

几种北极桡水虫和枝水虫的 DNA 条形码分析

赵霞¹, 张培玉¹, 刘晨临^{2,3*}, 林学政^{2,3}

(1. 青岛大学 环境科学与工程学院, 山东 青岛 266071; 2. 国家海洋局 第一海洋研究所, 山东 青岛 266061;

3. 海洋生物活性物质国家海洋局重点实验室, 山东 青岛 266061)

摘要:以 2016 年第 7 次北极科学考察期间在不同海域采集到的形态各异的水虫样品为研究对象, 初步描述了样品的形态特征, 并且利用 DNA 条形码序列进行了分子鉴定。基于 16S rRNA 基因序列构建的系统进化树表明, S12, NB06, R01 和 NB05 属于桡水虫科桡水虫属, R08 和 B08 为枝水虫科枝水虫属, 而且不同种的水虫均以较高的置信度聚类为一个稳定的分支。因此 16S rRNA 序列可以作为 DNA 条形码用于这 2 属的水虫的分类鉴定。桡水虫的 COI 序列扩增较困难, 不宜作为 DNA 条形码用于该属的鉴定, 而枝水虫的 COI 序列则较易扩增。基于 16S rRNA 和 COI 序列的长枝水虫种间遗传距离均远大于种内遗传距离, 存在明显的条形码间隙。且枝水虫基于 COI 序列的种内遗传距离比 16S rRNA 基因的更大, 认为 COI 序列可作为枝水虫不同地理起源的分析鉴定依据。

关键词:DNA 条形码; 北极水虫; 桡水虫; 枝水虫

中图分类号:Q953

文献标识码:A

文章编号:1671-6647(2018)02-0301-09

doi:10.3969/j.issn.1671-6647.2018.02.015

水虫纲动物主要附着在浅海的岩石、海草、贝壳等坚硬底质上生活, 是浅海底栖动物群落的重要组成部分。其分布遍布全球, 迄今为止大约有 3 500 种的记录。北极地区水虫分布的研究始于 19 世纪, Ronowicz 等^[1]整理了北极地区的水虫纲物种的名录及分布, 涉及 7 个目 268 种。其它有关北极水虫的研究则主要是发现新种的记录^[2-5]。

在我国的历次北极科考中, 水虫生物的调查以浮游动物的数据为主。张金标等^[6]在 1999 年首次北极科学考察的浮游动物样品中记录了 8 个种的水虫水母的分类和分布情况, 而底栖生物调查部分则不包括水虫纲动物。但是我们发现, 底栖生物拖网样品中水虫的数量高于其它大部分的动物类群。Song 等^[5]整理分析第 4~6 次北极科考的底栖生物样品, 发现了桡水虫的一个新种。

刺胞动物能用来作为分类依据的形态性状极其有限^[7]。水虫纲动物身体呈水虫型或少数种呈水母型, 或水虫型与水母型同时存在于群体中, 形成二态或多态现象。发育阶段的不同和生存环境的差异, 导致其作为传统分类依据的形态特征常有较大变化, 只依据外形特征来鉴别水虫生物的种类存在一定的困难。DNA 条形码技术在分类学中用于辅助物种鉴定, 不受个体发育阶段和形态特征的影响, 能够准确地辨别形态相似性很高的物种, 还可以鉴定出许多群体中普遍存在的隐存分类单元^[8-9]。线粒体的 16S rRNA 基因序列和线粒体细胞色素 C 氧化酶第一亚基(COD)序列都曾被报道用于水虫水母类物种的分析鉴定。而 16S rRNA 基因序列在水虫虫类系统学研究中的应用比 COI 序列更为普遍, 其范围覆盖了从种群到科等各分类阶元。同时, 它还常作为一种有效的分子标记, 用以区分水虫纲中形态差异细微、不可辨识或尚未描述的种类^[10-13]。

与其重要的生态学地位不相称的是, 国内外有关北极水虫群落的物种名录、分布纪录以及生物多样性的研究开展的还很少。迄今为止有关北极水虫纲动物的数据是碎片化和散乱的, 而相关物种的 DNA 条形码序列的记录则更少^[5]。北极水虫物种还需要形态描述和分类地位的修订, 以及 DNA 条形码数据的补充。

收稿日期:2017-05-22

资助项目:南北极环境综合考察与评估专项——北极生物生态考察(CHINARE2017-03-05)

作者简介:赵霞(1991-), 女, 山东日照人, 硕士研究生, 主要从事分子生物学方面研究。E-mail: zhaoxia_0912@163.com

*** 通讯作者:**刘晨临(1974-), 女, 山东滨州人, 研究员, 主要从事藻类分子生物学方面研究。E-mail: ch.liu@163.com

(王佳实 编辑)

对水螅纲物种分类和分布的研究,是后续研究北极底栖生物群落结构的基础,是开展全球气候变化对北极海洋生态系统影响研究的前提。本文利用 DNA 条形码序列分析了我国第 7 次北极科学考察时采集到的,不同站位的 6 株形态各异的水螅样品,结合形态学特征,对其进行了初步的种类鉴定,为以后北极海域底栖水螅的研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 水螅样品

