

文章编号: 1674-5566(2025)05-0943-13

DOI: 10.12024/jsou.20250404821

基于环境DNA宏条形码技术的上海地区外来鱼类监测、入侵风险评估及适生区分析

冉嘉晨^{1,2}, 吴阿娜³, 龚海燕³, 王 辉^{1,2}

(1. 上海海洋大学 环境DNA技术与水生态健康评估工程中心, 上海 201306; 2. 上海海洋大学 海洋动物系统分类与进化上海高校重点实验室, 上海 201306; 3. 上海环境监测中心, 上海 200235)

摘 要: 上海地处长江下游入海口, 是我国重要的通商口岸, 同时具有发达的水产养殖产业。因此, 引进上海地区的外来鱼类在其自然水体中存在的种类、分布和入侵风险等值得进行系统调查。本研究于春秋两季通过环境DNA宏条形码技术(eDNA Metabarcoding)对上海地区82个点位进行了外来鱼类调查, 共检出了7种外来鱼类。对调查到的外来鱼类采用水生生物入侵筛查工具(Freshwater fish invasiveness screening kit, AS-ISK)进行入侵风险评估, 并使用Maxent模型结合气候数据及分布点位进行外来鱼类适生区预测。AS-ISK评估结果表明, 食蚊鱼(*Gambusia affinis*)、大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)、斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)具有较高的入侵风险($BRA > 42.5$); 而匙吻鲟(*Polyodon spathula*)和麦瑞加拉鲮(*Cirrhinus mrigala*)的入侵风险较低($BRA < 40$)。结合未来气候变化后, 仅有麦瑞加拉鲮的入侵风险由低变为高($BRA + CCA > 47.5$), 其余物种的入侵风险等级不变。MaxEnt模型适生区预测结果表明, 黄浦江下游入海口附近区域对本次检出的外来鱼类总体来说具有较大的适生区面积, 而麦瑞加拉鲮在上海西部的淀山湖具有较大的适生区面积。本调查还监测到尼罗罗非鱼和云斑尖塘鳢, 因其不耐低温无法在上海越冬而不做入侵风险评估及适生区分析。及时掌握自然水体中外来鱼类的种类和分布是防范生物入侵的重要前提, 而环境DNA技术为开展外来鱼类、高入侵风险鱼类监测提供了一种低成本、高效率、可持续的技术支持。

关键词: 外来鱼类监测; AS-ISK入侵风险评估; MaxEnt适生区预测; 环境DNA宏条形码; 上海地区

中图分类号: Q 178.1; S 932

文献标志码: A

淡水生态系统作为地球最重要的生态系统之一, 在仅占地球表面约0.08%的面积和0.01%总水量的情况下, 却包含18 000多种鱼类, 约占全球脊椎动物种类的1/4^[1]。随着全球化进程的加快和人类活动的加剧, 自20世纪以来, 脊椎物种灭绝相较于历史速率加快了100倍^[2]。鱼类作为一种存活时间长且活动能力较强的水生生物, 在水生态及生物多样性监测中是一种重要的指示物种^[3]。鱼类生物入侵近年来逐渐受到人们的关注, 据统计, 中国水生生态系统中共有548种外来物种, 其中外来鱼类占比最高, 已达207种^[4]。外来入侵鱼类改变了淡水种群中的群落组成和功能结构, 是造成鱼类多样性减少的原因之

一^[5]。相较于植物和鸟类等物种的无意入侵途径不同, 鱼类入侵大多是作为经济及功能物种有意引进, 主要通过水产养殖、观赏渔业、休闲垂钓、渔业和捕捞运输等途径形成入侵^[6]。研究发现, 自20世纪60年代至今, 入侵鱼类物种已经造成了370亿美元的总经济损失, 年经济损失从20世纪60年代每年小于1万美元上升至21世纪每年10亿美元^[7], 未来生物入侵风险也随气候变化不断加剧, 如青藏高原地区首次于2023年发现红火蚁种群, 印证了温度的升高导致入侵物种北迁速率较20世纪加快了3.8倍^[8]。

除经济方面外, 入侵物种对本地物种的生存和本地生态系统也有巨大的影响, 如湖鳊

收稿日期: 2025-04-04 修回日期: 2025-07-20

基金项目: 国家重点研发计划(2022YFC2601301)

作者简介: 冉嘉晨(2001—), 男, 硕士研究生, 研究方向为环境DNA与生物多样性评估。E-mail: 27992833@qq.com

通信作者: 王 辉, E-mail: wh9264@gmail.com

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>

(*Salvelinus namaycush*)的入侵造成美国落基山脉北部本土鱼类的营养级破坏,使本土鱼类基准食性改变,且影响了本土生态环境中的大型无脊椎动物群落^[9]。余梵冬等^[10]对珠江下游星湖鱼类入侵现状进行研究后发现,外来入侵鱼类在种类数、生物量、丰度、优势度等方面都占绝对优势;其中豹纹翼甲鲇(*Pterygoplichthys pardalis*)、条纹鲮脂鲤(*Prochilodus lineatus*)、伽利略罗非鱼(*Sarotherodon galilaeus*)、尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)、齐式罗非鱼(*Coptodon zillii*)和麦瑞加拉鲮(*Cirrhinus cirrhosus*)是入侵高风险的外来鱼类,且已经形成了稳定的种群,可能对本土鱼类造成较大的影响。

引进种大多具有较高的经济价值,其在抗病、生长繁殖、食性等方面相较本地种更强,对环境的适应性也更强,经养殖逃逸、人为放生后,对本地种的生存空间造成挤压^[11]。人类活动是造成鱼类入侵的潜在原因之一,与社会经济发展成正相关,以长江流域为例,每增加1个航运港口,平均外来鱼类物种增加1.2种^[12],上海作为我国最大的经济中心城市,航运发达,更需要加大对外来入侵物种的防范和治理。

早期监测和快速响应对于防止入侵物种扩散至关重要。加强外来物种源头管理,强化外来物种入侵过程监测是预防外来物种入侵的有效手段^[13]。目前对于外来入侵物种的监测手段多以传统捕捞为主,如蹦网^[14]、刺网^[15-16]和电捕等^[17-18],消耗的人力、物力成本较大,且对于体型较小、善隐蔽的物种难以及时监测。环境DNA技术通过分子手段,从环境中物种释放的粪便、组织、体液等提取DNA并进行扩增、测序后与数据库进行比对,得到环境中的物种^[19]。相较于传统方法,环境DNA技术具有对生态环境影响和物种干扰少、成本低廉等优点,对体型小、善隐蔽的物种能够更有效地监测^[20-21]。因此,环境DNA目前已经逐渐被广泛运用于入侵物种的长期监测^[22-23]。

上海地处长江入海口,已有前人对长江流域及上海部分流域进行了外来鱼类的调查,并开展了入侵风险评估^[12]。YU等^[24]对黄浦江、苏州河及淀山湖使用环境DNA技术进行了外来鱼类调查及风险评估,但其调查范围较小,点位仅覆盖3条河湖流域。上海地区的外来鱼类种类和分布情况

