•研究报告•

基于线粒体COI基因分析钩手水母的群体遗传结构

刘青青^{1,2} 董志军^{1,3*}

1 (中国科学院烟台海岸带研究所, 牟平海岸带环境综合试验站, 山东烟台 264003)

2 (中国科学院大学, 北京 101408)

3 (中国科学院海洋大科学研究中心, 山东青岛 266071)

摘要: 钩手水母(*Gonionemus vertens*)为大西洋和太平洋广布种, 是我国习见的有毒水母种类之一。本文对采自黄渤海海域4个地理群体的104个钩手水母线粒体COI基因序列进行扩增, 并结合GenBank上其他182个钩手水母同源序列进行序列变异分析。在286个基因序列中共检测出52个多态位点, 定义了14种单倍型。总群体的单倍型多样性和核苷酸多样性分别为 0.743 ± 0.012 和 $1.046\% \pm 0.097\%$, 与其他几种大型水母相比, 钩手水母总群体的遗传多样性处于较高水平。AMOVA结果显示, 60.17%的分子变异源于群组间, 13.37%的分子变异源于群体内, 26.46%的分子变异源于组内群体间, 群组间、群体内和组内群体间的遗传分化均极显著。 F_{st} 值统计检验表明, 中国厦门群体与乐亭、东营、烟台、大连群体间存在显著的遗传分化, 大连与东营、烟台群体间也存在显著的遗传分化。系统分析结果显示, 钩手水母群体间存在2个明显的单倍型谱系分支。不同的钩手水母地理群体间具有复杂的遗传模式, 钩手水母复杂的生活史、扩散能力、地理隔离和海流分布可能是影响钩手水母遗传结构的重要因素。

关键词: 钩手水母; 线粒体COI; DNA条形码; 群体遗传结构; 遗传分化

Population genetic structure of *Gonionemus vertens* based on the mitochondrial COI sequence

Qingqing Liu^{1,2}, Zhijun Dong^{1,3*}

1 Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Muping Coastal Environment Research Station, Yantai, Shandong 264003

2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 101408

3 Center for Ocean Mega-Science, Chinese Academy of Sciences, Qingdao, Shandong 266071

Abstract: *Gonionemus vertens* is widely distributed throughout the Atlantic and Pacific Oceans and is one of venomous jellyfish species in China. To investigate the population genetic structure of *G. vertens*, we sequenced the mtDNA COI gene in 104 individuals collected from four geographic locations along the coast of the Yellow Sea and the Bohai Sea, and the homologous sequences of other 182 individuals which were obtained from GenBank were also analyzed. A total of 52 polymorphic nucleotide sites were detected among the 286 individuals, which defined 14 haplotypes. The overall haplotype diversity and nucleotide diversity were 0.743 ± 0.012 and $1.046\% \pm 0.097\%$, respectively. Compared with several other giant jellyfish species, the genetic diversity of *G. vertens* was at the higher level. AMOVA analysis indicated that extremely significant difference existed among the groups, within populations and among the populations within groups, with 60.17% molecular variation among the groups, 13.37% molecular variation within populations, and 26.46% molecular variation among the populations within groups. Pairwise fixation index (F_{st}) values showed that significant population structure existed between the *G. vertens* population collected in Xiamen waters with other populations collected from Laoting, Dongying, Yantai, and Dalian waters, and the population structure throughout Dalian with Dongying, or with Yantai were also significant. Phylogeographic analysis of the COI region revealed two lineages. The results indicated that the complex life cycle characteristics, dispersal ability, geographic isolation, together with the prevailing ocean currents in this region, may be important

收稿日期: 2018-03-08; 接受日期: 2018-07-04

基金项目: 国家自然科学基金(41576152)

* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: zjdong@yic.ac.cn

factors influencing the genetic structure of *G. vertens*.

Key words: *Gonionemus vertens*; mtDNA; DNA barcode; population genetic structure; genetic differentiation

钩手水母(*Gonionemus vertens*)隶属于水螅虫纲淡水水母目花笠水母科钩手水母属, 广泛分布于太平洋和大西洋, 在我国渤海、黄海和东海均有出现。钩手水母是我国习见的有毒水母种类之一, 其触手上有毒性强烈的刺细胞, 人被蜇伤后可出现皮肤灼痛、四肢麻痹、呼吸困难甚至心跳暂停等症状, 急性症状持续3~5天, 严重危害沿海居民和游客的生命安全(Pigulevsky & Michaleff, 1969; Yakovlev & Vaskovsky, 1993)。钩手水母也会对近海养殖造成不利影响, 实验证明钩手水母会蜇伤或蜇死滨海养殖池中的海参和对虾。

