了中国台湾海峡多管水母属一新种——台湾多管水母(*Aequorea taiwanensis* n. sp.), 详细描述其形态特征, 并基于线粒体 COI 基因片段序列, 比较、分析了该新种和乳突多管水母、锥状多管水母的序列差异及遗传距离。形态学和分子学数据都支持台湾多管水母为多管水母属有效种。3种多管水母 mtCOI 基因片段序列在种间存在明显的多态性, 3种多管水母的种间序列差异为 9.10%~11.9%, 种间遗传距离为 0.097~0.130, 说明该基因片段适用于多管水母属种、种以下阶元及地理种群甄别和种间系统进化学分析。结合其他学者研究结果, 认为 mtCOI 序列差异 10%~20% 可以作为多管水母属及其他水螅水母纲动物同属种间差异的标准。

**关键词:** 多管水母属; 新种; 台湾多管水母; 线粒体; DNA; COI; 基因; 序列

中图分类号: Q179

文献标识码: A

文章编号: 0253-4193(2008)04-0139-08

## 1 引言

刺胞动物分子系统研究是近年来刺胞动物分子进化研究中的热点之一<sup>[1-9]</sup>, 但是这些研究主要集中在高分类阶元的刺胞动物系统进化, 对于低分类阶元如科、属的系统发育研究甚少, 而且分子系统学分类系统往往与形态学分类系统产生矛盾。主要的原因在于刺胞动物物种的准确鉴定存在问题。刺胞动物作为分类依据的形态性状极其有限, 且发育的不同阶段和其生境的差异, 作为传统分类依据的形态特征常有较大变化, 加上形态学方法无法鉴定许多群体中普遍存在的隐存分类单元, 这给刺胞动物的物种鉴定带来极大的困难。因此, 仅仅依据形态特征鉴别刺胞动物及分析外形相似物种间的亲缘关系有一定的难度, 也必将制约刺胞动物的系统发育研究。

近年来, 分子遗传学的证据尤其是 DNA 序列分子标记技术逐渐应用到海洋刺胞动物新种发现、物种鉴定及种间界线区分中<sup>[10-15]</sup>。国内对刺胞动物的研

究集中在形态分类上, 分子标记及分子系统发育学研究仅见于柳珊瑚纲及淡水桃花水母<sup>[16-17]</sup>, 海洋水母类还未见相关报道。本文报道中国台湾海峡多管水母属一新种——台湾多管水母(*Aequorea taiwanensis* n. sp.), 详细描述其形态特征, 并比较与其他多管水母的形态差别, 同时基于 mtCOI 基因片段序列差异, 比较、分析了该新种和乳突多管水母(*A. papillata* Huang and Xu, 1984)、锥状多管水母(*A. conica* Browne, 1905)的序列差异及遗传距离, 以期在形态学和分子学两方面寻找台湾多管水母作为多管水母属有效种的证据, 并为多管水母科进一步的遗传分析及系统进化研究提供理论依据和技术方法。

## 2 材料与方法

### 2.1 实验材料

本实验选取台湾多管水母、乳突多管水母和锥状多管水母作为研究对象。3种多管水母采集后均无投喂暂养 24 h, 观测外部形态特征后以 90% 酒精固定。采集地的具体地理位置、时间及样本数见表 1。

收稿日期: 2007-07-03; 修订日期: 2008-05-23。

作者简介: 郑连明(1978—), 男, 福建省长乐市人, 博士研究生, 研究方向为海洋浮游动物生理生态学。E-mail: zhlm@xmu.edu.cn。

作者简介: yslin@xmu.edu.cn

表 1 3 种多管水母采集地及样本数

| 种类     | 采集地点 | 采集时间       | 代号     | 样本数 |
|--------|------|------------|--------|-----|
| 台湾多管水母 | 台湾海峡 | 2006 年 6 月 | A. tw  | 3   |
| 乳突多管水母 | 台湾海峡 | 2005 年 7 月 | A. pap | 5   |
| 锥状多管水母 | 厦门港  | 2006 年 6 月 | A. con | 3   |

## 2 2 实验方法

2 2 1 用蔡司体视显微镜(型号: Stemi 2000- C) 观测新种台湾多管水母的形态特征。

### 2 2 2 基因组 DNA 提取

各取 3 种多管水母部分酒精固定后单只的部分组织, 经梯度乙醇溶液稀释浸泡去除样品中的乙醇后, 灭菌纯水浸泡于 4 °C 过夜; 采用传统酚氯仿法提取 DNA, TE 溶解后、- 20 °C 保存备用。

### 2 2 3 扩增 mtCOI 基因片段序列

引物为通用引物<sup>[18]</sup>:

LCO- 1490 5' - GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G- 3'

HCO - 2198 5' - TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA- 3'