本实验的 6 株水螅样品是从中国第 7 次北极科学考察(2016-07—09)采集的底栖生物拖网样品中分离出的,分别采集于 6 个不同的站位,以站位号命名各样本(图 1)。样品采集后置于-20℃冰箱保存。在实验室解冻后选取较为完整的水螅个体,用无菌海水洗净,置于盛有海水的培养皿中,观察其外部形态特征(图 2),并使用尼康倒置显微镜记录水螅的显微形态结构(图 3)。

1.2 DNA 条形码序列扩增

取各水螅的部分组织,用无菌海水洗净,经液氮研磨之后,用基因组 DNA 提取试剂盒(天根生化科技有限公司,北京)提取总基因组 DNA,保存于-20℃。

以提取出的基因组 DNA 为模板,进行 DNA 条形码序列的 PCR 扩增反应,PCR 反应为 50 μL 体系:DNA 模板 1 μL,引物各 1 μL,2×Taq Mastermix(天根生化科技有限公司,北京) 25 μL,灭菌双蒸水 22 μL。16S 反应程序设置为:94℃预变性 10 min;然后为 35 个循环(包括 94℃变性 30 s,50℃退火 30 s,72℃延伸 90 s),最后 72℃延伸 10 min。COI 反应程序设置为:94℃预变性 10 min,然后为 35 个循环(包括 94℃变性 30 s,45℃退火 30 s,72℃延伸 90 s),最后 72℃延伸 10 min。

扩增产物经 1%琼脂糖凝胶电泳检测回收,连接至 pMD18T 载体,转化大肠杆菌 DH5α,挑取单克隆经 PCR 验证后,送上海生工生物工程技术有限公司测序。DNA 条形码序列扩增所选用的引物序列见表 1。

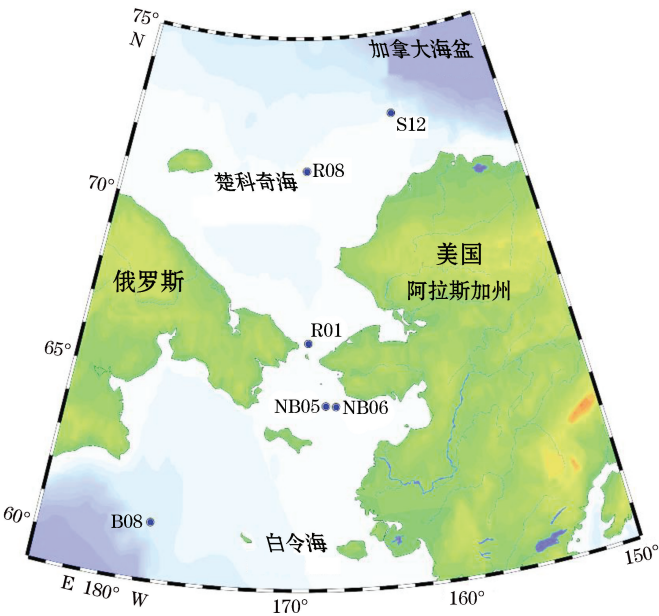


图 1 样品分布图

Fig.1 The distribution of sampling stations

表 1 DNA 条形码序列扩增所选用的引物序列

Table 1 The primers for the DNA barcoding sequences

基 因	引 物	引物序列(5'-3')	参考文献
16S rRNA 基因	SHA	TCGACTGTT TACCAAAAACATAGC	[14]
	SHB	ACGGAATGAACT CAAATCATGTAAAG	
细胞色素 C 氧化酶 亚基 1 (COI)	LCO-1490	GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG	[15]
	HCO-2198	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA	

1.3 数据分析

测序结果在 NCBI 数据库(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)中进行 BLAST 比对分析,从 GenBank 数据库中挑选出与其同源性较高的基因序列,通过 Clustalx 1.8 作比对分析,然后应用 MEGA 6.0^[16],采用邻接法(NJ)构建系统进化树。同时对构建的系统进化树作自展值检验(bootstrap test)以获得分支的支持率,自展值检验中重复抽样次数为 1 000 次。

2 结果与讨论

2.1 形态特征

水螅样品的形态特征见图 2 和图 3。

S12:水螅群体呈浅棕黄色,水螅茎非常纤细,成束,分支较多且紧密生长,越到顶端越为纤细。螅鞘为完整的一个包裹在分支上。

NB06:水螅群体呈红棕色,螅茎直立,分支间距离均匀,分枝有规则的交替互生在螅茎两侧,长度不一,呈细微的锯齿状。螅鞘呈角状,对称排列在水螅鞘两侧。

R01,NB05:水螅群体均呈树形,深棕色,螅茎直立较粗壮,呈明显的“之”字形。R01 分枝聚集在顶端,多次重复的二叉状分枝;NB05 分枝较 R01 松散,成二叉状排列在水螅茎上。螅鞘呈长椭圆形,间隔交替排列成两个纵排。

