

我国海域两种大型水母的分子鉴定^{*}

张 姝 张 芳 刘 媛 崔朝霞

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

提要 采用通用引物-PCR 扩增法,测定了辽宁营口海蜇成体的部分 16S 基因序列 578bp、部分 COI 基因序列 633bp,以及黄海海域沙海蜇成体部分 COI 基因序列 645bp、部分 16S 基因序列 479bp。结果表明,海蜇个体间的 16S 序列只有一个变异位点,其余序列完全一致;COI 序列共有 4 个变异位点,碱基之间只存在转换,没有颠换、插入或缺失的位点。沙海蜇个体间的 COI 序列碱基组成完全一致,16S 序列碱基组成也完全一致。从辽宁盘锦和山东胶州所取的水母碟状体和稚水母的测序结果显示,COI 序列与海蜇成体的差异为 0.5%—0.6%,与沙海蜇成体的差异为 18.9%—19.4%;16S 序列与海蜇成体的差异为 0.0%—0.2%,与沙海蜇成体的差异为 13.1%—13.3%。以上结果表明,水母碟状体和稚水母都为海蜇而非沙海蜇。结合 GenBank 中已有的其它水母类 COI 基因同源序列信息,构建分子系统发育树。结果显示:轮环水母亚目(Kolpophorae)和指环水母亚目(Daktyliophorae)以及有肩板族(Scapulatae)和无肩板族(Inscapulatae)的分类划分,与传统分类一致。从分子水平上证明,在黄海海域采集的沙海蜇和在日本采集的越前水母的差异只处于种内水平,两者应为同物异名。

关键词 线粒体基因,海蜇,沙海蜇,水母幼体,分子鉴定

中图分类号 S968.3

海洋浮游动物由于远距离漂移、较少基因流阻隔(May *et al.*, 1994)等生物学特性而具有广泛分布的特点,其形态学分类的研究难度远大于陆生动物和淡水动物(Agassiz, 1862)。水母作为胶质浮游动物的一大类群,包括刺胞动物门(Cnidaria)的水螅水母(hydromedusae)、管水母(siphonophore)、钵水母(scypomedusae)、立方水母(cubomedusae)以及栉水母门(Ctenophora)的栉水母(ctenophore)五大类。但是,由于水母生物地理学研究的缺乏以及不同时期形态变异较大等原因,水母的分类至今仍混淆不清(Mayer, 1910; Gershwin, 2001)。传统分类学者以形态特征来鉴别物种,该方法是建立在形态变异能从本质上揭示遗传变异的基础之上,但水母表型的变异并没有被深入探知,对种的鉴定通常含糊不清,一般都是基于最显著的几个特征。由于水母幼体和成体在表形上差异较大,很多新发现种其实只是一些已知种的幼

体阶段或不同发育时期(Mayer, 1910),加上不同地理种群形态的差异,对水母进行分类的工作十分艰难。

随着分子生物学技术的发展,线粒体基因作为分类学鉴定的一个工具,成为研究热点。线粒体 DNA 与核 DNA 相比,具有结构简单、一级结构的碱基突变率高、进化速度快等特点,更适于进化关系的分析研究。线粒体中的一些基因片段如 COI、16S 等作为分子分类工具,具有一些显著的优点如易于获得、成本低等,是寻求解决现今种类鉴定问题的有效手段(Hebert *et al.*, 2003; Kochzius *et al.*, 2003; Harrison, 2004)。

我国是世界上最早开发利用水母资源的国家。海蜇(*Rhopilema esculentum* Kishinouye, 1891)和口冠水母(俗称:沙海蜇 *Stomolophus meleagris* L. Agassiz, 1862)为我国海区常见的大型水母种类。海蜇隶属刺胞动物门(Cnidaria)、钵水母纲(Scypomedusae)、根口

^{*} 国家自然科学基金资助项目,40606036 号,40676085 号;国家重点基础研究发展计划,2006CB400606 号;国家高技术研究发展计划,2006AA10A406 号。张 姝, E-mail: zhangshu1222@yahoo.com.cn