钩手水母生活史有世代交替现象, 其过程包括水螅型和水母型阶段。钩手水母从受精卵开始, 经过卵裂过程, 形成胚胎, 变态发育成浮浪幼虫, 浮浪幼虫长出口和触手后, 先发育成辐状幼虫, 后形成小的水螅体, 水螅体通过出芽方式产生生殖体, 脱离母体后逐渐发育成水母体(田金良, 1987)。目前国内对于钩手水母的报道主要集中在物种丰度、形态学、分类地位方面(田金良, 1987; 姜会超等, 2017), 未见关于其遗传多样性评估方面的报道。

线粒体DNA因其母系遗传, 结构简单, 核苷酸替代率高, 进化速率更快且灵敏度高, 被广泛应用于动物群体遗传学分析(Brown et al, 1979)。随着分子生物技术的快速发展, 线粒体细胞色素C氧化酶第一亚基(cytochrome c oxidase subunit I, 简称COI)逐渐成为水母类遗传多样性分析常用的一种分子标记(Harrison, 2004)。例如Dong等(2016)基于COI和ITS基因片段研究了中国近海沙海蜇(*Nemopilema nomurai*)的遗传结构, 证明中国近海5个群体间的遗传分化不显著; 张瑄妮等(2015)以COI作为DNA条形码来鉴别近海常见水螅水母类, 并比较了不同水母种内、种间遗传差异; 而Govindarajan等(2006)则发现曲膝蕨枝螅(*Obelia geniculata*)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。同时线粒体COI基因片段具有易扩增和易测序的优点, 有利于进行刺胞动物群体遗传学的研究。

本研究采用COI基因片段序列分析方法, 以黄渤海地区采集的钩手水母群体为研究对象, 结合

GenBank数据库中不同海域的钩手水母同源序列进行比较, 进一步探讨不同海域钩手水母群体的遗传分化及遗传背景等, 同时为其他水母类的群体遗传多样性研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 样品采集和DNA提取

在黄渤海钩手水母出现的海域采集钩手水母样品, 包括中国乐亭(LT)、东营(DY)、烟台(YT)和大连(DL) (图1), 4个地理群体共计104个个体。样品经形态学鉴定后保存在无水乙醇中, 于-20℃保存。

图1 钩手水母采样地点分布图

Fig. 1 Sketch map of sampling sites of *Gonionemus vertens*

1.2 DNA提取、扩增及测序

采用海洋动物组织基因组DNA提取试剂盒提取DNA, 基因组DNA以TE缓冲溶液于-20℃保存。

线粒体COI基因片段扩增采用通用引物LCO-1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3')和HCO-2198 (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA-3') (Vrijenhoek, 1994)。PCR扩增在Takara TP350 PCR仪上进行。25 μL反应体系包括12.5 μL 2 × Taq PCR StarMix, 10 μM引物各1 μL, 3 μL DNA模板, 其余以灭菌超纯水补足。COI扩增反应程序为: 94℃预变性3 min, 94℃变性30 s, 54.5℃退火30 s, 72℃延伸75 s, 运行35个循环; 循环结束后72℃保

温7 min, 4℃低温保存。取5 μL PCR扩增产物于1%琼脂糖凝胶电泳(110 V, 30 min)以检测PCR扩增结果,并在凝胶电泳成像系统上拍照记录。将凝胶电泳检测出含扩增片段的样品交由上海生工生物工程技术服务有限公司测序,使用ABI测序仪(3730xl DNA Analyzer)进行双向测序以确保序列结果的准确性。

1.3 数据分析

从GenBank数据库中下载钩手水母同源序列(KF962130–962139; KY437814–437980)与本研究获得的片段共同进行序列分析(Govindarajan et al, 2017)。根据采样点(表1)所处海域将18个钩手水母群体分为4组,分别是西北大西洋(NWA)、西北太平洋(NWP)、东北太平洋(NEP)和东北大西洋(NEA)。用BioEdit软件对DNA序列进行人工校正和编辑,剔除所有含缺失信息、兼并碱基的序列(Hall, 1999)。利用DnaSP 5.10软件确定单倍型、单倍型数目、单倍型多样性(H_d)和核苷酸多样性(π) (Librado & Rozas, 2009)。用Arlequin 3.5软件计算两两群体间的遗传分化系数(F_{st})统计值,并使用分子方差分析(AMOVA)估算遗传变异的分布,10,000次随机重复抽样后进行显著性检验(Excoffier & Lischer, 2010)。利用Mega 7.0计算多态位点、碱基含量、单倍型间的遗传距离,群体间的遗传距离基于Kimura双参数模型(Kimura2-parameter, K2P)计算(Kumar et al, 2016)。通过MrBayes 3.2软件进行贝叶斯分析, Hall认为贝叶斯的方法在构建分子进化树时具有较其他方法更高的准确性(Hall, 2004), MrModeltest 2.3软件由AIC准则(Akaike Information Criterion)选择出构建贝叶斯树的最适模型是GTR模型。马尔考夫链蒙特卡罗(MCMC)分析运行100万代,每100代取样1次(Nylander et al, 2008; Ronquist et al, 2012)。此外,为了探讨钩手水母COI单倍型的谱系结构,利用Network软件基于Median-joining程序构建各群体内所有基因单倍型中介网络图(Bandelt et al, 1999)。