B08,R08:这两种水螅群体外形特征类似,均呈红棕色,树枝状,螅茎呈明显的“之”字形。分枝交替排列在螅茎两侧,二叉分枝越到顶端出现更细小的分枝,末端逐渐变细。R08 的分枝较 B08 更多且细长。分支呈管状,分支基部有环轮。

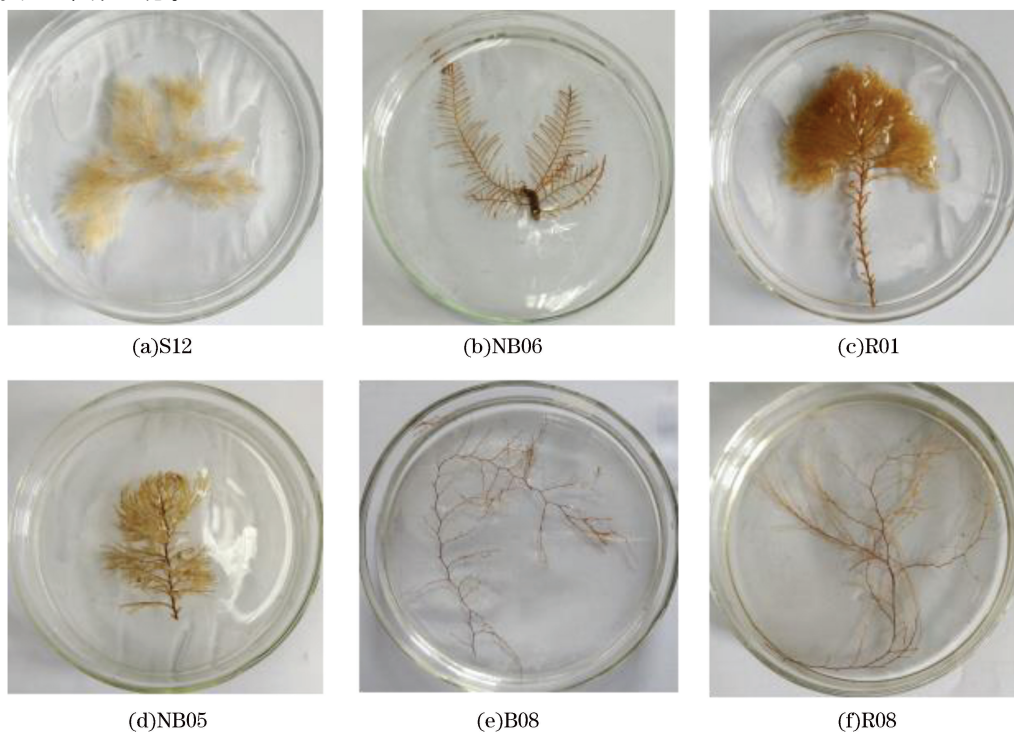


图 2 6 株水螅样品的形态

Fig.2 The morphology of 6 hydroids

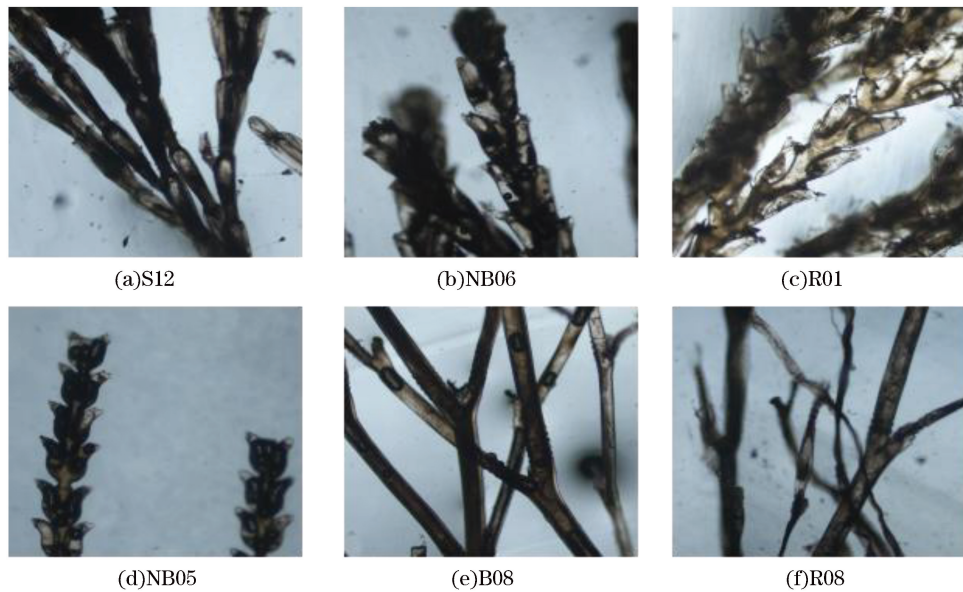


图 3 6 株水螅样品的显微形态

Fig.3 The microscopic morphology of the 6 hydroids

2.2 DNA 条形码序列分析

2.2.1 桧叶螅(*Sertularia*)

