

文章编号: 1674-5566(2024)05-1155-11

DOI: 10.12024/jsou.20240404525

基于环境DNA技术的淀山湖鱼类物种多样性分析

刘洋^{1,2,3,4}, 梁绪虹¹, 王丛丛^{1,2,3}, 戴小杰^{1,2,3}

(1. 上海海洋大学海洋生物资源与管理学院, 上海 201306; 2. 大洋渔业资源可持续开发教育部重点实验室, 上海 201306; 3. 国家远洋渔业工程技术研究中心, 上海 201306; 4. 临港新片区海洋生物医药科技创新型平台, 上海 201306)

摘要: 为了解淀山湖主要鱼类群落的种类组成和多样性特征, 利用环境DNA技术对淀山湖鱼类进行物种多样性分析。结果显示, 从淀山湖10个站点的环境DNA样本中共检测出7目、12科、36属、43种鱼类, 其中6月(夏季)共检测出24种, 11月(秋季)32种, 大部分种类在淀山湖传统渔业资源调查中均有出现。其中, 刀鲚(*Coilia nasus*)、鲫(*Carassius auratus*)、大鳍鱮(*Acheilognathus macropterus*)、翘嘴红鲌(*Culter alburnus*)、鲮鱼(*Mugil cephalus*)为主要优势种。 α 多样性分析表明, 淀山湖秋季的Chao1指数、Observed species指数、Shannon多样性指数、Simpson指数和Pielou均匀度指数平均值都高于夏季的平均值, 表明秋季鱼类物种相对丰富, 多样性较高。站点间鱼类物种差异分析表明, 多样性和丰富度较高的站点为S1、S2、S3、S5, 均为初级生产力较高、人为干扰较小的站点。研究表明, 环境DNA技术检测灵敏度高, 可以作为淀山湖鱼类物种多样性调查的有效补充手段。

关键词: 环境DNA; 淀山湖; 生物多样性; 鱼类

中图分类号: S 931.1 **文献标志码:** A

淀山湖是上海市最大的淡水湖泊, 上接太湖流域, 出水经黄浦江流入长江口下泄至东海, 拥有丰富的鱼类资源。鱼类作为种类最为丰富的脊椎动物类群, 是指示生态系统承载状况的重要因素。淀山湖作为上海内陆渔业生产最集中的水域, 拥有丰富的渔业资源, 除了淡水鱼类, 还包括日本鳗鲡(*Anguilla japonica*)在内的一些江海洄游性鱼类^[1-2]。淀山湖是上海市渔业产量最高的区域, 总产值几乎占整个上海市内陆水域的一半以上, 在维持周边渔民的生活和经济来源等方面发挥着重要作用。

鱼类多样性是水生生物多样性的重要组成部分, 保护鱼类多样性有利于水生生态系统的恢复与稳定^[3-4]。近年来, 由于湖区工业污水和生活用水的排放, 周边农田化肥、农药的使用, 航运、旅游产生的污染, 以及高密度的网箱养殖, 导致淀山湖水体富营养化, 水质明显下降, 鱼类的栖息环境

遭到破坏^[5-8]。自20世纪60年代以来, 在贯通长江的河道上大量建闸筑坝, 兴建水利设施, 阻碍了鱼类的洄游通道, 导致大量江河洄游性鱼类难以进入湖泊水体。因此, 淀山湖内天然鱼类群落结构受到影响, 湖区的鱼类物种多样性遭到威胁。研究表明, 2006年淀山湖鱼类物种数较1955年减少70%, 丰富度显著下降, 鱼类物种组成简单, 野生鱼类减少, 放养的经济种类增加, 洄游性、半洄游性鱼类鲜少出现, 鱼类群落稳定性下降^[9]。在长江禁渔政策背景下, 全年禁捕湖泊中的3种鲌类的单位捕捞努力量显著高于季节性禁捕湖泊, 且具有更广的营养生态位宽度^[10], 因此为了养护淀山湖天然水域渔业资源, 促进渔业资源可持续发展, 保护水域生态环境, 需要制定合理的禁渔策略措施。

目前对淀山湖渔业资源的调查主要利用拖网、刺网等方法^[11]。依赖捕捞的调查方法成本

收稿日期: 2024-04-27 修回日期: 2024-05-27

基金项目: 上海市淀山湖渔业资源调查项目(JC202201)

作者简介: 刘洋(1986—), 男, 工程师, 研究方向为功能基因组学、生物多样性。E-mail: y_liu@shou.edu.cn

通信作者: 戴小杰, E-mail: xjdai@shou.edu.cn

版权所有 ©《上海海洋大学学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)

Copyright © Editorial Office of Journal of Shanghai Ocean University (CC BY-NC-ND 4.0)

<http://www.shhydx.com>

高,同时会对鱼类本身及生态环境造成损伤^[12-13]。环境DNA(Environmental DNA, eDNA)是指从生物体生活环境(包括土壤、水和空气等)中直接提取到的不同物种DNA片段的总和,包括环境微生物以及从生物体通过黏液、粪便、尿液和皮肤等释放到环境中的细胞内DNA和生物体死亡后细胞破碎而游离出的胞外DNA^[14-15]。eDNA的研究最早出现在1987年,用于分离沉积物中微生物的DNA^[16]。2008年FICETOLA等^[17]利用eDNA对美国牛蛙进行检测,开启了eDNA在水生生物检测中的应用研究。此外,环境DNA是一种高灵敏、高效率且无损伤的调查工具,能够作为传统渔业资源调查的补充^[18-20]。如KESHU等使用底拖网与环境DNA相结合的方法对珠江口沿海湿地的多样性进行调查,发现环境DNA比底拖网更具有优势,能识别更多的物种,并且环境DNA对鱼类群落时空分布的辨别比其他方法更加简便快捷^[21]。因此,本文通过环境DNA技术对淀山湖鱼类物种多样性进行分析,以期弥补传统网具调查中网具选择性的缺陷,为淀山湖鱼类物种多样性的保护提供参考和科学依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集与处理

研究样本为2020年6月和11月采自淀山湖的水样,两次采样共设置10个站点(图1),每个站点采集表层水和底层水各2 L,并将其混匀。水样采集后现场采用滤膜法,使用孔径0.45 μm的混合纤维素膜(MCE,直径47 mm)对eDNA进行收集。样品采集和过滤使用器具经过10%消毒液浸泡30 min,每张滤膜过滤0.5 L水样,每个站点3次重复,设置1个0.5 L纯净水作为空白对照。过滤后的滤膜放入1.5 mL棕色离心管中密封,-80 °C冻存至eDNA提取。使用DNeasy Blood and Tissue Kit(Qiagen, Hilden, Germany)试剂盒进行eDNA提取,提取的总eDNA于-80 °C保存备用。

1.2 PCR扩增与测序

扩增所用引物为MiFish-U-F: 5'-GTTGGTAAATCTCGTGCCAGC-3', MiFish-U-R: 5'-CATAGTGGGGTATCTAATCCTAGTTTG-3',该引物位于12S rRNA基因的一个高变区^[22]。扩增体系25 μL,包含PCR预混液12.5 μL,正反向引