PCR 扩增在 MJ PCR(PTC- 220) 仪上进行。PCR 反应体系总体积 25  $\mu$ L, 其中 PCR 缓冲液 2.5  $\mu$ L, Mg<sup>2+</sup> 1.5  $\mu$ L, dNTP 0.4  $\mu$ L, LCO - 1490 0.20  $\mu$ L, HCO - 2198 0.20  $\mu$ L, Taq 聚合酶 0.15  $\mu$ L, DNA 模板 2.0  $\mu$ L 和灭菌双蒸水 18.05  $\mu$ L。PCR 反应程序设计为: 94 °C 预变性 5 min, 94 °C 变性 40 s, 47 °C 退火 50 s, 72 °C 延伸 1 min 20 s, 循环 35 次, 最后 72 °C 10 min。

1% 琼脂糖凝胶电泳, EB 染色, 全自动凝胶成像系统拍照。测序由上海博亚生物技术有限公司完成。

### 2 2 4 DNA 数据分析

序列由 CLUSTAL X1.81 软件<sup>[19]</sup> 进行多重比对, 并辅以人工校对。DNAMAN 软件统计序列差异度。MEGA 软件<sup>[20]</sup> 统计序列的平均碱基组成 (Base composition), 采用 Kimura 双参数方法 (Kimura- 2 parameter) 计算遗传距离 (Genetic distance) 及标准差; 以 *Eugymnanthea inquilina* (水螅水母纲, 软水母亚纲, 和平水母科) 为外群 (GenBank 登录号: AY789915), 基于 Kimura 双参数模型, 采用邻接法 (NJ, Neighbor- joining) 构建系统树, 重复抽样分析 (Bootstrap) 1 000 次检验分

子系统树各分枝的置信度。

## 3 结果

### 3 1 台湾多管水母, 新种 *Aequorea taiwanensis* n. sp

模式标本: 正模 (AOB- HL251), 副模 (AOB- HL252), 2006 年 6 月在台湾海峡采到 3 个标本, 标本现存于厦门大学海洋系海洋浮游动物生理生态实验室。

词源: 新种台湾多管水母以其首次采集地台湾海峡命名。

鉴别: 本新种伞呈凸透镜形; 生殖腺线状且几乎延伸在整条辐管上; 触手基球呈延长锥状, 触手间有 3~ 5 个缘球, 触手基部和缘球皆具排泄乳突; 通常每两条辐管间有 1 个平衡囊。

描述: 伞宽 25 mm, 伞比半球形更扁平, 呈凸透镜形, 胶质坚硬, 伞中央胶质厚, 向伞缘逐渐变薄。胃宽而大, 约为伞径 1/2, 胃侧壁很广阔, 从辐管末端到口唇有透明辐射线。口唇延长呈细长形, 通常口唇数与辐管数接近。辐管 90~ 102 条, 不分枝; 环管狭; 生殖腺线状, 几乎延伸在整条辐管上。有 12 条缘触手 (本次采集的 3 个标本触手数均为 12), 触手基球呈延长锥状, 触手基部向远端突然变狭, 具有 1 个短的、向轴排泄乳突, 并有分散黑色素。每两条缘触手间有 3~ 5 个小的缘球, 亦同样有排泄乳突, 但无黑色素。通常每两条辐管间有 1 个平衡囊, 具 1~ 2 个平衡石。缘膜狭。见图 1。

本新种胃很宽, 管壁无乳突; 有许多简单辐管; 触手基球有排泄乳突; 内伞无胶质乳突, 故属于多管水母科, 多管水母属 (*Aequorea* Péron and Lesueur, 1810)。

至今多管水母属已知有 18 个有效种<sup>[21]</sup>。本新种与同属其他种的区别是: 胃至少为伞宽的 1/3、生殖腺几乎沿着整条辐管、触手基球两侧或背轴不扩大, 但触手基球延长锥状和触手数比辐管少等特征。形态上与乳突多管水母较相似, 主要区别在触手基部形状、缘球色素有无等。乳突多管水母、锥状多管水母、多管水母 (*Aequorea* Forskal, 1775)、澳洲多管

水母(*A. australis* Uchida, 1947) 和本新种台湾多管水母的主要形态特征比较见表 2。

可以看出, 本新种与其他多管水母在形态特征上有明显的差异, 特别是在目前常作为分类依据的几个形态特征上都有较大差异, 因此, 形态学特征支持台湾多管水母是一个有效种。