仍缺少全面系统的调查。通过引进、养殖逃逸、人为放生等方式的外来鱼类物种是否构成入侵,对本地生态系统、物种多样性等造成的危害等方面仍需要更多的分析。环境DNA技术作为一种低成本、高效率、非入侵性的调查方法,为上海地区进行系统性的外来鱼类分布调查提供了可能。本研究旨在通过环境DNA宏条形码技术,对上海地区进行全面、系统性的外来鱼类监测,并对发现的外来物种开展风险评估及适生区预测,为潜在入侵鱼类监测、治理等提供参考。

1 材料与方法

1.1 样品采集及处理

在鱼类生命周期中,春季至秋季是繁育等生命活动较活跃的阶段,也是监测鱼类活动的最佳窗口期^[25-26]。为检出最多的鱼类物种,本研究分别于2023年6月和9月采集水样,共设置了82个采样点对上海地区的外来鱼类进行监测(图1)。河流采样点位涵盖黄浦江及其主要支流和上海地区重要运河(1~11号点位、29~74号点位、81~82号点位),如蕴藻浜、大治河、淀浦河、浦东运河等;淀山湖及滴水湖则作为天然湖泊和人造湖泊的代表(12~28号点位);长江口也设置了部分点位(75~80号点位)作为河口水域的代表。每个采样点设置3个生物平行样,每个平行采集2 L水样。考虑到各采样点的环境差异性,水深<4 m的水体在水面下0.5 m处采样;水深≥4 m时,分别采集表层水、中层水及底层水混匀。水样采集后均于24 h内使用孔径为0.45 μm的混合纤维素滤膜进行过滤^[27]。为避免滤膜堵塞及提高过滤效率,每张滤膜过滤1 L水样,将2张滤膜放入装有1.2 mL的CTAB溶液^[28]的5 mL离心管中作为1个平行。过滤后将滤膜存储于-80 °C冰箱中保存,以防DNA降解。

1.2 环境DNA提取及文库构建

采用酚氯仿法^[29-30]提取环境DNA。将样品置于65 °C水浴加热10 min,解冻后在通风橱中加入与CTAB等体积的酚氯仿(25:24:1),充分振荡混匀10 min。室温下7 000 r/min离心15 min,使非DNA固体与水相分层。将水相移至新的2 mL离心管中,加入与水相等体积的异丙醇和一半体积的5 mol/L NaCl溶液,于-20 °C环境下低温冷冻至少1 h。将DNA沉淀于管底,室温

12 000 r/min 离心 15 min 后,将管中液体倒出。加入 150 μ L 70% 乙醇溶液,清洗杂质,室温下 12 000 r/min 离心 5 min,然后小心倒掉试管中的乙醇。重复洗涤 1 次后打开试管干燥 10 min,

以去除多余的乙醇。干燥后加入 100 μ L 60 $^{\circ}$ C 水浴的 TE 溶液,并于 55 $^{\circ}$ C 水浴 10 min,充分溶解 DNA,最后置于-80 $^{\circ}$ C 冰箱中保存。

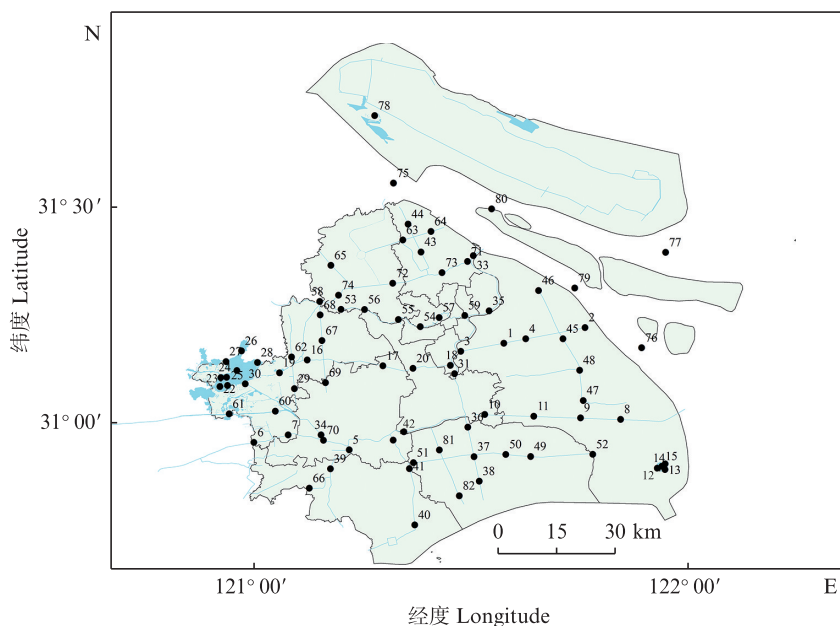


图1 上海地区 82 个环境 DNA 样品采集点位

Fig. 1 Eighty two sampling sites in Shanghai area

PCR 扩增采用鱼类通用引物 Tele02 (F: AATATCGCAAACCTCGTGCCAGCCACC; R: AATATCGCGGGTATCTAATCCCAGTTTG)^[31], 扩增片段为线粒体 12S rRNA 基因,扩增片段大小 167 bp。扩增体系: *Taq* 酶 (PrimeSTAR Max Premix, TaKaRa) 10 μ L, 引物 2 μ L, BSA (牛血清蛋白) 1 μ L, DNA 模板 2 μ L, 最后补 PCR 水至总体积 20 μ L。PCR 反应程序: 95 $^{\circ}$ C 预热 5 min; 95 $^{\circ}$ C 变性 15 s, 57 $^{\circ}$ C 退火 15 s (每 4 个循环降温 1 $^{\circ}$ C, 降低至 53 $^{\circ}$ C, 之后一直保持 53 $^{\circ}$ C 退火), 72 $^{\circ}$ C 延伸 15 s, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。PCR 扩增产物经琼脂糖凝胶电泳检测, 确认扩增得到目标条带后通过磁珠 (MagnaBind, Thermo Fisher Scientific) 去除小片段, 构建测序文库并通过 Illumina 测序平台进行 PE150 测序。

1.3 测序数据处理和序列分析

使用 Linux 服务器进行测序数据分析, 首先使用 Fastp 进行数据质控过滤, 将测序碱基的阈值设置为 15, 保留序列长度 ≥ 50 bp 的序列, 并剔除低质量碱基占比超过 2% 的 Reads^[32]。双端测序数据的两端通过 Pandaseq 进行拼接^[33]。基于

混合建库策略产生的数据, 利用测序 Reads 两端特异性分子标签 (Barcode) 实现样本溯源, 允许引物与目标序列间最大错配碱基数为 2。通用引物扩增的序列相对保守, 其对应的扩增子的长度变异较小, 扩增序列的长度可以当作筛选目的序列的一个重要参数^[34]。因此, 只有序列长度变异小于 10% 的扩增子序列才会被保留下来进一步分析。使用 VSEARCH 软件对进行序列聚类之前的重复序列过滤, 随后通过 unoise 算法将序列进行 ASV (Amplified sequence variation) 聚类。使用 BLASTN 2.3.31 完成物种注释^[35]。

1.4 鱼类入侵物种风险评估

鱼类入侵物种风险采用水生生物入侵筛查工具 (Freshwater fish invasiveness screening kit, AS-ISK) 进行评估^[36]。AS-ISK 需要用户对其提供的 55 个问题使用记录在册的调查证据进行回答, 包括 49 个基本风险评估问题 (Basic risk assessment, BRA) 和 6 个气候变化评估问题 (Climate change assessment, CCA), 其中 BRA 根据入侵物种从被评估区域中的气候匹配度、扩散潜力、入侵史等方面进行评分^[37], 得分范围为 20

