

文章编号:1007-2985(2024)03-0035-10

## 吉首市八月湖桃花水母的鉴定<sup>\*</sup>

袁赛波<sup>1</sup>,袁国庆<sup>2</sup>,向颖<sup>3</sup>,冯伟松<sup>4</sup>,张佑祥<sup>3</sup>

(1. 生态环境部长江流域生态环境监督管理局生态环境监测与科学研究中心,湖北 武汉 430014;2. 大连海洋大学,辽宁 大连 116023;3. 吉首大学生物资源与环境科学学院,湖南 吉首 416000;4. 中国科学院水生生物研究所,湖北 武汉 430072)



**摘要:**为了加强对桃花水母的保护及可持续利用,采用形态学鉴定和分子生物学鉴定相结合的方法,对吉首市八月湖的桃花水母进行形态特征分析,并基于 18S rDNA 和 ITS 基因序列计算不同桃花水母的种间遗传距离,构建系统发育树。结果表明,吉首市八月湖桃花水母伞径平均 12.4 mm,触手 3~4 级、主辐触手明显长于其他触手,生殖腺囊状、呈褐黄色,平衡囊管形、106~128 个,刺丝囊疣呈环形排列;吉首市八月湖桃花水母与美国索氏桃花水母(GenBank 序列号为 MG979336.1)的 18S rDNA 基因序列相似度最高,为 99.88%,与索氏桃花水母亲缘关系较近。形态数据及分子数据均支持八月湖桃花水母为索氏桃花水母。

**关键词:**桃花水母;索氏桃花水母;淡水水母目;吉首市

**中图分类号:**Q958.8

**文献标志码:**A

**DOI:**10.13438/j.cnki.jdzk.2024.03.006

桃花水母(*Craspedacusta*)隶属笠水母科(Olindiidae)桃花水母属(*Craspedacusta*),是由辐射对称向两侧对称,两胚层向三胚层进化的过渡动物类群,代表真正后生动物的开始,进化的主干。因此,桃花水母具有不可替代的科研价值,对于探索生命发展史、探究动物胚胎演化史、揭示基因遗传规律、解读遗传密码有着特殊的意义<sup>[1-3]</sup>。此外,桃花水母对生存环境要求严苛,仅能在水质优良的水域中生存<sup>[4]</sup>,因此也被视为水质的指示物种,对生态环境监测具有重要意义。然而,桃花水母数量稀少,活体不常见,极难制作成标本保存,因此被列为世界级的濒危物种。

目前,国际上广泛认可的桃花水母种类主要包括索氏桃花水母(*Craspedacusta sowerbyi*)、伊势桃花水母(*Craspedacusta isranum*)和中华桃花水母(*Craspedacusta sinensis*),国外对桃花水母的研究较为深入,但多集中在索氏桃花水母和伊势桃花水母上<sup>[5-8]</sup>。相较之下,国内相关研究则侧重于对新种形态特征及分布范围的描述<sup>[1,9-11]</sup>。近年来,湖南省内已有桃花水母的发现记录<sup>[11]</sup>,但吉首市的桃花水母还仅作为观赏对象,缺乏系统性的研究和报道。

18S rDNA 是编码真核生物核糖体小亚基 rRNA(18S rRNA)的 DNA 序列,序列中既有保守区又有可变区,保守序列区域可以揭示物种间的亲缘关系,而可变序列区域则可以体现物种间的差异,18S rDNA 在进化速率上较为保守<sup>[12]</sup>。内转录间隔区(Internal Transcribed Spacer, ITS)位于核糖体的 18S rDNA, 5.8S rDNA 及 28S rDNA 之间,由于不需要加入成熟核糖体,因此在进化过程中可以承受更多的变异。ITS 的进化速率为 18S rDNA 的 10 倍,属于中度保守的区域<sup>[13]</sup>。18S rDNA 和 ITS 基因序列均为桃花水

<sup>\*</sup> 收稿日期:2023-11-11

**基金项目:**国家重点研发计划资助项目(2023YFE0102400);湖北省重点研发计划项目(2022BCA072)

**作者简介:**袁赛波(1990—),女,湖南长沙人,长江局监测科研中心工程师,博士,主要从事水生生物生态学研究

**通信作者:**张佑祥(1966—),男,湖南吉首人,吉首大学生物资源与环境科学学院副教授,主要从事动物学教学与研究。E-mail:yxzhang12@126.com.

母分子鉴定的常用序列,将二者结合使用可为桃花水母的序列分析和物种鉴定提供强有力的工具<sup>[14-15]</sup>。

本研究以湘西土家族苗族自治州吉首市八月湖桃花水母为研究对象,通过体视显微镜观察其形态特征,将其与已知的桃花水母进行对比,并运用分子生物学方法先后扩增 18S rDNA 和 ITS 基因序列,将八月湖桃花水母归类到种或亚种水平。采用形态数据和分子数据相结合的方式对八月湖桃花水母进行深入分析,旨在揭示八月湖桃花水母的形态特征,明确分类地位,从而为我国桃花水母的保护及可持续利用提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 标本采集地点及生境

湘西土家族苗族自治州(109°11'~110°55'E,27°44'~29°47'N)位于湖南西北部,地处湘鄂黔渝四省市交界处,占地面积约 15 000 km<sup>2</sup>,平均海拔 800~1 200 m,武夷山脉自西向东贯穿全州。该区全年降雨充沛,四季分明,属亚热带季风湿润气候。

八月湖风景区,依托吉首市跃进水库建立而成,位于吉首市西部,水库库容 389.5 万 m<sup>3</sup>。区内风景优美,群山环绕,湖水清澈碧绿,湖中养殖有鱼。标本采集时水温 20~23 ℃,pH 值 6.5~7.0,均符合桃花水母生存所需环境条件。

### 1.2 标本采集与制作

1.2.1 标本采集 2011 年 8 月 28 日和 11 月 25 日,在八月湖中用水瓢和浮游生物网采集桃花水母标本,将采集到的桃花水母与湖水一同倒入采集桶中,并详细记录采集地点、采集日期、采集人等信息。同时,监测采集地点湖水的温度及 pH 值。两次共采集桃花水母标本 75 只。

1.2.2 标本制作 用小匙将桃花水母转入盛有淡水的小烧杯中,然后在水面上撒上少量薄荷脑,1~2 min 后,用解剖针轻轻触碰桃花水母的身体,如果桃花水母不再活动或收缩,则说明水母已成功被麻醉。再用小匙将麻醉的桃花水母转移到盛有福尔马林溶液(体积分数为 70%)的烧杯中,进行固定处理<sup>[16-17]</sup>。固定 60 min 后,将桃花水母移入福尔马林溶液(体积分数为 10%)中保存,现标本保存于吉首大学生物资源环境科学学院动物学实验标本室。