物(10 μmol/L)各1 μL,模板DNA(20 ng/μL)2 μL,双蒸水8.5 μL。采用两步PCR方法制备末端文库,PCR扩增参数:95 °C 5 min;95 °C 30 s,60 °C 30 s,55个循环。最后,在Illumina MiSeq平台上对文库进行双端(Paired-end)测序。

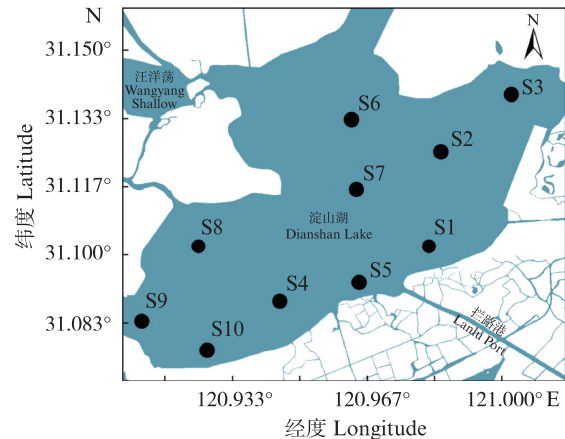


图1 环境DNA采样站点

Fig. 1 Environmental DNA sampling site

1.3 数据分析

测序原始数据以FASTQ格式保存,并根据序列质量进行初步筛查;对问题样本进行重测、补测。使用Vsearch(v2.13.4_linux_x86_64),cutadapt(v2.3)软件对原始双端测序数据进行拼接、去重,再按照97%相似度水平聚类为可操作分类单元(Operational taxonomic unit, OTU)。OTU序列分别在NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>和MitoFish: <http://mitofish.aori.u-tokyo.ac.jp/mifish>进行比对作物种分类学注释。统计各样本不同分类水平各自含有的分类单元的数量,并在种水平上对优势物种做进一步分析。使用QIIME2软件,R语言进行α多样性分析,分别计算各站点的Chao1指数、Simpson指数、Observed species指数、Shannon指数和Pielou's evenness指数。Chao1指数和Observed species指数用于体现群落物种的丰富度,Shannon指数和Simpson指数用于反映群落物种的多样性,Pielou's evenness指数用于反映群落物种的均匀度和生物量差异。

2 结果与分析

2.1 eDNA测序结果

测序的原始数据经筛选后共获得高质量序列7 149 155条。eDNA样本的高通量测序统计结

果如表 1 所示。稀疏曲线(图 2)表明 6 月份的样品中 S2-Jun. 的序列丰度最高, S10-Jun. 序列丰度最低; 11 月的样品中 S5-Nov. 序列丰度最高, S8-Nov. 最低, 所有样品测序深度均达到了平台期。

表 1 各站点序列量结果统计
Tab. 1 Sequence quantity results of each station

样本编号 Sample ID	输入 Input	拼接 Merged	过滤 Filtered	去除嵌合体 Nonchimeric	去除稀有个体 Nonsingleton
S1-Nov.	83 627	71 652	70 943	64 780	64 748
S2-Nov.	78 220	70 764	69 289	62 494	62 454
S3-Nov.	87 158	79 841	78 744	73 687	73 664
S4-Nov.	93 245	84 618	83 760	81 015	80 999
S5-Nov.	86 317	73 896	71 723	63 824	63679
S6-Nov.	90 490	86 844	85 911	85137	85 117
S7-Nov.	88 650	80 090	79252	73 787	73 761
S8-Nov.	85 011	80 629	79 586	77 650	77 637
S9-Nov.	87 866	83 659	82 857	82 129	82 114
S10-Nov.	85 560	79 283	78 200	76 342	76 320
S1-Jun.	80 905	74 602	73 789	65 854	65 810
S2-Jun.	66 281	60 637	58 547	42 938	42 804
S3-Jun.	68 606	63 757	62 523	55 418	55 318
S4-Jun.	75 152	68 032	66 928	61 237	61 161
S5-Jun.	74 922	69 100	68 244	63 826	63 735
S6-Jun.	65 816	61 272	60 496	56 910	56 802
S7-Jun.	75 046	69 547	67 343	57 896	57 765
S8-Jun.	84 192	72 083	71 235	62 869	62 835
S9-Jun.	74 704	67 887	66 405	58 579	58 518
S10-Jun.	77 596	65 298	63 888	52 567	52 457

注:表中输入、拼接、过滤、去除嵌合体以及去除稀有个体为对原始测序数据的质量过滤流程。
Notes: Input, splicing, filtering, removal of chimeras and removal of rare individuals in the table are the quality filtering processes for the original sequencing data.

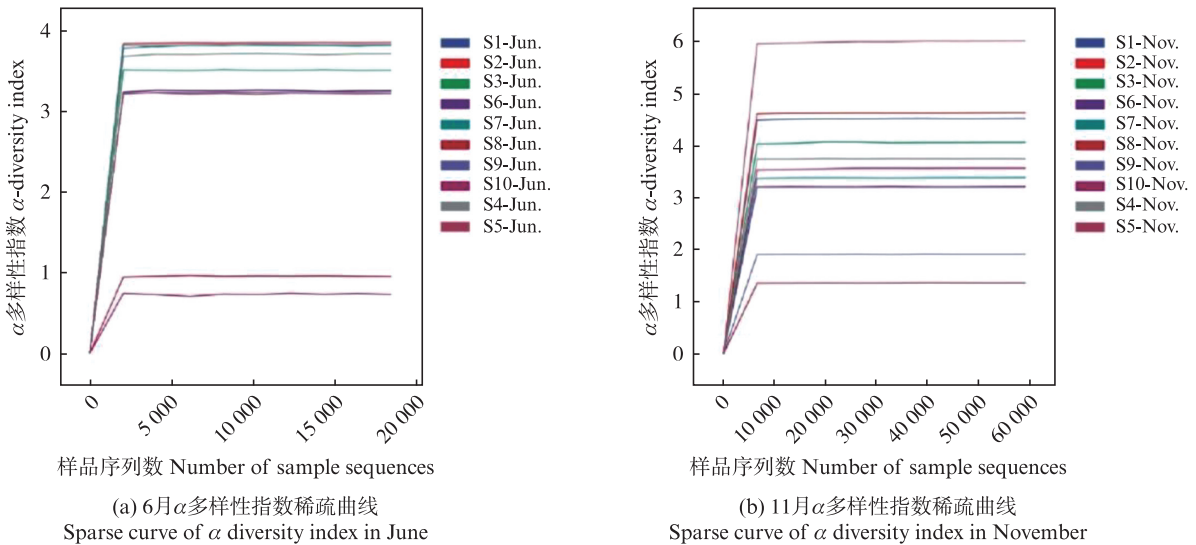


图 2 不同采样站点 6 月和 11 月物种 α 多样性指数稀疏曲线
Fig. 2 Sparse curves of α diversity index at different sampling sites in June and November