到68;CCA根据被评估区域未来的气候变化情况造成的影响进行评分^[38],BRA+CCA得分范围为32到80,最后得到入侵物种的BRA+CCA分数。BRA分数及BRA+CCA分数通过使用受试者工作特征曲线(Receiver operating characteristic curve,ROC)进行验证,以真阳性率(灵敏度),即被模型正确识别的入侵物种占比为纵坐标,假阳性率(1-特异度),即被模型错误识别为入侵物种的鱼类占比为横坐标进行绘制,并使用ROC曲线下面积(Area under the curve,AUC)进行模型正确率评估^[39],使用约登指数(Youden index)作为判断物种入侵风险高低的指数^[40]。

所有问题均需根据置信度分为4个等级:1=低,2=中,3=高,4=很高^[41]。置信度(Confidence factor,CF)计算公式:

$$CF = \sum(CL_{Qi}) / (4 \times 55) (i = 1, \dots, 55) \quad (1)$$

式中:CL_{Qi}为第*i*个问题的置信等级;4为置信度

的最高等级,55为AS-ISK的全部问题数,置信度的范围为0.25到1。

1.5 鱼类入侵物种潜在适生区预测

鱼类入侵物种潜在适生区使用MaxEnt 3.4.4软件^[42]进行预测,该模型通过最大熵方法从不完整信息中进行预测或推断,可根据给定的已知发现入侵物种的点位与历史气候数据对其他区域进行物种潜在适生区预测^[43]。上海地区外来鱼类物种的出现点位及经纬度数据来自于本研究,模型所使用的气候数据来自WorldClim网站(<https://www.worldclim.org/>)的生物气候变量(Bioclimatic variables),包括年平均气温、平均日较差等19个气候变量,分辨率为30 s(表1)。使用MaxEnt进行适生区分析设置随机测试百分比为25%,使用75%数据进行训练,进行10次重复预测,并取其平均值作为最终预测结果,其余设置为默认。

表1 WorldClim 生物气候变量
Tab. 1 Bioclimatic variables of WorldClim

气候变量序号 Bioclimatic variables index	序号代表参数 Bioclimatic variables
BIO1	年平均气温 Annual mean temperature
BIO2	平均日较差(月最高温与最低温差的平均值) Mean diurnal range [mean of monthly (max temp min temp)]
BIO3	等温性(BIO2与BIO7的比值×100) Isothermality (BIO2/BIO7) (×100)
BIO4	温度季节性(月均温标准差×100) Temperature seasonality (standard deviation ×100)
BIO5	最热月最高温 Max temperature of warmest month
BIO6	最冷月最低温 Min temperature of coldest month
BIO7	气温年较差(BIO5与BIO6的差值) Temperature annual range (BIO5-BIO6)
BIO8	最湿季度平均气温 Mean temperature of wettest quarter
BIO9	最干季度平均气温 Mean temperature of driest quarter
BIO10	最暖季度平均气温 Mean temperature of warmest quarter
BIO11	最冷季度平均气温 Mean temperature of coldest quarter
BIO12	年降水量 Annual precipitation
BIO13	最湿月降水量 Precipitation of wettest month
BIO14	最干月降水量 Precipitation of driest month
BIO15	降水季节性(变异系数) Precipitation seasonality (coefficient of variation)
BIO16	最湿季度降水量 Precipitation of wettest quarter
BIO17	最干季度降水量 Precipitation of driest quarter
BIO18	最暖季度降水量 Precipitation of warmest quarter
BIO19	最冷季度降水量 Precipitation of coldest quarter

2 结果

2.1 外来鱼类物种组成

6月调查测序共得到218 872 920条Reads序

列,经质控后得到218 860 608条Clean Reads序列。9月调查测序共得到316 872 700条Reads序列,经质控后得到316 813 782条Clean Reads序列。两次调查共得到547个鱼类物种ASV,其中

经数据库比对共发现 7 种外来鱼类(表 2);分别为斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)、大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)、麦瑞加拉鲮、尼罗罗非鱼、食蚊鱼(*Gambusia affinis*)、匙吻鲟(*Polyodon spathula*)、云斑尖塘鳢(*Oxyeleotris marmorata*),其中除食蚊鱼外,均作为食用鱼品种被引入本土^[44]。各物种检出点位如图 2 所示,从检出点位来看,尼罗罗非鱼在本研究中检出点位最多,在 29 个采样点位中被检出,食蚊鱼其次,共在 22 个点位被检出,匙吻鲟和云斑尖塘鳢最少,分别仅在 4 个和 2 个点位被检出。

在检出的 7 种外来鱼类中,尼罗罗非鱼及云斑尖塘鳢对于低温的耐受能力均较差^[45]。尼罗罗非鱼的适温是 16~42 °C,5.5 °C 下为致死温度^[46]。云斑尖塘鳢的适温为 15~35 °C,10 °C 以下则大量死亡^[47]。这两种鱼类在上海地区不能越冬,故在后续入侵风险评估及适生区预测中去除,仅对其余 5 种鱼类进行分析。

2.2 鱼类入侵物种风险评估

基于 AS-ISK 的鱼类入侵物种的风险评估结果见表 3。BRA 分数及 BRA+CCA 分数的曲线下面积(AUC)均大于 0.7(95% 置信区间),具有较高的可靠性(图 3)。以约登指数作为区分入侵物种风险高低的分界线,得分高于约登指数的物种入侵风险为高,低于约登指数的物种入侵风险为低。BRA 得分的约登指数为 42.5,食蚊鱼、大口黑鲈、斑点叉尾鲷的入侵风险为高,麦瑞加拉鲮、匙吻鲟的入侵风险为低;结合未来气候变化的 BRA+CCA 得分的约登指数为 47.5,仅麦瑞加拉鲮的入侵风险变为高,其余 4 种入侵鱼类的入侵风险评估结果不变。

2.3 外来鱼类在上海地区适生区预测

根据环境 DNA 宏条形码技术检出的 5 种入侵鱼类使用 Maxent 模型进行上海地区适生区预测,并使用 ArcGIS 10.8 软件与上海地区底图叠加,得出上海地区外来鱼类潜在适生区地图。预测结果如图 4 所示,斑点叉尾鲷、大口黑鲈、食蚊鱼、匙吻鲟具有较大的潜在适生区。从河流角度来看,除匙吻鲟外,其余 4 种入侵鱼类在蕴