### 1.3 形态特征鉴定

桃花水母形态特征的鉴定主要包括 6 个方面,即伞径大小、触手数目、主辐触手大小、平衡囊数目及形状、刺丝囊疣排列及形状、生殖腺颜色及形状。其中主辐触手、平衡囊、刺丝囊疣和生殖腺特征为主要的种间鉴别特征,伞径大小和触手的分级及数目等为主要的亚种间鉴别特征<sup>[9,11,18-20]</sup>。

使用配有 moticam2306 显微镜数字摄像头的 Motic SMZ168 体视显微镜观察活体麻醉标本的基本形态,并在 75 只桃花水母标本中随机选择 12 只进行形态学指标的测量,包括伞径大小、平衡囊数目、触手数目和触手级数等。

### 1.4 PCR 扩增

从保存的桃花水母标本中随机取出 10 只。用酒精梯度过渡,ddH<sub>2</sub>O 清洗桃花水母数遍,再用无菌滤纸将水分充分吸干,置于 1.5 mL 高温灭菌的离心管中,按照 EasyPure Genomic DNA Kit(北京全世金)试剂盒说明书的操作步骤进行桃花水母总 DNA 的提取。利用 NanoDrop 分光光度计对所获得的总 DNA 进行定量检测分析,再经过琼脂糖凝胶电泳,确认 DNA 完整无降解后,将 DNA 样本置于-20 ℃冰箱中保存备用。

核基因 ITS 序列扩增的片段包括 ITS-1、ITS-2、5.8S rDNA、部分 18S rDNA 和部分 28S rDNA,引物为后生动物通用引物 ITS1 和 ITS4,预期扩增片段长度为 844 bp 左右。ITS1 的引物序列为 5'-TCCG-TAGGTGAACCTGCGG-3',ITS4 的引物序列为 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'。核糖体 18S rDNA 序列扩增的引物为后生动物通用引物 18S-A 和 18S-B,预期扩增片段长度为 1 800 bp 左右。18S-A 的引物序列为 5'-AACCTGGTTGATCCTGCCAGT-3',18S-B 的引物序列为 5'-TGATCCTTCTGCAGGT-TCACCTAC-3'。上述基因扩增的通用引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

PCR 反应体系为 25  $\mu\text{L}$ , 包含 PCR Mastermix(北京康为世纪)12.5  $\mu\text{L}$ , 上下游引物各 1  $\mu\text{L}$ , 模版 DNA 1  $\mu\text{L}$ , ddH<sub>2</sub>O 9.5  $\mu\text{L}$ . 反应程序为:94  $^{\circ}\text{C}$  预变性 5 min,94  $^{\circ}\text{C}$  变性 1 min,50  $^{\circ}\text{C}$  退火 45 min,72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 1 min,共 35 个循环,最后 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 10 min. PCR 产物采用琼脂糖凝胶(质量分数为 10%)电泳进行检测. 测序工作由生工生物工程(上海)股份有限公司完成.

1.5 基因序列分析

使用 DNAMAN 软件对测序结果进行校正拼接,在 NCBI 网站的 Blastn([https://blast. ncbi. nlm. nih. Gov/](https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/))上对导出的序列进行相似性比较,确定 PCR 扩增得到的序列是否来自桃花水母,再使用 Clustal X 1.83 软件进行多重序列比对. 将八月湖桃花水母的 18S rDNA 基因和 ITS 基因与 GenBank 数据库中收录的桃花水母的 18S rDNA 基因和 ITS 基因进行序列相似性比对,同时使用 MEGA 5.0 软件计算序列间的相对遗传距离,构建邻接系统树(NJ 树). 系统树各分支的置信度由 Bootstrap 2 000 次循环检验.

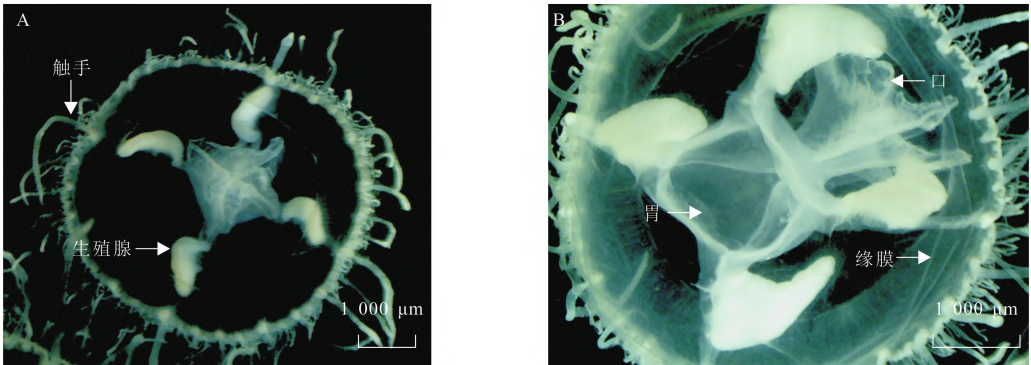
2 结果

2.1 八月湖桃花水母的形态特征

表 1 列出吉首市八月湖桃花水母的形态数据. 由表 1 可知,八月湖桃花水母标本形态特征基本一致. 八月湖桃花水母的伞体高于半球形,顶部较平,伞径 11.0~15.0 mm,平均 12.4 mm. 缘膜较狭,约为伞径的 1/4. 胃方形,垂管长,伸达缘膜膜孔之外,口具有 4 片较大的唇. 伞缘触手 156~210 条,按其长短及着生位置分为 3~4 级,主辐触手明显长于其他触手. 生殖腺生长在辐管上,呈囊状,一般大,表面有褶皱,整个生殖腺呈微绿色或褐黄色. 平衡囊呈管形或球形,数目为 106~128,位于触手基部触手间. 刺丝囊疣呈环状排列,各疣间有明显间隔(图 1).