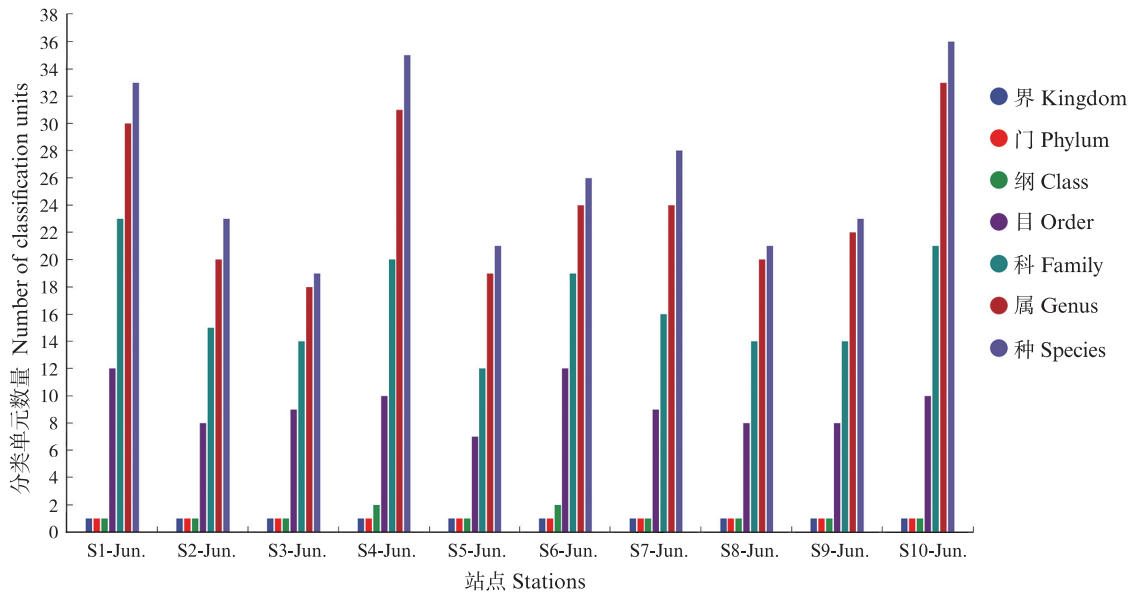
2.2 鱼类物种组成

共检测出淡水鱼类 43 种(表 2), 隶属于 7 目、

12 科、36 属, 6 月共检测出 24 种, 隶属于 8 科 23 属, 11 月种类数高于 6 月, 为 32 种, 隶属于 9 科 26

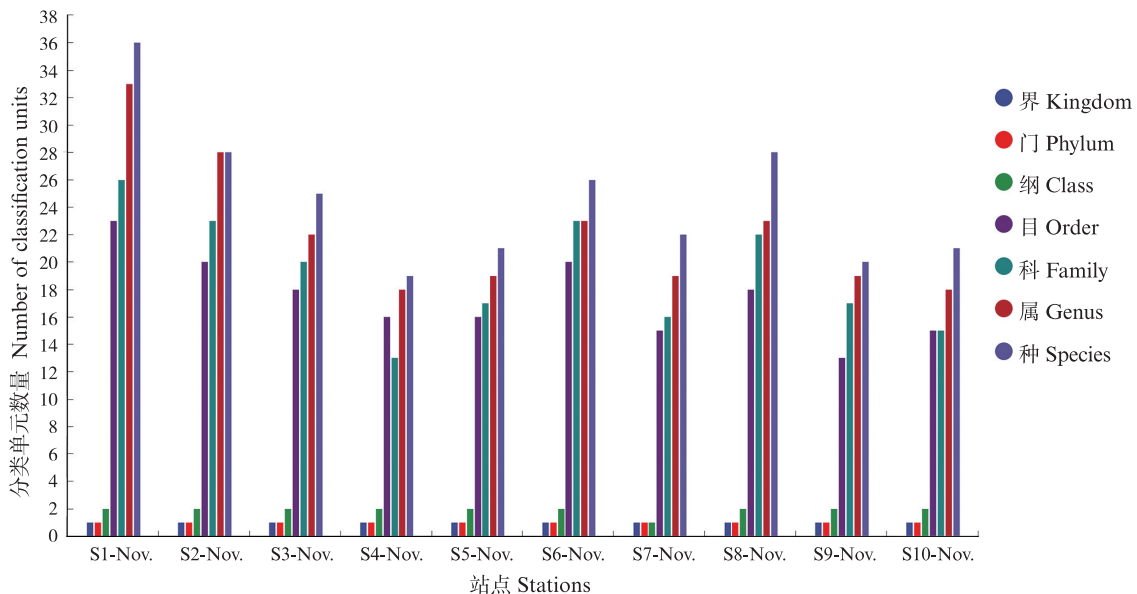
属。鱼类注释序列的OTU划分和分类地位鉴定结果统计如图3所示。在物种数量上鲤科鱼类数量占比最多(44.4%), 虾虎鱼科(20.0%)和鲮科

(6.7%)次之; 在OTU丰度上, 丰度最高的3个科分别是鲤科(39.8%)、鲮科(17.3%)、虾虎鱼科(16.1%)(表2)。



(a) 6月检测物种分类地位统计结果

Statistical results of the taxonomic status of detected species in June



(b) 11月检测物种分类地位统计结果

Statistical results of the taxonomic status of detected species in November

图3 淀山湖水域OTU划分和分类地位鉴定结果统计

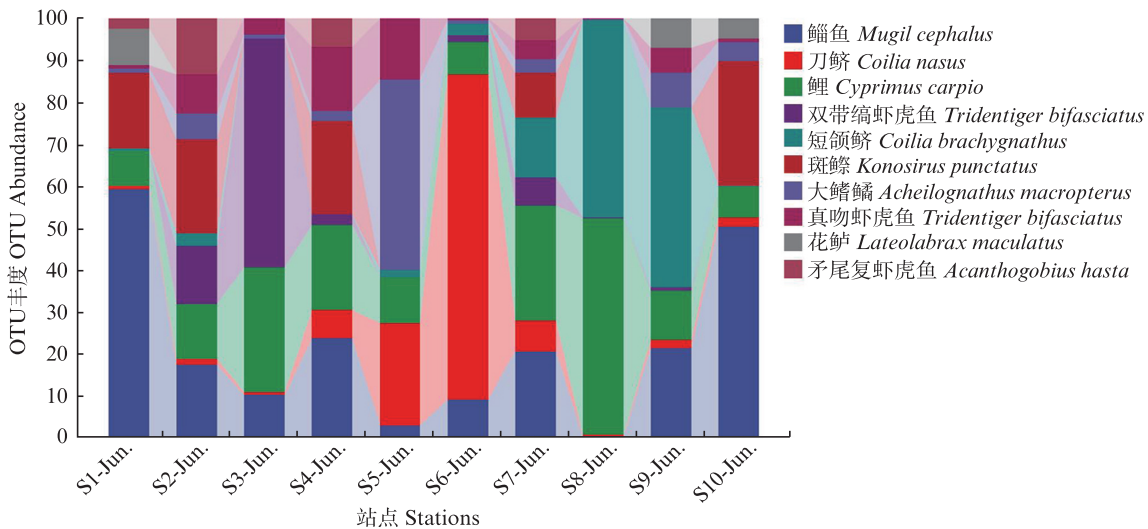
Fig. 3 Statistics of OTU division and classification taxon identification in the Dianshan Lake