桧叶螅属于软水母目,在整理的北极水螅名录中,桧叶螅属共包括 12 个种:*S. albimaris*, *S. argentea*, *S. converrucosa*, *S. cupressina*, *S. fabricii*, *S. mirabilis*, *S. plumosa*, *S. robusta*, *S. schmidtii*, *S. similis*, *S. tenera*, *S. tolli*^[1]。目前在 GenBank 中共收录了包括 7 种北极桧叶螅在内的,分布于全球的 14 种桧叶螅的 16S rRNA 基因序列,所以至少还有 5 种北极桧叶螅的 16S rRNA 条形码序列尚未被 GenBank 收录。

用 GenBank 中 14 种桧叶螅的 16S rRNA 基因序列构建的系统进化树(图 4)显示,所有来自北极的桧叶螅物种均以 99% 的自展值聚类在一个稳定的分支中。S12, NB06, R01 和 NB05 均属于这一分支。

其中 R01 和 NB05 与 Song 等^[5]发现的新种雪龙桧叶螅 *S. xuelongi* 聚类,16S rRNA 基因序列相似性为 100%,应属于同一种。其显微形态结构与雪龙桧叶螅的描述也基本一致。NB05 和 R01 等分别采集于白令海和白令海峡, Song 等^[5]报道的雪龙桧叶螅也来自于白令海,说明这一物种在白令海分布广泛。

S12 与粗壮桧叶螅 *S. robusta* 的 16S rRNA 基因序列相似性为 100%,推测其为粗壮桧叶螅。Song 等^[5]分离的粗壮桧叶螅来自楚克奇海,而 S12 来自白令海。粗壮桧叶螅在西格陵兰岛、格陵兰岛、巴伦支海、白令海以及哈德逊湾等都有分布^[1]。

NB06 的 16S rRNA 基因序列与同形桧叶螅 *S. similis* 的亲缘关系最近,但是它们的序列之间仍有 1 个碱基的差异。S12 来自加拿大海盆,而同形桧叶螅分布于冰岛、巴伦支海、楚克奇海、白令海、北极海盆中心、北极群岛、加拿大东部以及哈德逊湾^[1]。

基于 16S rRNA 序列的 4 株北极桧叶螅与其他已知桧叶螅的种间遗传距离见表 2。NB06 与同形桧叶螅种间遗传距离为 0.20%,与其它桧叶螅的种间遗传距离为 0.99%~10.86%; S12 与粗壮桧叶螅的种间遗传距离为 0,与其它桧叶螅的种间遗传距离为 1.13%~11.34%; R01 和 NB05 与雪龙桧叶螅种间遗传距离为 0,与其它桧叶螅的种间遗传距离为 0.59%~11.57%。由于已知的桧叶螅种内个体较少,无法确定其是否存在遗传间隙,但是从遗传距离来看,符合我们对 4 株桧叶螅的分类推测。

表 2 4 株北极桧叶螳与其他桧叶螳的种间遗传距离

Table 2 The genetic distances between the 4 strains of *Sertularia* from Arctic and other species of *Sertularia*

桧叶螳	北极桧叶螳			
	NB06	S12	R01	NB05
<i>S.cupressina</i>	1.19%	1.39%	1.19%	1.19%
<i>S.argentea</i>	1.32%	1.13%	1.06%	1.06%
<i>S.plumosa</i>	1.39%	1.19%	1.39%	1.39%
<i>S.similis</i>	0.20%	1.19%	0.99%	0.99%
<i>S.robusta</i>	0.99%	0.00%	0.59%	0.59%
<i>S.mirabilis</i>	2.41%	2.61%	2.41%	2.41%
<i>S.unguiculata</i>	6.20%	6.66%	6.88%	6.88%
<i>S.distans</i>	8.96%	9.69%	9.19%	9.19%
<i>S.marginata</i>	10.80%	11.34%	11.57%	11.57%
<i>S.tumida</i>	10.80%	11.34%	11.57%	11.57%
<i>S.perpusilla</i>	9.27%	8.98%	8.73%	8.73%
<i>S.turbinata</i>	10.86%	10.61%	10.84%	10.84%
<i>S.moluccana</i>	9.98%	10.47%	10.21%	10.21%
<i>S.xuelongi</i>	1.19%	10.21%	0.00%	0.00%