表 1 吉首市八月湖桃花水母形态特征统计  
Table 1 Statistics of Morphological Characteristics of *Craspedacusta* sp. from Bayue Lake in Jishou City

| 编号    | 伞径/mm | 触手数目 | 主辐触手   | 刺丝囊疣形状及排列方式     | 平衡囊数目及形状 | 生殖腺颜色及形状                  |
|-------|-------|------|--------|-----------------|----------|---------------------------|
| 吉首 01 | 13.1  | 192  | 比其他触手长 | 环状              | 114,管形   | 黄绿色,囊状,左右褶皱               |
| 吉首 02 | 11.8  | 184  | 比其他触手长 | 各环状疣间有明显间隔      | 120,管形   | 褐黄色,囊状,左右褶皱               |
| 吉首 03 | 11.6  | 190  | 比其他触手长 | 环状              | 128,管形   | 微绿色,囊状                    |
| 吉首 04 | 12.0  | 156  | 比其他触手长 | 环状              | 125,管形   | 褐黄色,小囊状,左右褶皱              |
| 吉首 05 | 11.0  | 174  | 比其他触手长 | 各环状疣间有明显间隔,似分节状 | 124,管形   | 微绿色,小囊状,左右褶皱              |
| 吉首 06 | 11.2  | 184  | 比其他触手长 | 环状              | 116,球形   | 褐黄色,囊状                    |
| 吉首 07 | 12.0  | 160  | 比其他触手长 | 环状              | 128,管形   | 褐黄色,囊状,大褶皱                |
| 吉首 08 | 11.9  | 166  | 比其他触手长 | 各环状疣间有明显间隔      | 124,管形   | 褐黄色,囊状,左右褶皱               |
| 吉首 09 | 14.0  | 208  | 比其他触手长 | 环状              | 123,管形   | 褐黄色,囊状,左右褶皱               |
| 吉首 10 | 14.9  | 192  | 比其他触手长 | 环状,各环状疣间有明显间隔   | 108,管形   | 褐黄色,扁平囊状,左右褶皱,向下有一细长的指状突起 |
| 吉首 11 | 11.8  | 204  | 比其他触手长 | 环状              | 106,球形   | 褐黄色,囊状,大褶皱                |
| 吉首 12 | 13.4  | 210  | 比其他触手长 | 各环状疣间有明显间隔      | 112,管形   | 褐黄色,囊状                    |





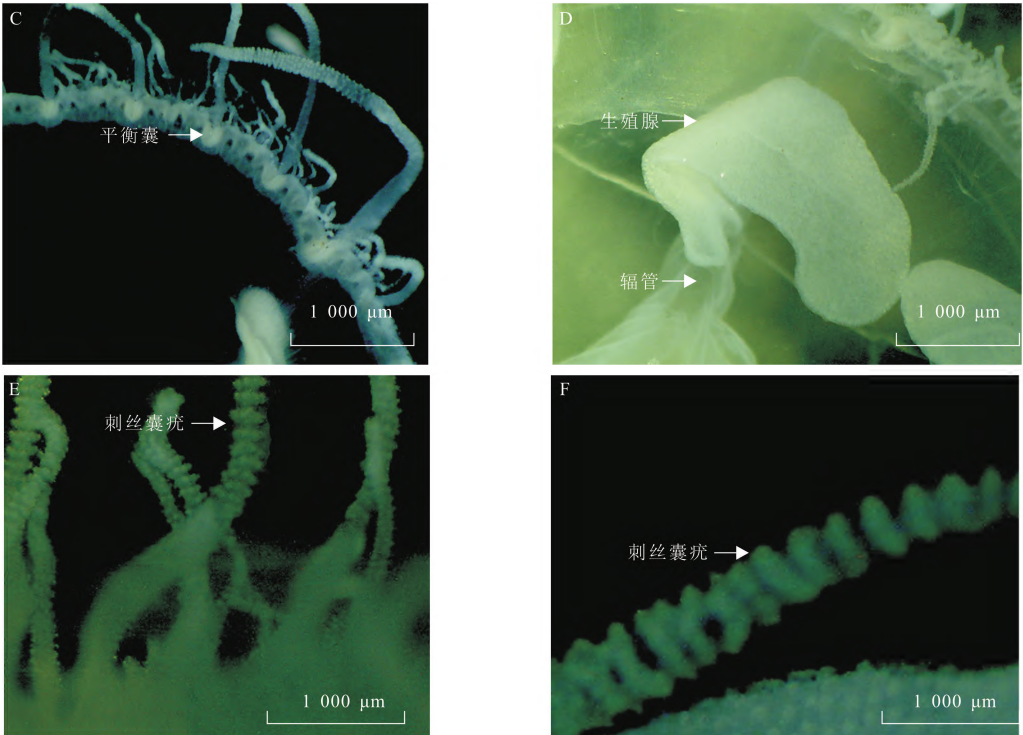


图 1 吉首市八月湖桃花水母主要形态特征

Fig. 1 Main Morphological Characteristics of *Craspedacusta* sp. from Bayue Lake in Jishou City

2. 2 八月湖桃花水母与其他已订名桃花水母的形态特征比较

表 2 列出八月湖桃花水母与其他已订名桃花水母的形态数据. 由表 2 可知, 已订名的桃花水母在主辐触手大小、平衡囊形状、刺丝囊疣形状及排列、生殖腺颜色及形状等方面存在明显种间差异, 因此这些形态指标可以作为种类鉴别依据<sup>[18]</sup>.

八月湖桃花水母的触手数目为 156~210 条, 触手分为 3~4 级, 且主辐触手比其他触手长, 刺丝囊疣呈环状排列, 各环状疣间有明显间隔, 平衡囊呈管形, 数目为 106~128. 以上形态特征与文献记载中索氏桃花水母的形态特征相近, 尤其是伞径大小、触手数目、平衡囊数目、生殖腺形状方面相似性较高<sup>[5,18,20]</sup>. 因此, 可初步鉴定本研究所采标本为索氏桃花水母, 是湖南省淡水水母新记录种.

