# DNA 条码技术在大型海藻系统学中的研究现状
# Current status of DNA barcoding techniques in the systematic study of macroalgae (seaweeds)

赵小波[1,2], 刘　峰[1], 单体锋[1], 逄少军[1]

(1. 中国科学院 海洋研究所海藻种质库, 山东 青岛 266071; 2. 中国科学院 研究生院, 北京 100049)

中图分类号: Q-1　　文献标识码: A　　文章编号: 1000-3096(2012)12-0090-05

大型海藻(Macroalgae)依据光合色素的不同而分为红藻(Rhodophyta), 褐藻(Phaeophyta)和绿藻(Chlorophyta), 它们是海洋环境中重要的初级生产者。大型海藻可以直接为人类提供食物, 也可以作为饲料转化为动物性蛋白。同时, 大型海藻还是重要的药源生物。近年, 我国科学家仅利用海带就成功得开发出了 PSS、肾海康和甘糖酯等多种药物。此外, 由于大型海藻是自养生物, 对改善近岸富营养化水域有重要作用。我国已经形成了大型海藻育苗、栽培、加工到精加工的产业集群[1]。据世界粮农组织(FAO)统计,2006 年中国海藻养殖业产值为 52 亿美元, 居世界首位[2]。2008 年, 我国大型海藻养殖产量为 150.3 万吨 (干质量) , 占我国海水养殖总量的 11.5%,养殖面积 9.4 万 ha, 年产值近 400 亿元 , 提供近 100 万劳动力就业岗位, 具有重要的社会经济意义[3]。

大型海藻产业的进一步发展需要发掘更多的新海藻种质资源, 包括没有被认识的新海藻种类和已经认识但是没有进行深层次开发和利用的物种。这些工作的基础就是科学、准确地完成对这些活体资源的分类鉴定。传统上藻类分类学家主要以藻体形态特征, 显微结构等特点作为分类依据。但是, 传统分类学方法存在较大的弊端: 大型海藻的形态特征易受环境因素的影响, 发生改变; 并且在物种水平上, 有时形态特征差异极其微弱, 仅凭肉眼鉴定十分困难或者容易出错[4]; 相当数量大型海藻生活史研究的缺乏, 也加大了物种鉴定的难度。此外, 传统分类学的鉴定极其依赖鉴定者的经验, 这也限制了该方法的应用。最近 10 年, 分子系统学发展迅速, 利用 DNA 数据探讨生物的系统发育已经成为研究者普遍接受和采用的手段。加拿大科学家 Hebert 于 2003 年明确提出了 DNA 条码技术(DNA barcoding)的概念, 用于动物学的分类研究[5-6]。随后这一技术迅速推广到生物学其他领域, 其中包括大型海藻的分类鉴定。由于该技术具有利用生物种群中的某些遗传保守性很强的 DNA 片段进行物种鉴定和亲缘关系的定位, 了解其分支来源, 甚至可以预知其进化方向等诸多用途, 因而近年来迅速成为生物分类学家关注的热点。本文作者根据能够收集到的已知文献, 概述了 DNA 条码技术的主要原理特点和在大型海藻分类鉴定上的应用状况以及目前存在的问题, 并结合作者的实际工作特点展望了该技术应用前景。

## 1　DNA 条码技术主要原理与特点

DNA 条码技术(DNA barcoding)是利用标准的、变异度足够的、相对较短且易扩增的 DNA 片段在物种内的特异性和种间的多样性而建立的一种生物物种识别系统, 它可以对物种进行快速准确的自动鉴定[7]。利用 DNA 条码技术可以克服传统分类学的许多缺陷, 例如对于经验的依赖, 对各种形态特征齐全的标本的依赖等。同时, DNA 条码技术在快速检测入侵种,发现隐藏种,调整已有物种分类地位方面取得了重大进展。现在, 在 DNA barcoding 中心数据仓库-《生命条形码数据系统》(BOLD)数据库中, 已经有超过 30 万个条形码序列。研究人员已经对 3 万多个物种进行条形码描绘, 其中多数是鱼类、鸟类和昆虫类。它具有如下特点: (1)不受发育阶段的影响。同种生物的 DNA 序列信息在不同的生命阶段是不变

