

DOI: 10.12264/JFSC2023-0263

基于 DNA 条形码技术的大亚湾春季鱼卵种类组成研究

胡凯^{1,2}, 李敏², 张帅², 蒋佩文², 蔡研聪², 陈作志², 徐姗楠²

1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;
2. 中国水产科学研究院南海水产研究所, 农业农村部外海渔业可持续利用重点实验室, 广州珠江口生态系统野外科学观测研究站, 广东 广州 510300

摘要: 为了解大亚湾海域鱼类早期资源的空间分布和种类组成, 利用 DNA 条形码技术对该区域鱼卵种类和分布进行研究。于 2022 年 4 月在大亚湾的 14 个站点进行了采样调查, 采用线粒体 DNA 的 CO I (cytochrome oxidase subunit I) 片段作为分子标记, 利用 DNA 条形码技术鉴定了大亚湾海域春季的鱼卵种类。结果发现, 大亚湾春季鱼卵种类共 36 种, 隶属于 7 目 16 科 26 属, 其中 31 种鉴定到种, 有 3 种鉴定到属, 2 种鉴定到科。鱼卵的平均密度为 10.12 ind/m³, 密度最大的站点(37.3 ind/m³)为 S7。鱼卵的优势种(优势度 ≥ 0.02)为项斑项鲷(*Nucleophorus nuchalis*)、十棘银鲈(*Gerres decacanthus*)、克氏副叶鲔(*Alepes kleinii*)、岛屿侧带小公鱼(*Stolephorus insularis*)、中颌棱鲷(*Thryssa mystax*)、叶鲱(*Escualosa thoracata*)、黄斑光胸鲷(*Photopectoralis bindus*)。环境因子分析表明, 本研究中环境因子与优势种鱼卵分布无强相关性, 主要是由于优势种鱼卵种类是广温广盐性鱼类, 对海域环境适应性很强。结果显示, 大亚湾海域是多种鱼类的产卵场, 但鱼卵种类仍然以小型化和低值化为主, 应进一步加强对大亚湾渔业资源的保护, 恢复其鱼类优良种质资源场的功能。

关键词: DNA 条形码; 鱼卵; 种类组成; 大亚湾

中图分类号: S931

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2024)04-0416-13

鱼卵是鱼类的早期补充来源, 鱼卵的数量以及鱼卵的物种组成基本上决定了鱼类群落的组成, 其数量变化直接影响渔业资源量的变动^[1]。鱼卵的鉴定及组成分析是鱼类生态和保护的重要工具, 它提供了有关产卵地点、产卵时间和多个物种繁殖强度的宝贵数据^[2]。同时也是研究鱼类资源补充机制和种群数量变动、渔业资源可持续利用的重要基础。

当前, 关于鱼卵的研究主要依赖于传统技术, 传统的鱼卵鉴定方法是基于形态特征, 包括卵的形状和直径、油球的数量、大小和位置、卵周隙的宽度, 以及胚胎的色素沉着等^[3-5]。然而, 依靠形态特征来准确界定鱼卵和仔稚鱼的种类很困

难。因此, 迫切需要一种可靠而有效的方法来对鱼卵进行种类识别。由 Hebert 等^[6]提出的 DNA 条形码技术是一种使用分子标记的识别方法, 能够识别鱼卵和仔鱼, 而不考虑它们的发育阶段或形态^[7]。其中最常用、应用最广的分子标记为线粒体细胞色素 c 氧化酶亚基 I 基因(CO I), 该基因是用于物种鉴定的最常见的线粒体基因。该方法已在国内外广泛运用在鱼卵鉴定领域中, 可以作为一种快速工具来调查研究区域内许多不确定的物种。Costa 等^[8]使用 DNA 条形码来评估赤道西南大西洋地区鱼卵的多样性, 对 112 颗鱼卵进行鉴定分析, 1 颗鱼卵在目级别成功鉴定, 3 颗在科级别成功鉴定, 20 颗在属级别成功鉴定, 7 颗在种

收稿日期: 2023-10-20; 修订日期: 2024-03-14.

基金项目: 广东省重点领域研发计划项目(2020B1111030001); 中国水产科学研究院中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助项目(2023TD05); 广州市基础与应用基础研究项目(202201010639).

作者简介: 胡凯(1998-), 男, 硕士研究生, 研究方向为水生生物学. E-mail: 18645631757@163.com

通信作者: 徐姗楠, 研究员, 博士, 从事海洋生物学研究. E-mail: xushannan@scsfri.ac.cn

级别成功鉴定。Hofmann 等^[4]通过从凯尔特海收集的 500 颗鱼卵分别进行分子鉴定和形态鉴定, 结果表明 DNA 条形码鉴定的鱼卵物种与形态鉴定的一致性为 96.2%, 强调了 DNA 条形码能够有效地鉴定鱼卵。吴娜等^[9]以南海永暑礁潟湖鱼卵为研究对象, 证明了该方法的有效性, 能被广泛应用于该区域的鱼卵分子鉴定工作。卢芷程等^[10]通过对南海美济礁潟湖的鱼卵鉴定, 发现以鲈形目的鱼卵为主, 结果表明美济礁是多种珊瑚礁栖鱼类的产卵场, 同时也是多种深海鱼类和大洋性洄游鱼类[如黄鳍金枪鱼(*Thunnus albacares*)]的产卵场。因此本研究利用 DNA 条形码技术对鱼卵进行分子鉴定分析。