表 2 吉首市八月湖桃花水母与其他地区桃花水母形态特征比较

| 物种                                                    | 伞径/<br>mm            | 触手<br>数目    | 触手<br>级数 | 主辐<br>触手    | 刺丝囊<br>疣形状  | 刺丝囊疣<br>排列方式            | 平衡囊<br>数目   | 平衡囊<br>形状 | 生殖腺<br>形状     | 生殖腺<br>颜色       | 参考<br>文献 |
|-------------------------------------------------------|----------------------|-------------|----------|-------------|-------------|-------------------------|-------------|-----------|---------------|-----------------|----------|
| 索氏桃花水母<br><i>Craspedacusta<br/>sowerbyi</i>           | 12                   | 约 200       | 3        | 比其他<br>触手长  | 乳突状         | 环形                      | 约 128       | 管形        | 囊状            | 褐黄色             | [5]      |
| 伊势桃花水母<br><i>Craspedacusta<br/>iseanum</i>            | 18                   | 128         | 6        | 比其他<br>触手长  | 不集成疣        | 分散排列                    | 128         | 管形        | 扁平叶状          |                 | [6]      |
| 中华桃花水母<br><i>Craspedacusta<br/>sinensis</i>           | 4.8~<br>18           | 136~<br>217 | 4        | 不比其他<br>触手长 | 细长柱状<br>或棒状 | 不规则                     | 78~<br>128  | 管形        | 小囊状           | 褐黄色             | [21]     |
| 八月湖桃花水母<br><i>Craspedacusta</i> sp.<br>Jishou Xiangxi | 11~15,<br>平均<br>12.4 | 156~<br>210 | 3~4      | 比其他<br>触手长  | 环状          | 各环状疣间<br>有明显间隔,<br>似分节状 | 106~<br>128 | 管形或<br>球形 | 囊状, 部分<br>有褶皱 | 微绿色<br>或褐<br>黄色 | 本研究      |

2. 3 八月湖桃花水母 18S rDNA 与 ITS 基因序列分析

对八月湖桃花水母的 18S rDNA 和 ITS 基因序列进行 PCR 扩增, 分别获得 1 701 bp 的 18S rDNA 基因序列(GenBank 序列号为 OR236730)和 719 bp 的 ITS 基因序列(GenBank 序列号为 OR227216). 相似

性比对结果显示,湖南吉首市八月湖桃花水母与美国索式桃花水母(GenBank 序列号为 MG979336.1)、浙江平阳索式桃花水母(GenBank 序列号为 FJ897538.1)的 18S rDNA 基因序列相似度分别为 99.88%,99.76%。八月湖桃花水母 ITS 基因序列与已知索式桃花水母 ITS 基因序列(GenBank 序列号为 FJ423633.1,FJ423621.1)相似度达 98.56%。因此,初步判定在吉首市八月湖发现的淡水水母为索式桃花水母。

在 Genbank 数据库中下载与八月湖桃花水母 18S rDNA,ITS 基因序列相似度高的序列,具体物种见表 3。

表 3 系统发育分析所用的 18S rDNA 和 ITS 基因序列  
Table 3 18S rDNA and ITS Gene Sequences Used for Phylogenetic Analysis

| 种名                                      | 地区   | 18S rDNA 基因 Genbank 序列号 | ITS 基因 Genbank 序列号 |
|-----------------------------------------|------|-------------------------|--------------------|
| <i>Craspedacusta</i> sp. Jishou Xiangxi | 中国湖南 | OR236730                | OR227216           |
| <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Fuzhou    | 中国福建 | KF771642                |                    |
| <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Fuzhou    | 中国福建 | KF771643                |                    |
| <i>Craspedacusta sowerbyi</i> USA       | 美国   | AF358057                |                    |
| <i>Craspedacusta sowerbyi</i> USA       | 美国   | KY077287                |                    |
| <i>Craspedacusta sowerbyi</i> USA       | 美国   | MG979336                |                    |
| <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Hangzhou  | 中国浙江 | FJ897539                |                    |
| <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Hengxi    | 中国浙江 | FJ897542                |                    |
| <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Ningbo    | 中国浙江 | FJ897541                |                    |
| <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Pingyang  | 中国浙江 | FJ897538                |                    |
| <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Xiangshan | 中国浙江 | FJ897543                |                    |
| <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Xiangshan | 中国浙江 | FJ897540                |                    |
| <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Yangshan  | 中国浙江 | DQ086156                |                    |
| <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Yongkang  | 中国浙江 | FJ897537                |                    |
| <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Yuhu      | 中国浙江 | DQ086155                |                    |
| <i>Craspedacusta sinensis</i> USA       | 美国   | EU247815                |                    |
| <i>Aglaura hemistoma</i>                | 美国   | EU247818                |                    |
| <i>Limnocyclus turgidus</i>             | 美国   | AY920755                |                    |
| <i>Rhopalium velatum</i>                | 美国   | EU247819                |                    |
| <i>Solmundella bitentaculata</i>        | 美国   | EU247812                |                    |
| <i>Craspedacusta sinensis</i> Chongqing | 中国重庆 |                         | AY730678           |
| <i>Craspedacusta sinensis</i> Jiuwanxi  | 中国湖北 |                         | AY730675           |
| <i>Craspedacusta sinensis</i> Luzhou    | 中国江西 |                         | AY513622           |
| <i>Craspedacusta sinensis</i> Maoping   | 中国重庆 |                         | AY730676           |
| <i>Craspedacusta sinensis</i> Xiangxi   | 中国湖南 |                         | AY730677           |
| <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Xiangshan | 中国北京 |                         | AY513629           |
| <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Germany   | 德国   |                         | FJ423621           |
| <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Germany   | 德国   |                         | FJ423623           |
| <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Germany   | 德国   |                         | FJ423624           |
| <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Germany   | 德国   |                         | FJ423626           |
| <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Germany   | 德国   |                         | FJ423627           |
| <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Germany   | 德国   |                         | FJ423630           |
| <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Germany   | 德国   |                         | FJ423631           |
| <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Germany   | 德国   |                         | FJ423633           |
| <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Hainan    | 中国海南 |                         | MT737784           |
| <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Puyang    | 中国河南 |                         | AY513628           |
| <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Zhuzhou   | 中国湖南 |                         | AY513634           |
| <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Spain     | 西班牙  |                         | MK600504           |

表 3(续)  
Table 3(Continued)

| 种名                                      | 地区   | 18S rDNA 基因 Genbank 序列号 | ITS 基因 Genbank 序列号 |
|-----------------------------------------|------|-------------------------|--------------------|
| <i>Craspedacusta sowerbii</i> Spain     | 西班牙  |                         | MK600505           |
| <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Hengxi    | 中国浙江 |                         | AY513625           |
| <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Jiangbei  | 中国浙江 |                         | JN874927           |
| <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Pingyang  | 中国浙江 |                         | JN874928           |
| <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Xiangshan | 中国浙江 |                         | JN874929           |
| <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Yongkang  | 中国浙江 |                         | JN874930           |

基于 18S rDNA 基因序列对包含八月湖桃花水母在内的索氏桃花水母、中华桃花水母,以及水螅纲(Hydrozoa)的其他水母进行遗传距离计算(表 4),并构建系统发育树(图 2). 遗传距离计算结果表明,不同地区的索氏桃花水母的种内遗传距离为 0.000~0.005,吉首市八月湖桃花水母与美国索氏桃花水母、浙江平阳索式桃花水母的遗传相似度最高,与水螅纲其他水母的种间遗传距离为 0.027~0.052. 邻接系统发育树显示,索氏桃花水母和中华桃花水母各自聚为一支(置信度为 0.98),同属于桃花水母属,吉首市八月湖索氏桃花水母与美国索氏桃花水母聚为一支,再与浙江、福建等地的索氏桃花水母聚为一支.