本研究将OTU丰度排名前10位的鱼类物种定义为淀山湖的优势物种, 如图4所示, 6月的优势物种分别为鲮鱼、刀鲚、鲤、双带缟虾虎鱼、短颌鲚、斑鲮、大鳍鲮、真吻虾虎鱼、花鲈、矛尾复虾虎鱼(图4a)。

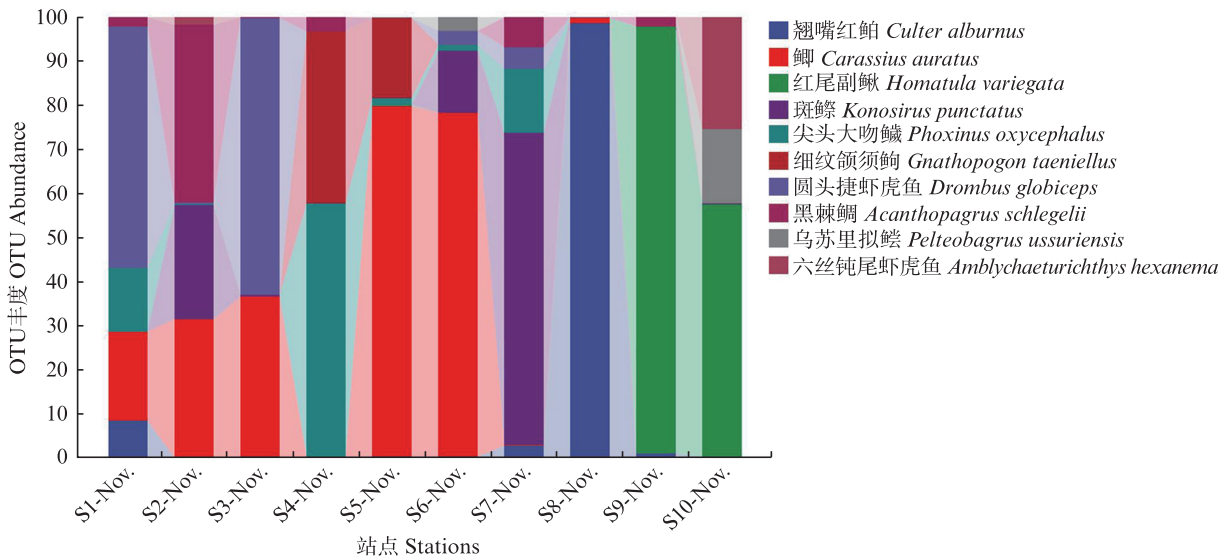
11月的优势物种分别为翘嘴红鲌、鲫、红尾副鳅、斑鲮、尖头大吻鲮、细纹颌须鲈、圆头捷虾虎鱼、黑棘鲷、乌苏里拟鲮、六丝钝尾虾虎鱼(图4b)。

表 2 eDNA 物种组成与 OTU 丰度
 Tab. 2 Species composition and OTU abundance of environmental DNA

科 Family	属 Genera	种 Species	拉丁名 Latin name	6月 OTU 丰度/条 OTU abundance in June/reads	11月 OTU 丰度/条 OTU abundance in November/reads
鳗鲡科	鳗鲡属	日本鳗鲡	<i>Anguilla japonica</i>	0	14
鳃科	鲚属	短颌鲚	<i>Coilia brachygnathus</i>	5 168	0
		刀鲚	<i>Coilia nasus</i>	2 453	105
鲱科	斑鲚属	斑鲚	<i>Konosirus punctatus</i>	11 062	12 169
鲤科	刺鲃属	兴凯鲃	<i>Acanthorhodeus chankaensis</i>	0	4
	鲮属	大鳍鲮	<i>Acheilognathus macropterus</i>	8 633	0
		斜方鲮	<i>Acheilognathus rhombeus</i>	6	0
	鲫属	鲫	<i>Carassius auratus</i>	58	25 495
		日本鲫	<i>Carassius cuvieri</i>	0	10
	鮠属	红鳍鮠	<i>Chanodichthys erythropterus</i>	85	2
		蒙古鮠	<i>Chanodichthys mongolicus</i>	0	2
		达氏鮠	<i>Chondrichthyes dabryi</i>	0	553
	草鱼属	草鱼	<i>Ctenopharyngodon idella</i>	0	4
	鮡属	翘嘴红鮡	<i>Culter alburnus</i>	174	62 529
	鲤属	鲤	<i>Cyprinus carpio</i>	5	211
	颌须鲃属	细纹颌须鲃	<i>Gnathopogon taeniellus</i>	0	6 077
	鲮属	鲮	<i>Hemiculter leucisculus</i>	3	0
	鲢属	鲢	<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	11	0
		鳙	<i>Hypophthalmichthys nobilis</i>	0	2
	鲂属	团头鲂	<i>Megalobrama amblycephala</i>	1 384	0
	似刺鲃属	似刺鲃	<i>Paracanthobrama guichenoti</i>	0	176
	鲃属	尖头大吻鲃	<i>Phoxinus oxycephalus</i>	0	5
	似鲃属	似鲃	<i>Pseudobrama simoni</i>	3	78
	蛇鲃属	长蛇鲃	<i>Saurogobio dumerili</i>	0	49
	黄鲫属	黄鲫	<i>Setipinna tenuifilis</i>	0	43
鳅科	副鳅属	红尾副鳅	<i>Homatula variegata</i>	0	13 855
	后鳍花鳅属	后鳍花鳅	<i>Niwaella delicata</i>	0	128
鲢科	黄颡鱼属	黄颡鱼	<i>Tachysurus fulvidraco</i>	101	27
		光泽黄颡鱼	<i>Pelteobagrus nitidus</i>	160	0
	拟鲢属	乌苏里拟鲢	<i>Pelteobagrus ussuriensis</i>	0	2 173
鲮科	鲮属	鲮鱼	<i>Mugil cephalus</i>	45 856	2
鳊科	下鳊鱼属	间下鳊	<i>Hyporhamphus intermedius</i>	1 613	0
鲃科	花鲃属	花鲃	<i>Lateolabrax maculatus</i>	3 806	147
鲃科	黑鲃属	黑棘鲃	<i>Acanthopagrus schlegelii</i>	0	3 935
丽鱼科	罗非鱼属	尼罗罗非鱼	<i>Oreochromis niloticus</i>	728	146
虾虎鱼科	刺虾虎鱼属	矛尾复虾虎鱼	<i>Acanthogobius hasta</i>	5 966	0
	钝尾虾虎鱼属	六丝钝尾虾虎鱼	<i>Amblychaeturichthys hexanema</i>	1 962	2 159
	捷虾虎鱼属	圆头捷虾虎鱼	<i>Drombus globiceps</i>	0	5 988
	锯鳞虾虎鱼属	裸颊锯鳞虾虎鱼	<i>Priolepis inhaca</i>	0	2
	吻虾虎鱼属	真吻虾虎鱼	<i>Rhinogobius similis</i>	7 238	454
	鳗虾虎鱼属	鳗形鳗虾虎鱼	<i>Taenioides anguillaris</i>	2 824	0
	缟虾虎鱼属	双带缟虾虎鱼	<i>Tridentiger bifasciatus</i>	15 619	0
	孔虾虎鱼属	孔虾虎鱼	<i>Trypauchen vagina</i>	0	522