2 结果

2.1 碱基组成及序列变异

在黄渤海海域共获得钩手水母COI基因序列104条,扩增序列长度为685 bp。上传至GenBank获得序列号MH020640–743,具体信息见表1。将这104条COI基因序列与GenBank上下载的182条COI基因

序列相结合,共计286条序列,经比对后序列长度为501 bp。501个位点中共检测到52个多态位点(10.38%),包括46个简约信息位点(9.18%)和6个单态核苷酸变异位点(1.20%)。52个多态位点共定义了14种单倍型(Hap1–14),显示出较高的单倍型多样性($H_d = 0.743 \pm 0.012$)和较低的核苷酸多样性($\pi = 1.046\% \pm 0.097\%$) (表1)。单倍型间遗传距离为0.2–7.9%,平均遗传距离为2%。结合来自GenBank的182条COI 基因序列比对后的碱基组成分析显示,A、T、C和G碱基平均含量分别为36.5%、26.3%、19.1%和18.1%,其中A + T含量(62.8%)明显高于C + G含量(37.2%),表现出明显的A/T偏好。

利用Mega 7.0软件,基于K2P模型计算了钩手水母两两群体间的遗传距离,由附录1可知钩手水母18个群体间的遗传距离在0.000–0.076之间。西北太平洋(NWP)和西北大西洋(NWA)群体间的遗传距离范围为0.001–0.017;西北太平洋/西北大西洋(NWP/NWA)和东北太平洋/东北大西洋(NEP/NEA)群体间的遗传距离范围为0.069–0.076。其中,美国大海湾(GB, NWA)的群体与采自美国圣胡安岛(FH, NEP)和采自冰岛(IC, NEA)的群体的遗传距离最远,可达0.076,美国圣胡安岛(FH)和冰岛(IC)的群体的遗传距离最近,仅为0.000。来自中国近海的5个钩手水母群体间遗传距离为0.001–0.005,厦门群体与另外4个群体间的遗传距离最远(0.004–0.005)。

2.2 群体遗传分化

钩手水母18个群体两两比较的遗传分化系数 F_{st} 如附录2所示,各地理群体间的遗传分化系数从–0.197到1.000不等。在中国近海的5个群体中,厦门群体与乐亭、东营、烟台、大连群体间的遗传分化系数 F_{st} 均在0.25以上,且对应的 P 值均小于0.05,表明厦门群体与其他几个群体间存在显著的遗传分化。大连与东营、烟台群体的 F_{st} 在0.05–0.15之间,且对应的 P 值小于0.05,表明大连与东营、烟台群体间存在显著的遗传分化。将钩手水母18个群体分成4个群组进行AMOVA分析。分子变异分析的结果如表2所示,群组间的遗传变异占总变异的60.17%,而26.46%的变异发生在组内群体间,均高于群体内13.37%的遗传变异。群组间、组内群体间和群体内的遗传分化均极显著($P < 0.001$)。

2.3 系统分析

本研究采用贝叶斯法(Bayesian, BI),以钩手水

表1 钩手水母样本信息及遗传多样性指数

Table 1 Locations, number of individuals and diversity parameters for the population of *Gonionemus vertens*