表 4 基于 18S rDNA 基因序列计算的水螅纲物种遗传距离  
Table 4 Genetic Distance of Hydroids Based on 18S rDNA Gene Sequences

| 序号 | 物种                                      | 1     | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    | 11    | 12    | 13    | 14    | 15    | 16    | 17    | 18    | 19    | 20 |
|----|-----------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|----|
| 1  | <i>Craspedacusta sinensis</i> USA       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 2  | <i>Craspedacusta</i> sp. Jishou Xiangxi | 0.013 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 3  | <i>Craspedacusta sowerbyi</i> USA       | 0.013 | 0.000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 4  | <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Pingyang  | 0.013 | 0.001 | 0.001 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 5  | <i>Craspedacusta sowerbyi</i> USA       | 0.013 | 0.001 | 0.001 | 0.000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 6  | <i>Craspedacusta sowerbyi</i> USA       | 0.013 | 0.001 | 0.001 | 0.002 | 0.002 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 7  | <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Ningbo    | 0.014 | 0.002 | 0.002 | 0.001 | 0.001 | 0.003 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 8  | <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Hangzhou  | 0.014 | 0.002 | 0.002 | 0.001 | 0.001 | 0.003 | 0.002 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 9  | <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Yongkang  | 0.014 | 0.002 | 0.002 | 0.001 | 0.001 | 0.003 | 0.002 | 0.002 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 10 | <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Xiangshan | 0.014 | 0.002 | 0.002 | 0.001 | 0.001 | 0.003 | 0.002 | 0.002 | 0.002 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 11 | <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Hengxi    | 0.013 | 0.002 | 0.002 | 0.001 | 0.001 | 0.002 | 0.002 | 0.002 | 0.002 | 0.002 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 12 | <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Xiangshan | 0.015 | 0.004 | 0.004 | 0.002 | 0.002 | 0.004 | 0.004 | 0.004 | 0.004 | 0.004 | 0.003 |       |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 13 | <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Fuzhou    | 0.013 | 0.001 | 0.001 | 0.000 | 0.000 | 0.002 | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.002 |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 14 | <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Yuhu      | 0.013 | 0.002 | 0.002 | 0.001 | 0.001 | 0.002 | 0.002 | 0.002 | 0.002 | 0.002 | 0.001 | 0.003 | 0.001 |       |       |       |       |       |       |    |
| 15 | <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Fuzhou    | 0.017 | 0.005 | 0.005 | 0.004 | 0.004 | 0.006 | 0.005 | 0.005 | 0.005 | 0.005 | 0.005 | 0.007 | 0.004 | 0.005 |       |       |       |       |       |    |
| 16 | <i>Craspedacusta sowerbyi</i> Yangshan  | 0.013 | 0.002 | 0.002 | 0.001 | 0.001 | 0.002 | 0.002 | 0.002 | 0.002 | 0.002 | 0.001 | 0.003 | 0.001 | 0.000 | 0.005 |       |       |       |       |    |
| 17 | <i>Solmundella bitentaculata</i>        | 0.041 | 0.050 | 0.050 | 0.050 | 0.050 | 0.050 | 0.051 | 0.051 | 0.051 | 0.051 | 0.051 | 0.053 | 0.050 | 0.051 | 0.054 | 0.051 |       |       |       |    |
| 18 | <i>Rhopalonema velatum</i>              | 0.044 | 0.051 | 0.051 | 0.052 | 0.052 | 0.052 | 0.053 | 0.053 | 0.053 | 0.053 | 0.053 | 0.054 | 0.052 | 0.053 | 0.056 | 0.053 | 0.039 |       |       |    |
| 19 | <i>Aglaurea hemistoma</i>               | 0.046 | 0.052 | 0.052 | 0.053 | 0.053 | 0.053 | 0.054 | 0.054 | 0.054 | 0.054 | 0.053 | 0.054 | 0.053 | 0.053 | 0.057 | 0.053 | 0.041 | 0.010 |       |    |
| 20 | <i>Limnocyda tangerjicae</i>            | 0.022 | 0.027 | 0.027 | 0.028 | 0.028 | 0.026 | 0.029 | 0.029 | 0.029 | 0.029 | 0.029 | 0.031 | 0.028 | 0.029 | 0.032 | 0.029 | 0.047 | 0.053 | 0.050 |    |

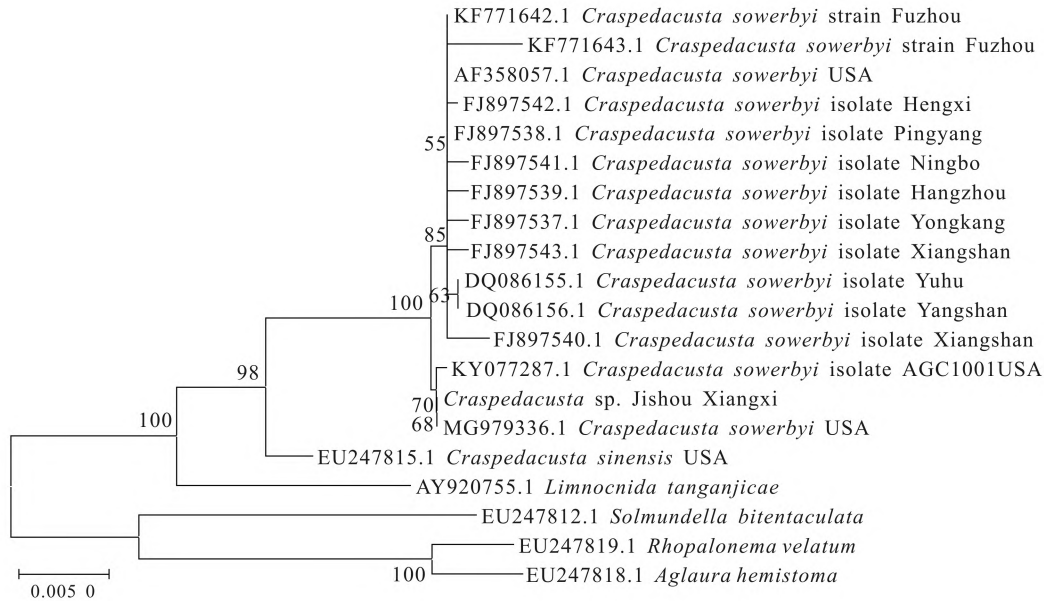


图 2 基于 18S rDNA 基因序列构建的桃花水母系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic Tree of Hydrozoa Based on 18S rDNA Gene Sequence