(a) 6月优势物种 The dominant species in June



(b) 11月优势物种 The dominant species in November

图4 各采样站点优势鱼类物种组成统计

Fig. 4 Statistics of the composition of dominant fish species at each sampling station

2.3 鱼类物种多样性分析

表3为鱼类群落相对丰度的 α 多样性指数。其中, Chao1指数为23.33~664.74, Observed species指数为12.9~656.1, 两个指数分布趋势基本一致; Simpson指数为0.141 3~0.948 0, Shannon指数为0.525 3~6.002 7, 两者分布趋势也基本一致。Pielou's evenness指数为0.145 2~0.782 6。各个样品所测得的鱼类物种 α 多样性指数存在显著差异, 6月样品S3-Jun. 具有较高的Simpson和Shannon指数, 而S1-Jun. 具有最高的Chao1和Observed species指数; 11月样品中S1-Nov.、S2-Nov. 和S5-Nov. 具有较高的Simpson和Shannon指

数, 而S5-Nov. 具有最高的Chao1和Observed species指数。从淀山湖鱼类多样性的季节变化看, 淀山湖秋季的多样性指数平均值均高于夏季。

2.4 站点间鱼类物种差异分析

10个采样站点各样本中共有和特有OTU比例如图5所示。由图可见, 6月10个站点间共有OTU所占比例较低, 且S1-Jun.、S3-Jun. 这2个采样点具有较高比例的特有OTU。11月10个站点间共有OTU为9个, 所占比例也较低, S5-Nov. 站点特有OTU数目远超其他站点。

表 3 鱼类物种相对丰度的 α 多样性指数
Tab. 3 α diversity index of relative abundance of fish species

样品编号 Sample ID	α 多样性指数 α diversity index				
	Chao1	Observed_species	Pielou_e	Shannon	Simpson
S1-Jun.	51.12	38.50	0.421 1	2.217 4	0.606 2
S2-Jun.	33.26	27.00	0.562 2	2.670 9	0.780 8
S3-Jun.	36.88	29.50	0.782 7	3.821 1	0.912 3
S4-Jun.	50.93	32.00	0.669 8	3.344 1	0.877 1
S5-Jun.	33.20	24.90	0.684 4	3.171 6	0.852 8
S6-Jun.	39.60	34.70	0.651 1	3.330 2	0.844 5
S7-Jun.	48.36	33.90	0.732 5	3.719 4	0.898 2
S8-Jun.	23.33	12.90	0.145 3	0.525 3	0.141 4
S9-Jun.	39.69	25.20	0.608 3	2.828 0	0.790 1
S10-Jun.	48.52	42.10	0.287 5	1.550 6	0.392 0
S1-Nov.	245.65	213.00	0.583 6	4.513 7	0.915 7
S2-Nov.	262.78	243.10	0.583 7	4.626 0	0.924 3
S3-Nov.	277.47	227.50	0.518 1	4.056 3	0.868 0
S4-Nov.	180.42	129.30	0.533 6	3.742 9	0.911 2
S5-Nov.	664.74	656.10	0.641 5	6.002 8	0.948 1
S6-Nov.	162.46	138.40	0.450 5	3.203 9	0.817 9
S7-Nov.	249.21	213.70	0.437 0	3.382 0	0.829 0
S8-Nov.	170.97	119.90	0.197 1	1.360 8	0.361 7
S9-Nov.	168.71	141.90	0.267 3	1.910 5	0.573 6
S10-Nov.	248.15	230.50	0.453 6	3.560 1	0.790 0

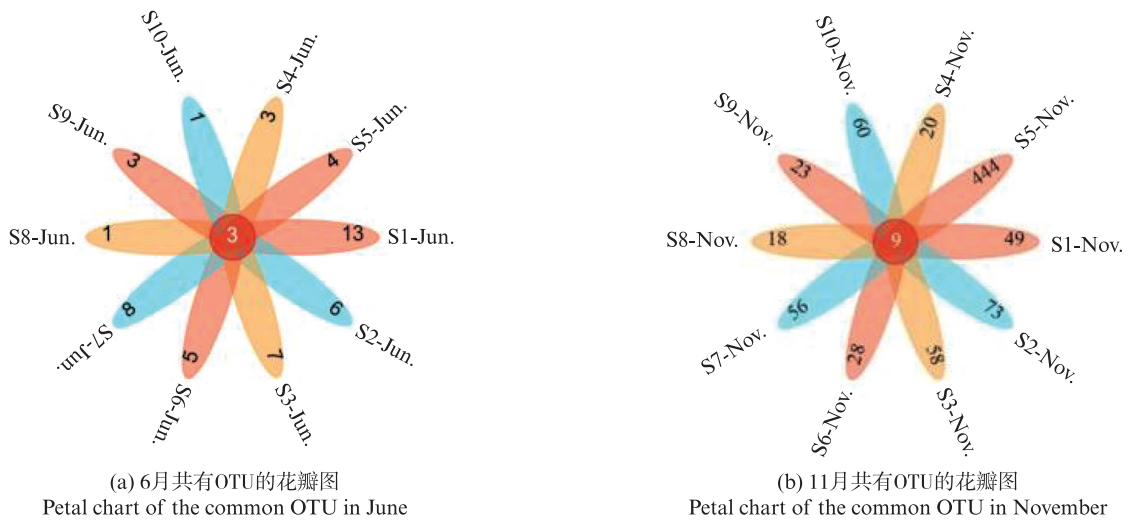


图 5 淀山湖水域不同采样站点共有 OTU 的花瓣图
Fig. 5 Petal chart of OTU shared by different sampling stations in the Dian Shan Lake

2.5 eDNA 和传统调查方法总渔获物种类的比较

本研究在采样过程中同时开展了相关站点的刺网和拖网的调查,两种传统调查方法调查仅统计渔获物种类,共捕获 22 种鱼类,eDNA 分析得

到 43 种鱼类(表 4)。红鳍鲌、黄颡鱼、鲫等 18 种鱼类同时被两种调查检测到;斑鳊、草鱼和鳊仅被 eDNA 方法调查得到;仅有 4 种鱼类是传统方法捕获而未被 eDNA 检测到的,分别为黑鳍鳊、华鳊、太湖新银鱼、香鳊。

表4 传统调查方法与 eDNA 对淀山湖开展的鱼类物种多样性调查结果
 Tab. 4 Results of traditional survey methods and eDNA survey on fish species diversity in Dianshan Lake

