Discrepancy between morphological and molecular traits for species discrimination in the tintinnid ciliate *Parafavella*

Jae-Ho Jung[1], John R. Dolan[2], Sanghee Kim[1], Chung Yeon Hwang[1], Han-Gu Choi[*], Sung-Ho Kang[3] , Eun Jin Yang[3,*]

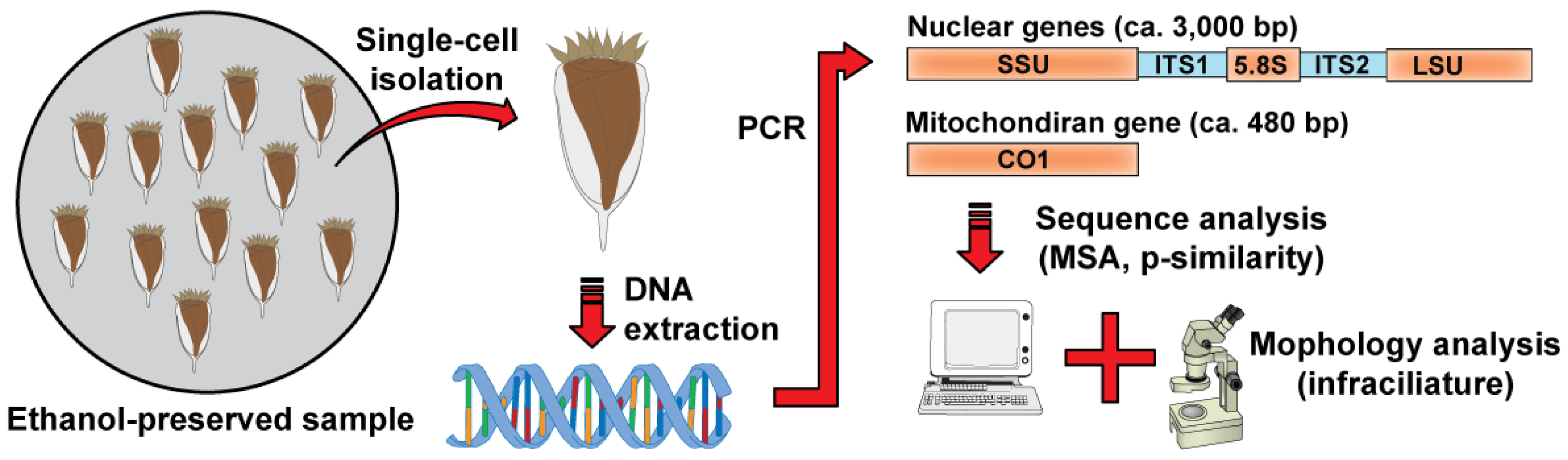
[1]Division of Life Sciences, Korea Polar Research Institute (KOPRI), South Korea, [2]Université Pierre et Marie Curie and Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), UMR 7093, Laboratoire d'Océanographie de Villefranche, Marine Microbial Ecology, Station Zoologique, France, [3]Division of Polar Ocean Sciences, Korea Polar Research Institute (KOPRI), South Korea, *Corresponding author: ejyang@kopri.re.kr

Abstract *Parafavella* spp. were collected during the cruise of the Korean research ice-breaker Araon 2012 in the North Pacific Ocean. The tintinnids are usually identified based on the morphology of loricae rather than infraciliatures. However, Parafavella which is one of the genera in tintinnids has a high variation on lorica morphology in size and shape that implies a existence of synonym or convergence on the lorica morphology. To clearly delineate the inter-specific boundary of *Parafavella* species, we analyzed the lorica morphology with their genetic traits. Based on the lorica, five species were identified as follows: *Parafavella denticulata*, *P. gigantea*, *P. hemifusus*, *P. parumdentata*, and *P. subrotundata*. With respect to the molecular trait, nuclear (SSU–LSU D2, ca. 3,000 bp) and mitochondrial (CO1, ca. 480 bp) genes were newly sequenced and analyzed. The nuclear gene sequences of all 5 morphospecies were completely identical each other whereas the CO1 sequence data was divided into 2 clades (*P. parumdentata* vs. *P. denticulata*–*P. gigantea*–*P. hemifusus*–*P. subrotundata*) with about 3% genetic dissimilarity between the groups. These two clades based on the molecular data were supported by morphological differences of width of lorica rather than the length in 5 species. However, it has been widely accepted that the length is a distinct diagnostic feature of *P. gigantea* discriminating from the other 4 congeners. To clarify this discrepancy in *Parafavella* species, we need further investigation on the infraciliatures with more genetic data.