基于 ITS 基因序列对包含八月湖桃花水母在内的索氏桃花水母和中华桃花水母进行遗传距离计算(表 5),并构建系统发育树(图 3). 遗传距离计算结果表明,吉首市八月湖索氏桃花水母与其他索氏桃花水母的遗传距离保持在 0.003~0.200,与中华桃花水母的遗传距离在 0.387~0.391 之间. NJ 树显示,索氏桃花水母主要分为两大支系,一支是德国西班牙地区的索氏桃花水母,另一支是中国境内的索氏桃花水母,而吉首市八月湖索氏桃花水母作为单独分支与德国西班牙索氏桃花水母聚为一支.

综上,分子生物学分析结果进一步佐证了吉首市八月湖桃花水母为索氏桃花水母.

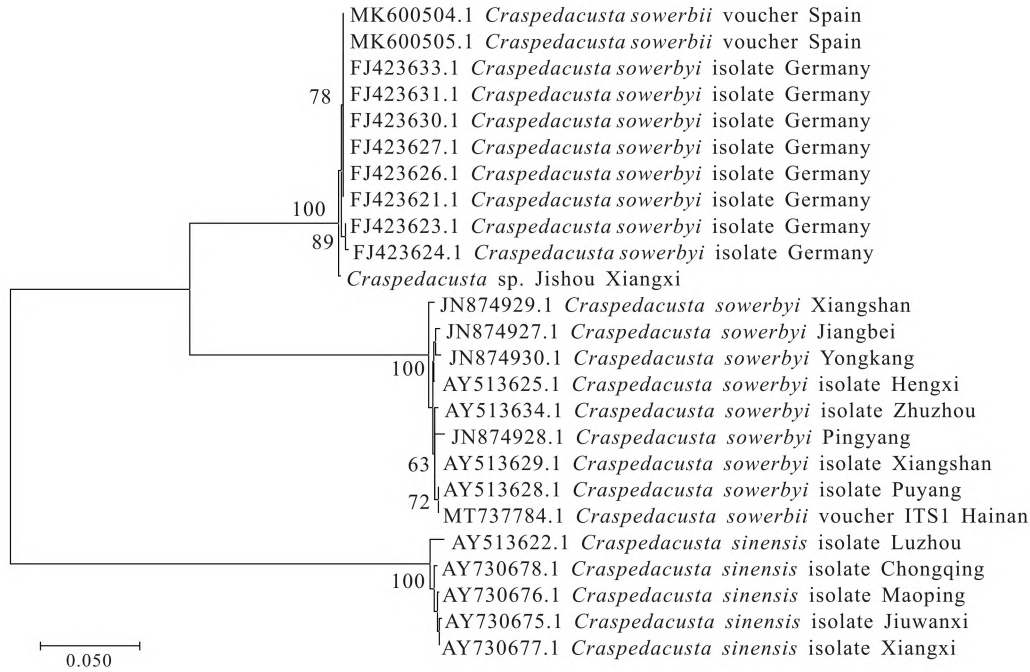


图 3 基于 ITS 基因序列构建的桃花水母系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic Tree of *Craspedacusta* Based on ITS Gene Sequence



表 5 基于 ITS 基因序列计算的桃花水母遗传距离  
Table 5 Genetic Distance of *Craspedacusta* sp. Based on ITS Gene Sequences

| 序号 | 物种                                      | 1                                                                                                                       | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 |
|----|-----------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 1  | <i>Craspedacusta sinensis</i> Luzhou    |                                                                                                                         |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 2  | <i>Craspedacusta sinensis</i> Jiwanxi   | 0.010                                                                                                                   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 3  | <i>Craspedacusta sinensis</i> Maoping   | 0.010 0.003                                                                                                             |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 4  | <i>Craspedacusta sinensis</i> Xiangxi   | 0.012 0.002 0.002                                                                                                       |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 5  | <i>Craspedacusta sinensis</i> Chongqing | 0.013 0.007 0.003 0.005                                                                                                 |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 6  | <i>Craspedacusta soerbyi</i> Germany    | 0.391 0.391 0.389 0.389 0.387                                                                                           |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 7  | <i>Craspedacusta soerbyi</i> Germany    | 0.392 0.392 0.391 0.391 0.389 0.003                                                                                     |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 8  | <i>Craspedacusta soerbyi</i> Germany    | 0.394 0.394 0.392 0.392 0.391 0.005 0.002                                                                               |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 9  | <i>Craspedacusta soerbyi</i> Germany    | 0.391 0.391 0.389 0.389 0.387 0.000 0.003 0.005                                                                         |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 10 | <i>Craspedacusta soerbyi</i> Germany    | 0.391 0.391 0.389 0.389 0.387 0.000 0.003 0.005 0.000                                                                   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 11 | <i>Craspedacusta soerbyi</i> Germany    | 0.391 0.391 0.389 0.389 0.387 0.000 0.003 0.005 0.000 0.000                                                             |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 12 | <i>Craspedacusta soerbyi</i> Germany    | 0.391 0.391 0.389 0.389 0.387 0.000 0.003 0.005 0.000 0.000 0.000                                                       |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 13 | <i>Craspedacusta soerbyi</i> Germany    | 0.391 0.391 0.389 0.389 0.387 0.000 0.003 0.005 0.000 0.000 0.000 0.000                                                 |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 14 | <i>Craspedacusta soerbyi</i> Spain      | 0.391 0.391 0.389 0.389 0.387 0.000 0.003 0.005 0.000 0.000 0.000 0.000 0.000                                           |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 15 | <i>Craspedacusta soerbyi</i> Spain      | 0.391 0.391 0.389 0.389 0.387 0.000 0.003 0.005 0.000 0.000 0.000 0.000 0.000                                           |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 16 | <i>Craspedacusta</i> sp. Jishou Xiangxi | 0.391 0.391 0.389 0.389 0.387 0.003 0.007 0.008 0.003 0.003 0.003 0.003 0.003 0.003                                     |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 17 | <i>Craspedacusta soerbyi</i> Puyang     | 0.439 0.437 0.435 0.435 0.435 0.204 0.200 0.202 0.204 0.204 0.204 0.204 0.204 0.204 0.200                               |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 18 | <i>Craspedacusta soerbyi</i> Zhuzhou    | 0.437 0.435 0.434 0.434 0.434 0.204 0.200 0.202 0.204 0.204 0.204 0.204 0.204 0.204 0.200 0.003                         |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 19 | <i>Craspedacusta soerbyi</i> Hengxi     | 0.437 0.435 0.434 0.434 0.434 0.202 0.199 0.200 0.202 0.202 0.202 0.202 0.202 0.202 0.199 0.005 0.005                   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 20 | <i>Craspedacusta soerbyi</i> Xiangshan  | 0.437 0.435 0.434 0.434 0.434 0.202 0.199 0.200 0.202 0.202 0.202 0.202 0.202 0.202 0.199 0.002 0.002 0.003             |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 21 | <i>Craspedacusta soerbyi</i> Jiangbei   | 0.440 0.439 0.437 0.437 0.437 0.205 0.202 0.204 0.205 0.205 0.205 0.205 0.205 0.205 0.205 0.005 0.003 0.003             |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 22 | <i>Craspedacusta soerbyi</i> Pingyang   | 0.442 0.439 0.437 0.437 0.437 0.207 0.204 0.205 0.207 0.207 0.207 0.207 0.207 0.207 0.207 0.007 0.008 0.005 0.008       |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 23 | <i>Craspedacusta soerbyi</i> Xiangshan  | 0.439 0.437 0.435 0.435 0.435 0.202 0.199 0.200 0.202 0.202 0.202 0.202 0.202 0.202 0.199 0.008 0.008 0.007 0.007 0.012 |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 24 | <i>Craspedacusta soerbyi</i> Yongkang   | 0.439 0.437 0.435 0.435 0.435 0.202 0.204 0.205 0.205 0.205 0.205 0.205 0.205 0.205 0.205 0.005 0.005 0.010 0.008       |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 25 | <i>Craspedacusta soerbyi</i> Hainan     | 0.439 0.437 0.435 0.435 0.435 0.204 0.200 0.202 0.204 0.204 0.204 0.204 0.204 0.204 0.200 0.003 0.005 0.007 0.008 0.007 |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |