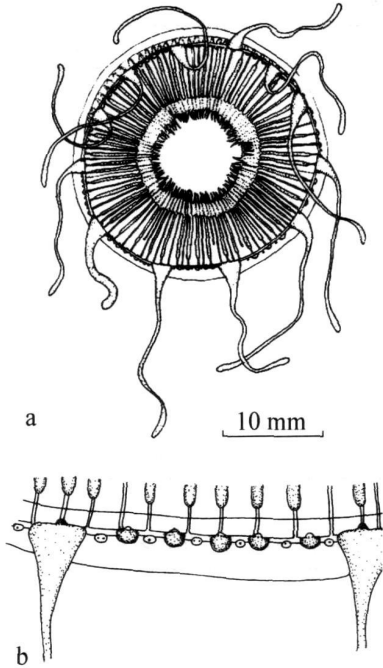


图 1 台湾多管水母, 新种  
a. 口面观, b. 伞缘结构

### 3 2 3 种多管水母 mtCOI 基因片段序列及各碱基含量

DNA 测序获得 mtCOI 基因片段序列 11 条, 其中台湾多管水母 3 条, 乳突多管水母 5 条, 锥状多管水母 3 条。经序列比对后, 选取其中长度为 538 bp 的片段进行后续研究。3 种多管水母 mtCOI 基因片段序列各碱基平均含量相似(如表 3 所示), 其中 A+T 含量明显高于 G+C 含量, 与其他水螅水母的 mtCOI 基因序列研究结果一致<sup>[8-9, 24]</sup>。

台湾多管水母 3 条 mtCOI 序列完全一致, 乳突多管水母和锥状多管水母的多态位点分别为 2 个和 1 个。所获得的这 3 种多管水母的种间序列无插入或缺少位点, 共有变异位点 85 个, 其中转换类型 43 个, 颠换类型 42 个。

### 3 3 3 种多管水母 mtCOI 基因序列差异及遗传距离

统计这 3 种多管水母 mtCOI 基因片段序列差异及遗传距离, 结果显示(表 4, 5): 3 种多管水母的种间序列差异为 9.10%~11.9%, 其中台湾多管水母与乳突多管水母、锥状多管水母差异分别为 11.7%~11.9% 和 9.10%~9.30%, 乳突多管水母与锥状多管水母差异为 11.3%~11.7%; 3 种多管水母的种间相对遗传距离为 0.097~0.130, 其中台湾多管水母与乳突多管水母、锥状多管水母相对遗传距离分别为 0.128~0.130 和 0.097~0.099, 乳突多管水母与锥状多管水母相对遗传距离为 0.123~0.128。

表 2 5 种多管水母主要形态特征的比较

| 种类     | 外伞   | 触手数        | 触手基球形状             | 辐管数                | 生殖腺                | 辐管间平衡囊数  | 缘球或触手芽                      | 资料来源    |
|--------|------|------------|--------------------|--------------------|--------------------|----------|-----------------------------|---------|
| 台湾多管水母 | 凸透镜形 | 12         | 延长锥状, 具排泄乳突        | 90~102 条           | 带状, 几乎延伸在整条辐管      | 1 个      | 每两条缘触手间有 3~5 个小的缘球, 无黑色素    | 本文      |
| 多管水母   | 碟形   | 至少是辐管的 1/2 | 延长锥状, 排泄孔在短的乳突上    | 60~80 条, 最多达 160 条 | 带状, 几乎延伸在整条辐管      | 5~10 个   | 少而分散, 无黑色素                  | 文献 [22] |
| 乳突多管水母 | 凸透镜形 | 9~14       | 向两侧延伸, 末端钝圆, 具排泄乳突 | 64~81 条            | 带状, 几乎延伸在整条辐管      | 1~2 个    | 每两条缘触手间有 5~14 个小的缘球, 具明显黑色素 | 文献 [23] |
| 锥状多管水母 | 锥状   | 26~30      | 钝圆, 无排泄乳突          | 通常 16 条            | 侧扁, 位于辐管的近端        | 1~4 个    | 与触手数相等, 无黑色素                | 文献 [22] |
| 澳洲多管水母 | 近半球形 | 16~40      | 延长锥状, 具排泄乳突        | 16~50 条            | 带状, 近伞缘, 约占辐管的 1/2 | 与触手芽数目相等 | 触手间 2~9 触手芽, 具排泄乳突          | 文献 [22] |

表 3 3 种多管水母 mtCOI 基因片段序列各碱基含量

| 种类     | A (%) | T (%) | G (%) | C (%) | A+ T (%) | 总片段(bp) |
|--------|-------|-------|-------|-------|----------|---------|
| A. tw  | 39.6  | 26.8  | 15.0  | 18.6  | 66.4     | 538     |
| A. pap | 39.0  | 26.3  | 15.3  | 19.4  | 65.3     | 538     |
| A. con | 39.7  | 25.5  | 16.2  | 18.6  | 65.2     | 538     |