通讯作者: 崔朝霞, E-mail: zhxcui@yahoo.com.cn

收稿日期: 2007-11-17, 收修改稿日期: 2008-01-18

水母目(Rhizostomeae)、根口水母科(Rhizostomatidae)、海蜇属(*Rhopilema*), 为暖水性河口种类, 分布于中国、日本、朝鲜沿岸(内田亨, 1936; Kramp, 1961; 洪惠馨等, 1978), 是我国重要渔业资源之一, 近年来由于过度捕捞而资源逐渐溃乏。沙海蜇隶属根口水母目(Rhizostomeae)、口冠水母科(Stomolophidae)、口冠水母属(*Stomolophus*), 是近年来东海北部及黄海海域连年发生大型水母类暴发现象的优势种, 已对我国的渔业经济造成巨大损失, 形成海域生态灾难(程家骅等, 2004)。

作者基于线粒体基因信息对海蜇和沙海蜇成体及水母幼体期的样品进行分析, 一是寻找快速、准确鉴定幼体种类的方法以解决因不同发育时期造成的水母分类的困扰, 二是探讨黄海域的生态灾难优势种沙海蜇与越前水母(*Nemopilema nomurai*)的关系, 同时为其它大型水母的鉴定和分类以及系统发生研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

海蜇(*Rhopilema esculentum*)成体(CZ1, CZ2)取自辽宁营口, 沙海蜇(*Stomolophus meleagris*)成体(SZ1—SZ3)采自黄海海域, 采样点经纬度分别为121.0°E、34.5°N, 122.0°E、36.0°N, 124.0°E、34.0°N(图1)。海蜇及沙海蜇成体经形态鉴定后, 取部分伞体部组织保存在95%酒精中。水母碟状体(DZ1—DZ3)采自辽宁盘锦, 稚水母(YZ1, YZ2)采自山东胶州, 均为鲜活样品。

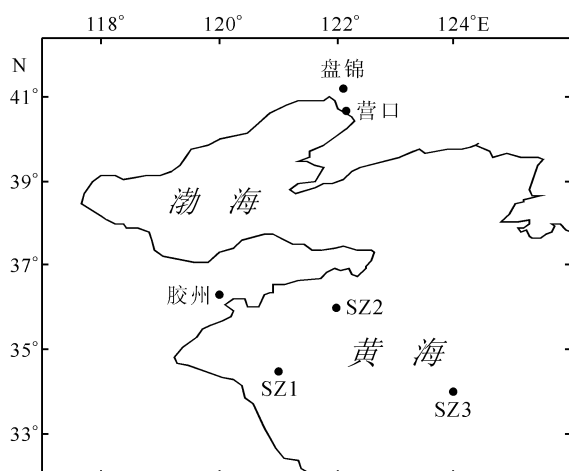


图1 试验样品分布图

Fig.1 The location of sampling

1.2 基因组 DNA 提取

由于水母的含水量高, 且具有组织自溶性等特点, 阻碍了高质量基因组 DNA 的提取。本研究中根据水母不同阶段的生物学特点, 在 CTAB 法、高盐法(Haeckel, 1879)的基础上加以修改, 采用不同处理方式提取各样品的基因组 DNA(专利申请号: 200710015295.X)。提取后经 0.8%琼脂糖凝胶电泳检测、备用。

1.3 线粒体基因片段扩增

线粒体 COI 基因片段扩增采用通用引物 LCO1490: 5'-GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G-3'; HCO2198: 5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3 (Knowlton *et al*, 1998)。16S 基因片段扩增采用通用引物 16Sar-L: 5'-CGC CTG TTT ATC AAA AAC AT-3'; 16Sbr-H: 5'-CCG GTC TGA ACT CAG ATC ACG T-3 (Hebert *et al*, 2003)。PCR 扩增在 Bio-rad MyCyclerTMPCR 仪上进行, 反应体系为 25 μ l, 包括 2.5 μ l 10 $\times$ buffer, 1.5 μ l Mg^{2+} (25mmol/L), 0.5 μ l dNTP (10mmol/L), 0.4 μ l 每条引物(10 μ mol/L), 1U Taq 酶(promega), 其余用超纯水补足。扩增的 PCR 程序: 95 $^{\circ}$ C 预变性 3min, 然后 35 个循环[包括 95 $^{\circ}$ C 变性 30s、40—60 $^{\circ}$ C 退火 30s(因不同物种、不同基因片段而不同)、72 $^{\circ}$ C 延伸 1min], 最后, 72 $^{\circ}$ C 延伸 7min。扩增 16S 基因的 PCR 程序: 95 $^{\circ}$ C 预变性 3min, 然后 35 个循环(包括 95 $^{\circ}$ C 变性 30s、55—61 $^{\circ}$ C 退火 30s、72 $^{\circ}$ C 延伸 1min), 最后, 72 $^{\circ}$ C 延伸 7min。