### 3 讨论

#### 3.1 桃花水母的形态差异及形成原因

桃花水母生存史漫长,在探索生命发展脉络、揭示基因遗传规律等方面具有较大的科研价值。但由于桃花水母缺乏骨骼和角质层,所以并未留下任何可供研究的化石标本,加之数量稀少,活体难见,导致桃花水母相关研究未能深入,目前研究主要集中在对其外部形态的描述及分类上。当前世界上公认的桃花水母仅3种,分别为英国的索氏桃花水母<sup>[5]</sup>、日本的伊势桃花水母<sup>[6]</sup>和中国的中华桃花水母<sup>[7]</sup>。

吉首市八月湖桃花水母在形态特征上与索氏桃花水母基本相似,仅在生殖腺颜色、触手级数等特征上存在细微差别。事实上,不同种类索氏桃花水母的母体在形态上存在较高的变异性,因此出现细微差别是正常的。此外,地理环境、其他非生物因素、标本保存方法、标本所处世代交替阶段等均是形态差异产生的因素。

#### 3.2 DNA条形码技术在淡水桃花水母分类中的应用

前期研究中,桃花水母的命名多依据形态特征而定,这样的分类方法存在一定弊端,因而需要结合分子生物学技术对桃花水母进行更为精确的分类<sup>[10]</sup>。目前,已有学者将形态特征描述和分子生物学技术相结合,对各地发现的桃花水母进行分类研究。例如,陶莎等<sup>[22]</sup>对贵州福泉出现的桃花水母进行了形态特征分析,还利用18S rRNA,ITS,COI基因序列进行了分子鉴定,2个结果均支持该水母为索氏桃花水母。

本研究中,基因序列比对结果显示,八月湖桃花水母与美国索氏桃花水母(GenBank序列号为MG979336.1)的相似度最高。基于18S rDNA和ITS基因序列计算的遗传距离,构建的系统发育树均支持吉首市八月湖桃花水母为索氏桃花水母。然而,值得注意的是,本研究基于ITS基因序列分析所得的索氏桃花水母种的系统发育关系,与邹秀等<sup>[23]</sup>所得的研究结论存在差异,他们发现桃花水母的种群分布与地理距离存在明显相关关系。而笔者利用ITS基因序列构建系统发育树时,发现八月湖桃花水母与国内各地的索氏桃花水母并不在同一分支,反而与地理距离很远的德国西班牙种群关系较近,这一现象在其他索氏桃花水母研究中也有所体现<sup>[24-25]</sup>。出现这种现象的原因可能是采用单个基因来构建不同种群的系统发育树时,其代表性有限,未来可以对各地索氏桃花水母个体开展线粒体全基因组测定和系统发育分析,利用更多精确数据来深入探究各地桃花水母之间的亲缘关系。

### 4 建议

桃花水母因其独特的科研与观赏价值而备受瞩目。然而,由于桃花水母数量极为稀少,标本难以获取,目前的研究仍主要停留在形态描述层面,缺乏深入研究。关于未来如何开展桃花水母保护和利用相关研究,建议从以下3个方面着手:

(1)积极开展桃花水母生物学和生态学研究。生物学研究方面,以桃花水母繁殖机制及其影响因子为理论基础,开展桃花水母人工繁殖研究,扩大人工种群。生态学研究方面,主要分析桃花水母种群特征与环境因子的关系,鉴别出限制桃花水母生存和繁衍的关键环境因子,为更好地保护桃花水母提供科学依据。

(2)完善桃花水母生态保护区建设。一方面,对桃花水母实施就地保护,确保桃花水母在原生地的安全;另一方面,在解决人工繁殖难题之后可尝试将桃花水母引入到其他适宜水体,建立新的生态保护区,积极开展异地保护,促进种族繁衍。

(3)推动旅游业发展与桃花水母保护的有机结合。桃花水母外形美观,具有较高的观赏和科普价值。因此,在解决人工繁殖和保护难题之后,可考虑将其引入旅游景区的适宜水体中,供游客观赏。这不仅可以提升游客的观赏体验,还能为桃花水母的保护注入新的活力。

#### 参考文献:

- [1] 李维贤,武德方,王德斌.云南淡水水母一新种[J].昆明学院学报,1995,10(1):20-23.
- [2] 刘亚云,陈桂珠.桃花水母及其生态学研究进展[J].生态科学,2004,23(1):73-76.
- [3] 胡义波,姜乃澄,王玥,等.浙江产索氏桃花水母的形态学及参数分析[J].浙江大学学报(理学版),2006,33(6):682-687.
- [4] 屈长义,冯建新,耿如意.信阳桃花水母室内暂养试验[J].河南水产,2008(4):33-34.
- [5] LANKESTER E RAY. On a New Jelly-Fish of the Order Trachomedusae, Living in Fresh Water[J]. Nature Lond, 1880, 22:147-148.