表 4 3 种多管水母 mtCOI 基因片段序列差异度 (%)

| 序号 | 种类      | 1    | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9     | 10    | 11 |
|----|---------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|-------|----|
| 1  | A. tw1  |      |      |      |      |      |      |      |      |       |       |    |
| 2  | A. tw2  | 0.00 |      |      |      |      |      |      |      |       |       |    |
| 3  | A. tw3  | 0.00 | 0.00 |      |      |      |      |      |      |       |       |    |
| 4  | A. pap1 | 11.7 | 11.7 | 11.7 |      |      |      |      |      |       |       |    |
| 5  | A. pap2 | 11.9 | 11.9 | 11.9 | 0.20 |      |      |      |      |       |       |    |
| 6  | A. pap3 | 11.7 | 11.7 | 11.7 | 0.00 | 0.20 |      |      |      |       |       |    |
| 7  | A. pap4 | 11.9 | 11.9 | 11.9 | 0.20 | 0.00 | 0.20 |      |      |       |       |    |
| 8  | A. pap5 | 11.7 | 11.7 | 11.7 | 0.20 | 0.40 | 0.20 | 0.40 |      |       |       |    |
| 9  | A. con1 | 9.10 | 9.10 | 9.10 | 11.5 | 11.7 | 11.5 | 11.7 | 11.7 |       |       |    |
| 10 | A. con1 | 9.30 | 9.30 | 9.30 | 11.3 | 11.5 | 11.3 | 11.5 | 11.5 | 0.002 |       |    |
| 11 | A. con1 | 9.30 | 9.30 | 9.30 | 11.3 | 11.5 | 11.3 | 11.5 | 11.5 | 0.002 | 0.000 |    |

表 5 3 种多管水母的相对遗传距离(对角线以下为转换加颠换, 对角线以上为标准差)

| 序号 | 种类      | 1     | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    | 11    |
|----|---------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1  | A. tw1  |       | 0.000 | 0.000 | 0.017 | 0.017 | 0.017 | 0.017 | 0.017 | 0.014 | 0.014 | 0.014 |
| 2  | A. tw2  | 0.000 |       | 0.000 | 0.017 | 0.017 | 0.017 | 0.017 | 0.017 | 0.014 | 0.014 | 0.014 |
| 3  | A. tw3  | 0.000 | 0.000 |       | 0.017 | 0.017 | 0.017 | 0.017 | 0.017 | 0.014 | 0.014 | 0.014 |
| 4  | A. pap1 | 0.128 | 0.128 | 0.128 |       | 0.002 | 0.000 | 0.002 | 0.002 | 0.016 | 0.016 | 0.016 |
| 5  | A. pap2 | 0.130 | 0.130 | 0.130 | 0.002 |       | 0.002 | 0.000 | 0.003 | 0.017 | 0.016 | 0.016 |
| 6  | A. pap3 | 0.128 | 0.128 | 0.128 | 0.000 | 0.002 |       | 0.002 | 0.002 | 0.016 | 0.016 | 0.016 |
| 7  | A. pap4 | 0.130 | 0.130 | 0.130 | 0.002 | 0.000 | 0.002 |       | 0.003 | 0.017 | 0.016 | 0.016 |
| 8  | A. pap5 | 0.128 | 0.128 | 0.128 | 0.002 | 0.004 | 0.002 | 0.004 |       | 0.017 | 0.016 | 0.016 |
| 9  | A. con1 | 0.097 | 0.097 | 0.097 | 0.126 | 0.128 | 0.126 | 0.128 | 0.128 |       | 0.002 | 0.002 |
| 10 | A. con1 | 0.099 | 0.099 | 0.099 | 0.123 | 0.126 | 0.123 | 0.126 | 0.126 | 0.002 |       | 0.000 |
| 11 | A. con1 | 0.099 | 0.099 | 0.099 | 0.123 | 0.126 | 0.123 | 0.126 | 0.126 | 0.002 | 0.000 |       |

### 3.4 系统发育关系

图 2 为基于 mtCOI 基因序列构建的 N-J 树。3 种多管水母彼此之间以极高的置信度 (> 95%) 独立成群。进化树主要分成两枝: 新种台湾多管水母与锥状多管水母以较高的置信度 (95%) 聚为一枝, 显示它们的亲缘关系较近; 乳突多管水母 5 个个体聚成一单枝, *Eugymnanthea inquilina* 作为外群在树的最外层。