藻浜及黄浦江下游入海口具有较高的适生度,且显著高于其他地区。麦瑞加拉鲮在淀山湖有较高的适生度,食蚊鱼也有部分潜在适生区位于淀山湖,但其入侵风险比麦瑞加拉鲮小。

3 讨论

3.1 基于环境 DNA 宏条形码检出的鱼类外来物种组成

本研究通过环境 DNA 宏条形码技术在上海地区河湖水系中检出了 7 种外来鱼类物种,其中麦瑞加拉鲮、尼罗罗非鱼、大口黑鲈、匙吻鲟等常见外来鱼类此前已有大量研究通过传统方法检出^[6,48-49]。张晴柔等^[50]对上海市外来入侵物种进行统计后发现,水生入侵物种中共有 6 种鱼类,为食蚊鱼、大口黑鲈、纳氏锯脂鲤(*Pygocentrus nattereri*)、奥利亚罗非鱼(*Oreochromis aureus*)、斑点叉尾鲷及虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*),均因其经济及观赏价值被引进。值得一提的是匙吻鲟在浦东临港地区被检测出,同时也有目测观察到的报告。本研究检出的 7 种入侵鱼类中,除食蚊鱼是作为工具鱼种引进外,其余 6 种均为由于水产养殖引进。有研究表明,截至 2022 年,在 FishBase 中记录的 1 649 个鱼类入侵事件中,42% 与水产养殖相关^[51],我国同样存在大量由引入养殖种导致的外来物种入侵案例^[52],且近年来由于养殖水体逃逸造成的生物入侵事件普遍呈上升趋势^[53],这表明对水产养殖行业进行规范监管是防控水生生物入侵的关键环节。

总体来说,使用环境 DNA 技术检测到的物种往往多于基于传统捕捞检测到的物种数。凌岚馨等^[54]使用 Mifish 引物以及传统捕捞方法对崇明岛鱼类多样性进行调查,Mifish 引物法检出了尼罗罗非鱼及食蚊鱼两种入侵鱼类,但传统捕捞并未检出,侧面说明了环境 DNA 技术在检测入侵物种方面的灵敏度更高。建立对入侵物种及时、快速的监测体系是治理和防控生物入侵的关键。环境 DNA 技术具有采样便捷、监测成本低廉、对善隐蔽物种监测成功率高等优势,在入侵物种监测方面有着巨大的应用潜力。

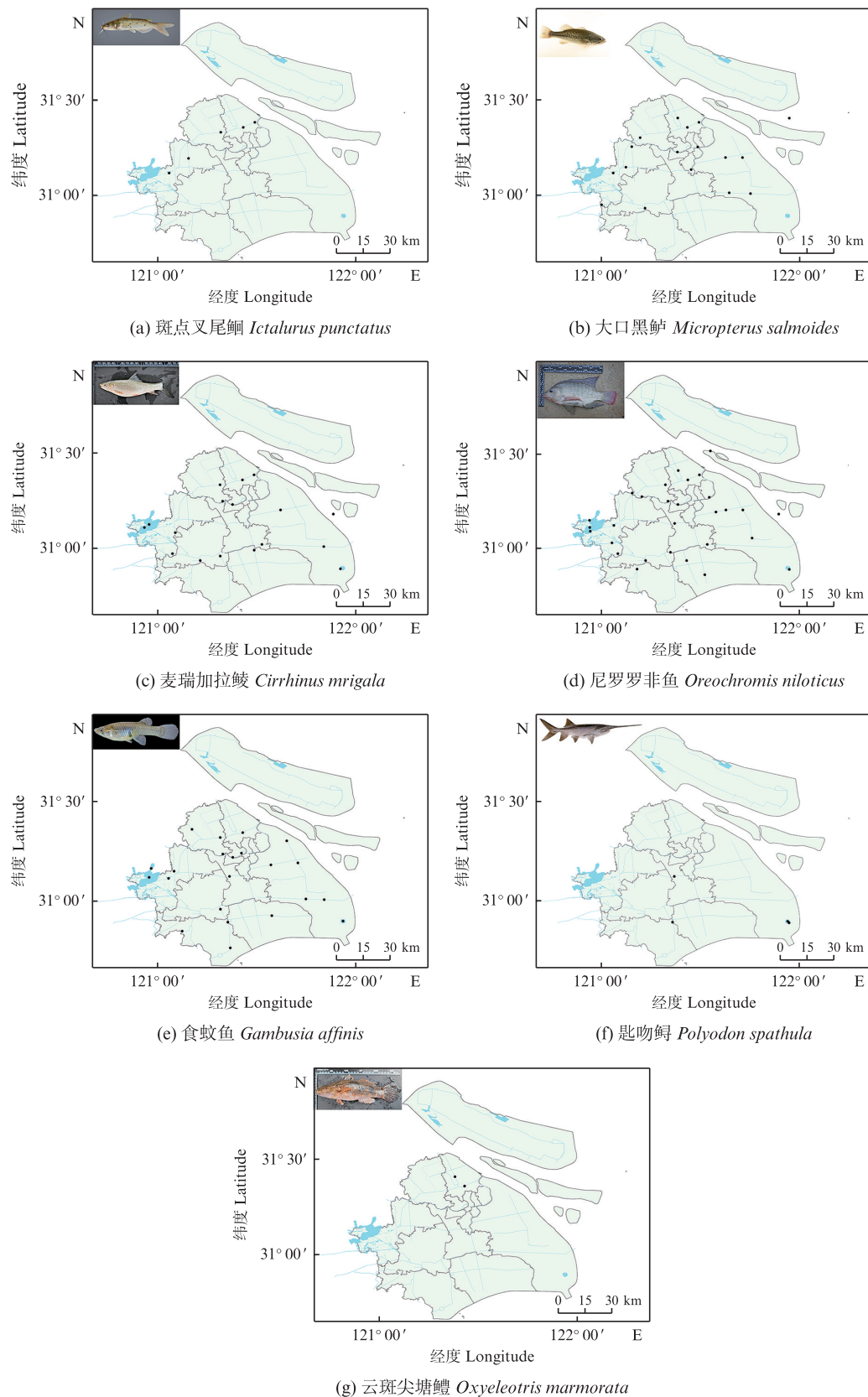


图 2 环境 DNA 宏条形码调查得出的上海地区外来鱼类物种分布图

Fig. 2 Distribution map of invasive fish species in Shanghai based on environmental DNA

表 2 环境DNA宏条形码技术检出外来鱼类物种情况
Tab. 2 Invasive fish species detected by eDNA metabarcoding

物种 Species	检出位点数 Number of detected sites	出现时间 Occurrence time
斑点叉尾鲷 <i>Ictalurus punctatus</i>	5	6月及9月
大口黑鲈 <i>Micropterus salmoides</i>	17	6月及9月
麦瑞加拉鲮 <i>Cirrhinus mrigala</i>	17	6月及9月
尼罗罗非鱼 <i>Oreochromis niloticus</i>	29	6月及9月
食蚊鱼 <i>Gambusia affinis</i>	22	6月及9月
匙吻鲟 <i>Polyodon spathula</i>	4	6月及9月
云斑尖塘鳢 <i>Oxyeleotris marmorata</i>	2	仅6月