收稿日期: 2012-05-22; 修回日期:2012-09-12
基金项目: 国家自然科学基金资助项目(41176135)
作者简介: 赵小波(1984-), 男, 山东青岛人, 博士研究生, 从事海藻分类鉴定研究, 电话: 0532-82898567, E-mail: zhaoxiaobo@qdio.ac.cn; 逄少军, 通信作者, 研究员, 电话: 0086-532-82898831, E-mail: sjpang@qdio.ac.cn

的。(2)准确性高。特定的物种具有特定的 DNA 序列信息，而形态学鉴别特征会因环境变化等因素干扰产生误差。(3)通过建立 DNA 条码技术数据库，可一次性快速鉴定大量样本。分类学家将新的研究成果不断地加入数据库，成为永久性资料。(4)不受物种限制。一个标准 DNA 条码技术数据库建立之后,可使各种物种的分类鉴定不限于原产物种、濒危物种或入侵种等。(5)可简化鉴定过程。该技术是可机械重复的，只要设计一套简单的实验方案，经过简单培训的研究者即可操作[8-9]。

在一系列的研究中[4-6]，COI (线粒体细胞色素 C 氧化酶亚基 I)基因被广泛推荐作为标准的 DNA barcoding。原因在于 COI 基因能够保证足够变异的同时又相对容易被通用引物扩增,而且目前研究结果表明，其 DNA 序列本身很少存在插入和缺失。同时，它还拥有蛋白编码基因所共有的特征，即密码子第 3 位碱基不受自然选择压力的影响，可以自由变异[10]。近年来，其他序列，如核糖体 RNA 内转录间隔区(ITS)，核酮糖 1,5-二磷酸羧化/氧化酶大亚基基因(*rbc*L), UPA (universal plastid amplicon, domain V of the 23S rDNA)等也被广泛应用于物种鉴定。

## 2 DNA 条形码技术在大型海藻分类鉴定上的应用

### 2.1 DNA 条形码技术在红藻研究上的进展

加拿大科学家 Saunders 调查了 6 目 15 科的红藻样品，认为 COI 基因在红藻中约为 710 个碱基对，种内基因变化为 0~0.3%，种间则达到了 4.5%~13.6%。虽然 *Mazzaella linearis* 与 *M. splendens* 之间只有 0.8%~1.2%的差异，*Dilsea carnosa* 与 *D. integra* 之间只有 1.1%的差异，但是分子生物学比对结果却能正确地区分不同的种，与经典形态学的结果一致，因此 COI 基因可用于红藻种水平的分类鉴定[11]。Robba 等研究了 6 目 48 个红藻样品，得出了类似的结论[4]。

但是 COI 基因在实际应用中具有一定的缺陷，即缺乏通用引物，这一点在本实验室的研究以及相关文献中均得到证实[12-14]。为了提高使用 DNA 序列鉴别物种的可靠性与可行性，需要考虑使用其他序列作为 COI 的补充[15]。Goff 等[16-19]认为已在陆地植物鉴别上广泛使用的 ITS 序列可以用来识别红藻类群。Hu 等[20]分析了 12 属 96 种的红藻 ITS 序列，发现其中 95%的 ITS 序列长度为 600~1200bp,并且与对应种属的 COI 基因序列比对，进而认为 ITS 序列可以作为 COI 的有力补充，可在种的水平对红藻进行分类鉴定。但是也有部分科学家认为 ITS 序列不适宜作为鉴别红藻物种的分子生物学手段[21-22]。例如 Saunders[11]通过实验，认为 ITS 的实验结果会出现错误。本实验室在研究中也发现,红藻的 ITS 序列具有多态性，会干扰后续实验分析，因此不推荐 ITS 序列作为红藻的 DNA Barcoding(未发表)。此外, UPA 序列也开始广泛的测试，以检测其在红藻分类鉴定中的作用。一系列的研究表明, UPA 序列具有在物种水平上区分红藻的潜力[23-25]。本实验室的研究结果也表明，UPA 序列具备区分红藻物种的潜力，但是相对 COI 基因, UPA 变异度较低，是否可以区分亲缘关系较近的物种需要进一步的实验验证。