大亚湾湾内生境类型丰富, 包括红树林、岩礁、沙滩、泥滩和珊瑚群落^[11], 鱼类生物多样性高, 被誉为南海北部“鱼类的摇篮”和“种质资源库”, 于 1983 年由广东省人民政府批准成立为大亚湾水产资源省级自然保护区^[12]。自 20 世纪 80 年代以来, 由于沿岸经济社会快速发展和人类活动的加剧, 大亚湾地区的生态环境发生了显著的变化。湾内水域的重金属污染物如 Zn、Pb、Hg 等对水质和生态造成了潜在的危害^[13], 大型土建工程建设加大了生活污水和工业废水的排放^[14], 网箱养殖也造成了水体的有机污染进而发生富营养化^[14]。长期监测显示, 近 30 年来, 大亚湾浮游动物群落正经历着巨大的变化, 浮游动物物种丰富度下降, 并呈现出小型化趋势^[11]。鱼类群落组成出现了结构性变化, 目前大亚湾海域记录鱼类种类 131 种^[15], 鱼类群落组成由以往的带鱼(*Trichiurus lepturus*)、银鲳(*Stromateoides argenteus*)、真鲷(*Pagrus major*)等高经济价值鱼类转为了以小沙丁鱼类、小公鱼类、二长棘鲷(*Paerargyrops edita*)、短吻鲷(*Leiognathus brevirostris*)等低经济价值鱼类^[15-16]。研究大亚湾地区鱼卵的数量变化以及群落组成不仅有助于提高产卵场保护水平, 还有利于掌握该地区的渔业资源组成及变动, 并为海洋生态监测、涉渔工程环境影响评估、渔业损害赔偿等提供基础信息。

以往的大亚湾资源调查显示, 传统形态学鉴定出的鱼卵种类主要为鲹科^[12]、小沙丁鱼类^[17]、

鰺科^[18]、鰹属^[19], 呈现出大型经济鱼类衰退, 小型集群性鱼类占主导的趋势。鉴于大亚湾地区现有的渔业资源现状, 笔者需要从渔业管理和鱼类生物多样性保护的角度记录目前鱼类物种的鱼卵状况。本研究于 2022 年春季在大亚湾设置 14 个站点进行渔业调查, 结合历史研究资料, 基于 DNA 条形码技术对大亚湾地区春季的鱼卵种类组成和数量分布等进行探讨, 并初步研究鱼卵组成与环境因子的关系, 为大亚湾地区的渔业资源管理和保护以及资源可持续发展提供有力的科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究区域

大亚湾是南海北部沿海的一个半封闭式亚热带海湾, 面积约 600 km², 平均深度约 10 m。本研究于春季(4 月)对大亚湾海域同时进行了鱼卵样品的收集和成鱼底拖网采样, 共设 14 个站点, 站位分布如图 1 所示。

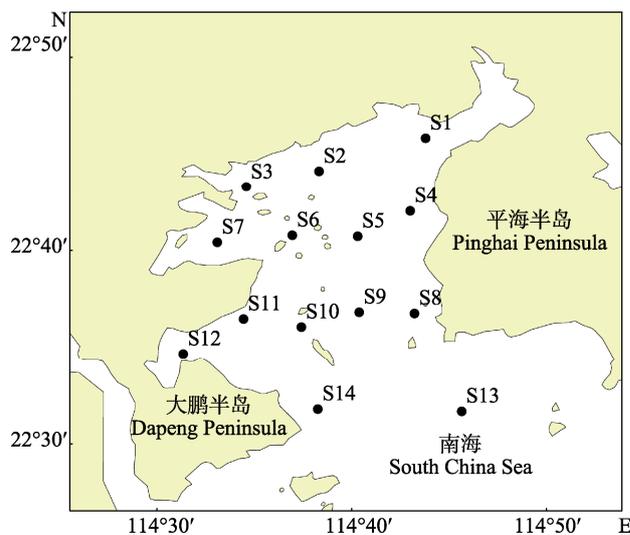


图 1 大亚湾春季(4 月)调查站位图

Fig. 1 Survey station map of the Daya Bay in spring (April)

1.2 样品的采集与处理

鱼卵样品采集依照《海洋调查规范》(GB 12763.6—2007)进行, 使用浅水 I 型浮游生物网(网口内直径 50 cm, 网口面积 0.2 m²)进行水平拖网作业 10 min, 拖速约为 1.5 kn。用通用海洋流量

计(Hydro-Bios-438115, 德国)计算滤水量, 将采集到的样品用浓度为 75%乙醇-海水溶液中保存。运回实验室后对鱼卵进行分类鉴定并计数。

单拖网网具的上纲长度为 36 m, 网口口目为 5 cm, 囊网网目为 3 cm, 网衣全长 50 m, 拖网时间 1 h。底拖网捕获的渔获物经过初步分类后, 在船舱内冷冻保存, 航次结束后以冷藏方式运回实验室, 并在 -20 °C 的环境下保存。鱼类物种鉴定根据形态学特征进行鉴定, 鉴定标准参照《中国海洋及河口鱼类系统检索》。

温度、盐度、pH、溶解氧等环境因子用多参数水质分析仪(YSI-professional plus)进行现场测定, 水体透明度用透明度计测量。

1.3 DNA 提取与目的片段扩增

挑取单个鱼卵, 用 TE 缓冲液对鱼卵进行洗脱, 单个站位鱼卵数量小于 50 全部提取 DNA, 大于 50 则随机挑取 50 颗以上的鱼卵, 以确保最终获得 50 条左右能使用的 DNA 序列。使用海洋动物组织基因组 DNA 提取试剂盒(天根, 中国)提取鱼卵 DNA, 未使用的 DNA 提取液放入 -20 °C 冰箱中冷冻。根据 Ward 等^[20]设计的引物对目标 COI 基因序列进行扩增, 引物序列为 Fish-F1: 5'-TC-AACCAACCACAAAGACATTGGCAC-3'和 Fish-R1: 5'-TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA-3'。使用艾科瑞生物 2X Pro Taq Master Mix (dye plus) 试剂盒, 扩增总体积 25 μL, 分别为 Mix 预混液 12.5 μL, 正反向引物各 0.5 μL, DNA 模板 1 μL, 灭菌超纯水 10.5 μL。PCR 扩增反应程序为: 94 °C 预变性 30 s; 98 °C 变性 10 s, 50 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 55 s, 10 个循环; 98 °C 变性 10 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 50 s, 10 个循环; 98 °C 变性 10 s, 60 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 50 s, 15 个循环; 最后 72 °C 延伸 5 min。得到的 PCR 产物送到北京六合华大基因科技有限公司进行双向测序。