1.4 PCR 产物纯化及测序

PCR 产物用 Biospin Gel Extracion Kit 进行胶回收, 送上海博尚生物技术有限公司测序。测序结果经 DNASTar5.01 软件进行人工核对校正。

1.5 数据分析

用 Clustal X 和 MEGA 3.1 软件对测定的样品序列进行分析。(1) 比较海蜇成体、沙海蜇成体及水母碟状体和稚水母等不同种类、不同发育时期基因组 DNA 水平的变异。(2) 将采集的 GenBank 上根口水母目所有同源序列与本研究测定的各样品序列进行编辑、排序, 采用邻接法(NJ)构建分子系统发育树, 遗传距离采用 Kimura 双参数模型计算。

2 结果与分析

2.1 COI、16S 基因片段序列测定

测定水母碟状体(DZ1) (GenBank 注册号 EU373722)、稚水母(YZ1) (EU373723)、海蜇成体

(CZ1、CZ2) (EU373724)共 4 个个体 COI 基因序列 633bp。两个海蜇成体的 COI 基因序列完全一致,与其它两个个体相比,共有 4 个碱基变异位点,三处为 C—T,一处为 G—A,只发现碱基之间的转换,没有颠换、插入/缺失的位点;平均 A、T、C、G 含量分别为 26.6%、37.0%、17.8%、18.6%。测定水母碟状体(DZ2、DZ3)、稚水母(YZ2)、海蜇成体(CZ2)共 4 个个体 16S 基因序列 578bp,除 D2 样品在 251bp 处有一个变异位点(GenBank 注册号 EU373726),其余序列完全一致(EU373725),平均 A、T、C、G 含量分别为 34.8%、32.4%、14.0%、18.9%。

测定沙海蜇成体三个采样点共计 3 个个体(SZ1、SZ2、SZ3)COI 基因序列 645bp,碱基组成完全一致,平均 A、T、C、G 含量分别为 27.4%、36.0%、18.3%、18.3%(GenBank 注册号为 EU373728);测定沙海蜇成体共计两个样品 16S 基因序列共计 479bp,碱基组成完全一致,平均 A、T、C、G 含量分别为 37.0%、29.4%、15.0%、18.6%(GenBank 注册号为 EU373727)。

2.2 不同幼体期水母与海蜇和沙海蜇成体线粒体基因序列差异比较

水母碟状幼体、稚水母、海蜇成体以及沙海蜇成体 COI 基因部分序列比对后,得到 632bp 同源序列(由于测序原因,海蜇和沙海蜇可用的片段长度并不完全一致)(图 2),水母碟状体、稚水母分别与海蜇成体的差异为 0.6%、0.5%,属于种内个体间的差异;与沙海蜇成体序列间的差异分别为 18.9%、19.2%,属于种间差异(表 1)。水母碟状体、稚水母、海蜇成体以及沙海蜇成体 16S 基因部分序列比对后,得到 446bp 同源序列,序列间存在插入/缺失位点(图 3)。水母碟状体和稚水母与海蜇成体的差异(0.0%—0.2%),远小于与沙海蜇成体序列间的差异(13.1%—13.3%)(表 2)。由此判断,本研究中的水母碟状体和稚水母是海蜇而非沙海蜇。

2.3 分子系统发育树的构建

在 Genbank 中收集根口水母目 COI 基因所有同源序列共计 4 个科的相关数据,每科选择一个代表种(*Nemopilema nomurai* AB243416; *Catostylus mosaicus* AY319476; *Mastigias* sp. Nakamura AY903007; *Cassiopea xamachana* AY319468),与本研究中的测定的海蜇、沙海蜇数据共计 529bp 同源序列一起分析处理后构建分子系统发育树(图 4),并计算遗传距离(表 3)。结果显示,轮环水母亚目(Kolpophorae)、指环水母亚目(Daktyliophorae)的种类分别各自聚在一起;有肩