- [6] OKA ASAJIRO, HARA MAGOROKU. On a New Species of *Limnocoedium* from Japan[J]. *Annotationes Zoologicae Japonenses*, 1922, 10: 83 - 87.
- [7] 和振武. 中国桃花水母属的研究[J]. 河南师范大学学报, 2005, 33(1): 100 - 106.
- [8] 冯慧娟, 张建军. 桃花水母的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(19): 9018 - 9019.
- [9] 王维德, 金志良. 桃花水母一新种的记述[J]. 乐山师范学院学报, 2005, 20(12): 68 - 69.
- [10] 苏春分, 王丹丽. 桃花水母的分类研究[J]. 水产科学, 2009, 28(3): 167 - 170.
- [11] 王文彬, 邹前希, 刘良国, 等. 湖南淡水水母新记录: 信阳桃花水母[J]. 水生生态学杂志, 2010, 3(3): 142 - 145.
- [12] 门荣新, 杨官品, 刘永健, 等. 胶州湾浮游桡足类 18S 核糖体 RNA 基因(18S rDNA)扩增及序列变异初步研究[J]. 海洋与湖沼, 2005, 36(1): 88 - 96.
- [13] 刘延滨, 姬兰柱. 核 rDNA-ITS 序列在昆虫学研究上的应用[J]. 应用生态学报, 2007, 18(5): 1137 - 1142.
- [14] 徐善良, 周剑君, 王丹丽, 等. 浙江省桃花水母 18S rRNA 基因序列分析及物种鉴定[J]. 淡水渔业, 2010, 40(2): 14 - 18.
- [15] 迟艳红, 陈华增, 杨翠华, 等. 桃花水母的核糖体 RNA 基因 ITS 区序列分析及物种鉴定[J]. 海洋科学, 2016, 40(2): 35 - 40.
- [16] 刘松青, 冷澜. 桃花水母浸制标本的采集和制作[J]. 中学生物学, 2004, 20(3): 44.
- [17] 徐善良, 沈勤. 桃花水母的采集培养与固定方法[J]. 生物学通报, 2006, 41(12): 55 - 56.
- [18] 王所安, 和振武. 动物学专题[M]. 北京: 北京师范大学出版社, 1991: 14 - 21.
- [19] 周化斌, 张永普. 浙江淡水水母一新记录: 宜昌桃花水母[J]. 浙江师范大学学报, 2004, 27(2): 171 - 172.
- [20] 周剑君, 王丹丽, 徐善良, 等. 浙江省 7 个地点桃花水母的形态学分类研究[J]. 宁波学报, 2010, 23(1): 18 - 22.
- [21] GAO Shangyin, GONG Lihua. Studies on the Freshwater Medusa Found in Kiating, Szechuen 3. *Craspedacusta sinensis* sp. nov[J]. *Science Report Nature Wuhan University Biology*, 1939, 3: 1 - 8.
- [22] 陶莎, 姚俊杰, 杨梅, 等. 贵州福泉分布桃花水母的形态特征及分子鉴定[J]. 动物学杂志, 2019, 54(3): 362 - 374.
- [23] 邹秀, 王丹丽, 徐善良, 等. 浙江 4 地桃花水母的 rDNA-ITS 序列分析[J]. 生物学杂志, 2012, 29(3): 6 - 10.
- [24] KARAOUZAS IOANNIS, ZOGARIS STAMATIS, LOPES-LIMA MANUEL, et al. First Record of the Freshwater Jellyfish *Craspedacusta sowerbii* Lankester, 1880 in Greece Suggests Distinct European Invasion Events[J]. *Limnology*, 2015, 16: 171 - 177.
- [25] 刘明中, 张清风, 申志新, 等. 海南岛索氏桃花水母的遗传学鉴定[J]. 海南热带海洋学院学报, 2021, 28(5): 18 - 23.

## Identification Analysis on *Craspedacusta* sp. from Bayue Lake in Jishou City

YUAN Saibo<sup>1</sup>, YUAN Guoqing<sup>2</sup>, XIANG Ying<sup>3</sup>, FENG Weisong<sup>4</sup>, ZHANG Youxiang<sup>3</sup>

(1. Ecological Environment Monitoring and Scientific Research Center, Ecology and Environment Supervision and Administration Bureau of Yangtze Valley, Ministry of Ecology and Environment of the People's Republic of China, Wuhan 430014, China; 2. Dalian Ocean University, Dalian 116023, Liaoning China; 3. College of Biology and Environmental Science, Jishou University, Jishou 416000, Hunan China; 4. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China)

**Abstract:** In order to strengthen the conservation and sustainable utilization of *Craspedacusta*, we used the methods of morphological identification and molecular biological identification to identify and analyze the *Craspedacusta* sp. from Bayue Lake in Jishou City of Xiangxi. The results were as follows: Diameter of umbrella was 12.4 mm. Tentacle 3~4, and the main tentacle was significantly longer than other tentacles. The gonads were cystic, and brown yellow in color. Statocysts were tubular, 106~128 in number. Nematocyst warts arranged in a ring and each of ring had interval. The similarity of 18S rDNA gene sequence between *Craspedacusta* sp. from Bayue Lake and *Craspedacusta sowerbyi* of the United States (GenBank serial number MG979336.1) was the highest, which was 99.88%. The relationship between the *Craspedacusta* sp. from Bayue Lake in Xiangxi and *Craspedacusta sowerbyi* was close. Both morphological and molecular data support that the *Craspedacusta* sp. from Bayue Lake in the Xiangxi was *Craspedacusta sowerbyi*.

**Key words:** *Craspedacusta* sp.; *Craspedacusta sowerbyi*; Limnomedusae; Jishou City

(责任编辑 王璐)