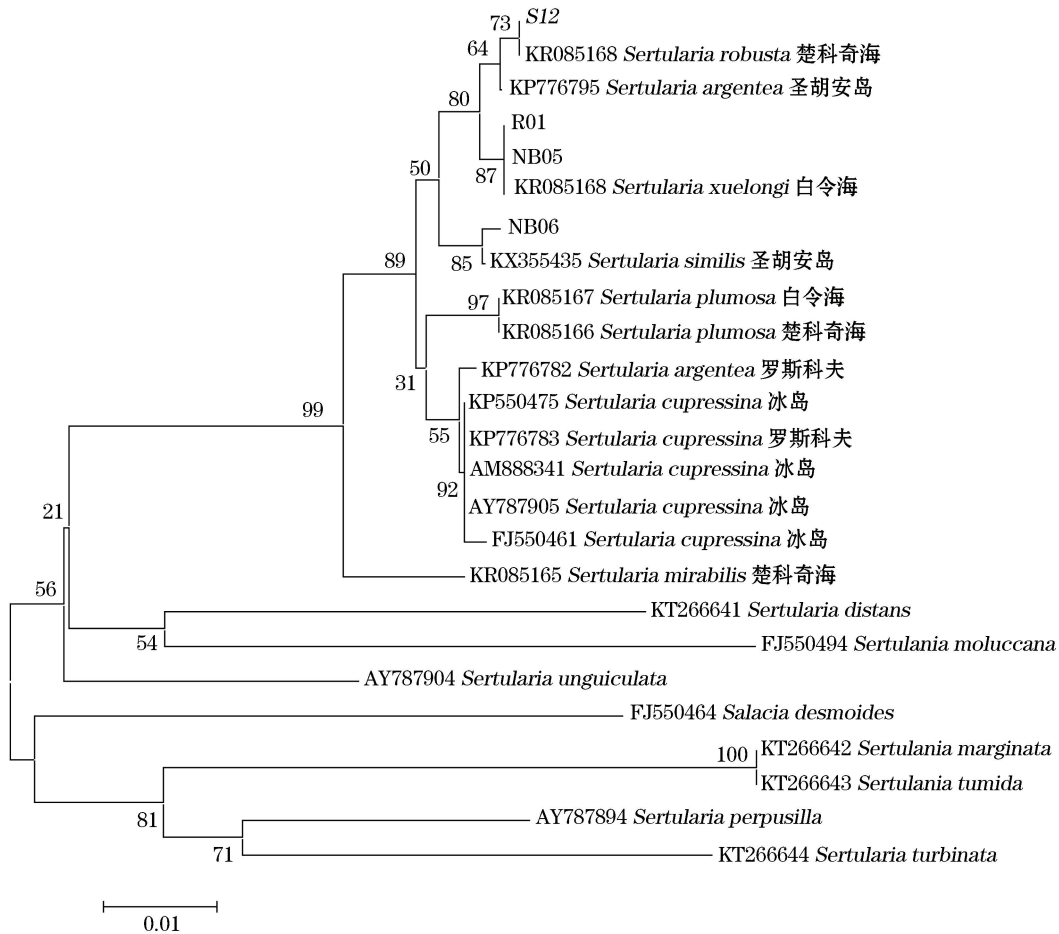


图 4 基于 16S rRNA 序列构建的桧叶螳物种的系统进化树

Fig.4 The Phylogenetic trees of *Sertularia* based on 16S rRNA sequences

在 GenBank 数据库中,未收录任何一种桧叶螅的 COI 序列。我们克隆了 4 种桧叶螅的 COI 序列也只有 NB06 得到了正确的扩增。GenBank 中与 NB06 的 COI 序列相似最高的 COI 基因来自 *Clytia gracilis* (DQ068056),仅有 76% 的序列相似性。Song 等^[5]曾尝试扩增 *S. xuelongi* 的 COI 序列,也未能成功。这说明作为广泛应用于水螅水母纲鉴定的 DNA 条形码序列,相比于 16SrRNA,COI 序列在桧叶螅属中较难扩增,这一现象在花水母目和软水母目种类中表现得非常明显^[8]。

2.2.2 蕞枝螅(*Obelia*)

目前有文献报道的蕞枝螅包括 4 个种:双枝蕞枝螅 *O. dichotoma*、曲膝蕞枝螅 *O. geniculata*、长蕞枝螅 *O. longissima* 和双齿蕞枝螅 *O. bidentata*。在北极发现的蕞枝螅只有 3 种,未见双齿蕞枝螅的记录^[1]。在基于 16SrRNA 和 COI 基因序列构建的系统树中(图 5 和图 6),B08 和 R08 都聚类在长蕞枝螅分支。可以认定它们都属于长蕞枝螅。基于 16S rRNA 序列的长蕞枝螅种内遗传距离为 0.28%,种间遗传距离为 5.96%~13.82%;基于 COI 序列的长蕞枝螅种内遗传距离为 0.76%,种间遗传距离为 11.15%~17.43%。由此可见,基于这两序列长蕞枝螅的种间遗传距离均远大于种内遗传距离,存在明显的条形码间隙。而且 16SrRNA 更为保守,我们推测 COI 序列可作为蕞枝螅属不同地理起源的鉴别。Govindarajan 等^[10]也发现曲膝蕞枝螅的 COI 碱基替换率较高,并提出 COI 可有效地应用于水螅虫纲系统学研究。