板族的海蜇、沙海蜇、越前水母(*Nemopilema nomurai*, Accession number: AB243416)先聚在一起,然后再和无肩板族(*Catostylus mosaicus*)相聚,与传统分类一致。沙海蜇和越前水母的遗传距离为 0.002,COI 片段中只有一个碱基不同。因 GenBank 数据中水母类 16S 序列的信息量较少,只有根口水母目、轮环水母亚目下 *Cassiopea* sp. 一条序列(Accession number: U19374),故未用其构建系统发育树。

3 讨论

随着分子分类学(barcode)的发展,近年来线粒体 COI 基因和 16S 基因的序列被越来越多的用于物种的分类学研究。Hebert 等(2003)运用 COI 基因构建了动物界软体动物门、环节动物门、脊索动物门等 7 个门下 100 个种的系统发生树,并探讨了昆虫纲七个目的分类阶元等问题;16S rRNA 基因不仅在一些微生物的分子分类鉴定及分子检测中发挥了巨大的作用(洪义国等, 2002),更被广泛用于研究不同阶元的系统发育关系(Kuo *et al.*, 2003; Orti *et al.*, 1996, 1997)。本研究中对实验样品的这两段基因序列分别进行了测定,水母碟状体、稚水母和海蜇成体样品测得的 16S 基因序列和 COI 基因序列之间的差异(0.0%—0.2%, 0.2%—0.6%)远远小于与沙海蜇成体的差异(13.1%—13.3%, 18.9%—19.2%),属于同种个体间的差异,由此确定本实验中采集的水母碟状体和稚水母是海蜇而非沙海蜇。水母类不同生活阶段外形具有很大的变化,虽然 COI 序列也具有一定的变异(0.2%—0.6%),但变异的范围远远低于区分种的范围。可见,运用线粒体基因是解决水母幼体分类困扰的有效途径。

本实验中揭示的海蜇和沙海蜇种内个体间出现如此低的差异(16S : 0.0%—0.2%; COI : 0.2%—0.6%)是与其生物学特点密切相关的。首先,海蜇和沙海蜇都属于浮游动物,每天可以漂移数公里(Angel, 1993; Palumbi *et al.*, 2003),分布广泛并且随机交配,导致了相对较低的进化速率(Rapoport, 1994; Jablonski *et al.*, 2003)。其次,水母的繁殖力非常高,伞径为 23—54cm 的海蜇平均怀卵量为 3000 万粒,而且怀卵量随伞径的增加而迅速增大(谢忠明等, 2004),加上其特有的横裂生殖方式使得一个水母就能产生数以千万计的后代。所以,在种群内部随机取样,可能来源于同一个母本的概率非常高,这也将导致其线粒体 DNA 序列的一致性。

表 1 采集样品基于 COI 基因同源序列的核苷酸差异
Tab.1 The nuclei diversity of partial COI gene in the jellyfish

样品	1(CZ2)	2(CZ1)	3(YZ1)	4(DZ1)	5(SZ1)
1(CZ2)					
2(CZ1)	0.000				
3(YZ1)	0.005	0.005			
4(DZ1)	0.006	0.006	0.002		
5(SZ1)	0.194	0.194	0.192	0.189	

表 2 采集样品基于 16S 基因同源序列的核苷酸差异
Tab.2 The nuclei diversity of partial 16S gene in the jellyfish

样品	1(DZ3)	2(DZ2)	3(YZ2)	4(CZ2)	5(SZ3)
1(DZ3)					
2(DZ2)	0.002				
3(YZ2)	0.000	0.002			
4(CZ2)	0.000	0.002	0.000		
5(SZ3)	0.131	0.133	0.131	0.131	

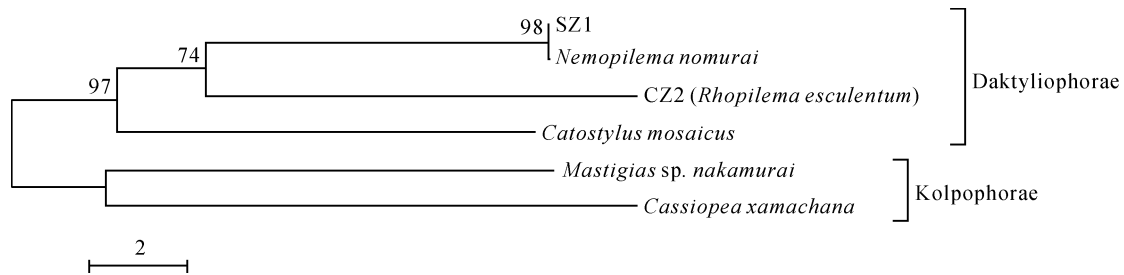


图 4 基于 COI 部分序列, 采用 Kimura 双参数模型构建的根口水母目的 NJ 树

Fig.4 Neighbor-joining bootstrap consensus tree reconstructed with MEGA4 using the Kimura model, based on partial sequences of COI gene