采样点 Site	样本量 <i>N</i>	单倍型 <i>H</i>	单倍型组成 (样本数) Haplotype composition (No. of inds.)	单倍型多样性 <i>Hd</i>	核苷酸多样性 π (%)	GenBank 序列号 GenBank accession no.
西北大西洋 Northwest Atlantic (NWA)						
美国新罕布什尔州大海湾 Great Bay, New Hampshire, America (GB)	7	2	Hap1(3); Hap14(4)	0.571 ± 0.119	0.912 ± 0.191	KY437905–911
美国雅茅斯巴斯河 Bass River, Yarmouth, America (BR)	17	3	Hap1(2); Hap12(12); Hap14(3)	0.485 ± 0.126	1.004 ± 0.270	KY437888–904
美国马什皮汉布林池塘 Hamblin Pond, Mashpee, America (HP)	18	1	Hap12(18)	0	0	KY437834–851
美国奥克布拉夫农场池塘 Farm Pond, Oak Bluffs, America (FP)	17	2	Hap1(1); Hap12(16)	0.118 ± 0.101	0.164 ± 0.141	KY437814–830
美国埃德加敦森格肯塔克池塘 Sengekontacket Pond, Edgartown, America (SG)	3	2	Hap1(2); Hap12(1)	0.667 ± 0.314	0.931 ± 0.439	KY437831–833
美国北金斯敦波特池塘 Potter Pond, North Kingston, America (PP)	22	2	Hap1(2); Hap12(20)	0.173 ± 0.101	0.242 ± 0.141	KY437912–933
美国格罗顿芒福德湾 Mumford Cove, Groton, America (MC)	14	2	Hap1(13); Hap12(1)	0.143 ± 0.119	0.200 ± 0.166	KY437934–947
美国格罗顿松岛 Pine Island, Groton, America (PI)	24	2	Hap1(23); Hap12(1)	0.083 ± 0.075	0.116 ± 0.105	KY437864–887
西北太平洋 Northwest Pacific (NWP)						
俄罗斯阿穆尔湾 Amur Bay, Peter the Great Gulf, Russia (AB)	3	1	Hap1(3)	0	0	KY437948–950
俄罗斯沃斯托克湾 Vostok Bay, Peter the Great Gulf, Russia (VB)	30	2	Hap1(26); Hap11(4)	0.239 ± 0.092	0.048 ± 0.018	KY437951–980
日本越喜来湾 Okirai Bay, Japan (JP)	12	2	Hap1(1); Hap2(11)	0.167 ± 0.134	0.100 ± 0.080	KY437852–863
中国厦门 Xiamen, China (XM)	10	1	Hap10(10)	0	0	KF962130–139
中国烟台 Yantai, China (YT)	27	5	Hap2(23); Hap3(1); Hap4(1); Hap8(1); Hap9(1)	0.279 ± 0.112	0.148 ± 0.095	MH020717–743
中国大连 Dalian, China (DL)	30	4	Hap1(6); Hap2(19); Hap5(4); Hap6(1)	0.559 ± 0.086	0.307 ± 0.058	MH020640–669
中国东营 Dongying, China (DY)	18	1	Hap2(18)	0	0	MH020670–687
中国乐亭 Laoting, China (LT)	29	3	Hap1(2); Hap2(25); Hap7(2)	0.256 ± 0.102	0.106 ± 0.050	MH020688–716
东北太平洋 Northeast Pacific (NEP)						
美国圣胡安岛 San Juan Island, America (FH)	4	1	Hap13(4)	0	0	KY437982–985
东北大西洋 Northeast Atlantic (NEA)						
冰岛阿夫塔内斯 Álfarnes, Iceland (IC)	1	1	Hap13(1)	0	0	KY437981
总群体 Total	–	286	14	–	0.743 ± 0.012	1.046 ± 0.097

表2 钩手水母群体分子变异的空间方差分析

Table 2 Spatial analysis of molecular variance among population of *Gonionemus vertens*

变异来源 Source of variation	自由度 d.f.	平方和 Sum of squares	方差比例 % of variation	<i>F</i>	<i>P</i>
群组间 Among groups	3	362.274	60.17	$F_{sc} = 0.66436$	0.0000
组内群体间 Among populations within groups	14	247.509	26.46	$F_{st} = 0.86631$	0.0000
群体内 Within populations	268	136.735	13.37	$F_{ct} = 0.60168$	0.0002
总计 Total	285	746.517	100

图2 基于贝叶斯理论构建的钩手水母的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic trees within *Gonionemus vertens* derived by Bayesian inference

图3 基于COI基因的钩手水母单倍型的中介网络图。彩色扇形面积表示各样品群体在同一单倍型中所占的比例；圆面积表示单倍型出现频率；红色圆点代表中间突变节点。图中采样点简称与表1一致。

Fig. 3 Median-joining haplotype network of *Gonionemus vertens* based on the combined sequence of COI. The color fan area indicates the proportion of each sample population in the same haplotype; the circle area indicates the frequency of haplotype occurrence; the red dot represents the intermediate mutation node. The abbreviation of the sampling points in the figure is consistent with Table 1.

母14个单倍型构建了分子进化树，树上各节点上的数值为统计分析后对该分支的支持率。结果显示，Hap13 (NEP/NEA)单独聚为一个独立分支，且具有最高的节点支持率(100%)。其他13个单倍型(NWP/NWA)形成6个进化支，共同聚为一个分支(图2)。

利用中介网络法构建的钩手水母群体单倍型网络关系图能清晰地说明各单倍型间的演化关系以及各地理群体的分布情况，且单倍型进化网络图进一步支持了分子进化树的分析。由图3可知，Hap1

是12个地理群体的共享单倍型，其中包括中国大连和乐亭群体，但这些地理群体都隶属于NWP/NWA。Hap2为中国乐亭、东营、烟台和大连和日本越喜来湾5个群体的共享单倍型，且围绕Hap2形成辐射状的网络图，但中国厦门群体的10个个体单独形成Hap10。采自美国圣胡安岛的群体和采自冰岛的群体共同组成Hap13。其中 Hap3、4、8、9, Hap5、6, Hap7, Hap10和Hap11分别为烟台、大连、乐亭、厦门和沃斯托克湾(VB)群体特有单倍型，与分子进化树的结

果一致,且Hap3、4、6、8和9仅含一个群体的单一个体。Hap1、2和12为主体单倍型,其所占比例分别为29.4%、33.6%和24.1%,其他单倍型通过一步或者多步突变与之相连。