1.4 数据分析

将所得到的 COI 序列通过 SeqMan 软件进行人工校对和拼接^[21]。使用 MEGA 11 对序列进行比对和手动编辑。整理好的序列通过生命条形码数据系统(Barcode of Life Data, BOLD)、GenBank 数据库进行比对, 当 COI 序列与最佳序列匹配 ≥

99% 的相似性时则认为是同种, 序列相似度在 92%~99% 时认定为属, 85%~92% 鉴定为同一科^[22], 物种的有效学名以 Fishbase 数据库(www.fishbase.us)为准。

1.5 数据处理方法

1.5.1 物种丰度和优势度计算 鱼卵丰度(G)优势度(Y)计算公式为:

$$G=N/(S*L*C) \quad (1)$$

式(1)中, G 表示单位体积海水中的鱼卵个数(ind/m³); N 为全网鱼卵个体数(粒); S 为网口面积(m²); L 为流量计转数; C 为流量计校正值($C=0.3$)。

优势度(Y)计算公式为:

$$Y=(n_i/N):f_i \quad (2)$$

式(2)中, n_i 为第 i 种鱼的鱼卵数量, N 为所有种类

的鱼卵总数量, f_i 表示第 i 个种类的出现频率。
1.5.2 环境影响因子分析 利用 Canoco 5.0 对春季鱼卵物种与环境因子数据进行相关性分析, 首先对物种数据进行消除趋势对应分析(DCA), 根据每个轴的梯度长度(LGA)选择适宜的排序方法。当 LGA < 3 时, 选择冗余分析(RDA); 当 LGA > 4 时, 则可运用典范对应分析(CCA); 当 3 < LGA < 4 时, 两者皆可。根据 DCA 分析结果, 本研究采用线性模型的 RDA 分析。

2 结果与分析

2.1 鱼卵种类组成及优势种

春季航次调查结果显示, 所有站点共获得鱼卵 21847 粒。本研究最终获得鱼卵 DNA COI 序列共 675 条, 序列长度为 652 bp, 通过与数据库进行对比共鉴定出 36 种鱼类, 隶属于 7 目 16 科 26 属, 其中 3 种鉴定到属, 2 种鉴定到科, 分别是马鲛属未定种(*Equulites* sp.)、光胸鲷属未定种(*Photopectoralis* sp.)、毒鲷属未定种(*Synanceia* sp.)、鲷科未定种(Leiognathidae)、鲷科未定种(Platycephalidae)(表 1)。

在所选取的样品实验结果中, 鲈形目(Perciformes)的鱼卵种类、数量占比最多, 种类数达到 16 种, 个体数量占比 71.8%; 其次是鲱形目(Clupeiformes)鱼卵种类有 11 种, 个体数量占比 26.0%; 其余则是鳎形目(Blenniiformes)、鲷形目

(Scorpaeniformes)、鲷形目(Mugiliformes)、鲾形目(Pleuronectiformes)、银汉鱼目(Atheriniformes)的种类(见表 1)。

根据优势度($Y \geq 0.02$)时认定为优势种,在本次调查海域内共有 7 个优势种,分别为项斑项鲷(*Nuchequula nuchalis*)、黄斑光胸鲷(*Photopectoralis bindus*)、十棘银鲈(*Gerres decacanthus*)、克氏副叶鲔(*Alepes kleinii*)、岛屿侧带小公鱼(*Stolephorus insularis*)、中颌棱鳀(*Thryssa mystax*)、叶

鲷(*Escualosa thoracata*), 优势度最高的为黄斑光胸鲷(表 1)。在所有站点的物种组成中,项斑项鲷在每个站点均有发现,其中 S11 站点的鱼卵物种数最多,达到 17 种,其属、科的比例也均最高;其次是 S14 站点,种类达到 14 种,而 S13 站点种类数最少,只有 5 种。同时,每个站点的物种组成中都主要以优势种项斑项鲷、黄斑光胸鲷、十棘银鲈、克氏副叶鲔、岛屿侧带小公鱼、中颌棱鳀的数量占比最多。

表 1 2022 年大亚湾春季(4 月)鱼卵种类组成

Tab. 1 Species composition of fish eggs in spring (April) of the Daya Bay in 2022