注: 枝上的数值为 1000 次重复抽样检验得到的支持率

表 3 基于 COI 部分序列, 采用 Kimura 双参数模型计算的遗传距离

Tab.3 The genetic distance using Kimura model based on partial sequences of COI gene

物种	1	2	3	4	5	6
1 (SZ1)						
2 (<i>Nemopilema nomurai</i>)	0.002					
3 (CZ2, <i>Rhopilema esculentum</i>)	0.209	0.209				
4 (<i>Catostylus mosaicus</i>)	0.210	0.213	0.259			
5 (<i>Mastigias sp. nakamurai</i>)	0.268	0.271	0.289	0.286		
6 (<i>Cassiopea xamachana</i>)	0.284	0.284	0.282	0.272	0.253	

本研究揭示, 水母类的 COI 基因比 16SrRNA 基因具有更多的系统发生的信息, 这与 Hebert 等(2003)的结论一致。16S 基因在种内高度保守, 利用此基因序列应该可以区分不同的水母种类, 但由于对 16S 基因在水母种间差异标准还未系统研究和规范, 在一些近缘种的区分中 16S 是否仍然有效还应进一步研究。海蜇与沙海蜇 16S 基因同源序列 446bp 的差异 (13.1%) 小于 COI 同源序列 (632bp) 间的差异 (19.4%), 相对保守, 更适合研究水母高级分类阶元的划分。本研究测定的 16S 基因序列在海蜇种内表现出高度的保守性, 没有碱基的插入和缺失现象, 但在不同的属间出现了碱基的插入/缺失现象。由此初步推测, 根口水母目 16S 序列出现碱基的插入与缺失可能是高于

种的某个分类阶元的重要划分标准, 因此可以尝试依据 16S 基因序列这一特性进行物种的区分。有研究表明, COI 基因的变异, 桡足类同属种间变异为 18% (Bucklin *et al*, 1998), 鼓虾属种间变异从 4% 至 19% (Knowlton *et al*, 1998), 囊螂科种间差异为 7.5% (Peck *et al*, 1997), 钩虾属种间变异从 11.5% 到 30.8% (Meyran *et al*, 1997)。Dawson 等(2001)对海月水母等的研究得出结论, COI 基因序列有 10%—20% 的变异是区分一个种的标准。本研究中, 632bp 的 COI 部分序列分析显示, 海蜇(伞径为 30—40cm)和沙海蜇 COI 同源序列差异为 19.4%, 与 Dawson 等(2001)报道的一致。

基于 COI 部分序列构建的系统发育树表明, 采自黄海海域的沙海蜇样品与 GenBank 中公布的越前水母最先聚在一起, 节点支持率为 98, 序列的差异非常小 (0.2%), 长为 529bp 的 COI 基因同源序列中只有一个碱基不同。Holland 等(2004)利用 COI 基因序列对夏威夷群岛水母类 *Cassiopea* 属的种类进行区分, 结果显示, 同一种群间的差异通常很低 (1% 或更小), 而本实验中的沙海蜇与越前水母的 COI 基因序列的差异 (0.2%) 更低, 因此初步推测所采沙海蜇与越前水母为同一物种。沙海蜇为偏冷水性、高盐种类, 广泛分布于西北太平洋沿岸海域 (Omori *et al*, 2001, 2004), 其中在中国主要分布于东海北部和黄海南部 (高尚武

等, 2002)。由于其常在这些海域大量暴发, 严重危害了渔业生产, 造成了生态灾难, 被视为危害水母种类。本实验中的样品经形态学鉴定, 发现与动物志中所描述的沙海蜇(*Stomolophus meleagris* L. Agassiz, 1862)特征并不一致, 却与越前水母的形态一致(另文发表), COI 序列信息也进一步证明了其在基因组 DNA 水平上与越前水母的相似性。