环境 DNA 方法 eDNA method	环境 DNA 方法 eDNA method	传统调查方法 Traditional investigation method
日本鳗鲡* <i>Anguilla japonica</i>	红尾副鳅 <i>Homatula variegata</i>	日本鳗鲡* <i>Anguilla japonica</i>
乌苏里拟鲿* <i>Pelteobagrus ussuriensis</i>	鲮鱼 <i>Mugil cephalus</i>	红鳍鲌* <i>Chanodichthys erythropterus</i>
黄颡鱼* <i>Tachysurus fulvidraco</i>	间下鱊 <i>Hyporhamphus intermedius</i>	蒙古鲌* <i>Chanodichthys mongolicus</i>
光泽黄颡鱼* <i>Pelteobagrus nitidus</i>	花鲈 <i>Lateolabrax maculatus</i>	翘嘴红鲌* <i>Culter alburnus</i>
斑鲦 <i>Konosirus punctatus</i>	黑棘鲷 <i>Acanthopagrus schlegelii</i>	达氏鲌* <i>Chondrichthys dabryi</i>
后鳍花鳅 <i>Niwaella delicata</i>	尼罗罗非鱼 <i>Oreochromis niloticus</i>	鲤* <i>Carassius auratus</i>
兴凯鲌* <i>Acanthorhodeus chankaensis</i>	矛尾复虾虎鱼 <i>Acanthogobius hasta</i>	鲢* <i>Hypophthalmichthys molitrix</i>
大鳍鲌* <i>Acheilognathus macropterus</i>	六丝钝尾虾虎鱼 <i>Amblychaeturichthys hexanema</i>	鲫* <i>Carassius auratus</i>
斜方鲌 <i>Acheilognathus rhombus</i>	圆头捷虾虎鱼 <i>Drombus globiceps</i>	大鳍鲌* <i>Acheilognathus macropterus</i>
鲫* <i>Carassius auratus</i>	裸颊锯鳞虾虎鱼 <i>Priolepis inhaca</i>	似鳊* <i>Pseudobrama simoni</i>
日本鲫* <i>Carassius cuvieri</i>	真吻虾虎鱼 <i>Rhinogobius similis</i>	长蛇鲌* <i>Saurogobio dumerili</i>
红鳍鲌* <i>Chanodichthys erythropterus</i>	鳊形鳊虾虎鱼 <i>Taenioides anguillaris</i>	黄颡鱼* <i>Tachysurus fulvidraco</i>
蒙古鲌* <i>Chanodichthys mongolicus</i>	双带缟虾虎 <i>Tridentiger bifasciatus</i>	光泽黄颡鱼* <i>Pelteobagrus nitidus</i>
达氏鲌* <i>Chondrichthys dabryi</i>	孔虾虎鱼 <i>Trypauchen vagina</i>	刀鲚* <i>Coilia nasus</i>
草鱼 <i>Ctenopharynx gononidella</i>	似刺鳊鲌 <i>Paracanthobrama guichenoti</i>	双带缟虾虎鱼* <i>Tridentiger bifasciatus</i>
翘嘴红鲌* <i>Culter alburnus</i>	尖头大吻鲌 <i>Phoxinus oxycephalus</i>	子陵吻虾虎鱼* <i>Rhinogobius Giurinus</i>
鲤* <i>Cyprinus carpio</i>	似鳊* <i>Pseudobrama simoni</i>	兴凯鲌* <i>Acheilognathus chankaensis</i>
细纹颌须鲌 <i>Gnathopogon taeniellus</i>	长蛇鲌* <i>Saurogobio dumerili</i>	乌苏里拟鲿* <i>Pelteobagrus ussuriensis</i>
鲶 <i>Hemiculterleucis culus</i>	短颌鲚 <i>Coilia brachygnathus</i>	太湖新银鱼 <i>Neosalanx taihuensis</i>
鲢* <i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	刀鲚* <i>Coilia nasus</i>	香鲶 <i>Callionymus olidus</i>
鳊 <i>Hypophthalmichthys nobilis</i>	黄鲫 <i>Setipinna tenuifilis</i>	黑鳍鳊 <i>Sarcocheilichthys nigripinnis</i>
团头鲂 <i>Megalobrama amblycephala</i>		华鳊 <i>Sarcocheilichthys sinensis</i>

注:*表示传统调查方法和 eDNA 均检测出的物种。

Notes: *Indicates species detected by both traditional survey and eDNA methods.

3 讨论

淀山湖是上海地区最大的淡水湖泊,上接太湖流域来水,出水经黄浦江流入长江口下泄至东海,拥有丰富的鱼类资源。由于水质恶化、水利设施阻断鱼类的洄游通道等原因,淀山湖的生态环境遭到破坏,湖内天然鱼类群落结构也受到破坏,鱼类多样性降低。近年来,渔政部门采取增殖放流等一系列举措以养护淀山湖的渔业资源。因此,开展淀山湖鱼类群落结构和多样性研究,可以为相关鱼类物种的保护和合理利用提供参考资料,进一步实现淀山湖生态系统的科学管理。本研究利用 eDNA 技术进行淀山湖鱼类多样性调查,该技术灵敏性高且无损伤,是一种行之有效的渔业资源调查工具^[23]。

本研究在淀山湖 10 个站点的样本中共检测出 12 科,36 属,43 种鱼类(表 2),大部分种类在传统渔业资源调查结果中均有出现。以往对淀山

湖进行的底拖网渔业资源调查中^[24-26],6 月份的优势物种主要为鲮鱼、刀鲚、鲤、双带缟虾虎鱼;11 月份的优势物种主要为大鳍鲌、鲫、红鳍原鲌、刀鲚、光泽黄颡鱼等,多数物种在本次 eDNA 分析中均有出现。从季节变化上看,淀山湖夏季检测到的鱼类物种数量为 24 种,低于秋季的 32 种,且 α 多样性结果也显示秋季的丰富度与多样性均高于夏季,原因可能是由于夏季是淀山湖增殖放流高峰期,且放流物种多为淀山湖的常见物种,人为的干扰导致其他小种群数量相对变少,在调查中不容易检测到,这与淀山湖近两年的传统调查结果相符^[26]。

与淀山湖历史传统渔业资源调查相比,存在一些报道较少的鱼类,如短颌鲚、青鱼、尖头大吻鲌、日本鲫等。其中一些鱼类通过传统的形态学方法进行鉴定或区分会存在一定的偏差,如同属于鲚属的短颌鲚与刀鲚主要根据上颌骨长度等界限不甚清晰的形态特征进行区分,随着人们