目 order	科 family	属 genus	种 species	鱼卵丰度/粒 fish egg abundance	优势度 dominance	
鲈形目 Perciformes	鲷科 Leiognathidae	项鲷属 <i>Nuchequula</i>	项斑项鲷 <i>Nuchequula nuchalis</i>	3210	0.1671	
		鲷属 <i>Leiognathus</i>	鹿斑鲷 <i>Leiognathus ruconius</i>	86	0.0006	
		光胸鲷属 <i>Photopectoralis</i>	光胸鲷属未定种 <i>Photopectoralis</i> sp.	14	0.0001	
				黄斑光胸鲷 <i>Photopectoralis bindus</i>	5070	0.2262
				鲷科未定种 Leiognathidae sp.	27	0.0002
		马鲷属 <i>Equulites</i>	马鲷属未定种 <i>Equulites</i> sp.	188	0.0028	
		银鲈科 Gerreidae	银鲈属 <i>Gerres</i>	红尾银鲈 <i>Gerres erythrourus</i>	87	0.0006
				十棘银鲈 <i>Gerres decacanthus</i>	2311	0.0859
		鲹科 Carangidae	副叶鲹属 <i>Alepes</i>	克氏副叶鲹 <i>Alepes kleinii</i>	1797	0.0668
		双边鱼科 Ambassidae	双边鱼属 <i>Ambassis</i>	裸头双边鱼 <i>Ambassis gymnocephalus</i>	468	0.0017
				杜氏双边鱼 <i>Ambassis dussumieri</i>	63	0.0002
		鱧科 Sillaginidae	鱧属 <i>Sillago</i>	多鳞鱧 <i>Sillago sihama</i>	685	0.0178
				杂色鱧 <i>Sillago aeolus</i>	38	0.0003
	单鳍鱼科 Pempheridae	单鳍鱼属 <i>Pempheris</i>	银腹单鳍鱼 <i>Pempheris schwenkii</i>	54	0.0008	
	隆头鱼科 Labridae	海猪鱼属 <i>Halichoeres</i>	云斑海猪鱼 <i>Halichoeres nigrescens</i>	68	0.0005	

(待续 to be continued)

(续表 1 Tab. 1 continued)

目 order	科 family	属 genus	种 species	鱼卵丰度/粒 fish egg abundance	优势度 dominance
	银鳞鲷科 Monodactylidae	银鳞鲷属 <i>Monodactylus</i>	银大眼鲷 <i>Monodactylus argenteus</i>	41	0.0005
鲱形目 Clupeiformes	鳀科 Engraulidae	侧带小公鱼属 <i>Stolephorus</i>	岛屿侧带小公鱼 <i>Stolephorus insularis</i>	1591	0.0473
		棱鳀属 <i>Thryssa</i>	中颌棱鳀 <i>Thryssa mystax</i>	811	0.0332
			汉氏棱鳀 <i>Thryssa hamiltonii</i>	43	0.0005
			长颌棱鳀 <i>Thryssa setirostris</i>	14	0.0001
		半棱鳀属 <i>Encrasicholina</i>	尖吻半棱鳀 <i>Encrasicholina heteroloba</i>	552	0.0062
			银灰半棱鳀 <i>Encrasicholina punctifer</i>	18	0.0001
	鲱科 Clupeidae	叶鲱属 <i>Escualosa</i>	叶鲱 <i>Escualosa thoracata</i>	1099	0.0245
		海鲮属 <i>Nematalosa</i>	日本海鲮 <i>Nematalosa japonica</i>	242	0.0058
			圆吻海鲮 <i>Nematalosa nasus</i>	216	0.0016
		花点鲷属 <i>Hilsa</i>	花点鲷 <i>Hilsa kelee</i>	129	0.0014
		小沙丁鱼属 <i>Sardinella</i>	黑尾小沙丁鱼 <i>Sardinella melanura</i>	18	0.0001
鲷形目 Scorpaeniformes	鲷科 Platycephalidae	瞳鲷属 <i>Inegocia</i>	日本瞳鲷 <i>Inegocia japonica</i>	41	0.0003
		牛尾鱼属 <i>Platycephalus</i>	鲷 <i>Platycephalus indicus</i>	131	0.0010
			鲷科未定种 Platycephalidae sp.	13	0.0000
	毒鲷科 Synanceiidae	毒鲷属 <i>Synanceia</i>	毒鲷属未定种 <i>Synanceia</i> sp.	18	0.0001
鲷形目 Mugiliformes	鲷科 Mugilidae	粒唇鲷属 <i>Crenimugil</i>	粒唇鲷 <i>Crenimugil crenilabis</i>	10	0.0000
		鲷属 <i>Planiliza</i>	绿背龟鲷 <i>Planiliza subviridis</i>	1	0.0000
鲷形目 Blenniiformes	鲷科 Blenniidae	肩鳃鲷属 <i>Omobranchus</i>	斑点肩鳃鲷 <i>Omobranchus punctatus</i>	29	0.0001
鲷形目 Pleuronectiformes	鲷科 Soleidae	鲷属 <i>Solea</i>	卵鲷 <i>Solea ovata</i>	18	0.0001
银汉鱼目 Atheriniformes	银汉鱼科 Atherinidae	下银汉鱼属 <i>Hypoatherina</i>	凡氏下银汉鱼 <i>Hypoatherina valenciennei</i>	10	0.0000

2.2 底拖网鱼类物种组成

大亚湾底拖网鱼类鉴定结果显示(见表 2), 物种

数为 47 种, 隶属于 8 目 22 科 39 属, 其中有两种未能鉴定到种, 分别为海鲮属未定种(*Nematalosa* sp.)