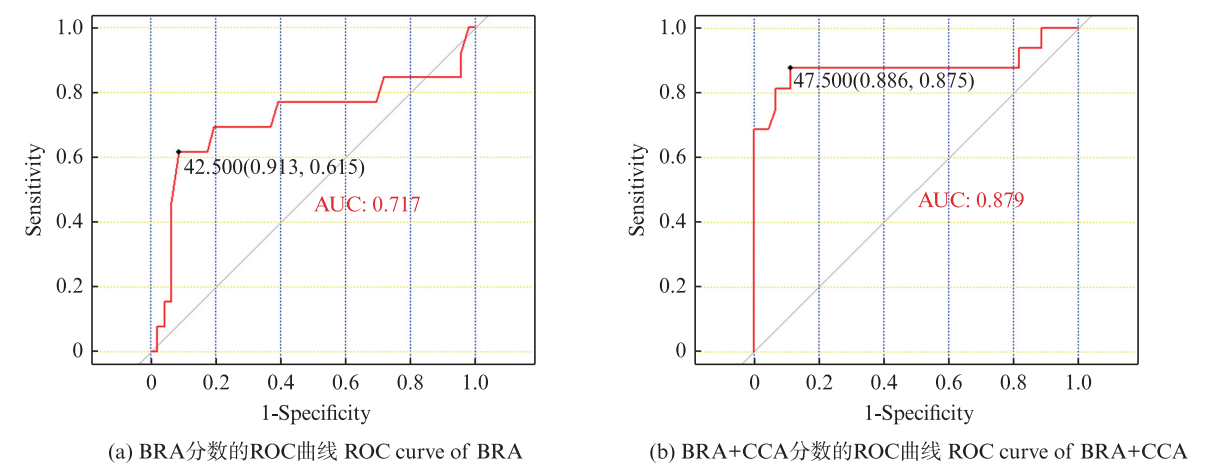


图 3 基于AS-ISK的上海鱼类入侵物种受试者工作特征曲线
Fig. 3 Receiver operating characteristic (ROC) curves based on the aquatic species invasiveness screening kit (AS-ISK) for invasive fish species in Shanghai

表 3 基于AS-ISK的鱼类物种在上海地区入侵风险评估结果
Tab. 3 AS-ISK based invasion risk assessment results of fish species in Shanghai

物种 Species	BRA 分数 BRA score	入侵风险 Invasion risk	BRA+CCA 分数 BRA+CCA score	入侵风险 Invasion risk	置信度 Confidence		
					BRA	CCA	BRA+CCA
食蚊鱼 <i>Gambusia affinis</i>	61	高	73	高	0.85	0.58	0.82
大口黑鲈 <i>Micropterus salmoides</i>	56	高	66	高	0.77	0.63	0.75
斑点叉尾鲷 <i>Ictalurus punctatus</i>	45	高	57	高	0.87	0.75	0.85
麦瑞加拉鲮 <i>Cirrhinus mrigala</i>	38	低	48	高	0.74	0.54	0.72
匙吻鲟 <i>Polyodon spathula</i>	5	低	9	低	0.68	0.50	0.66

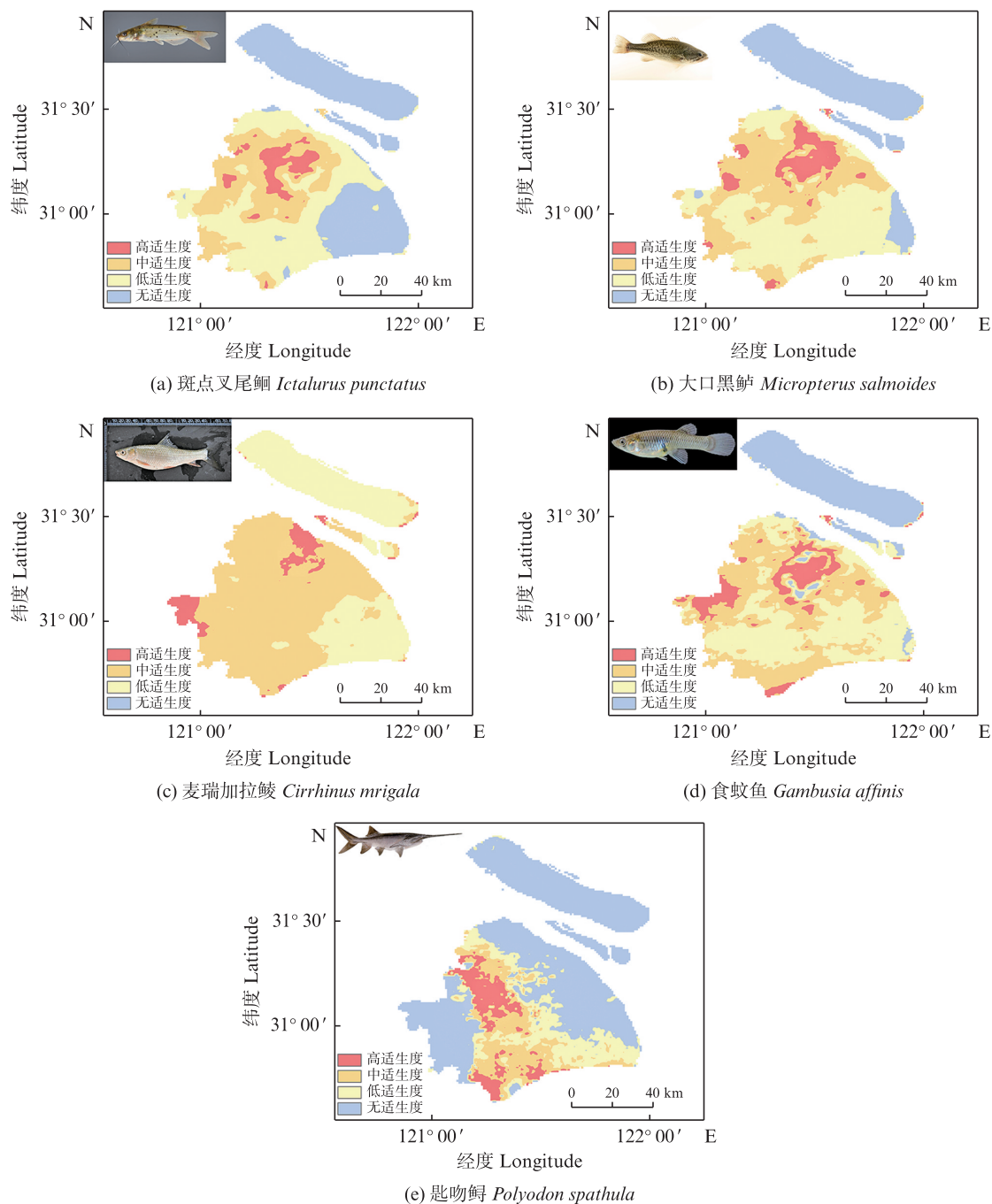


图 4 环境 DNA 宏条形码技术检出的 5 种入侵鱼类预测适生区结果

Fig. 4 Predicted suitable habitat areas for the 5 invasive fish species detected via eDNA metabarcoding technology

3.2 基于 AS-ISK 的上海地区外来鱼类入侵风险预测

使用 AS-ISK 对入侵物种鱼类风险评估,食蚊鱼、大口黑鲈、斑点叉尾鲷 3 种鱼类在基础风险评估(BRA)中,得分大于 ROC 曲线中的约登指数(42.5),被认定为是具有高入侵风险的物种,这一结论与前人的研究^[53,55-57]相互印证。在叠加气候因子进行分析后,麦瑞加拉鲮的入侵风险由低变