值得一提的是, 命名法的混乱也是造成水母分类混淆的原因之一。例如, Gershwin (2001)研究发现, 北太平洋东部广泛分布的一种水母与报道描述的 *A. aurita* 不同, 但与 *A. labiata* 最开始的描述(Chamisso *et al*, 1821)一致, 证明 *A. aurita* 并不是北太平洋东部普遍分布的一种水母, 从形态上详细阐述了 *A. aurita* 和 *A. labiata* 的区别, 找到造成水母分类混淆的原因是命名法的混乱、修订版本的编改遗漏等。从本文研究结果初步推测, 黄海南部和东海北部广泛分布的“沙海蜇”可能与北太平洋东部广泛分布的 *A. aurita* 的情况相同, 应为 *N. nomurai* 而非 *S. meleagris*。沙海蜇的分类地位一直具有争议, Kamp(1961)认为沙海蜇和越前水母是同种异名, 具体争议发生在该种类到底应归属在口冠水母科的口冠水母属还是根口水母科的越前属。基于 COI 基因序列的遗传距离表明, 本文中的“沙海蜇”(SZ1)与同一亚目同一族的海蜇的遗传距离为 0.209, 与同一亚目不同族的 *Catostylus mosaicus* 的遗传距离为 0.210, 两者相当。由于水母不同种类变异较大、同一分类阶元数据的缺乏, 科内或族内的 COI 基因序列变异水平并没有一个量的规范, 因此还不能判断本文沙海蜇样品是否属于根口水母科, 需要补充数据进一步分析。

随着新的分子分类信息的探索, 与传统形态分类相结合, 将为水母系统发生以及物种分类构建一个科学的鉴定平台。

参 考 文 献

- 洪义国, 孙 谧, 张云波, 2002. 16S rRNA 在海洋微生物系统分子分类鉴定及分子检测中的应用. 海洋水产研究, 23(1): 78—83
- 洪惠馨, 张士美, 王景池, 1978. 海蜇. 北京: 科学出版社, 1—70
- 高尚武, 洪惠馨, 张士美, 2002. 中国动物志(第二十七卷): 水螅虫纲钵水母纲. 北京: 科学出版社, 1—175
- 程家骅, 李圣法, 丁峰元, 2004. 东、黄海大型水母暴发现象及其可能成因浅析. 现代渔业信息, 19(5): 10—12
- 谢忠明, 王永顺, 黄鸣夏, 2004. 海蜇增殖技术. 北京: 金盾出版社, 107—118
- 内田亨, 1936. 日本动物分类: 钵水母纲. 日本: 三省堂, 77—80
- Agassiz L, 1862. Contributions to the Natural History of the United States of America. Four volumes. Boston: Little, Brown and Co, 4: 138—151
- Angel M V, 1993. Biodiversity of the Pelagic Ocean. Conservation Biology, 7(4): 760—772
- Bucklin A, Bentley A M, Franzen S P, 1998. Distribution and relative abundance of *Pseudocalanus moultoni* and *P. newmani* (Copepoda: Calanoida) on Georges Bank using molecular identification of sibling species. Mar Biol, 132(1): 97—106
- Chamisso A, Eysenhardt C G, 1821. De animalibus quibusdam e classe Vermium Linneana, in circumnavigatione terrae, auspicante Comite N. Romanzoff duce Ottone de Kotzebue, annis 1815—1818 per acta, observatis. Nova Acta Acad Caesar Leop Carol, 10: 345—374, pl. 24—33
- Dawson M N, Jacobs D K, 2001. Molecular evidence for cryptic species of *Aurelia aurita* (Cnidaria, Scyphozoa). Biol Bull, 200: 92—96
- Gershwin L A, 2001. Systematics and Biogeography of the Jellyfish *Aurelia labiata* (Cnidaria: Scyphozoa). Biol Bull, 201: 104—119
- Harrison J S, 2004. Evolution, biogeography, and the utility of mitochondrial 16S and COI genes in phylogenetic analysis of the crab genus *Austinia* (Decapoda: Pinnotheridae). Mol Phyl Evol, 30(3): 743—754
- Hebert P D N, Cywinska A, Ball S L *et al*, 2003. Biological identifications through DNA barcodes. Proc R Soc Lond B Biol Sci, 270: 313—321
- Holland B S, Dawson M N, Crow G L *et al*, 2004. Global phylogeography of *Cassiopea* (Scyphozoa: Rhizostomeae): molecular evidence for cryptic species and multiple invasions of the Hawaiian Islands. Marine Biology, 145(6): 1119—1128
- Jablonski D, Roy K, Proc R, 2003. Geographical range and speciation in fossil and living mollusks. Soc London B, 270: 401—406
- Knowlton N, Weigt L A, 1998. New dates and new rates for divergence across the Isthmus of Panama. Proceedings: Biological Sciences, 265(1412): 2257—2263
- Kochzius M, Soller R, Khalaf M A *et al*, 2003. Molecular phylogeny of the lionfish genera *Dendrochirus* and *Pterois* (Scorpaenidae Pteroinae) based on mitochondrial DNA sequences. Mol Phyl Evol, 28(3): 396—403
- Kramp P L, 1961. Synopsis of the medusae of the world. J Mar Biol Ass U K, 40: 7—469
- Kuo C H, Huang S, Lee S C, 2003. Phylogeny of hagfish based on the mitochondrial 16S rRNA gene. Mol Phylogenet Evol, 28(3): 448—457