红藻 DNA 条码技术在实际应用中也取得了一定的进展。江蓠科海藻是世界上主要的琼胶来源[26-27]，对于它的研究不仅具备极高的应用价值，也具备很高的生态价值；传统上，江蓠科在加拿大只有 3 个种的分布[28]。Saunders[29]检测了加拿大沿海诸省的 151 个样品的 COI 基因，发现除传统的 3 个种之外,又发现了一个“新”种。进一步的研究认为该种与美国得克萨斯州收集到的样品具有相似的 COI 基因，从而 Saunders 提出了生物入侵的问题。此外，使用 DNA 条码技术还可以帮助研究人员发现隐藏种。Robba 利用 COI 基因序列比对，在 *Bangia fuscopurpurea*, *Corallina officinalis* 均发现了隐藏种，样品之间具有 28~52bp 的差异[4]。Milstein[13]在研究紫菜的基因条码时发现了一个 *Porphyra acanthophora* 的隐藏种，样品之间 COI 基因序列的差异达到了 11.6%。

### 2.2 在褐藻研究方面的进展

加拿大水域的墨角藻属(*Fucus*),传统上以栖息地，叶状体的形态，繁殖特征为分类依据。但在实际应用中，却面临许多困难[30]。为了解决这一问题, Kucera 等[31]提取了 125 个样品 COI 基因的序列，发现种内的差异为 0.3%，与红藻及其他许多物种相一致；种间水平上(5~23 个碱基不同)，却要低于红藻的水平(大于 30 个碱基)。但是与经典形态学分类法比较，仍可以将墨角藻属的不同种鉴别出。此外, DNA 条码技术还可以纠正传统分类学的错误。例如, Coyer 等[32]使用 COI 基因对加拿大墨角藻属进行了分子生物学研究，根据实验结果, Coyer 等建议将 *Fucu distichus* 和 *F.gardneri* 归为同一个种，并且将加拿大的墨角藻归为 4 个种，除前述之外，尚有太平洋的 *F.spiralis*,

大西洋的 *F.vesiculosus* 和 *F.serratus*。

翅藻属(*Alaria*)由于易受环境因素的影响，导致在相似环境的分布区内，同属各种之间形态学特征极为相似，有时难以区分[33-34]。Lane [35]研究了东北太平洋 54 个翅藻属样品的 COI 基因、ITS 序列和 rbcL 基因后，提出 COI 基因可以将翅藻属区分到种的水平，进而提出可将该基因应用于褐藻整体的分类鉴定的理论；ITS 序列进化速率过快，不适宜作为鉴定翅藻属内种水平的分子生物工具； rbcL 基因由于保守型过强，不能将翅藻属区分到种的水平。此外，他还结合形态学，生态学及分子生物学的方法，提出将 *Alaria fistulosa* 从翅藻属内独立出来，成为翅藻科内的一个新属。

为了进一步验证 COI 基因在褐藻分类鉴定方面的作用，McDevit 研究了褐藻 9 科 106 个样品(包括 Alariaceae、Chordariaceae、Costariaceae、Dictyotaceae、Laminariaceae、Lessoniaceae、Phyllariaceae、Sargassaceae 和 Scytosiphonaceae)的 COI 基因序列，发现种内变化为 0～0.46%，种间变化为 3.04%～10.80%，可以将研究的样品区分到种的水平。同时，他也做了相关 ITS 序列的研究，发现种内变异为 0～1%，种间变异为 4.6%～6.3%，其遗传分析时具有与 COI 基因相类似的结果，也可以作为分类鉴定的手段[36]。这一点与 Lane 等不同。但是相对于红藻的 DNA 条码技术，褐藻领域相关方面的研究尚显薄弱，需要进一步的发展。

### 2.3 DNA 条形码技术在绿藻领域的进展

黄海海域近年来发生大规模绿藻暴发现象[37]，导致了海洋生态问题以及社会问题[38]。Liu 等采集发时的样品，结合形态学方法，研究了样品的 ITS 序列，发现 2008 年在青岛海域发生的绿藻暴发现象是由 *Ulva prolifera* 引起的，同时发现该种并非青岛原产，为绿藻大规模暴发的预防与溯源提供了科学依据[39-40]。Wang 等[41]使用 ITS 和 rbcL 序列研究了黄海两侧石莼属(*Ulva*)与浒苔属(*Enteromorpha*)的分布，共计发现 5 种浒苔属，3 种石莼属，并显示了浒苔属和石莼属在黄海两侧的分布区域。张晓雯等[42]对 2008 年黄海采集的 22 个浒苔以及青岛海域采集的样品利用 ITS 和 5.8S 序列进行分析，发现完全一致，应成琦等[43]对 2008 年山东青岛，江苏如东，江苏连云港海区采集的样品做了 ITS 以及 18S 序列分析，结果表明，3 个海区样品的 ITS 以及 18S 序列完全一致。