为了高(BRA+CCA=48),表明麦瑞加拉鲮可能在上海地区未来的气候变化中具有更高的入侵风险。有研究发现,麦瑞加拉鲮在珠江流域中对本地鲮鱼形成了生态位重叠,高密度的麦瑞加拉鲮可导致本地鲮的生长变缓和营养生态位缩小,具有引发种间食性竞争的可能,甚至会挤占土著鲮的生态位^[58],麦瑞加拉鲮属亚热带鱼类,且其相较于本地鲮生长更快、抗寒能力更强,在全球变

暖的大背景下,其入侵风险更值得关注和预防。

AS-ISK 在国内外水生生物入侵风险评估方面已经得到了广泛的应用,评估者只需要根据 FishBase 等数据库中的鱼类资料及历史调查中记录在册的入侵物种文献资料回答 AS-ISK 中针对淡水鱼类入侵风险的 55 个问题便可展开风险评估工作。但该方法也存在一定局限性。首先,评估结果对数据来源的可靠性提出了很高的要求,若输入数据存在缺失或偏差,可能导致结果失真;其次,问题容易受评估者的主观判断影响,不同评估者对同一问题的回答存在差异,难以统一和标准化,其问题也较为片面。另外,如鱼类洄游、评估区域养殖情况等方面也欠缺考虑。本研究通过环境 DNA 宏条形码技术检出了云斑尖塘鳢^[59]以及匙吻鲟^[60]两种在上海地区密度较低的物种,其中匙吻鲟在 AS-ISK 入侵风险评估中得分较低,与其检出点位较少的结果相吻合。

3.3 基于 MaxEnt 的上海地区外来鱼类潜在适生区预测

进行潜在适生区分析也是进行预防物种入侵的有效手段之一,MaxEnt 模型在各种物种中已经得到了广泛的应用^[42,61],从本研究的结果来看,黄浦江下游入海口为高适生度的区域,可能与近入海口盐度梯度的变化更广,物种多样性更为丰富有关,也与本研究中使用环境 DNA 技术检出的外来物种分布情况相符。值得注意的是,淀山湖作为上海市最大的淡水湖泊,也是重要的渔业生产水域之一,麦瑞加拉鲮在 MaxEnt 模型中在淀山湖具有较高的适生度,说明在淀山湖及周边水系可能需要对其重点防范。MaxEnt 模型的不足之处在于,潜在适生区预测仅根据入侵物种分布情况及气候数据得出。以本研究的入侵鱼类为例,预测地的人文条件、渔业发展、鱼类物种生活史等因素并没有考虑在内,会对预测结果的准确性产生一定的影响。本研究于 6 月和 9 月采集环境 DNA 样本,均处于气温较高的季节,对尼罗罗非鱼等不耐低温的鱼类检出数量较多,并不能说明上海地区是尼罗罗非鱼适宜的生境。未来可能需要通过长期、多次的采样监测,以覆盖更多的季节,得到更准确的研究结果。

作者声明本文无利益冲突。

参考文献:

- [1] XU M, LI S P, LIU C L, et al. Global freshwater fish invasion linked to the presence of closely related species [J]. *Nature Communications*, 2024, 15(1): 1411.
- [2] CEBALLOS G, EHRLICH P R, BARNOSKY A D, et al. Accelerated modern human-induced species losses: entering the sixth mass extinction [J]. *Science Advances*, 2015, 1(5): e1400253.
- [3] WANG S P, YAN Z G, HÄNFLING B, et al. Methodology of fish eDNA and its applications in ecology and environment [J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 755: 142622.
- [4] CHEN Y Y, SUN C S, ZHAN A B. Biological invasions in aquatic ecosystems in China [J]. *Aquatic Ecosystem Health & Management*, 2017, 20(4): 402-412.
- [5] 李雪健,唐文乔,赵亚辉. 南水北调中线工程对海河流域鱼类入侵风险分析[J]. *生物多样性*, 2021, 29(10): 1336-1347.
- LI X J, TANG W Q, ZHAO Y H. Risk analysis of fish invasion in Haihe River Basin caused by the central route of the South-to-North Water Diversion project [J]. *Biodiversity Science*, 2021, 29(10): 1336-1347.
- [6] 酃珊,陈家宽,王小明. 淡水鱼类入侵种的分布、入侵途径、机制与后果[J]. *生物多样性*, 2016, 24(6): 672-685.
- LI S, CHEN J K, WANG X M. Global distribution, entry routes, mechanisms and consequences of invasive freshwater fish [J]. *Biodiversity Science*, 2016, 24(6): 672-685.
- [7] HAUBROCK P J, BERNERY C, CUTHBERT R N, et al. Knowledge gaps in economic costs of invasive alien fish worldwide [J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 803: 149875.
- [8] RENAULT D, ANGULO E, CUTHBERT R N, et al. The magnitude, diversity, and distribution of the economic costs of invasive terrestrial invertebrates worldwide [J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 835: 155391.
- [9] WAINRIGHT C A, MUHLFELD C C, ELSER J J, et al. Species invasion progressively disrupts the trophic structure of native food webs [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2021, 118(45): e2102179118.
- [10] 余梵冬,房苗,舒璐,等. 珠江下游星湖鱼类多样性与外来鱼类入侵现状研究[J]. *湖泊科学*, 2025, 37(4): 1396-1406.
- YU F D, FANG M, SHU L, et al. Fish diversity and invasion of alien fish in Lake Xinghu, downstream of the Pearl River [J]. *Journal of Lake Sciences*, 2025, 37(4): 1396-1406.
- [11] 万朝阳,方康,董芳,等. 长江流域外来鱼类现状与生