表 2 2022 年大亚湾春季(4 月)底拖网渔获种类组成
 Tab. 2 Species composition of bottom trawling in spring (April) of the Daya Bay in 2022

目 order	科 family	属 genus	种 species	鱼的数量 fish number	数量百分比/% number percent		
鲈形目 Perciformes	鱈科 Sillaginidae	鱈属 <i>Sillago</i>	多鳞鱈	3	0.11		
			<i>Sillago sihama</i>				
	银鲈科 Gerreidae	银鲈属 <i>Gerres</i>	红尾银鲈	16	0.57		
			<i>Gerres erythrourus</i>				
			长圆银鲈	1	0.04		
			<i>Gerres oblongus</i>				
	鳎科 Leiognathidae	项鳎属 <i>Nuclequula</i>	项斑项鳎	1778	63.32		
			<i>Nuclequula nuchalis</i>				
			短棘鳎	1	0.04		
			<i>Leiognathus equulus</i>				
			短吻鳎	373	13.28		
			<i>Leiognathus brevirostris</i>				
			细纹鳎	1	0.04		
			<i>Leiognathus berbis</i>				
			仰口鳎属 <i>Secutor</i>	鹿斑仰口鳎	1	0.04	
				<i>Secutor ruconius</i>			
	石首鱼科 Sciaenidae	黄鱼属 <i>Larimichthys</i>	大黄鱼	1	0.04		
			<i>Larimichthys crocea</i>				
			白姑鱼属 <i>Pennahia</i>	斑鳍白姑鱼	12	0.43	
				<i>Pennahia pawak</i>			
			枝鳔石首鱼属 <i>Dendrophysa</i>	勒氏枝鳔石首鱼	7	0.25	
		<i>Dendrophysa russelii</i>					
长鲳科 Centrolophidae	梅童鱼属 <i>Collichthys</i>	棘头梅童鱼	1	0.04			
		<i>Collichthys lucidus</i>					
		刺鲳属 <i>Psenopsis</i>	刺鲳	1	0.04		
			<i>Psenopsis anomala</i>				
		虾虎鱼科 Gobiidae	矛尾虾虎鱼属 <i>Chaeturichthys</i>	矛尾虾虎鱼	54	1.92	
				<i>Chaeturichthys stigmatias</i>			
				细棘虾虎鱼属 <i>Acentrogobius</i>	绿斑细棘虾虎鱼	66	2.35
					<i>Acentrogobius chlorosigmatoides</i>		
				丝虾虎属 <i>Myersina</i>	长丝梨突虾虎鱼	8	0.28
			<i>Myersina filifer</i>				
	沟虾虎鱼属 <i>Oxyurichthys</i>	小鳞沟虾虎鱼	1	0.04			
		<i>Oxyurichthys microlepis</i>					
		虾虎鱼科未定种 Gobiidae sp.	3	0.11			
		孔虾虎鱼属 <i>Trypauchen</i>	孔虾虎鱼	1	0.04		
		<i>Trypauchen vagina</i>					
鲆科 Carangidae	竹筴鱼属 <i>Trachurus</i>	日本竹筴鱼	205	7.30			
		<i>Trachurus japonicus</i>					
	副叶鲆属 <i>Alepes</i>	丽叶鲆	1	0.04			
		<i>Alepes djedaba</i>					

(待续 to be continued)

(续表 2 Tab. 2 continued)

目 order	科 family	属 genus	种 species	鱼的数量 fish number	数量百分比/% number percent	
鲈形目 Perciformes	鲮科 Callionymidae	美尾鲮属 <i>Calliurichthys</i>	日本美尾鲮 <i>Calliurichthys japonicus</i>	25	0.89	
		二长棘鲷属 <i>Parargyrops</i>	二长棘鲷 <i>Parargyrops edita</i>	12	0.43	
	鲷科 Sparidae	棘鲷属 <i>Acanthopagrus</i>	黑棘鲷 <i>Acanthopagrus schlegelii</i>	3	0.11	
		犁齿鲷属 <i>Evynnis</i>	二长棘犁齿鲷 <i>Evynnis cardinalis</i>	21	0.75	
		棘鲷属 <i>Acanthopagrus</i>	黄鳍棘鲷 <i>Acanthopagrus latus</i>	4	0.14	
		鲷科 Stromateidae	鲷属 <i>Pampus</i>	银鲷 <i>Pampus argenteus</i>	1	0.04
	双边鱼科 Ambassidae	双边鱼属 <i>Ambassis</i>	裸头双边鱼 <i>Ambassis gymnocephalus</i>	1	0.04	
	臭肚鱼科 Siganidae	篮子鱼属 <i>Siganus</i>	长鳍篮子鱼 <i>Siganus canaliculatus</i>	2	0.07	
	马鲛科 Polynemidae	多指马鲛属 <i>Polydactylus</i>	六指马鲛 <i>Polydactylus sextarius</i>	1	0.04	
	鲱形目 Clupeiformes	鳀科 Engraulidae	棱鳀属 <i>Thryssa</i>	汉氏棱鳀 <i>Thryssa hamiltonii</i>	1	0.04
杜氏棱鳀 <i>Thryssa dussumieri</i>				1	0.04	
赤鼻棱鳀 <i>Thryssa kammalensis</i>				1	0.04	
		鲚属 <i>Coilia</i>	凤鲚 <i>Coilia mystus</i>	1	0.04	
		侧带小公鱼属 <i>Stolephorus</i>	中华侧带小公鱼 <i>Stolephorus chinensis</i>	1	0.04	
鲱科 Clupeidae		海鲮属 <i>Nematalosa</i>	海鲮属未定种 <i>Nematalosa</i> sp.	16	0.57	
			圆吻海鲮 <i>Nematalosa nasus</i>	59	2.10	
			小沙丁鱼属 <i>Sardinella</i>	黄泽小沙丁鱼 <i>Sardinella lemuru</i>	1	0.04
			鲮属 <i>Clupanodon</i>	花鲮 <i>Clupanodon thrissa</i>	1	0.04
鲾形目 Pleuronectiformes		牙鲆科 Paralichthyidae	牙鲆属 <i>Paralichthys</i>	牙鲆 <i>Paralichthys olivaceus</i>	1	0.04
	鲷科 Soleidae	鲷属 <i>Solea</i>	卵鲷 <i>Solea ovata</i>	1	0.04	
仙女鱼目 Aulopiformes	狗母鱼科 Synodontidae	蛇鲻属 <i>Saurida</i>	多齿蛇鲻 <i>Saurida tumbil</i>	9	0.32	
			花斑蛇鲻 <i>Saurida undosquamis</i>	6	0.21	