在巢湖、太湖等通江湖泊发现刀鲚淡水定居性种群,江海洄游性物种刀鲚与内陆淡水种类短颌鲚在生态学上的差异变得模糊,因此仅根据形态学方法来区分近缘种有一定的局限性^[27]。此外,不同渔具对鱼类具有选择性,如拖网在捕捞过程中船速是一定的,导致游泳速度较快的鱼类逃脱,如鲈、花鲈等种类在水中行动迅速,不易被拖网捕获。综上,形态学鉴定的偏差与渔具的选择性导致部分物种在淀山湖传统的渔业资源调查中报道较少,而eDNA方法有效检测到这些物种的存在,表明eDNA技术不仅可以实现快速、高效鱼类监测,还具有较高的灵敏性,eDNA可作为传统调查方法的补充。此外,在eDNA检测中出现了大青鲨(*Prionace glauca*)、黄鳍金枪鱼(*Thunnus albacares*)、巨须裂腹鱼(*Schizothorax macropogon*)等远洋和国内其他流系的种类,在淀山湖历史渔业资源调查中未见报道^[28-29],为实验过程中受到污染形成的假阳性结果,通过在实验中放置蒸馏水收集空气环境中的DNA进行阴性对照,阴性参照检测出的物种有多方面因素,可能为实验过程中受到污染形成的假阳性结果,不能作为湖水样品检测到的物种,因此检测出相应的物种已从物种列表中剔除。

在近20年的调查中,大量研究认为受到渔业过度捕捞、水环境污染及江河大坝拦阻等因素的影响,淀山湖的鱼类群落受到较大程度的干扰,已经发生明显变化,鳗鲡(*Anguilla japonica*)、暗纹东方鲀(*Takofugu obscurus*)、花鲈(*Lateolabrax maculatus*)、鲮鱼、鳊鱼(*Elopichthys bambusa*)等江海洄游性鱼类和优质稀有鱼类已几乎不可见^[1-2,9]。但在本次调查中,通过eDNA技术检测到了日本鳗鲡、鲮鱼、花鲈等,尤其是鲮鱼,被列为优势物种的同时,其DNA在7个站点均有检出。表明经过近年来增殖放流的持续养护、渔业资源的科学管理以及生态环境的保护等一系列措施的实施,淀山湖的鱼类资源已经有所恢复。

此外 α 多样性指数结果表明,6月样品S1-Jun.、S3-Jun.鱼类多样性和丰富度较高,11月样品S1-Nov.、S2-Nov.、S5-Nov.的多样性和丰富度较高,分别对应站点S1、S2、S3与S5。其中,站点S1、S2、S3丰富的多样性可能与水生植物的多样性有关。草型湖泊因水生植物存在,群落空间异

质性程度高且饵料生物的多样性好,故鱼类多样性丰富^[23]。研究表明淀山湖沉水植物主要分布于湖湾和浅水近岸带,因此站点S1、S2、S3区域的初级生产力较其他站点高,形成了较高的鱼类多样性^[30-31]。而离航道和渔村比较远的站点S5,可能由于受到航船以及捕捞的影响较小,不易受到外界干扰,鱼群结构相对稳定,因此多样性也较高。

本研究首次利用eDNA技术分析了淀山湖不同季节的鱼类物种多样性,采样站点基本覆盖整个湖区,获得了丰富的鱼类物种信息,检测到的44种鱼类包含多种江河洄游性鱼类和优质稀有鱼类。eDNA技术的便捷、经济、高效以及无损性使其在淀山湖的生物多样性研究中具有良好的应用前景。但本研究仍有不足,对比传统方法,因公共数据库收录的淀山湖物种并不全面,造成本次检测中部分物种的缺失,建议对淀山湖常见鱼类进行测序,建立一个针对淀山湖本地鱼类的专有数据库,从而进行更精确的多样性检测。同时,为扩大检测物种覆盖面、平衡引物特异性,可采用多重分子标记的方法,使用多对引物进行扩增检测。

参考文献:

- [1] 曾正荣,袁永坤,孙建国. 淀山湖生物资源调查研究[C]//上海市湿地利用和保护研讨会论文集. 上海:中国水利学会,2002:105-112.
ZENG Z R, YUAN Y K, SUN J G. Investigation of biological resources in Dianshan Lake [C]//Proceedings of Shanghai Symposium on Wetland Utilization and Protection. Shanghai: Chinese Hydraulic Engineering Society, 2002: 105-112.
- [2] 陶洁,戴小杰,田思泉,等. 淀山湖野生鱼类群落多样性与生长特性研究[J]. 湖南农业科学,2011(7):137-141.
TAO J, DAI X J, TIAN S Q, et al. Community diversity and growth characteristics of wild fishes in Dianshan Lake [J]. Hunan Agricultural Sciences, 2011(7): 137-141.
- [3] DUFFY J E. Why biodiversity is important to the functioning of real-world ecosystems [J]. Frontiers in Ecology and the Environment, 2009, 7(8): 437-444.
- [4] NOOR N M, DAS S K. Effects of elevated carbon dioxide on marine ecosystem and associated fishes [J]. Thalassas: An International Journal of Marine Sciences, 2019, 35(2): 421-429.
- [5] 伦凤霞,肖群,李强. 2000—2020年淀山湖富营养程度