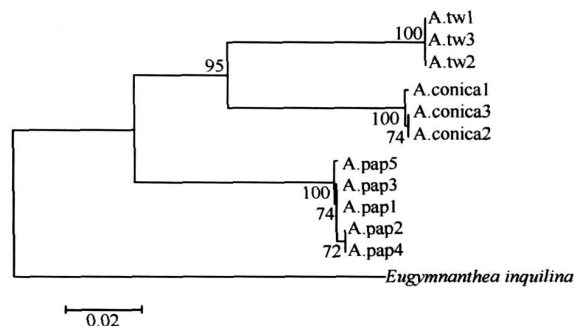


图 2 基于 mtCOI 基因片段序列构建的 3 种多管水母 NJ 分子系统树

## 4 讨论

水母分类学家常基于细微的形态差异来确定新种和鉴别种类,而非专业分类人员却难以清楚的辨认,这阻碍了海洋水母类其他相关领域的研究发展。而且,生境的多样性和复杂性,使得海洋水母类形态特征容易受环境因子的影响,究竟哪些形态特征可以作为分类的依据,也是传统分类学家不得不面对的问题。多管水母属虽然种类不多,但从近岸到大洋均有分布,属生境复杂、形态变异大的一个类群。目前对多管水母属的研究主要集中于形态分类方面,有关分子标记及系统进化研究的报道较少。Collins(2000, 2002) 基于核糖体小亚基基因序列以多管水母及维多利亚多管水母(*A. victoria* Murbach and Shearer, 1902) 为软水母目的代表种参与探讨了水螅虫纲及刺胞动物门的系统进化关系<sup>[3, 25]</sup>。近年来,越来越多的海洋终生浮游动物被发现存在隐存种(cryptic species) 或显示出复杂的分子系统地理歧化(geodivergence), 形态种生物多样性无法反映海洋终生浮游动物真正的物种多样性<sup>[26]</sup>。Dawson 基于 mtCOI 和 ITS1 基因序列数据(未发表,引自文献[27]) 认为多管水母同样存在隐存种和可能错误的分类问题。

### 4.1 台湾多管水母与其他多管水母的遗传差异

线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 是核外 DNA, 具有分子结构稳定、母系遗传、进化较快等特点, 其中, mtCOI 的高变性能揭示生物物种的特征核苷酸序列, 具有较强的中间解析和鉴别能力, 逐渐被证明适用于海洋水母类种间分化、隐存种及地理种群的研究<sup>[28-32]</sup>。

台湾多管水母、乳突多管水母和锥状多管水母的 mtCOI 基因片段序列比对分析结果发现, 在长度为 538 bp 的序列中检测到 85 个变异位点, 且分布平均, 说明本区段是变异高频区, 可以作为多管水母属种间或种群甄别的分子标记。考虑到阶元划分标准的问题, 到底序列差异到何种程度才可以被认定为传统意义上的一个物种? Dawson and Jacobs<sup>[28]</sup> 在对海月水母(*Aurelia aurelia* Linnaeus, 1758) 隐存种的研究中, 结合一些海洋无脊椎动物的种间序列差异程度, 认为 mtCOI 基因序列差异 10% ~ 20% 就可以作为种间差别的标准。作者统计了其他学者的研究结果, 发现水螅纲物种及钵水母纲物种同属种间 mtCOI 基因序列的差异度变化幅度较大

(见表 6), 虽然有些种类种间差异度低值较小(< 10%), 比如美螭水母属种间最小差异为 4%, 蕪枝螭水母属种间最小差异为 6.8%, 但海洋水母类同属种间差异度集中在 10% ~ 20% 范围内, 这表明 mtCOI 基因在水母动物不同类别中的进化速率存在着较大差异。因此, 要准确甄别水母动物的种间差异, 还必须结合诸如形态学、生理生态学等其他性状特征加以佐证。通过比对分析, 发现台湾多管水母与其他两种多管水母的序列差异明显(9.10% ~ 11.9%), 锥状多管水母与乳突多管水母序列差异为 11.3% ~ 11.7%, 差异度与上述统计结果相似, 且远大于基于同片段基因的钵水母纲硝水母(*Mastigias*) 亚种间差异度(< 3%)<sup>[33]</sup> 及 *Catostylus mosaicus* Quoy and Gaimard, 1824 不同地理种群间差异度(平均在 3.61%)<sup>[34]</sup>。由表 2 也可看出, 3 种多管水母的形态差异明显。综上分析, 我们认为 mtCOI 序列差异 10% ~ 20% 可以作为海洋水母动物尤其是水螅水母类同属种间差异的标准, 而新种台湾多管水母与其他多管水母 mtCOI 基因序列差异已经达到种间水平, 可以作为定义新种台湾多管水母分子证据。

研究表明, 遗传差异与形态特征也可能存在矛盾, 形态特征接近可能有较大的遗传差异, 而形态特征差别明显也未必一定有较大的遗传差异。比如, 虽然有关海月水母研究工作很多, 但是, 基于基因序列(mtCOI, mt16S, ITS1) 分析的结果, 表明海月水母有很多形态相似但遗传差异很大的种类<sup>[27-29]</sup>。帕罗群岛海水湖和潟湖中的硝水母虽然由于地理阻隔、环境适应等因素在形态上有巨大的差异, 但 Dawson et al. 研究发现, 该海域的硝水母有很高的遗传相似性(> 94%), 他们认为在帕罗群岛海域的硝水母只存在亚种的差别<sup>[33, 35]</sup>。新种台湾多管水母虽然在形态特征上与乳突多管水母更接近, 但 mtCOI 序列比较表明与锥状多管水母的序列差异反而较小(9.10% ~ 9.30%)。遗传距离也显示台湾多管水母与锥状多管水母的亲缘性更高。从系统进化关系看, 3 种多管水母以极高的置信度(> 95%) 独立成群, 虽然台湾多管水母在进化地位上更接近锥状多管水母, 但两个种互为单源种, 这是系统发育学区分两个不同物种的重要依据。尽管分子学数据与形态学特征有所出入, 但也说明多管水母属物种形态特征的可塑性较高, 有必要结合分子学数据探讨适用于多管水母种类鉴定的独立、可