(待续 to be continued)

(续表 2 Tab. 2 continued)

目 order	科 family	属 genus	种 species	鱼的数量 fish number	数量百分比/% number percent
鲈形目 Scorpaeniformes	鲂鲋科 Triglidae	红娘鱼属 <i>Lepidotrigla</i>	日本红娘鱼 <i>Lepidotrigla japonica</i>	8	0.28
鲈形目 Tetraodontiformes	鲈科 Tetraodontidae	兔头鲈属 <i>Lagocephalus</i>	棕斑兔头鲈 <i>Lagocephalus spadiceus</i>	6	0.21
鲈形目 Mugiliformes	鲈科 Mugilidae	骨鲈属 <i>Osteomugil</i>	前鳞骨鲈 <i>Osteomugil ophuyseni</i>	2	0.07
鲈形目 Siluriformes	鳗鲡科 Plotosidae	鳗鲡属 <i>Plotosus</i>	线纹鳗鲡 <i>Plotosus lineatus</i>	86	3.06

和虾虎鱼科未定种(Gobiidae sp.)。

2.3 鱼卵分布特征

春季航次共获得鱼卵 21847 粒, 该区域总体平均密度为 10.12 ind/m³, 其中 S7 站点的鱼卵密度最大, 为 37.3 ind/m³; 除 S8、S10、S13 (密度分别为 1.21 ind/m³, 0.81 ind/m³, 0.07 ind/m³) 站点外, 其余站点密度整体较高。以 14 个站点的物种种类构建的相对丰度热图显示(图 2), 春季 14 个站点

中相对丰度最高的为黄斑光胸鲷(S7 站点), 其次为十棘银鲈(S3 站点)和项斑项鲷(S5 站点), 绝大多数鱼卵种类站位分布较单一。

2.4 优势种与环境因子关系

根据优势种 RDA 排序结果显示(图 3), 总变量为 4.15149, 解释变量占总变量的 71.2% (校正变量为 6.5%)。轴一和轴二共解释了鱼卵群落变量的 49.72%, 解释了鱼卵与环境因子之间关系的

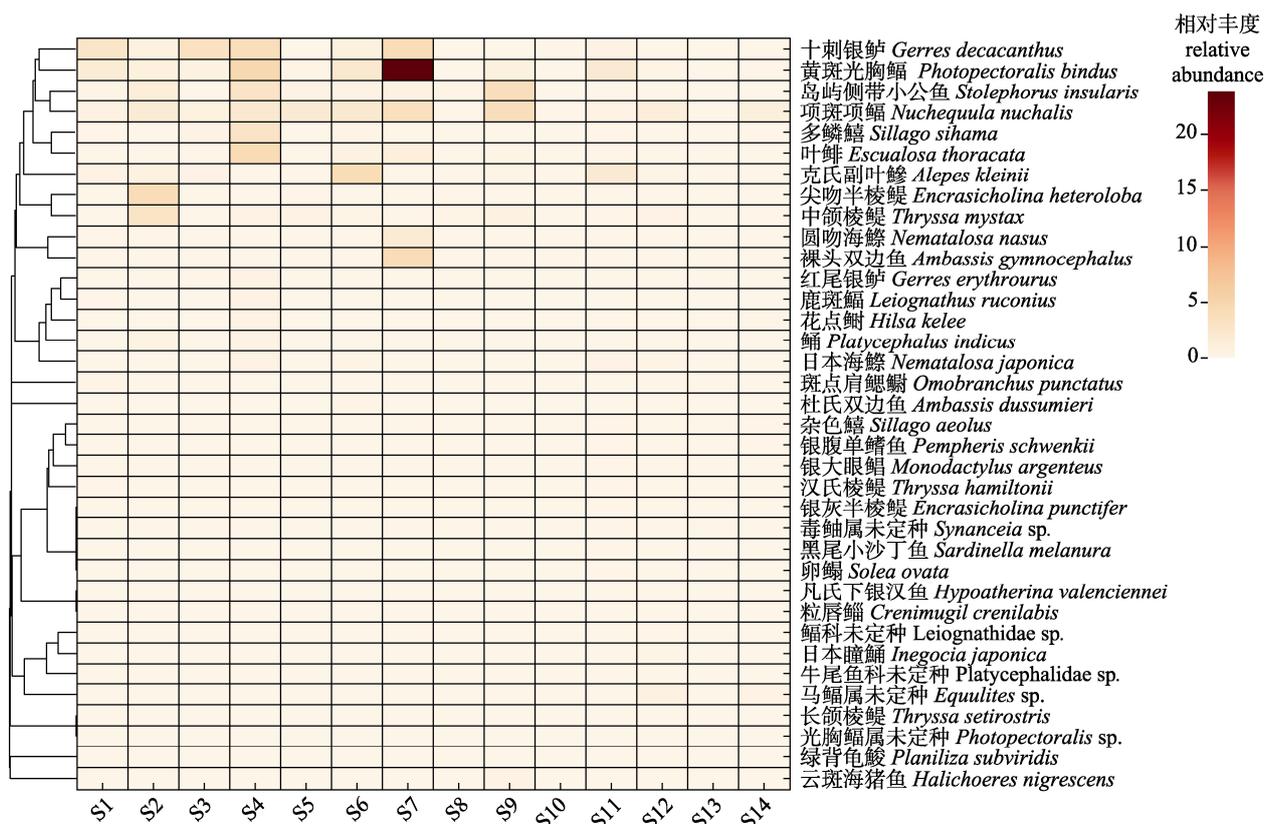


图 2 2022 年春季(4 月)大亚湾鱼卵相对丰度热图

Fig. 2 Heat map of relative abundance of fish eggs in the Daya Bay in spring (April) of 2022