长蕞枝螅 B08、R08 分别来自白令海和楚克奇海,在第一次北极科考的浮游生物样品中分离到了多个长蕞枝螅水母的个体^[6]。长蕞枝螅在北极及两半球的寒带海域,包括俄罗斯北方海域和远东诸海、黑海、智利、麦哲伦海峡、阿拉斯加、冰岛、西北欧和北美大西洋沿岸海域也有分布^[6]。

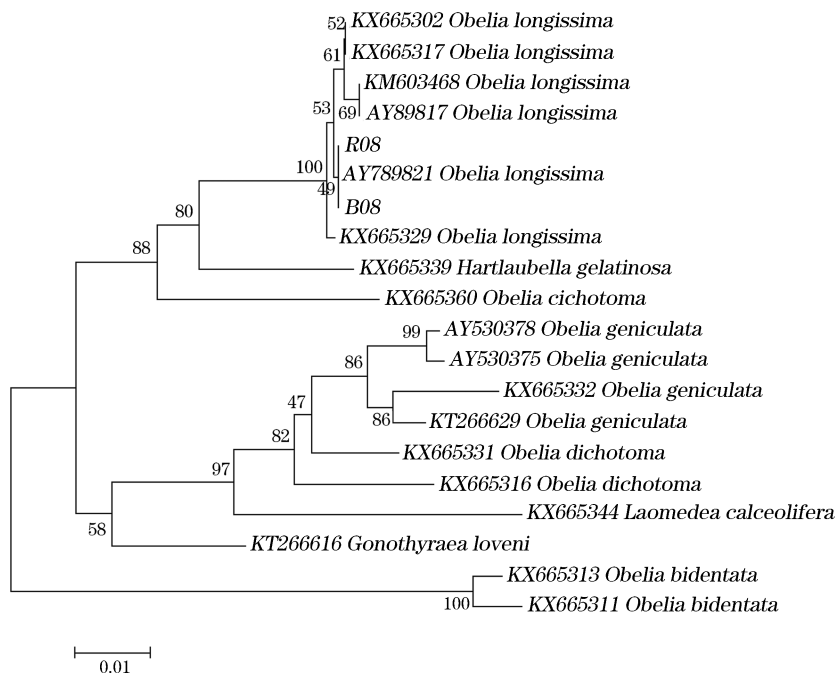


图 5 基于 16S rRNA 序列构建的蕞枝螅物种的系统进化树

Fig.5 The Phylogenetic trees of *Obelia* based on 16S rRNA sequences

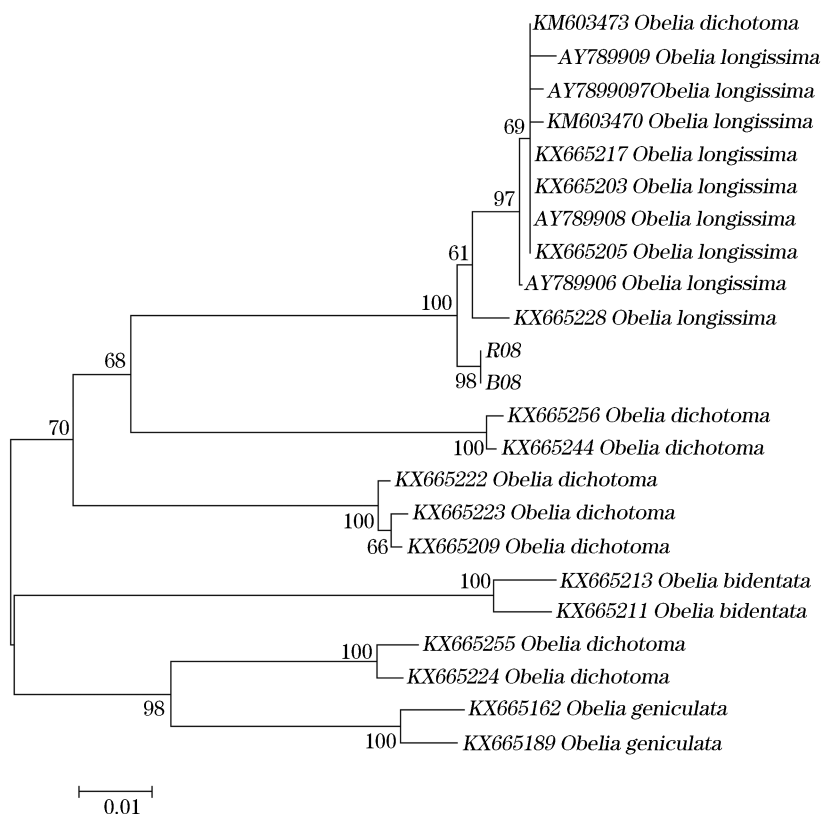


图 6 基于 COI 序列构建的枝水虫物种的系统进化树

Fig.6 The Phylogenetic trees of *Obelia* based on COI sequences

3 结 语

在第 7 次北极科学考察 6 个站点采集到的水螅经 16S rRNA 序列同源性和系统发育分析表明,6 种水螅均属于软水母目,其中 S12, NB06, R01 和 NB05 属于桡水虫科桡水虫属, R08 和 B08 为钟形水螅科枝水虫属。结合 16S rRNA 序列的系统发育分析结果,这两属水螅中多数单一种的个体都聚类为独立的分支。由此可见,16S rRNA 序列可以作为 DNA 条形码序列用于这 2 属的水螅虫的分类鉴定。