3 讨论

3.1 钩手水母群体遗传多样性

群体遗传多样性体现了物种对不同环境的适应潜力。单倍型多样性(H_d)和核苷酸多样性(π)是衡量一个物种群体变异程度的重要指标,也是评价群体遗传多样性与分化的重要指数,其数值高表明群体具有丰富的遗传多样性(Neigel & Avise, 1993)。本研究基于线粒体COI基因片段得出钩手水母总群体的单倍型多样性和核苷酸多样性分别为 0.743 ± 0.012 和 $1.046\% \pm 0.097\%$ 。与其他几种大型水母如海月水母(*Aurelia* spp.) ($H_d = 0.66-0.87$, $\pi = 0.20-0.63\%$) (Dong et al, 2015)、沙海蜇($H_d = 0.727$, $\pi = 0.21\%$) (Dong et al, 2016)相比,钩手水母总群体的遗传多样性处于较高水平。钩手水母18个地理群体的单倍型多样性呈现出有些群体高、有些群体低的现象,各群体对应的核苷酸多样性均处于中等或较低水平。可能的解释是海洋生物群体短期内经历了快速的增长,增长过程中积累了大量的新突变,但没有充足的时间积累足够的核苷酸变异(Avise et al, 1984; 李玉龙等, 2016)。这种现象在西北太平洋的很多海洋物种中存在,即群体具有较高的单倍型多样性和中等或较低水平的核苷酸多样性(Li et al, 2009; Zhao et al, 2015)。同时,本研究通过分析钩手水母COI碱基组成,发现A + T含量与G + C含量比约为2:1,呈现A/T偏倚性,与其他水母类COI基因A/T含量高的组成特征相似,符合后生动物线粒体基因组A/T含量普遍偏高的特点(程方平等, 2012)。西北太平洋和西北大西洋群组间的遗传距离范围为0.001–0.017; 西北太平洋/西北大西洋和东北太平洋/东北大西洋群组间的遗传距离范围为0.069–0.076,后者遗传距离是前者的几十倍,且西北太平洋/西北大西洋和东北太平洋/东北大西洋群组间的遗传距离均大于Hebert推荐区分物种的最小遗传距离0.02 (Hebert et al, 2003),推测钩手水母群体间可能存在隐存种。

3.2 钩手水母的遗传分化

地理隔离能够限制群体间的基因交流,也是影

响群体间遗传分化的重要因素。Wright (1943)指出,物种遗传分化的程度会随着地理距离的增加而增加,许多研究也证实了这一观点。如有研究表明马赛克水母(*Catostylus mosaicus*)及海月水母的不同地理群体由于长期隔离导致明显的遗传分化(Dawson et al, 2005)。一般认为,相比于陆生生物,海洋生物的遗传分化水平相对较低,主要缘于海洋环境缺乏阻止生物基因交流和群体扩散的有效屏障,这种现象在具有长距离运动能力的海洋生物中表现得尤为突出(Ward et al, 1994; Stabile et al, 1996)。群体遗传学认为 F_{st} 值可以显示群体间的遗传分化程度,Wright (1949)曾经提出对于遗传分化系数大小和分化程度的解释:当群体遗传分化系数 F_{st} 为0–0.05,表明群体间遗传分化很小; F_{st} 为0.05–0.15,群体间存在中等程度的遗传分化; F_{st} 为0.15–0.25,群体间遗传分化较大; F_{st} 为0.25以上,群体间有很大的遗传分化。本研究中钩手水母18个地理群体间的遗传分化系数从–0.197到1.000不等,而在中国近海的5个群体中,厦门群体与其他几个群体间存在显著的遗传分化,大连与东营、烟台群体间存在显著的遗传分化。分子变异分析的结果显示群组间的遗传变异占总变异的60.17%,群体内的遗传变异占13.37%,群组间和群体内的遗传分化均极显著,进一步佐证了本研究取样范围内不同钩手水母地理群体间存在遗传分化现象。

近年来的研究表明,扩散能力和不同的生殖策略会影响水母类群体间遗传分化,例如具有较强扩散能力的夜光游水母(终生浮游种类)缺乏遗传分化,而具有短暂的浮浪幼虫浮游阶段的水母具有更明显的遗传分化(Palumbi, 1994; Stopar et al, 2010)。Dong等(2015)通过分析中国沿海不同海月水母地理群体的遗传结构,认为复杂的生活史和海流分布是导致遗传分化的重要原因;李玉龙等(2016)对海蜇群体遗传分化的研究也得出了类似的结论。钩手水母是海洋中具有复杂生活史的水母种类,包括水螅体和水母体生活阶段,从高潮线至3,000 m深海域的不同水层中均有分布(田金良, 1987),表明其具有一定的扩散能力,推测黄渤海某些群体间如乐亭和东营等群体存在一定的基因交流。中国乐亭、东营群体采自渤海水域,烟台、大连群体采自黄海水域,而厦门群体来自东海水域,地理隔离和基因交流匮乏可能是厦门群体与其他几个群体间产生遗传分