- 态风险评估[J]. 水产学报, 2025, 49(8): 089306.
- WAN Z Y, FANG K, DONG F, et al. Status and ecological risk assessment of alien fish in the Yangtze River basin[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2025, 49(8): 089306.
- [12] RILEY S. Invasive alien species and the protection of biodiversity: the role of quarantine laws in resolving inadequacies in the international legal regime[J]. *Journal of Environmental Law*, 2005, 17(3): 323-359.
- [13] 林渊源, 赵峥. 环境 DNA 技术在水生入侵生物监测中的应用[J]. *生态毒理学报*, 2021, 16(6): 1-12.
- LIN Y Y, ZHAO Z. Application of environmental DNA technologies in monitoring aquatic invasive species[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2021, 16(6): 1-12.
- [14] 冯广朋. 鱼类群落多样性研究的理论与方法[J]. *生态科学*, 2008, 27(6): 506-514.
- A review on the fish community diversity: theories and methods[J]. *Ecological Science*, 2008, 27(6): 506-514.
- [15] 方民杰. 福建 3 条主要河流外来鱼类入侵状况及危害评价[J]. *中国农学通报*, 2024, 40(24): 158-164.
- FANG M J. Invasion status and hazard assessment of alien fishes in three major rivers of Fujian[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2024, 40(24): 158-164.
- [16] 黄骏涵, 余梵冬, 王裕祥, 等. 花地河中下游外来鱼类入侵现状及其与环境因子的关系[J]. *生物多样性*, 2024, 32(11): 24249.
- HUANG J H, YU F D, WANG Y X, et al. The current status of invasive fish and their interrelationships with environmental factors in the middle and lower reaches of the Huadi River [J]. *Biodiversity Science*, 2024, 32(11): 24249.
- [17] ALTHOFF A L, KINDSCHUH J L, LOCHMANN S E, et al. Movements and habitat use of silver carp in the arkansas and white rivers[J]. *Journal of Fish and Wildlife Management*, 2024, 15(2): 493-509.
- [18] TALMAGE P J, PERRY J A, GOLDSTEIN R M. Relation of instream habitat and physical conditions to fish communities of agricultural streams in the northern Midwest [J]. *North American Journal of Fisheries Management*, 2002, 22(3): 825-833.
- [19] BARNES M A, TURNER C R. The ecology of environmental DNA and implications for conservation genetics[J]. *Conservation Genetics*, 2016, 17(1): 1-17.
- [20] DEINER K, BIK H M, MÄCHLER E, et al. Environmental DNA metabarcoding: transforming how we survey animal and plant communities[J]. *Molecular Ecology*, 2017, 26(21): 5872-5895.
- [21] MAGGIO T, CATTAPAN F, FALAUTANO M, et al. eDNA metabarcoding analysis as tool to assess the presence of non-indigenous species (NIS): a case study in the bilge water[J]. *Diversity*, 2023, 15(11): 1117.
- [22] NESTER G M, SUTER L, KITCHENER J A, et al. Long-distance Southern Ocean environmental DNA (eDNA) transect provides insights into spatial marine biota and invasion pathways for non-native species [J]. *Science of the Total Environment*, 2024, 951: 175657.
- [23] RISHAN S T, KLINE R J, RAHMAN M S. Applications of environmental DNA (eDNA) to detect subterranean and aquatic invasive species: a critical review on the challenges and limitations of eDNA metabarcoding [J]. *Environmental Advances*, 2023, 12: 100370.
- [24] YU R H, WU Q Q, LI F, et al. Risk screening of invasive aquatic species and a survey of fish diversity using environmental DNA metabarcoding analysis in Shanghai[J]. *Diversity*, 2024, 16(1): 29.
- [25] 刘艳佳, 高雷, 郑永华, 等. 湘江汨罗江段鱼类资源季节变化及洄游特征研究[J]. *淡水渔业*, 2019, 49(2): 56-63.
- LIU Y J, GAO L, ZHENG Y H, et al. Seasonal changes and migration characteristics of fish resources in the Miluo reaches of Xiang River[J]. *Freshwater Fisheries*, 2019, 49(2): 56-63.
- [26] 薛瑞萍, 韩庆喜, 王琳. 杭州湾北部海域渔业资源群落结构的季节变化特征[J]. *渔业研究*, 2025, 47(1): 74-84.
- XUE R P, HAN Q X, WANG L. Seasonal changes in the community structure of fishery resources in northern Hangzhou Bay[J]. *Journal of Fisheries Research*, 2025, 47(1): 74-84.
- [27] MAJANEVA M, DISERUD O H, EAGLE S H C, et al. Environmental DNA filtration techniques affect recovered biodiversity[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 4682.
- [28] BAIROLIYA S, KOH ZHI XIANG J, CAO B. Extracellular DNA in environmental samples: occurrence, extraction, quantification, and impact on microbial biodiversity assessment [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2022, 88(3): e0184521.
- [29] SCHRADER C, SCHIELKE A, ELLERBROEK L, et al. PCR inhibitors - occurrence, properties and removal [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2012, 113(5): 1014-1026.
- [30] GAUTAM A. DNA and RNA isolation techniques for non-experts [M]. Cham, Switzerland: Springer, 2022: 33-39.
- [31] TABERLET P, BONIN A, ZINGER L, et al. Environmental DNA: for biodiversity research and monitoring[M]. Oxford: Oxford University Press, 2018.
- [32] CHEN S F, ZHOU Y Q, CHEN Y R, et al. fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor [J]. *Bioinformatics*, 2018, 34(17): i884-i890.
- [33] MASELLA A P, BARTRAM A K, TRUSZKOWSKI J M, et al. PANDAsq: paired-end assembler for Illumina

- sequences[J]. BMC Bioinformatics, 2012, 13(1): 31.
- [34] RATNASINGHAM S. mBRAVE: the multiplex barcode research and visualization environment[J]. Biodiversity Information Science and Standards, 2019, 3: e37986.
- [35] CAMACHO C, COULOURIS G, AVAGYAN V, et al. BLAST+: architecture and applications [J]. BMC Bioinformatics, 2009, 10(1): 421.
- [36] VILIZZI L, HILL J E, PIRIA M, et al. A protocol for screening potentially invasive non-native species using Weed Risk Assessment-type decision support tools [J]. Science of the Total Environment, 2022, 832: 154966.
- [37] COPP G H. The fish invasiveness screening kit (FISK) for non-native freshwater fishes—a summary of current applications [J]. Risk Analysis, 2013, 33 (8): 1394-1396.
- [38] COPP G H, VILIZZI L, TIDBURY H, et al. Development of a generic decision-support tool for identifying potentially invasive aquatic taxa: AS-ISK[J]. Management of Biological Invasions, 2016, 7(4): 343-350.
- [39] FAWCETT T. An introduction to ROC analysis [J]. Pattern Recognition Letters, 2006, 27(8): 861-874.
- [40] YODEN W J. Index for rating diagnostic tests [J]. Cancer, 1950, 3(1): 32-35.
- [41] KILLI N, TARKAN A S, KOZIC S, et al. Risk screening of the potential invasiveness of non-native jellyfishes in the Mediterranean Sea[J]. Marine Pollution Bulletin, 2020, 150: 110728.
- [42] ZHAO Z Y, XIAO N W, SHEN M, et al. Comparison between optimized MaxEnt and random forest modeling in predicting potential distribution: a case study with *Quasipaa boulengeri* in China [J]. Science of the Total Environment, 2022, 842: 156867.
- [43] PHILLIPS S J, ANDERSON R P, SCHAPIRE R E. Maximum entropy modeling of species geographic distributions[J]. Ecological Modelling, 2006, 190(3/4): 231-259.
- [44] PYKE G H. Plague minnow or mosquito fish? A review of the biology and impacts of introduced *Gambusia* species [J]. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, 2008, 39: 171-191.
- [45] 徐旭丹, 刘强, 黄伟, 等. 外来养殖鱼类的人侵风险评估及防控对策——以尼罗罗非鱼为例[J]. 生物安全学报, 2022, 31(3): 278-288.
- XU X D, LIU Q, HUANG W, et al. Risk assessment and control of the exotic farmed fish, the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. Journal of Biosafety, 2022, 31(3): 278-288.
- [46] 李家乐, 李思发. 中国大陆尼罗罗非鱼引进及其研究进展[J]. 水产学报, 2001, 25(1): 90-95.
- LI J L, LI S F. Introduction and research advances of *Oreochromis niloticus* in China Mainland [J]. Journal of Fisheries of China, 2001, 25(1): 90-95.
- [47] 王学耕, 余杰, 苗玉涛, 等. 云斑尖塘鳢研究进展与前景展望[J]. 水产学报, 2023, 47(6): 1-16.
- WANG X G, YU J, MIAO Y T, et al. Research progress and prospect of marble goby (*Oxyeleotris marmorata*) [J]. Journal of Fisheries of China, 2023, 47(6): 1-16.
- [48] 高宇, 刘鉴毅, 张婷婷, 等. 水产养殖逃逸对长江外来种入侵影响: 以鲟鱼为例[J]. 生态学杂志, 2017, 36(6): 1739-1745.
- GAO Y, LIU J Y, ZHANG T T, et al. Escaped aquacultural species promoted the alien species invasion in the Yangtze River: A case study of sturgeons [J]. Chinese Journal of Ecology, 2017, 36(6): 1739-1745.
- [49] 张悦, 许道艳, 廖国祥, 等. 我国海洋外来生物入侵现状、监管问题及建议[J]. 海洋开发与管理, 2024, 41(1): 37-44.
- ZHANG Y, XU D Y, LIAO G X, et al. The present situation, supervision problems and suggestions of marine alien biological invasion in China [J]. Ocean Development and Management, 2024, 41(1): 37-44.
- [50] 张晴柔, 蒋赏, 鞠瑞亭, 等. 上海市外来入侵物种[J]. 生物多样性, 2013, 21(6): 732-737.
- ZHANG Q R, JIANG S, JU R T, et al. Diversity of invasive species in Shanghai [J]. Biodiversity Science, 2013, 21(6): 732-737.
- [51] BERNERY C, BELLARD C, COURCHAMP F, et al. Freshwater fish invasions: a comprehensive review [J]. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, 2022, 53(1): 427-456.
- [52] 刘芳明, 缪锦来, 郑洲, 等. 中国外来海洋生物入侵的现状、危害及其防治对策[J]. 海岸工程, 2007, (4): 49-57.
- LIU F M, MIAO J L, ZHENG Z, et al. Present situation, hazards and prevention and control measures of marine invasive alien species into China [J]. Coastal Engineering, 2007, 26(4): 49-57.
- [53] 胡隐昌, 宋红梅, 牟希东, 等. 浅议我国外来物种入侵问题及其防治对策[J]. 生物安全学报, 2012, 21(4): 256-261.
- HU Y C, SONG H M, MOU X D, et al. Invasion of exotic species and their control measures taken in China [J]. Journal of Biosafety, 2012, 21(4): 256-261.
- [54] 凌岚馨, 范共, 胡云, 等. 环境DNA技术与传统捕捞揭示崇明岛内河鱼类多样性[J]. 上海海洋大学学报, 2022, 31(6): 1434-1444.
- LING L X, FAN G, HU Y, et al. Integrating environmental DNA technology and traditional fish survey to reveal the diversity of fishes in the rivers on the Chongming Island [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2022, 31(6): 1434-1444.