刺胞动物门的很多种类由于存在线粒体 DNA 修复体系, COI 序列被认为不适合作为条形码技术的标准基因^[17]。有研究者发现,在刺胞动物门的软水母目和花水母目, COI 序列不容易扩增^[11]。本研究只扩增出了一种桡水虫 NB06 的 COI 序列,并且在 GenBank 中未发现该属其他物种的同源序列,说明桡水虫的 COI 序列扩增较困难,不适宜作为 DNA 条形码用于该属的鉴定。而枝水虫属的 COI 序列较易扩增,并且 GenBank 对已知的 4 种枝水虫的 COI 序列都有收录。在这一属中,因为基于 COI 序列的种内遗传距离比 16S rRNA 的更大,我们认为 COI 序列可以作为枝水虫水螅不同地理起源的分析鉴定。

由于水螅纲动物中存在世代交替、多态现象和隐种等因素,非专业分类人员很难基于细微的形态差异来鉴别物种,这也制约着海洋水螅动物多样性的研究。而且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。所以结合其遗传差异和形态特征来进行分类学工作就尤为重要。在显微水平上, R01, NB05 与 Song 等发现的新种雪龙桡水虫 *S. xuelongi* 水螅鞘的形态和分布情况相似,但是 2 株个体的分支密度明显不同于 *S. xuelongi*。而水螅茎的“之”字形结构也是一个较为含糊的形态鉴定指标,从外观形态上很难将其认定为同一个种,而 100% 相似的 16S rRNA 条形码则更能说明它们属于同一个种。 *S. similis*, *S. robusta*, *S. xuelongi* 基于 16S rRNA 序列

的种间的遗传距离较小,但是它们之间的形态结构差异明显,应隶属于不同的种。

从 1999 年至 2016 年,我国已经完成了 7 次北极科学考察任务,期间收集了大量的底栖生物样品,但由于各种原因,有分析记录和发表的还很少^[18-20],对于底栖水螅样品,由于经济价值不高,研究的则更少。桧叶螅通常营底栖生活,而藪枝螅则同时呈现水螅型的底栖生活类型和水母型的浮游生活类型。水螅作为北极底栖生物群落的重要组成,由于其不同的生活史导致的不同扩张策略,使其成为一种很好的模式生物,用于指示在新的区域物种是如何扩张和定植的。无论是末次冰期以来北极地区陆架的环境变迁,还是气候变化对北极底栖生物群落的分布和遗传结构的影响,水螅水母类都是有价值的研究对象。DNA 条形码分析方法的建立,为在缺少专业分类专家的情况下,水螅纲物种分布和大规模调查研究奠定了基础。

参考文献(References):