靠及有效的形态学特征。同时表明多管水母属种间 mtCOI 基因多态性高, 该基因片段可适用于探讨多管水母属的种间进化关系。结合其他基因片段(如 mt16S, ITS1 等)和其他分子标记来研究多管水母科、属、种及种群等不同分类阶元界线区分

及系统进化关系, 可以得到更真实可靠的结果。综上所述, 台湾多管水母与其他多管水母遗传差异明显, 可以确定是一个有效种, 这与基于形态学性状得到的结果一致。

表 6 水螅纲与钵水母纲一些物种同属种间 mtCOI 序列差异度

| 种类                       | 种间序列差异度(%) | 研究者                        |
|--------------------------|------------|----------------------------|
| 美螅水母属 <i>Clytia</i>      | 4~ 16.7    | Govindarajan et al [9]     |
| 藪枝螅水母 <i>Obelia</i>      | 6.8~ 13.5  | Govindarajan et al [9, 13] |
| <i>Bonneviella</i>       | 7.7~ 10.6  | Govindarajan et al [9]     |
| 长钟螅属 <i>Laomedea</i>     | 15         | Govindarajan et al [9]     |
| 直杯螅属 <i>Orthopyxis</i>   | 8.7~ 19.8  | Govindarajan et al [9]     |
| 钟螅属 <i>Campularia</i>    | 15         | Govindarajan et al [9]     |
| * 翼钟水母属 <i>Forskalia</i> | 11.7~ 22.5 | Dunn et al (2005)          |
| 水螅属 <i>Hydra</i>         | 0.9~ 16.8  | Hemrich et al [8]          |
| 海月水母 <i>Aurelia</i>      | 13~ 24     | Dawson and Jacobs [28]     |
| <i>Cassiopea</i>         | 10.2~ 23.4 | Holland et al [30]         |
| 硝水母属 <i>Mastigias</i>    | 6~ 9       | Dawson [35]                |
| 霞水母属 <i>Cyanea</i>       | 11.8~ 15.3 | Dawson [31]                |

\* 翼钟水母属 mtCOI 基因序列来自 GenBank, 登录号为: AY937368- AY937370。

#### 4.2 正确鉴定海洋水母类物种的意义

自林奈双名法确立以来, 分类学经过 200 多年的发展, 积累了大量宝贵的形态学物种鉴定数据。但是, 常规形态学鉴定方法的缺陷使得仅依靠形态学手段进行物种鉴定有一定的局限性、低效性和复杂性, 常常产生同物异名或同名异物的现象。比如由于形态学特征判断标准的争议, 海月水母的种类数也变化不定, 从最多的 20 种到最少的 2 种, Dawson et al. 提出现有的海月水母生态学和系统学的理论有必要在基于分子数据基础上予以重新评

定<sup>[28]</sup>。DNA 分子标记技术可以完成物种的区别和鉴定, 发现新种和隐存种, 区分外来入侵种和地理种群等等, 可以极大地缓解海洋水母类形态分类学由于鉴定方法局限性和分类人才缺乏而面临的巨大挑战, 进而重建真正的物种和高级阶元的演化关系, 推进海洋水母动物进化历史研究。另外, 只有正确地鉴定种类, 才能准确了解海洋水母类在海洋生态系统中的作用, 对海洋水母类的保护生物学, 生物多样性研究的发展及水母渔业品种资源的合理开发利用都起着至关重要的作用。

#### 参考文献:

- [1] BRIDGE D, CUNNINGHAM C W, DESALLE R, et al. Class-level relationships in the phylum Cnidaria: evidence from mitochondrial genome structure[J]. *Mol Biol Evol*, 1995, 12(4): 679-689.
- [2] BERNTSON E A, FRANCES C, MULLINEAU X L S. Phylogenetic Relationships within the Class Anthozoa (Phylum Cnidaria) Based on Nuclear 18S rDNA Sequences[J]. *Mol Phylogenet Evol*, 1999, 13(2): 417-433.
- [3] COLLINS A G. Phylogeny of Medusozoa and the evolution of cnidarian life cycles[J]. *J Evol Biol*, 2002, 15: 418-432.
- [4] SANCHEZ J A, LASKER H R, TAYLOR D J. Phylogenetic analyses among octocorals (Cnidaria): mitochondrial and nuclear DNA sequences (lsu-rRNA, 16S and ssu-rRNA, 18S) support two convergent clades of branching gorgonians[J]. *Mol Phylogenet Evol*, 2003, 29: 31-42.
- [5] COLLINS A G, WINKELMANN S, HADRYSH, et al. Phylogeny of Capitata (Cnidaria, Hydrozoa) and Corynidae (Capitata) in light