Introduction

- 유종섬모충류는 피갑의 형태에 의해 현재까지 종식별이 되어왔음
- 하지만 피갑의 다양한 형태 변이로 인해 정확한 종규명에 한계를 갖고 있음
- 피갑의 높은 형태변이율은 크게 두가지 결과를 초래함: 1) 동종이명(한종이 폭넓은 변이율을 가진 경우), 2) 동명이종 (하나 이상의 종이 폭넓은 형태변이율을 가져 이들의 범위가 겹치는 경우)
- 최근에 들어 유종섬모충류 배양 실험과 염기서열 분석 결과를 통해 피갑에 의한 종식별의 한계를 인지하기 시작함
- 현재까지 일부 유종섬모충류에 대해서 이러한 종식별의 문제를 해결하고자 함: i) *Cymatocylis* (Kim et al. 2013), ii) *Cyttarocylis* (Bachy et al. 2012), iii) *Favella* (Kim et al. 2010), 4) *Helicostomella* (Santoferrara & Alder 2009; Xu et al. 2012)
- 특히, *Cyttarocylis*의 경우 서로 다른 과에 속한 *Petalotricha*와 100% 일치하는 유전자 염기서열이 확인됨 (Bachy et al. 2012; Dolan et al. 2014)

Materials & Methods



Results & Discussion

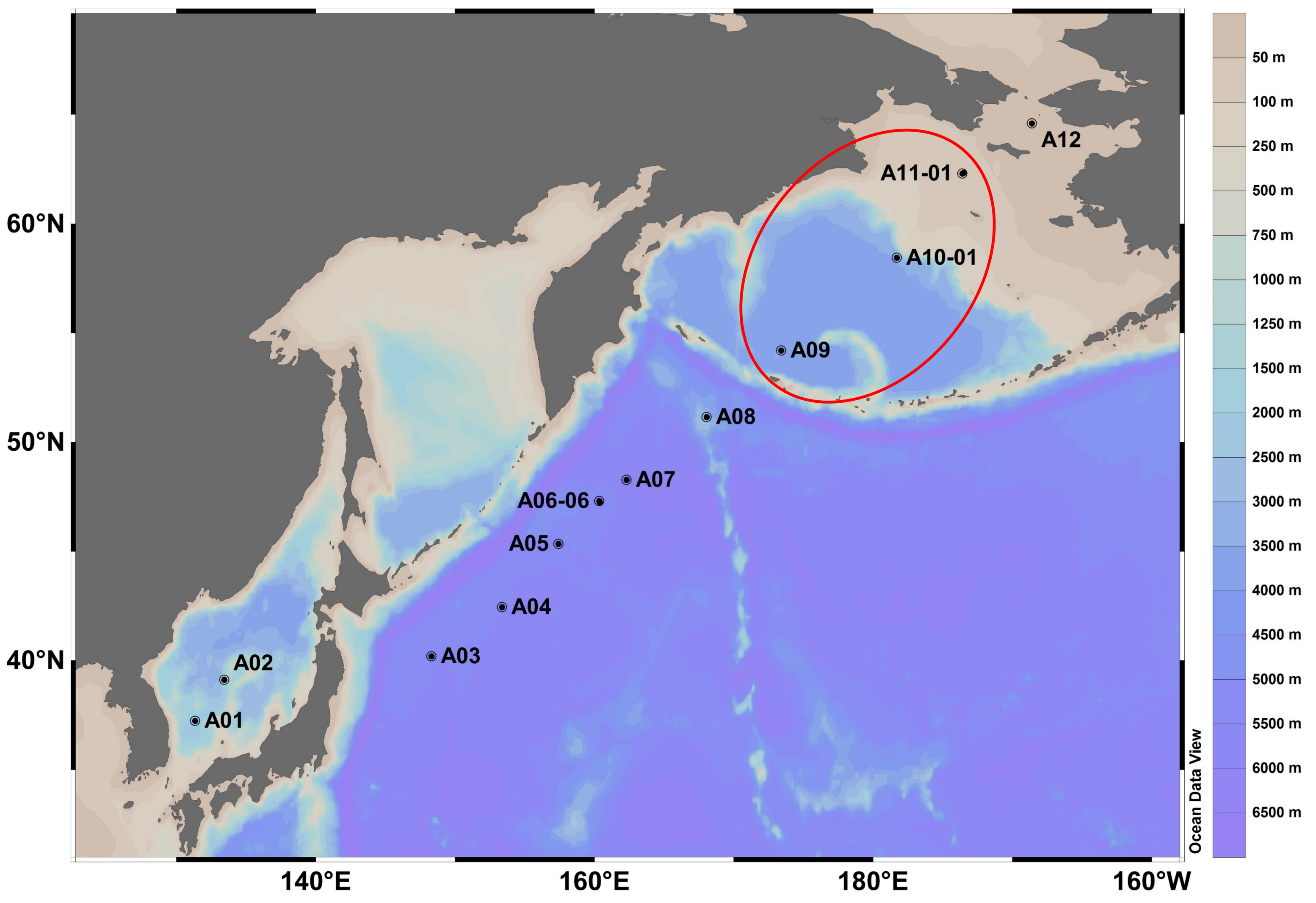


Fig. 1 Sampling localities during SHIPPO 2012 cruise.

Table 1 *Parafavella* species with abundance data collected during SHIPPO 2012 cruise (number of cells per a liter).

Species	A01	A02	A03	A04	A05	A06	A06 bis	A07	A08	A09	A10*	A11	A12
P. gigantea												1	
P. parumdentata	1	1				5	4	1	3	230	20	1	
P. subrotundata									1				

* *P. hemifusus* analyzed in this study was collected from station A10.