- May R M, Godfrey J, 1994. Biological diversity: differences between land and sea. *Biological Sciences*, 343(1303): 105—111
- Mayer A G, 1910. *Medusae of the World*. Vols I and II: The Hydromedusae. Vol III: The Scyphomedusae. Carnegie Institution, Washington Publ, 1—498
- Meyran J C, Monnerot M, Taberlet P, 1997. Taxonomic status and phylogenetic relationships of some species of the genus *Gammarus* (Crustacea, Amphipoda) deduced from mitochondrial DNA sequences. *Mol Phylogenet Evol*, 8(1): 1—10
- Omori M, Kitamura M, 2004. Taxonomic review of three Japanese species of edible jellyfish (Scyphozoa: Phizostomeae). *Plankton Biol Ecol*, 51(1): 36—51
- Omori M, Nakano E, 2001. Jellyfish fisheries in southeast Asia. *Hydrobiologia*, 451: 19—26
- Orti G, Meyer A, 1997. The radiation of characiform fishes and the limits of resolution of mitochondrial ribosomal DNA sequences. *Syst Biol*, 46(1): 75—100
- Orti G, Petry P, Porto J I R *et al*, 1996. Patterns of nucleotide change in mitochondrial ribosomal RNA genes and the phylogeny of piranhas. *J Mol Evol*, 42(2): 169—182
- Palumbi S R, Warner R R, 2003. Ecology: Why Gobies Are Like Hobbits. *Science*, 299(5603): 51—52
- Peek A S, Gustafson R G, Lutz R A *et al*, 1997. Evolutionary relationships of deep-sea hydrothermal vent and cold-water seep clams (Bivalvia: Vesicomyidae): results from mitochondrial cytochrome oxidase subunit I. *Mar Biol*, 130(2): 151—161
- Rapoport E H, 1994. Rapid evolutionary radiation of marine zooplankton in peripheral environments. *Philos Trans R Soc London B*, 343: 71—78

MOLECULAR IDENTIFICATION OF TWO MACRO-JELLYFISH IN CHINA

ZHANG Shu, ZHANG Fang, LIU Yuan, CUI Zhao-Xia

(*Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071*)

Abstract *Rhopilema esculentum* and *Stomolophus meleagris* are two common macro-jellyfishes in the Bohai Sea and the Yellow Sea, China. The partial sequences of COI (633bp, 645bp) and 16S (578bp, 479bp) genes were determined from adults of the two species. Only one variant locus in 16S sequence was revealed, while four variant loci were shown in *R. esculentum*. In *S. meleagris*, the partial COI gene showed coherent sequences among individuals, the same as that of the partial 16S gene. For ephyra and young jellyfish, the COI sequence differences in *R. esculentum* was 0.5%—0.6%; and 18.9%—19.4% in *S. meleagris*; the 16S sequence differences in *R. esculentum* was 0.0%—0.2%; and 13.1%—13.3% in *S. meleagris*. The results show that the samples of ephyra and young jellyfish were actually *R. esculentum*. The homologous sequences of other jellyfishes were collected from GenBank to construct a molecular phylogeny tree. The relationship of four suborders agreed with the traditional taxonomy. The analyses on the COI gene sequence show that *S. meleagris* and *Nemopilema nomurai* should be the same species. Barcode used in this study would provide important references for the species identification, young jellyfish classification, and phylogeny.

Key words Mitochondrial gene, *Rhopilema esculentum*, *Stomolophus meleagris*, Young jellyfish, Barcode