- [55] 方康. 重要外来养殖鱼类生物入侵风险评估[D]. 荆州: 长江大学, 2023.
FANG K. Risk assessment of biological invasions of important alien cultured fishes [D]. Jingzhou: Yangtze University, 2023.
- [56] 田盼盼, 邓华堂, 王导群, 等. 长江中上游(含洞庭湖)外来鱼类入侵风险评估[J]. 水产学报, 2025, 49(6): 069310.
TIAN P P, DENG H T, WANG D Q, et al. Risk assessment of invasive fish species in the middle and upper reaches of the Yangtze River (including Dongting Lake) [J]. Journal of Fisheries of China, 2025, 49(6): 069310.
- [57] LEIDENBERGER S, WIESE V, SCHAUMANN F, et al. Freshwater mollusc community screening - Classical and eDNA monitoring methods to detect rare, indicator and invasive species [J]. Science of the Total Environment, 2025, 958: 177763.
- [58] ZHANG Y Q, LI J, LI Y F, et al. Trophic niche variation and overlap between invasive mrigal carp and native mud carp in southern China [J]. Biological Invasions, 2024, 26(5): 1521-1534.
- [59] 韦慧, 张铭斯, 韦波, 等. 云斑尖塘鳢在水产养殖中的风险评估及适生区分析[J]. 生物安全学报(中英文), 2024, 33(1): 68-76.
WEI H, ZHANG M S, WEI B, et al. Risk analysis and potential distribution prediction for non-native fish *Oxyeleotris marmorata* in aquaculture [J]. Journal of Biosafety, 2024, 33(1): 68-76.
- [60] 李奥璞, 范俊韬, 钱锋, 等. 长江流域外来鲟入侵风险评估、适生区预测及影响因素分析[J]. 湖泊科学, 2023, 35(5): 1717-1728.
LI A P, FAN J T, QIAN F, et al. Invasion risk assessment, suitability regions prediction and influencing factors analysis of exotic sturgeon and paddlefish in the Yangtze River Basin [J]. Journal of Lake Sciences, 2023, 35(5): 1717-1728.
- [61] ALI S, MAKANDA T A, UMAIR M, et al. MaxEnt model strategies to studying current and future potential land suitability dynamics of wheat, soybean and rice cultivation under climatic change scenarios in East Asia [J]. PLoS One, 2023, 18(12): e0296182.

Monitoring of alien fish, invasion risk assessment and habitat suitability analysis in Shanghai based on environmental DNA metabarcoding

RAN Jiachen^{1,2}, WU Ana³, GONG Haiyan³, WANG Hui^{1,2}

(1. Engineering Research Center of Environmental DNA and Ecological Water Health Assessment, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Shanghai Universities Key Laboratory of Marine Animal Taxonomy and Evolution, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3. Shanghai Environmental Monitoring Center, Shanghai 200235, China)

Abstract: Located at the mouth of the Yangtze River estuary, Shanghai is one of China's major commercial ports and ornamental fish trade hubs, boasting a well-developed aquaculture industry. Therefore, a systematic investigation into the species, distribution, and invasion risks of alien fish introduced to Shanghai's natural water bodies is warranted. In this study, environmental DNA metabarcoding (eDNA Metabarcoding) was employed to survey alien fish at 82 sampling sites in Shanghai during spring and autumn, detecting a total of seven alien fish species. The identified alien fish was assessed for invasion risk using the Aquatic species invasiveness screening kit (AS-ISK), and their potential habitat suitability was predicted using the Maxent model combined with climate data and distribution records. The results indicated that the mosquitofish (*Gambusia affinis*), largemouth bass (*Micropterus salmoides*), and channel catfish (*Ictalurus punctatus*) exhibited high invasion risks (BRA > 42.5) in the AS-ISK assessment, necessitating prioritized monitoring. In contrast, the paddlefish (*Polyodon spathula*) and mrigal carp (*Cirrhinus mrigala*) initially showed low invasion risks (BRA < 40). However, when accounting for future climate change, the invasion risk of mrigal carp escalated from low to high (BRA + CCA > 47.5). The Maxent model predicted that areas near the lower reaches of the Huangpu River estuary generally had high habitat suitability for the detected alien fish, while mrigal carp showed higher suitability in Dianshan Lake in western Shanghai. Additionally, Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and marble goby (*Oxyeleotris marmorata*) were detected in the survey. However, since both species are intolerant to low temperatures and cannot overwinter in Shanghai, they were excluded from the invasion risk assessment and habitat suitability predictions. Timely identification of the species and distribution of alien fish in natural water bodies is crucial for preventing biological invasions, highlighting the need for focused monitoring of high-risk species and regions with high habitat suitability for alien species. Environmental DNA technology provides a cost-effective and efficient tool for long-term alien fish monitoring.

Key words: alien fish monitoring; AS-ISK invasion risk assessment; Maxent habitat suitability prediction; environmental DNA metabarcoding; Shanghai