化的重要因素。大连和烟台群体地理距离较近,但两群体间存在显著的遗传分化,说明地理格局并非影响群体遗传模式的唯一因素,与同域分布的海月水母遗传模式类似,推测与钩手水母复杂的生活史和海流分布等有关。

从分子进化树来看,钩手水母在进化树上形成两个明显的单倍型谱系分支,虽然系统关系并非严格有序,但相同地理群体的大部分个体仍聚在一起。这是由于本研究的采样地点集中在黄渤海地区,黄渤海海域为相对开放环境,使钩手水母黄渤海4个地理群体间基因交流较为顺畅,这也是乐亭、东营、烟台、大连群体共享Hap2的重要原因。钩手水母分布范围广泛,但由于取样地点不能完全覆盖水母分布区域,限制了钩手水母地理群体的遗传变异研究,因此本研究下载并比对NCBI基因数据库中其他地区的COI同源序列,使数据更加完整。未来的研究若要在更广泛的范围进行钩手水母遗传多样性的研究,还需加强对中国近海海域钩手水母的采集,以期为后续钩手水母的监测提供更多的参考资料。值得注意的是,本研究由于样本的限制,并不能确定地理群体中隐存种的存在。目前有研究表明水螅纲的某些种类的COI突变率较低,在今后的研究中可以开发进化效率更高、突变率高的分子标记对钩手水母样品进行分析,以期对水螅纲水母的遗传背景及遗传分化等研究提高更好的工具。

参考文献

- Avice JC, Neigel JE, Arnold J (1984) Demographic influences on mitochondrial DNA lineage survivorship in animal populations. *Journal of Molecular Evolution*, 20, 99–105.
- Bandelt HJ, Forster P, Röhl A (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16, 37–48.
- Brown WM, George M, Wilson AC (1979) Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 76, 1967–1971.
- Cheng FP, Wang MX, Wang YT, Zhang F, Li CL, Sun S (2012) DNA barcoding of common medusozoa in northern China based on mtCOI sequence. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 43, 451–459. (in Chinese with English abstract) [程方平, 王敏晓, 王彦涛, 张芳, 李超伦, 孙松 (2012) 中国北方习见水母类的DNA条形码分析. *海洋与湖沼*, 43, 451–459.]
- Dawson MN, Gupta AS, England MH (2005) Coupled biophysical global ocean model and molecular genetic analyses identify multiple introductions of cryptogenic species. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 102, 11968–11973.
- Dong ZJ, Liu ZY, Liu DY (2015) Genetic characterization of the scyphozoan jellyfish *Aurelia* spp. in Chinese coastal waters using mitochondrial markers. *Biochemical Systematics and Ecology*, 60, 15–23.
- Dong ZJ, Liu ZY, Liu DY, Liu QQ, Sun TT (2016) Low genetic diversity and lack of genetic structure in the giant jellyfish *Nemopilema nomurai* in Chinese coastal waters. *Marine Biology Research*, 12, 769–775.
- Excoffier L, Lischer HEL (2010) Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10, 564–567.
- Govindarajan AF, Boero F, Halanych KM (2006) Phylogenetic analysis with multiple markers indicates repeated loss of the adult medusa stage in Campanulariidae (Hydrozoa, Cnidaria). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 38, 820–834.
- Govindarajan AF, Carman MR, Khaidarov MR, Semenchenko A, Wares JP (2017) Mitochondrial diversity in *Gonionemus* (Trachylina: Hydrozoa) and its implications for understanding the origins of clinging jellyfish in the Northwest Atlantic Ocean. *PeerJ*, 5, e3205.
- Hall BG (2004) Comparison of the accuracies of several phylogenetic methods using protein and DNA sequences. *Molecular Biology and Evolution*, 22, 792–802.
- Hall TA (1999) BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41, 95–98.
- Harrison JS (2004) Evolution, biogeography, and the utility of mitochondrial 16S and COI genes in phylogenetic analysis of the crab genus *Austinia* (Decapoda: Pinnotheridae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 30, 743–754.
- Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL (2003) Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 270, 313–321.
- Jiang HC, Liu N, Gao JQ, Su B, Li JH, He JL, Liu AY (2017) Zooplankton community structure in Sishili Bay and its relationship with environmental factors. *Acta Ecologica Sinica*, 37, 1318–1327. (in Chinese with English abstract) [姜会超, 刘宁, 高继庆, 苏博, 李佳蕙, 何健龙, 刘爱英 (2017) 烟台四十里湾浮游动物群落特征及与环境因子的关系. *生态学报*, 37, 1318–1327.]
- Kumar S, Stecher G, Tamura K (2016) MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33, 1870–1874.
- Librado P, Rozas J (2009) DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25, 1451–1452.
- Li YL, Dong J, Wang B, Li YP, Yu XG, Fu J, Wang WB (2016) Genetic characterization of different populations of *Rhopilema esculentum* based on the mitochondrial COI