- 变化分析[J]. 环境污染与防治, 2023, 45(6): 805-808, 816.
- LUN F X, XIAO Q, LI Q. The eutrophication variation analysis of Dianshan Lake from 2000 to 2020 [J]. Environmental Pollution and Control, 2023, 45(6): 805-808, 816.
- [6] 施玮, 吴和岩, 赵耐青, 等. 淀山湖水质富营养化和微囊藻毒素污染水平[J]. 环境科学, 2005, 26(5): 55-61.
- SHI W, WU H Y, ZHAO N Q, et al. Eutrophication and pollution level of microcystin in Dianshan Lake [J]. Environmental Science, 2005, 26(5): 55-61.
- [7] 康丽娟. 淀山湖富营养化进程及水生态效应研究[J]. 环境科学与管理, 2020, 45(6): 171-174.
- KANG L J. Study on eutrophication process and water ecological effect of Dianshan Lake [J]. Environmental Science and Management, 2020, 45(6): 171-174.
- [8] 王小庆. 淀山湖沉积物中重金属元素分布特征及其季节变化[J]. 环境科学与技术, 2005, 28(6): 106-108.
- WANG X Q. Heavy metals partitioning and seasonal variation in lake sediments[J]. Environmental Science and Technology, 2005, 28(6): 106-108.
- [9] 孙菁煜, 戴小杰, 朱江峰, 等. 淀山湖鱼类多样性分析[J]. 上海水产大学学报, 2007, 16(5): 454-459.
- SUN J Y, DAI X J, ZHU J F, et al. Analysis of the fish species diversity in Dianshan Lake[J]. Journal of Shanghai Fisheries University, 2007, 16(5): 454-459.
- [10] 李昊轩, 邓文博, 郭茜茜, 等. 3种鲃亚科鱼类对不同禁捕策略的响应[J]. 上海海洋大学学报, 2023, 32(4): 841-851.
- LI H X, DENG W B, GUO Q Q, et al. Response of three cultrinae fishes to different fishing ban strategies [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2023, 32(4): 841-851.
- [11] BONAR S A, MERCADO-SILVA N, HUBERT W A, et al. Standard methods for sampling freshwater fishes: opportunities for international collaboration[J]. Fisheries, 2017, 42(3): 150-156.
- [12] SAKATA M K, WATANABE T, MAKI N, et al. Determining an effective sampling method for eDNA metabarcoding: a case study for fish biodiversity monitoring in a small, natural river[J]. Limnology, 2021, 22(2): 221-235.
- [13] BOHMANN K, EVANS A, GILBERT M T P, et al. Environmental DNA for wildlife biology and biodiversity monitoring[J]. Trends in Ecology & Evolution, 2014, 29(6): 358-367.
- [14] LEVY-BOOTH D J, CAMPBELL R G, GULDEN R H, et al. Cycling of extracellular DNA in the soil environment [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2007, 39(12): 2977-2991.
- [15] HUANG S Q, YOSHITAKE K, WATABE S, et al. Environmental DNA study on aquatic ecosystem monitoring and management: Recent advances and prospects [J]. Journal of Environmental Management, 2022, 323: 116310.
- [16] OGRAM A, SAYLER G, BARKAY T. The extraction and purification of microbial DNA from sediments [J]. Journal of Microbiological Methods, 1987, 7(2/3): 57-66.
- [17] FICETOLA G F, MIAUD C, POMPANON F, et al. Species detection using environmental DNA from water samples[J]. Biology Letters, 2008, 4(4): 423-425.
- [18] 李晨虹, 凌岚馨, 谭娟, 等. 环境DNA技术在水生生物监测中的挑战、突破和发展前景[J]. 上海海洋大学学报, 2023, 32(3): 564-574.
- LI C H, LING L X, TAN J, et al. Challenge, breakthrough and future perspectives of environmental DNA technology in monitoring aquatic organisms [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2023, 32(3): 564-574.
- [19] PORT J A, O'DONNELL J L, ROMERO-MARACCINI O C, et al. Assessing vertebrate biodiversity in a kelp forest ecosystem using environmental DNA [J]. Molecular Ecology, 2016, 25(2): 527-541.
- [20] ANDRUSZKIEWICZ E A, STARKS H A, CHAVEZ F P, et al. Biomonitoring of marine vertebrates in Monterey Bay using eDNA metabarcoding[J]. PLoS One, 2017, 12(4): e0176343.
- [21] ZOU K S, CHEN J W, RUAN H T, et al. eDNA metabarcoding as a promising conservation tool for monitoring fish diversity in a coastal wetland of the Pearl River Estuary compared to bottom trawling [J]. Science of the Total Environment, 2020, 702: 134704.
- [22] MIYA M, SATO Y, FUKUNAGA T, et al. MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: detection of more than 230 subtropical marine species [J]. Royal Society Open Science, 2015, 2(7): 150088.
- [23] HARPER K J, GOODWIN K D, HARPER L R, et al. Finding crush: environmental DNA analysis as a tool for tracking the Green sea turtle *Chelonia mydas* in a marine estuary [J]. Frontiers in Marine Science, 2020, 6: 810.
- [24] 韩婵, 高春霞, 田思泉, 等. 淀山湖鱼类群落结构多样性的年际变化[J]. 上海海洋大学学报, 2014, 23(3): 403-410.
- HAN C, GAO C X, TIAN S Q, et al. Analysis of annual variations for fish community structure in Dianshan Lake [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2014, 23(3): 403-410.
- [25] 党莹超, 戴小杰, 吴峰. 淀山湖鱼类群落结构季节性变化分析[J]. 水产科学, 2021, 40(3): 361-368.
- DANG Y C, DAI X J, WU F. Seasonal variations in fish community structure in the Dianshan Lake [J]. Fisheries

- Science, 2021, 40(3): 361-368.
- [26] 邵严,唐文乔,龚珑,等. 上海淀山湖及黄浦江上游鱼类物种多样性及群落结构分析[J]. 长江流域资源与环境, 2022, 31(7): 1482-1493.
- SHAO Y, TANG W Q, GONG L, et al. Analysis of fish species diversity and assemblage of Dianshan Lake and upper reaches of Huangpu River in Shanghai [J]. Resources and Environment in the Yangtze Basin, 2022, 31(7): 1482-1493.
- [27] 张燕萍,贺刚,王生,等. 基于线粒体DNA D-loop序列分析刀鲚与短颌鲚的遗传多样性[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(20): 59-63.
- ZHANG Y P, HE G, WANG S, et al. Genetic diversity analysis of *Coilia ecilia* and *Coilia brevinathus* based on mitochondrial DNA D-loop sequence [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2017, 45(20): 59-63.
- [28] CRISTESCU M E, HEBERT P D N. Uses and misuses of environmental DNA in biodiversity science and conservation [J]. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, 2018, 49(1): 209-230.
- [29] KNEBELSBERGER T, DUNZ A R, NEUMANN D, et al. Molecular diversity of Germany's freshwater fishes and lampreys assessed by DNA barcoding [J]. Molecular Ecology Resources, 2015, 15(3): 562-572.
- [30] 涂克环,施文,古旭,等. 淀山湖不同生长型沉水植物分布及其性状研究[J]. 上海海洋大学学报, 2013: 895-902.
- TU K H, SHI W, GU X, et al. Research on submerged vegetation distribution and traits of different growth forms in Dianshan Lake [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2013, 22(6): 895-902.
- [31] 汪益娉,张维砚,徐春燕,等. 淀山湖浮游植物初级生产力及其影响因子[J]. 环境科学, 2011, 32(5): 1249-1256.
- WANG Y P, ZHANG W Y, XU C Y, et al. Phytoplankton productivity and its influencing factors in Dianshan Lake [J]. Environmental Science, 2011, 32(5): 1249-1256.

Analysis of fish species diversity in Dianshan Lake based on environmental DNA technology

LIU Yang^{1,2,3,4}, LIANG Xuhong¹, WANG Congcong^{1,2,3}, DAI Xiaojie^{1,2,3}

(1. College of Marine Living Resource Sciences and Management, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Key Laboratory of Sustainable Exploitation of Oceanic Fisheries Resources, Ministry of Education, Shanghai 201306, China; 3. National Distant-water Fisheries Engineering Research Center, Shanghai 201306, China; 4. Marine Biomedical Science and Technology Innovation Platform of Lin-gang Special Area, Shanghai 201306, China)

Abstract: In order to understand the species composition and diversity characteristics of the main fish communities in Dianshan Lake, environmental DNA technology was used to analyze the species diversity of fish in Dianshan Lake. The results showed that a total of 7 orders, 12 families, 36 genera and 43 species of fish were detected in the environmental DNA samples from 10 stations in Dianshan Lake, of which 24 species were detected in June (summer) and 32 species were detected in November (autumn). Most of the species were found in the traditional fishery resources investigation of Dianshan Lake. Among them, *Coilia nasus*, *Carassius auratus*, *Acheilognathus macropterus*, *Culter alburnus* and *Mugil cephalus* were the main species. The α diversity analysis showed that the average values of Chao 1 index, Observed species index, Shannon diversity index, Simpson index and Pielou evenness index in Dianshan Lake in autumn were higher than those in summer. The analysis of fish species difference among sites showed that the sites with higher diversity and richness were S1, S2, S3 and S5, which were all sites with higher primary productivity and less human disturbance. The results show that the environmental DNA technique is highly sensitive and can be used as an effective supplementary method for the survey of fish species diversity in Dianshan Lake.

Key words: environmental DNA; Dianshan Lake; biodiversity; fish