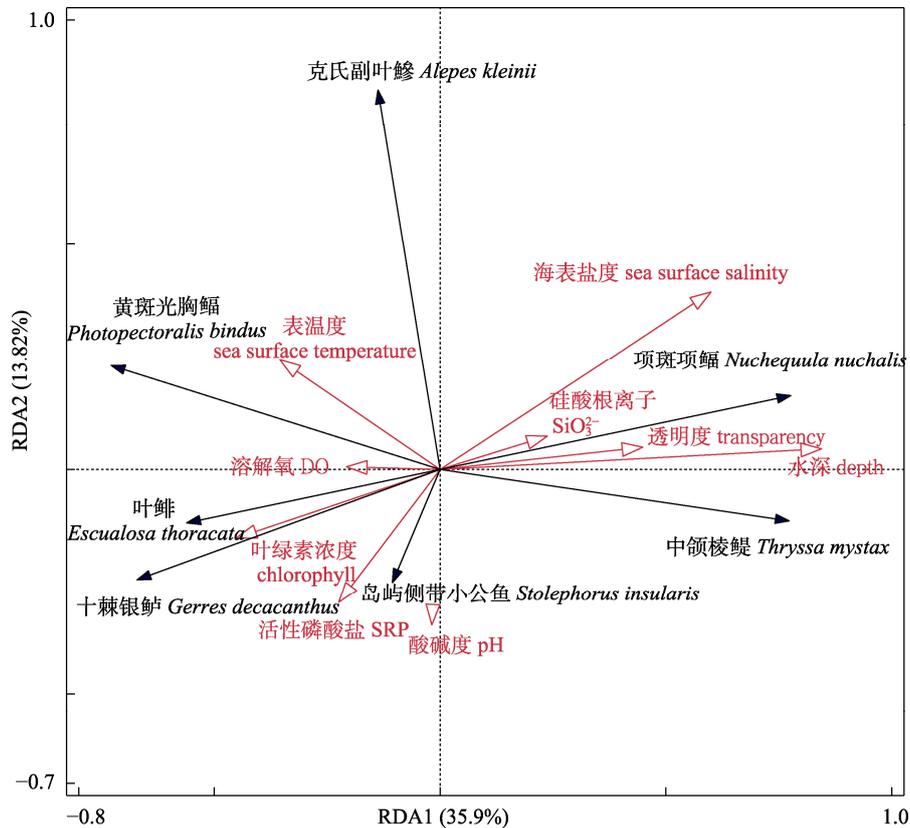


图 3 大亚湾海域鱼卵优势种与环境因子之间 RDA 排序

Fig. 3 RDA ranking between dominant species of fish eggs and environmental factors in the Daya Bay

69.79%，能够较好地解释两者之间的相关性。RDA 结果显示，无环境因子与鱼卵群落有显著相关性。项斑项鲷与海水表面盐度和水深呈现较大的正相关性，与溶解氧等呈负相关性；黄斑光胸鲷与海水表面温度存在正相关性，与水深、透明度、海水表面盐度等呈较大的负相关；岛屿侧带小公鱼丰度与 pH 和 SRP 呈较大正相关(图 3)。

3 讨论

3.1 种类组成

本次研究中鉴定出的鱼卵种类隶属于 7 目 16 科 26 属，其中鲷科与鲷科种类数占比 16.6%，鲱科占比 13.8%，双边鱼科、银鲈科、鲷科、鲷科各占比 5.5%，鲷科、鲷科、单鳍鱼科、隆头鱼科、沙鲛科、银鳞鲷科、鲷科、毒鲷科、鲷科、鲷科、银汉鱼科各占比 2.7%。在 2003—2004 年^[18]的调查中，鱼卵种类为鲷科、褐菖鲉、鲱科、鲷科、鲷科，种类个体数占比分别为 74.4%、7.0%、4.8%、3.0%、1.7%；2004—2005 年^[18]间鱼卵种类

为鲷科、鲱科、鲷科、褐菖鲉、舌鲷科、鲷科，种类个体数占比分别为 50.3%、23.8%、6.3%、3.4%、3.1%、2.9%。本研究与 2003—2005 年数据相比，鲷科、鲷科和鲱科仍然占主要种类数，但是在本次调查中所占比例大幅下降，且出现了较多以科为单位分类下的鱼卵。王九江等^[19]对 2015 年大亚湾 4 个季度的鱼卵、仔稚鱼鉴定分析，得出鱼卵种类有 19 种，隶属于 6 目 16 科 18 属，相对于本研究春季航次鱼卵种类数较少，这可能是由于该研究中立位的分布主要集中在大亚湾中央大列岛附近，而本研究的站点比较均匀地分布在大亚湾海域，因此捕获到的鱼卵物种数会更多一些。

随着经济的发展和人类活动影响的加大，大亚湾地区的鱼类物种多样性有逐渐降低的趋势。1985 年的鱼类资源调查中以乌鲷(*Parastromateus niger*)、银鲷(*Pampus argenteus*)、克氏副叶鲷(*Alepes kleinii*)、带鱼(*Trichiurus lepturus*)等大型经济鱼类为主^[12]，在本次鱼卵多样性调查中，仍然以项斑项鲷、黄斑光胸鲷、十棘银鲈等小型低值

鱼类为主, 以往高价值的经济鱼类鱼卵却没有发现, 显然大亚湾鱼类优势种已经发生了极大的变化, 这与大亚湾海域渔业资源结构正在向个体小、经济价值低的小型鱼类类群演替的变化趋势相吻合^[15], 这也在一定程度上反应了鱼类对海洋环境的适应性响应。