- sequence. Chinese Journal of Applied Ecology, 27, 2340–2347. (in Chinese with English abstract) [李玉龙, 董婧, 王彬, 李轶平, 于旭光, 付杰, 王文波 (2016) 基于线粒体COI基因的海蜇不同地理群体遗传特征. 应用生态学报, 27, 2340–2347.]
- Li YL, Kong XY, Yu ZN, Kong J, Ma S, Chen LM (2009) Genetic diversity and historical demography of Chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis* in Yellow Sea and Bohai Sea based on mitochondrial DNA analysis. African Journal of Biotechnology, 8, 1193–1202.
- Neigel JE, Avise JC (1993) Application of a random walk model to geographic distributions of animal mitochondrial DNA variation. Genetics, 135, 1209–1220.
- Nylander JAA, Olsson U, Alström P, Sanmartín I (2008) Accounting for phylogenetic uncertainty in biogeography: A Bayesian approach to dispersal-vicariance analysis of the thrushes (Aves: Turdus). Systematic Biology, 57, 257–268.
- Palumbi SR (1994) Genetic divergence, reproductive isolation, and marine speciation. Annual Review of Ecology and Systematics, 25, 547–572.
- Pigulevsky SV, Michaleff PV (1969) Poisoning by the medusa *Gonionemus vertens* in the sea of Japan. Toxicon, 7, 145–149.
- Ronquist F, Teslenko M, Van Der Mark P, Ayres DL, Darling A, Hohna S, Larget B, Liu L, Suchard MA, Huelsenbeck JP (2012) MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. Systematic Biology, 61, 539–542.
- Stabile J, Waldman JR, Parauka F, Wirgin I (1996) Stock structure and homing fidelity in Gulf of Mexico sturgeon (*Acipenser oxyrinchus desotoi*) based on restriction fragment length polymorphism and sequence analyses of mitochondrial DNA. Genetics, 144, 767–775.
- Stopar K, Ramšak A, Trontelj P, Malej A (2010) Lack of genetic structure in the jellyfish *Pelagia noctiluca* (Cnidaria: Scyphozoa: Semaestomeae) across European seas. Molecular Phylogenetics and Evolution, 57, 417–428.
- Tian JL (1987) Preliminary exploration of *Gonionemus vertens* in the sea of Jiaozhou Bay. Journal of Biology, 15, 17–18. (in Chinese) [田金良 (1987) 胶州湾钩手水母初探. 生物学杂志, 15, 17–18.]
- Vrijenhoek R (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Molecular Marine Biology and Biotechnology, 3, 294–299.
- Ward RD, Woodward M, Skibinski OF (1994) A comparison of genetic diversity levels in marine, freshwater, and anadromous fishes. Journal of Fish Biology, 44, 213–232.
- Wright S (1943) Isolation by distance. Genetics, 28, 114.
- Wright S (1949) The genetical structure of populations. Annals of Human Genetics, 15, 323–354.
- Yakovlev YM, Vaskovsky VE (1993) The toxic krestovik medusa *Gonionemus vertens*. Russian Journal of Marine Biology, 19, 287–294.
- Zhang DN, Zheng LM, He JR, Zhang WJ, Lin YS, Li Y (2015) DNA barcoding of hydromedusae in northern Beibu Gulf for species identification. Biodiversity Science, 23, 50–60. (in Chinese with English abstract) [张瑄妮, 郑连明, 何劲儒, 张文静, 林元烧, 李阳 (2015) 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. 生物多样性, 23, 50–60.]
- Zhao M, Song W, Ma CY, Zhang FY, Jiang KJ, Song ZM, Ma LB (2015) Population genetic structure of *Collichthys lucidus* based on the mitochondrial cytochrome oxidase subunit I sequence. Journal of Fishery Sciences of China, 22, 233–242. (in Chinese with English abstract) [赵明, 宋炜, 马春艳, 张凤英, 蒋科技, 宋志明, 马凌波 (2015) 基于线粒体COI基因序列的棘头梅童鱼7个野生群体遗传结构分析. 中国水产科学, 22, 233–242.]

(责任编辑: 高天翔 责任编辑: 时意专)

附录 Supplementary Material

附录1 基于mtCOI的钩手水母不同地理群体间的K2P遗传距离

Appendix 1 Mean between location Kimura 2-parameter distances of *Gonionemus vertens* based on mtCOI
<http://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2018044-1.pdf>

附录2 钩手水母群体间的遗传分化

Appendix 2 The genetic divergence among *Gonionemus vertens* populations
<http://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2018044-2.pdf>

刘青青, 董志军. 基于线粒体COI基因分析钩手水母群体的遗传结构. 生物多样性, 2018, 26 (11): 1204–1211.
<http://www.biodiversity-science.net/CN/10.17520/biods.2018044>

附录1 基于 mtCOI 的钩手水母不同地理种群间的 K2P 遗传距离

Appendix 1 Mean between location Kimura 2-parameter distances of *Gonionemus vertens* based on mtCOI