- of mitochondrial 16S rDNA data[J]. *Zoologica Scripta*, 2004, 34: 91—99.
- [6] COLLINS A G, DALY M. A New Deepwater Species of Stauromedusae, *Lucernaria janetae* (Cnidaria, Staurozoa, Lucernariidae), and a Preliminary Investigation of Stauromedusan Phylogeny Based on Nuclear and Mitochondrial rDNA Data[J]. *Biol Bull*, 2005, 208: 221—230.
- [7] COLLINS A G, SCHUCHERT P, MARQUES A C, et al. Medusozoan phylogeny and character evolution clarified by new large and small subunit rDNA data and an assessment of the utility of phylogenetic mixture models[J]. *Syst Biol*, 2006, 55(1): 97—115.
- [8] HEMMICH G, ANOKHIN B, ZACHARIASH, et al. Molecular phylogenetics in *Hydra*, a classical model in evolutionary developmental biology[J]. *Mol Phylogenet Evol*, 2006, 44(1): 281—290.
- [9] GOVINDARAJAN A F, BOERO F, HALANYCH K M. Phylogenetic analysis with multiple markers indicates repeated loss of the adult medusa stage in Campanulariidae[J]. *Mol Phylogenet Evol*, 2006, 38: 820—834.
- [10] GREENBERG N, GARTHWAITE R L, POTTS D C. Allozyme and morphological evidence for a newly introduced species of *Aurelia* in San Francisco Bay, California[J]. *Mar Biol*, 1996, 125: 401—410.
- [11] SCHIERWATER B, ENDER A. *Sarsia marii* n. sp. (Hydrozoa, Anthomedusae) and the use of 16S rDNA sequences for unpuzzling systematic relationships in Hydrozoa[J]. *Sci Mar*, 2000, 64: 117—122.
- [12] DAWSON M N. Some implications of molecular phylogenetics for understanding of biodiversity in jellyfishes, with an emphasis on Scyphozoa[J]. *Hydrobiologia*, 2004, 530/531: 249—260.
- [13] GOVINDARAJAN A F, PIRAINO S, GRAVILL C, et al. Species identification of bivalve-inhabiting marine hydrozoans of the genus *Eugymnanthea*[J]. *Invert Biol*, 2005, 124(1): 1—10.
- [14] SCHUCHERT P. Species boundaries in the hydrozoan genus *Coryne*[J]. *Mol Phylogenet Evol*, 2005, 36: 194—199.
- [15] SCHUCHERT P, REISWIG H M. *Brinckmannia hexactinellidophila*, n. gen., n. sp.: a hydroid living in tissues of glass sponges of the reefs, fjords, and seamounts of Pacific Canada and Alaska[J]. *Can J Zool*, 2006, 84: 564—572.
- [16] 李秀保, 黄晖, 张俊彬, 等. 通过核糖体 18S rDNA 探讨珊瑚礁分子系统发育关系[J]. *海洋通报*, 2006, 25(6): 10—19.
- [17] 胡义波, 姜乃澄. 浙江两地产索氏桃花水母核糖体小亚基 rRNA 基因序列分析[J]. *浙江大学学报(理学版)*, 2006, 33(5): 559—566.
- [18] 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: 294—299.
- [19] THOMPSON J D, GIBSON T J, PLEWNIA F. The Clustal\_X windows interface: Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools[J]. *Nuc Acids Res*, 1997, 25: 4876—4882.
- [20] KUMAR S, TAMURA K, NEI M. MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment[J]. *Brief Bioinform*, 2004, 5(2): 150—163.
- [21] BOUILLON J, BOERO F. Phylogeny and Classification of Hydroidomedusae [M]. *Porto Cesaro (Lecce) - N. 24*, 2000: 47—296.
- [22] KRAMP P L. The Hydromedusae of the Pacific and Indian Ocean (sections II and III) [M]. *Dana Rep - N. 72*, 1968: 1—200.
- [23] 黄加祺, 许振祖. 福建沿海水螅水母四新种记述(裸瓣桃花水母亚纲. 被鞘软水母亚纲)[J]. *动物分类学报*, 1994, 19(2): 132—138.
- [24] VÄINÖLÄ R, OULASVIRLA P. The first record of *Maeotias marginata* (Cnidaria, Hydrozoa) from the Baltic Sea: a Pontocaspian invader[J]. *Sarsia*, 2001, 86: 401—404.
- [25] COLLINS A G. Towards understanding the phylogenetic history of Hydrozoa: Hypothesis testing with 18S gene sequence data[J]. *Sci Mar*, 2000, 64: 5—22.
- [26] CHEN Gang. Cryptic Biodiversity and Speciation in Marine Populations: the Holoplankton Paradox[J]. *J Xiamen University (Natural Science)*, 2006, 45(sup. 2): 68—76.
- [27] DAWSON M N. Macro-morphological variation among cryptic species of the moon jellyfish, *Aurelia* (Cnidaria: Scyphozoa) [J]. *Mar Biol*, 2003, 143: 369—379.
- [28] DAWSON M N, JACOBS D K. Molecular evidence for cryptic species of *Aurelia aurita* (Cnidaria, Scyphozoa) [J]. *Biol Bull*, 2001, 200: 92—96.
- [29] SCHROTH W, JARMS G, STREIT B, et al. Speciation and phylogeography in the cosmopolitan marine moon jelly, *Aurelia* sp [J]. *BioMed Cent Evol Biol*, 2002, 2: 1—10.
- [30] HOLLAND B S, DAWSON M N. Global phylogeography of *Cassiopea* (Scyphozoa: Rhizostomae): molecular evidence for cryptic species and multiple invasions of the Hawaiian Islands[J]. *Mar Biol*, 2004, 145: 1119—1128.
- [31] DAWSON M N. *Cyanea capillata* is not a cosmopolitan jellyfish: morphological and molecular evidence for *C. annaskala* and *C. rosea* (Scyphozoa: Semaestomae: Cyaneidae) in south-eastern Australia[J]. *Invert Systems*, 2005, 19: 361—370.
- [32] GOVINDARAJAN A F, HALANYCH K M, CUNNINGHAM C W. Mitochondrial evolution and phylogeography in the hydrozoan *Obelia geniculata* (Cnidaria) [J]. *Mar Biol*, 2005, 146: 213—222.
- [33] DAWSON M N. Five new subspecies of *Mastigias* (Scyphozoa: Rhizostomae: Mastigiidae) from marine lakes, Palau, Micronesia[J].