Stam 等使用 ITS 基因研究了美国佛罗里达，美属维尔京群岛，巴哈马等地出售的蕨藻，在所有 256 个样品中共发现 14 个种，其中总状蕨藻(*Caulerpa racemosa*)最为常见，其次为棒叶蕨藻(*Caulerpa sertularioides*)等。Stam[44]指出，为了监测蕨藻的生物入侵，必须使用 ITS 序列，因为使用形态学手段来鉴别蕨藻是不可靠的，有超过 12%的错误率。

## 3 DNA 条形码技术的争议及前景

经过近几年的发展，DNA 条形码技术已经取得了较大进步，但是，在得到了许多生物学家的支持也有部分学者对此持怀疑态度，对该技术的价值存在一些争议，认为这个新技术会削弱或者取代以形态学为基础的传统分类方法[45-46]。

此外，大型海藻 DNA 条码技术的选择尚未有统一标准。分类学家希望能应用一小段 DNA 序列就可以区别所有大型海藻。但根据目前的研究，仅仅运用 COI 这一基因来实现对所有海藻种的鉴定仍然存在很大的不足。例如，Hana 认为 COI 不适宜在绿藻鉴定中使用(未发表)，COI 基因也尚未发现合适的通用引物；传统形态学和分子生物学还未能达到有效的结合。DNA 条码技术必须依赖传统的形态分类学，在条码技术数据库建立之前，研究必须建立在形态分类学研究的基础上；建库后，验证要以形态分类学结果作为参照标准[8]；Saunders 认为现在关于大型海藻 DNA 条码技术的研究尚浅，需要进一步加深[11]。

目前，对生物资源，特别是野生资源的研究与利用已经成为国家可持续发展能力的重要体现，并且，在很大程度上已成为一个战略问题。此外，对濒危物种和外来物种入侵现象进行评估、监测和预警也需要快速而准确地鉴定物种[9]。当前科学技术的发展，特别是分子生物学和生物信息学的发展与有机结合，为建立全面准确的 DNA 条码技术数据库提供了必要的基础。国家目前已启动或正在酝酿一些项目用来将 DNA 条码技术应用到物种分类中，这不仅反映了国际生物分类学和进化生物学发展的方向，同时也赋予了在中国开展此类研究的良好时机。坐落在山东青岛的中国科学院野生生物种质库海藻种质库(URL: www.mbccc.ac.cn)目前在广泛收集和活体保存我国自有海藻种质资源的基础上，正致力于建立相对完整的 DNA 条码技术数据库，用来识别我国 18000km 海岸线上自然生长的数以千计的海藻物种，并且已在基础理论与实践上取得了一定的进展。

相信随着时间的推移，更多工作的开展，能够被我们利用的基因条码信息会越来越多。

总之，DNA 条码技术作为一个新的生物理论，将产生重大的科学影响和经济意义，同时也应引起国内相关科学工作者更多的关注[10]。DNA 条码技术应该被更好、更广泛的应用于大型海藻的进化来源、进化趋势、物种演变、分类学等方面的研究。

参考文献:


[1] 张学成，秦松，许璞，等. 海藻遗传学[M]. 北京：中国农业出版社, 2005: 1-13.

[2] 联合国粮食与农业组织渔业及水产养殖部. 世界渔业和水产养殖状况(2008) [R]. 罗马：罗马 TPE 出版社, 2009.

[3] 罗丹，李晓蕾，刘涛，等. 我国发展大型海藻养殖碳汇产业的条件与政策建议[J]. 中国渔业经济，2010, 2(28): 81-85.

[4] Robba LS, Russell G L, Barker J, et al. Assessing the use of the mitochondrial cox1 marker for use in DNA barcoding of red algae (Rhodophyta)[J]. American Journal of Botany, 2006, 93: 1101-1108.

[5] Hebert D N, Cywinska A, Ball S L, et al. Biological identifications through DNA barcodes[ J]. Proc Biol Sci, 2003, 270(1512): 313-321.

[6] Hebert D N, Ratnasingham S, Dewaard J R. Barcoding animal life: cytochrome C oxidase I divergences among closely related species [J]. Proc Biol Sci, 2003, 270( supp. l): 96- 99.