采样点 Site	GB	BR	HP	FP	SG	PP	MC	PI	AB	VB	JP	XM	DY	YT	DL	LT	FH
BR	0.017																
HP	0.021	0.006															
FP	0.021	0.007	0.001														
SG	0.013	0.011	0.009	0.009													
PP	0.020	0.007	0.001	0.002	0.009												
MC	0.010	0.012	0.013	0.012	0.005	0.012											
PI	0.010	0.013	0.014	0.013	0.005	0.012	0.002										
AB	0.009	0.013	0.014	0.013	0.005	0.013	0.001	0.001									
VB	0.010	0.013	0.014	0.014	0.005	0.013	0.001	0.001	0.000								
JP	0.013	0.015	0.016	0.015	0.009	0.015	0.006	0.006	0.006	0.006							
XM	0.013	0.015	0.016	0.016	0.009	0.015	0.007	0.006	0.006	0.006	0.004						
DY	0.013	0.015	0.016	0.016	0.009	0.015	0.007	0.006	0.006	0.006	0.001	0.004					
YT	0.013	0.016	0.017	0.016	0.010	0.016	0.007	0.007	0.006	0.007	0.001	0.005	0.001				
DL	0.013	0.015	0.016	0.016	0.009	0.015	0.006	0.006	0.005	0.006	0.002	0.005	0.002	0.002			
LT	0.013	0.015	0.016	0.016	0.009	0.015	0.006	0.006	0.006	0.006	0.001	0.004	0.001	0.001	0.002		
FH	0.076	0.074	0.074	0.074	0.072	0.074	0.072	0.072	0.072	0.071	0.074	0.069	0.074	0.074	0.073	0.074	
IC	0.076	0.074	0.074	0.074	0.072	0.074	0.072	0.072	0.072	0.071	0.074	0.069	0.074	0.074	0.073	0.074	0.000

刘青青, 董志军. 基于线粒体COI基因分析钩手水母群体的遗传结构. 生物多样性, 2018, 26 (11): 1204–1211.
<http://www.biodiversity-science.net/CN/10.17520/biods.2018044>

附录 2 钩手水母群体间的遗传分化。对角线以下为群体间 F_{st} 值; 对角线以上为基于 F_{st} 值的显著性分析($P < 0.05$), 结果差异显著为“+”, 反之为“-”。

Appendix 2 The genetic divergence among *Gonionemus vertens* populations. The part below the diagonal is the F_{st} value between the populations, the part above the diagonal is the significance analysis based on the F_{st} value ($P < 0.05$), and there are significant differences in the results expressed by +, and vice versa by –.

采样点 Site	GB	BR	HP	FP	SG	PP	MC	PI	AB	VB	JP	XM	DY	YT	DL	LT	FH	IC
GB	***	+	+	+	–	+	+	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+	–
BR	0.429	***	+	–	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–
HP	0.875	0.200	***	–	+	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–
FP	0.804	0.115	0.003	***	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–
SG	0.294	0.070	0.860	0.652	***	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+	+	–
PP	0.786	0.100	0.035	–0.047	0.574	***	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–
MC	0.524	0.489	0.033	0.853	0.107	0.811	***	–	–	–	+	+	+	+	+	+	+	–
PI	0.635	0.589	0.950	0.892	0.318	0.855	–0.050	***	–	–	+	+	+	+	+	+	+	–
AB	0.344	0.410	1.000	0.892	–0.000	0.834	–0.192	–0.197	***	–	+	+	+	+	+	+	+	–
VB	0.722	0.668	0.979	0.933	0.571	0.899	0.057	0.038	–0.116	***	+	+	+	+	+	+	+	–
JP	0.666	0.594	0.975	0.909	0.682	0.872	0.754	0.813	0.852	0.890	***	+	–	–	–	–	+	–
XM	0.699	0.607	1.000	0.932	0.775	0.891	0.828	0.874	1.000	0.943	0.869	***	+	+	+	+	+	–
DY	0.785	0.676	1.000	0.948	0.860	0.912	0.869	0.897	1.000	0.952	0.035	1.000	***	–	+	–	+	–
YT	0.742	0.675	0.946	0.902	0.730	0.876	0.766	0.806	0.799	0.858	–0.028	0.776	–0.016	***	+	–	+	–
DL	0.628	0.613	0.883	0.837	0.520	0.816	0.568	0.625	0.540	0.686	0.004	0.588	0.105	0.072	***	–	+	–
LT	0.765	0.691	0.959	0.917	0.764	0.890	0.784	0.819	0.835	0.872	–0.051	0.822	0.012	–0.000	0.052	***	+	–
FH	0.916	0.884	1.000	0.980	0.945	0.970	0.976	0.985	1.000	0.994	0.988	1.000	1.000	0.981	0.960	0.987	***	–
IC	0.872	0.857	1.000	0.976	0.864	0.965	0.971	0.983	1.000	0.993	0.986	1.000	1.000	0.979	0.956	0.985	0.000	***