J Mar Biol Assoc U K, 2005, 85: 679—694.

- [ 34] DAWSON M N. Incipient speciation of *Catostylus mosaicus* comparative phylogeography and biogeography in south east Australia[J]. J Biogeog, 2005, 32: 515—533.
- [ 35] DAWSON M N. Morphological variation and systematics in the Scyphozoa: *Mastigias* (Rhizostomeae, Mastigiidae)-a golden unstandard? [J]. Hydrobiologia, 2005, 537: 185—206.

## Morphological and molecular evidences of *Aequorea taiwanensis* n. sp. from Taiwan Strait, with mtCOI sequence analysis for genus *Aequorea*

ZHENG Liangming<sup>1</sup>, LIN Yuanshao<sup>1</sup>, LI Shaoping<sup>1</sup>, CAO Weiqing<sup>1</sup>, XU Zhenzu<sup>1</sup>, HUANG Jiaqi<sup>1</sup>

(1. Department of Oceanography, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

**Abstract:** *Aequorea taiwanensis* n. sp., a new species of *Aequorea*: from Minnan—Taiwan Shoal fishing ground upwelling region was described in this paper. Mitochondrial cytochrome oxidase subunit I (mtCOI) gene fragments of *A. taiwanensis*, *A. papillata* and *A. conica* was successfully amplified by universal primers, and obtained 538 bp sequences. Sequence divergence and genetic distance was analysed based on the mtCOI gene sequences. Both morphological and molecular data supported that *A. taiwanensis* n. sp. is a valid species. The mtCOI sequences from the three species of genus *Aequorea* showed high variation frequency, with sequence divergences ranging from 9.10% to 11.9% and pairwise genetic distances ranging from 0.097 to 0.130. mtCOI sequence analysis proved to be diagnostic molecular systematic characteristics for accurate identification and discrimination of the species of *Aequorea* or its population, and will be used to resolved evolutionary relationships among species of *Aequorea*. We suggested that a difference of from 10 to 20% between mtCOI sequences indicated species-level divergence among cogenetic species in Hydro-medusa. Morphological description of *Aequorea taiwanensis* n. sp.: Usually 25 mm wide. Umbrella platter than a hemisphere, lens-shaped, with solid jelly, jelly thicker in centre, thinning gradually and evenly towards umbrella margin; manubrium broad and large, about one-half diameter of umbrella; lateral walls very extensive, with transparent lines radiating from ends of radial canals to mouth-lips; mouth-lips elongated, slender-shaped, usually approximately as numerous as radial canals. Radial canals straight and narrow, usually 90~102 in number. Ring canal narrow; gonads linear, extending along almost whole length of radial canals. With 12 marginal tentacles, with elongated conical bases narrowing suddenly distally, with a short adaxial excretory papillae, scattering black pigments. With 3~5 small, marginal bulbs between marginal tentacles with adaxial excretory papillae, but without black pigments. With one statocysts between successive radial canals, each with 1~2 concretions, velum narrow.

**Key words:** *Aequorea*; new species; *Aequorea taiwanensis* n. sp.; mtCOI; sequence