[7] 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]. 广东药学学院报，2010，26(4): 430-433.

[8] 闫化学，于杰. DNA 条形码技术在植物中的研究现状[J]. 植物学报, 2010, 45(1): 102-108.

[9] 任保青，陈之端. 植物 DNA 条形码技术[J]. 植物学报, 2010, 45(1): 1-12.

[10] 程佳月，王丽华，彭克美，等. 国际生命条形码计划-DNA Barcoding[J]. 中国畜牧兽医，2009，36(8): 49-53.

[11] Gary W S. Applying DNA barcoding to red macroalgae: a preliminary appraisal holds promise for future applications [J]. Philosophical Transactions of Royal Society B. 2005, 360: 1879-1888

[12] Sherwood A R, Kurihara, Conklin K Y, et al. The hawaiian rhodophyta biodiversity survey (2006-2010): a summary of principal findings[J]. BMC Plant Biology, 2010, http://www.biomedcentral.com/1471-2229/10/258

[13] Milstein D, Medeiros A, Oliveira C. Will a DNA barcoding approach be useful to identify *Porphyra* species (Bangiales, Rhodophyta)?[J]. Journal of Phycology, 2012, 24: 837-845.

[14] Clarkston B E, Saunders G W. A comparison of two DNA barcode markers for species discrimination in the red algal family Kallymeniaceae (Gigartinales, Florideophyceae), with a description of *Euthora timburtonii* sp.nov. [J]. Botany, 2010, 88(2): 119-131.

[15] Newmaster S G, Fazekas A J. DNA barcoding in land plants: evaluation of rbcL in a multigene tiered approach [J]. Canadian Journal of Botany 2006, 84: 335-341.

[16] Goff L J, Moon D A. Molecular delineation of species and species relationships in the red algal agarophytes Gracilariopsis and Gracilaria (Graci-lariales) [J]. Journal of Phycology , 1994, 30: 521-537.

[17] Bellorin A M, Oliverira M C. Phylogeny and systematics of the marine algal family Gracilariaceae (Gracilariales, Rhodophyta) based on small subunit rDNA and ITS sequences of Atlantic and Pacific species[J]. Journal of Phycology, 2008, 38: 551-563.

[18] Verlaque M, Brannock P M, Komatsu T, et al. The genus Grateloupia C. Agardh (Halymeniaceae, Rhodophyta) in the Thau Lagoon (France, Mediterranean): a case study of marine plurispecific introductions [J]. Phycologia, 2005, 44: 477-496.

[19] Lindstrom S C. Cryptic diversity and phylogenetic relationships within the *Mastocarpus papillatus* species complex (Rhodophyta, Phyllophoraceae) [J]. Journal of Phycology , 2008, 44: 1300-1308.

[20] ZiMin H, Guiry M D, Delin D. Using the ribosomal internal transcribed spacer (ITS) as a complement marker for species identification of red macroalgae[J]. Hydrobiologia, 2009, 635: 279-287

[21] Kress W J, Wurdack E A, Zimmer A. Use of DNA barcodes to identify flowering plants [J]. Proceedings of National Academic Sciences USA, 2005, 102: 8369-8374.

[22] Sass C, Little D P, Stevenson D W. DNA barcoding in the Cycadales: testing the potential of proposed barcoding markers for species identification of Cycads [J]. PloS One, 2007, 2: 1154.

[23] Sherwood A R, Presting G G. Universal primers amplify a 23S rDNA plastid marker in eukaryotic algae and cyanobacteria [J]. Journal of Phycology, 2007, 43:

605-608.

[24] Clarkston B E, Saunders G W. A comparison of two DNA barcode markers for species discrimination in the red algal family Kallymeniaceae (Gigartinales, Florideophyceae), with a description of *Euthora timburtonii* sp.nov. [J]. Botany B, 2010, 88(2): 119-131.

[25] Conklin K Y, Kurihara A, Sherwood A R. A molecular method for identification of the morphologically plastic invasive algal genera *Eucheuma* and *Kappaphycus* (Rhodophyta, Gigartinales) in Hawaii [J]. Journal of Applied Phycology, 2009, 21: 691-699.

[26] Rice E L, Bird C J. Relationships among geographically distant populations of *Gracilaria verrucosa* (Gracilariales, Rhodophyta) and related species [J]. Phycologia, 1990, 29: 501-510.