토의. 본 연구는 피갑의 형태변이가 높아 종식별에 문제가 있는 *Parafavella* 5종을 대상으로 형태와 유전자 염기서열을 비교 분석하였다. 그 결과 핵 내 리보솜 유전자는 이들 5종의 *Parafavella* 를 식별할 수 없었으며, 미토콘드리아 CO1 유전자는 이들이 두 그룹 (*P. parumdentata* vs. *P. denticulata*–*P. gigantea*–*P. hemifusus*–*P. subrotundata*)으로 나뉘는 것을 알 수 있었다. *P. parumdentata* 의 경우 피갑의 크기 변이율이 낮았지만 나머지 종에 대해서는 높은 피갑의 변이율로 인해 이종간에 식별이 모호한 결과를 확인할 수 있어 CO1 결과를 뒷받침하는 것으로 보인다. 하지만 두 그룹의 CO1 차이는 약 3%로 종간을 구별하기에 값이 낮으므로 좀 더 많은 개체 분석을 통해 명확한 종간 종내 변이율의 분석이 필요할 것으로 판단된다.

Results & Discussion

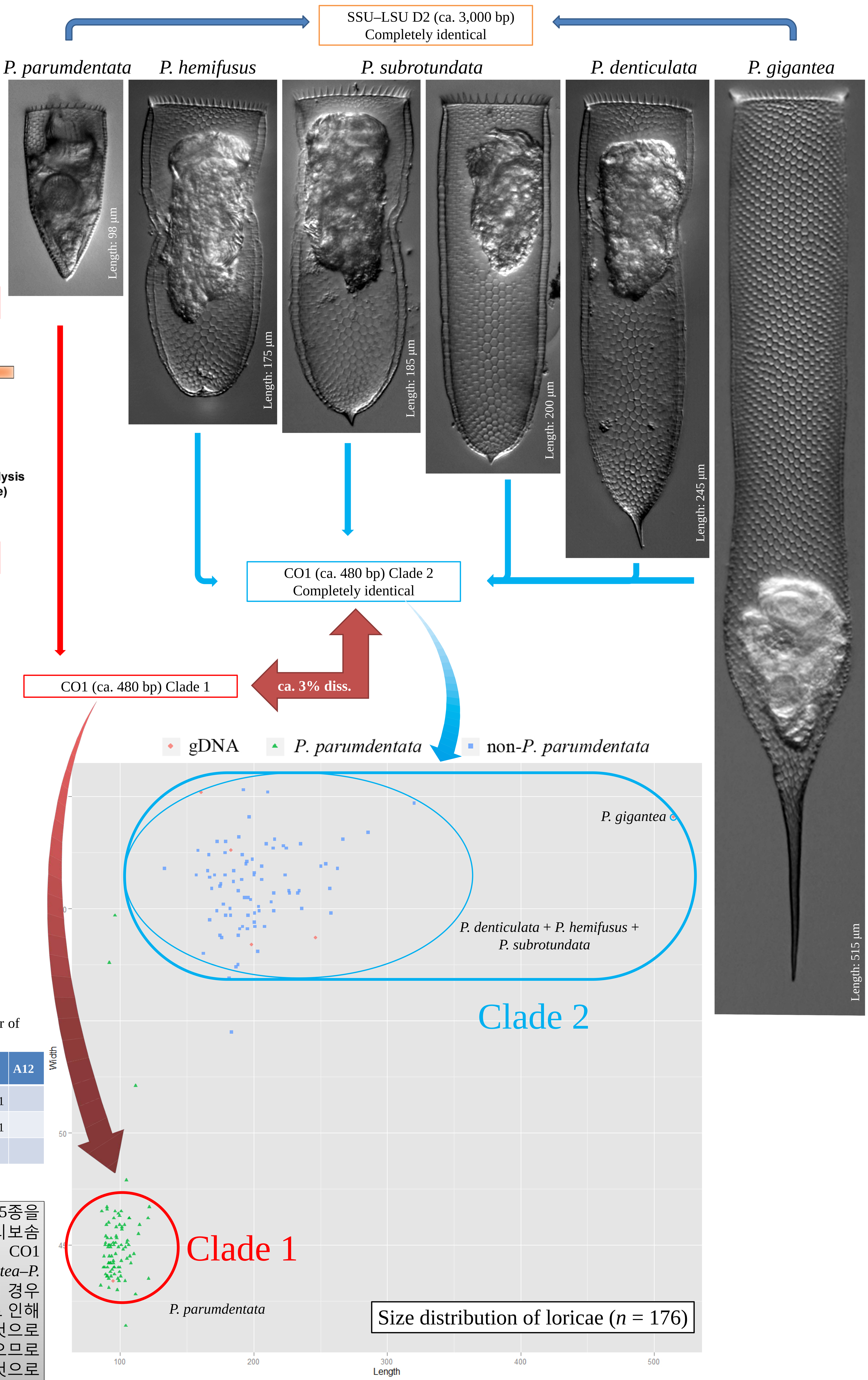


Fig. 2 Five species of *Parafavella*: Loricae morphology with nuclear and mitochondrial genes