- [1] RONOWICZ M, KUKLINSKI P, MAPSTONE G M. Trends in the diversity, distribution and life history strategy of Arctic Hydrozoa (Cnidaria)[J]. PLoS One, 2015, 10(3): 1-19.
- [2] RONOWICZ M, SCHUCHERT P. *Halecium arcticum*, a new hydroid from Spitsbergen (Cnidaria: Hydrozoa)[J]. Zootaxa, 2007 (1549): 55-62.
- [3] PIRAINO S, BLUHM B A, GRADINGER R, et al. *Sympagohydra tuuli* gen. nov. and sp. nov. (Cnidaria: Hydrozoa) a cool hydroid from the Arctic sea ice[J]. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 2008(88): 1637-1641.
- [4] MIGLIETTA M P. *Hydractinia antonii* sp. nov.: a new, partially calcified hydractiniid (Cnidaria: Hydrozoa: Hydractiniidae) from Alaska[J]. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 2006(86): 993-996.
- [5] SONG X K, GRAVILI C, WANG J J, et al. A new deep-sea hydroid (Cnidaria: Hydrozoa) from the Bering Sea Basin reveals high genetic relevance to Arctic and adjacent shallow-water species[J]. Polar Biology, 2016, 39(3): 461-471.
- [6] ZHANG J B, LIN M. The hydromedusae from Chukchi Sea and its distribution[J]. Chinese Journal of Polar Research, 2000, 12(3): 169-182. 张金标, 林茂. 楚科奇海的水螅水母类及其分布[J]. 极地研究, 2000, 12(3): 169-182.
- [7] ZHENG L M, LIN Y S, LI S J, et al. Morphological and molecular evidences of *Aequorea taiwanensis* n. sp. from Taiwan Strait, with mtCOI sequence analysis for genus *Aequorea*[J]. Haiyang Xuebao, 2008, 30(4): 139-146. 郑连明, 林元烧, 李少菁, 等. 台湾海峡多管水母属一新种及基于线粒体 COI 序列分析鉴定多管水母[J]. 海洋学报, 2008, 30(4): 139-146.
- [8] PENG J L, WANG X Z, HE S P. The progress and application of DNA barcoding[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2008, 32(6): 916-919. 彭居俐, 王绪桢, 何舜平. DNA 条形码技术的研究进展及其应用[J]. 水生生物学报, 2008, 32(6): 916-919.
- [9] SHEARER T L, VAN OPPEN M J H, ROMANO S L, et al. Slow mitochondrial DNA sequence evolution in the Anthozoa (Cnidaria)[J]. Molecular Ecology, 2002, 11(12): 2475-2487.
- [10] GOVINDARAJAN A F, BOERO F, HALANYCH K M. Phylogenetic analysis with multiple markers indicates repeated loss of the adult medusa stage in Campanulariidae (Hydrozoa, Cnidaria)[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2006, 38(3): 820-834.
- [11] ZHANG D N, ZHENG L M, HE J R. DNA barcoding of hydromedusae in northern Beibu Gulf for species identification[J]. Biodiversity Science, 2015, 23(1): 50-60. 张瑛妮, 郑连明, 何劲儒, 等. 基于线粒体 COI 和 16S 片段序列的北部湾北部水螅水母 DNA 条形码分析[J]. 生物多样性, 2015, 23(1): 50-60.
- [12] MOURA C J, CUNHA M R, PORTEIRO F M, et al. The use of the DNA barcode gene 16S mRNA for the clarification of taxonomic problems within the family Sertulariidae (Cnidaria, Hydrozoa)[J]. Zoologica Scripta, 2011, 40(5): 520-537.
- [13] MOURA C J, CUNHA M R, PORTEIRO F M, et al. A molecular phylogenetic appraisal of the systematics of the Aglaopheniidae (Cnidaria: Hydrozoa, Leptothecata) from the north-east Atlantic and west Mediterranean[J]. Zoological Journal of the Linnean Society, 2012, 164(4): 717-727.
- [14] CUNNINGHAM C W, BUSS L W. Molecular evidence for multiple episodes of pedomorphosis in the family Hydractiniidae[J]. Biochemical Systematics and Ecology, 1993, 21(1): 57-69.
- [15] FOLMER O, BLACK M, HOEH W, et al. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates[J]. Molecular Marine Biology and Biotechnology, 1994, 3(5): 294-299.
- [16] TAMURA K, STECHER G, PETERSON D, et al. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0[J]. Molecular Biology and Evolution, 2013, 30(12): 2725-2729.
- [17] MCFADDEN C S, BENAYAHU Y, PANTE E, et al. Limitations of mitochondrial gene barcoding in Octocorallia[J]. Molecular Ecology Resources, 2011, 11(1): 19-31.

- [18] LI RG, ZHENG F W, JIANG J X, et al. Macrobenthos in the Chukchi Sea and Bering Sea[J]. Biodiversity Science, 2003, 11(3): 204-215.
- [19] WANG J J, HE X B, LIN H S, et al. Community structure and spatial distribution of macrobenthos in the shelf area of the Bering Sea [J]. Acta Oceanologica Sinica, 2014a, 33(6): 74-81.
- [20] WANG J J, LIN H S, HE X B, et al. Biodiversity and community structural characteristics of macrobenthos in the Chukchi Sea[J]. Acta Oceanologica Sinica, 2014b, 33(6): 82-89.

DNA Barcoding of Several Species of *Sertularia* and *Obelia* in Arctic

ZHAO Xia¹, ZHANG Pei-yu¹, LIU Chen-lin^{2,3}, LIN Xue-zheng^{2,3}

(1. College of Enviromental Science and Engineering, Qingdao University, Qingdao 266071, China;

2. The First Institute of Oceanography, SOA, Qingdao 266071, China;

3. Key Laboratory of Marine Bioactive Substances, SOA, Qingdao 266071, China)

Abstract: In this paper, six hydroids collected from different stations in the Seventh Chinese Arctic Scientific Expedition in 2016, were classified by DNA barcoding. And some general features were described. Phylogenetic trees of the mitochondrial 16S rRNA genes revealed that S12, NB06, R01 and NB05 are assigned to *Sertularia* (Sertulariidae), R08 and B08 are *Obelia* (Campanulariidae). Moreover, specific species of hydroids are clustered into one stable clade supported by high bootstrap values. Hence, 16S rRNA gene can be used as a DNA barcode to identify the two genera. The COI gene is unsuitable as a DNA barcode because it is hard to be amplified in *Sertularia*. While for *Obelia*, the COI genes are easy to be amplified. The intraspecific genetic distance is far larger than the Interspecific genetic distance based on the two genes of *Obelia longissima*, and the Interspecific based on COI genes is larger than on 16S rRNA sequences. Therefore the COI sequence appears to be an effective marker in the identification of different geographical origin strains for *Obelia*.

Key words: DNA barcoding; Arctic hydroids; *Sertularia*; *Obelia*

Received: May 22, 2017