[27] Oliveira E C, Alveal K, Anderson R J. Mariculture of the agar-producing gracilariod red algae [J]. Reviews in Fisheries Science, 2000, 8: 345-377.

[28] Scagel R F. An annotated list of the marine algae of British Columbia and northern Washington (Including keys to genera) [R]. National Museum of Canada, Bulletin, 1957, 150: 1-289.

[29] Gary W S. Routine DNA barcoding of Canadian Gracilariales (Rhodophyta) reveals the invasive species *Gracilaria vermiculophylla* in British Columbia [J]. Molecular Ecology Resources, 2009, 9 (Suppl.1): 140-150.

[30] Engel C R, Brawley S H, Edwards K J. Isolation and cross-species amplification of microsatellite loci from ther fucoid seaweeds *Fucus vesiculosus, F. serratus* and *Ascophyllum nodosum* (Heterokontophyta, Fucaceae)[J]. Mol Ecol Notes, 2003, 3: 180-182.

[31] Kucera H, Saunders G W. Assigning morphological variants of Fucus (Fucales, Phaeophyceae) in Canadian waters to recognized species using DNA barcoding [J]. Botany, 2008, 86: 1065-1079.

[32] Coyer J A, Hoarau G, Pearson, et al. A mt DNA-based phylogeny of the brown algae genus *Fucus* [J]. Mol Phylogenet Evol, 2006, 39: 209-222.

[33] Widdowson T B. A taxonomic revision of the genus *Alaria greville*[J]. Syesis, 1971, 4: 11-49.

[34] Yendo K. A monograph of the genus *Alaria* J. Coll[J]. Sci Tokyo Imp Univ, 1919, 153: 1-145.

[35] Lane C E, Sandra C, Lindstrom, et al. A molecular assessment of northeast Pacific *Alaria* species (Laminariales, Phaeophyceae) with reference to the utility of DNA barcoding [J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2007, 44: 634-648.

[36] McDevit D C, Saunders G W. On the utility of DNA barcoding for species differentiation among brown macroalgae (Phaeophyceae) including a novel extraction protocol [J]. Phycological Research, 2009, 57: 131-141.

[37] Jiang P, Wang J F, Cui Y L, et al. Molecular phylogenetic analysis of attached Ulvaceae species and free-floating Enteromorpha from Qingdao coast in 2007[J]. Chin J Oceanol Limonl, 2008, 26: 276-279.

[38] Sun S, Wang F, Li C, et al. Emerging challenges: Massive green algae blooms in the Yellow Sea[J]. Nat prec, hdl: 10101/npre. 2008. 2266. 1.

[39] Liu F, Pang S J, Thierry C, et al. The dominant *Ulva* strain of the 2008 green algal bloom in the Yellow Sea was not detected in the coastal waters of Qingdao in the following winter [J]. J Appl Phycol , 2010, 22:531-540.

[40] Liu Feng, Pang Shaojun, Xu Na. *Ulva* diversity in the Yellow Sea during the large-scale green algal blooms in 2008–2009 [J]. Phycological Research, 2010; 58: 270-279.

[41] Wang J F, Li N , Jiang P, et al. *Ulva* and *Enteromorpha* (Ulvaceae, Chlorophyta) from two sides of the Yellow Sea: analysis of nuclear rDNA ITS and plastid rbcL sequence data[J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2010, 28(4): 762-768.

[42] 张晓雯, 毛玉泽, 庄志猛, 等. 黄海绿潮浒苔的形态学观察及分子鉴定[J]. 中国水产科学, 2008, 15(5): 822-829.

[43] 应成琦, 张婷, 李信书, 等. 我国近海浒苔漂浮种类ITS与18SrDNA序列相似性分析[J]. 水产学报, 2009, 33(2): 215-219.

[44] Stam W T, Olsen G L, Zaleski S F, et al. A forensic and Phylogenetic survey of *Caulerpa* species (caulerpales, chlorophyta) from the Florida coast, local aquarium shops, and e-commerce: establishing a proactive baseline for early detection[J]. the Phycological Society of America, 2006, 42: 1113-1124.

[45] Gregory T R. DNA barcoding does not compete with taxonomy[J]. Nature, 2005, 434: 9.

[46] Ebach M C, Holdrege C. DNA barcoding is no substitute for taxonomy[J]. Nature, 2005, 434: 9.

(本文编辑: 梁德海)