3.2 与底拖网渔获鱼类种类比较

鱼卵种类与底拖网渔获种类的共有种有 7 种 (图 4), 分别为项斑项鲷、多鳞鱧(*Sillago sihama*)、圆吻海鲷(*Nematalosa nasus*)、汉氏棱鲷(*Thryssa hamiltonii*)、卵鳎(*Solea ovata*)、裸头双边鱼(*Ambassis gymnocephalus*)、红尾银鲈(*Gerres erythrourus*)。春季底拖网鱼类数量最多的为项斑项鲷(占比 63.32%), 其次为短吻鲷(占比 13.28%)和日本竹荚鱼(*Trachurus japonicus*)(占比 7.30%)。由此可见, 无论是鱼卵种类还是底拖网鱼类物种仍然以小型低值化鱼类为主。另外, 底拖网中发现有大黄鱼(*Larimichthys crocea*)、六指马鲛(*Polydactylus sextarius*)等高经济价值鱼类。

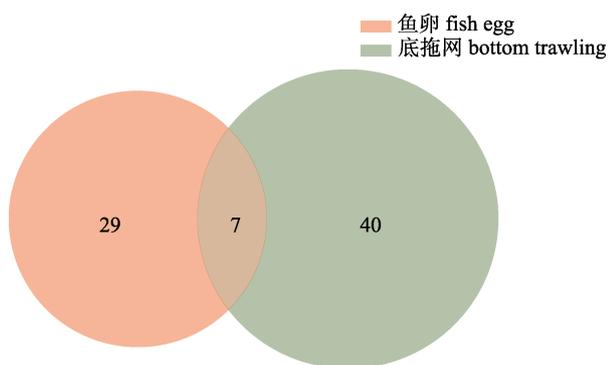


图 4 大亚湾鱼卵与底拖网鱼类种类数韦恩图

Fig. 4 Venn diagram of fish species number between eggs and bottom trawl in the Daya Bay

本研究春季鱼卵和底拖网鱼类的共有种相对较少, 这可能因为鱼卵是鱼类的繁殖产物, 它们随着水流漂移, 从而更容易在水体中扩散分布; 而底拖网则更容易捕获到生活在该区域的底层鱼类。因此, 鱼卵和底拖网样品中得到的鱼类种类存在一些差异也可能是因为不同鱼类的繁殖习性和生态习性不同所导致的。不同鱼类的生活史可以导致它们在不同的季节和时间选择不同的栖息

地或繁殖地, 某些鱼类可能在特定的季节和时间段进行繁殖, 而其他鱼类则可能选择不同的繁殖地点或时间。其次, 有些鱼类会根据不同环境因素来选择适合自己产卵的场所, 例如季节、水流速度、水温等。它们在产卵完毕后便离开了这个地方, 这也就导致了在特定时间和地点采集到的鱼卵或底拖网样品中, 只包含了少量的鱼类共有种。本研究通过 DNA 条形码鉴定的鱼卵种类与林昭进等^[18]的鱼卵种类基本相同, 均以鲷科、小沙丁鱼类、小公鱼类为大亚湾的优势种。这表明 DNA 条形码技术是传统形态学强有力的补充^[23], 该方法能够发现底拖网捕获不到的鱼类物种。

3.3 鱼卵与环境因子关系

鱼类对环境很敏感, 对于环境的变化有着对应的响应机制, 其群落结构以及物种分布受到环境因子的影响极大, 有研究表明与生物因素相比, 鱼类物种分布更容易受到环境因素的影响^[24-25], 而鱼卵作为早期渔业资源, 生长环境对其影响更大, 无论是生长发育、代谢还是数量分布都与环境密不可分^[26]。鱼卵的分布与水深有一定关系, 水深又与多种环境条件相关联, 如水温、盐度、营养盐等^[27], 这些条件是直接影响鱼卵分布的原因, 而且本研究鱼卵优势种种类为广温广盐性鱼类, 对水温、盐度有很大的适应范围, 因此说明它们具有较强的环境适应性。水温是影响鱼类分布很重要的一个因素, 根据李禾等^[28]的研究, 鱼卵的孵化时间与积温呈正相关, 王九江等^[19]调查中大亚湾鱼卵的孵化在 21~27 °C 时与温度呈显著负相关性。本研究中黄斑光胸鲷与克氏副叶鲷的分布与表层温度呈正相关, 春季各站点的温度范围在 23~26 °C 之间, 平均水温为 24.55 °C, 在鱼类适当的温度范围内, 温度的增长有利于缩短鱼卵的孵化时间以及提高浮游动植物等饵料生物的生长繁殖, 从而丰富食物增加鱼类存活率。表层盐度和水深与项斑项鲷的分布呈正相关, 对其有一定的影响, 本研究中项斑项鲷主要分布在大亚湾南部, 盐度和水深都比北部高, 更适合其生长。水体悬浮物的多少影响水体的透明度, 悬浮物过多不仅对水体的生态系统造成破坏还会影

响幼体的摄食、生长等活动^[29],甚至造成死亡,大亚湾水体的透明度较低,在一定程度上会影响鱼卵的孵化。整体来看,大亚湾水域北部的物种多样性和丰度都要高于南部,这也可能说明大亚湾北部饵料丰富,利于鱼类的生长繁殖。

本研究采用 DNA 条形码技术对鱼卵进行鉴定,有效地规避了形态学方法鉴定所带来的问题。这种技术不仅提高了鉴定效率,还为了解大亚湾水产资源状况提供了一种更为简便和可靠的方法。在以后的研究中,还需要提高 DNA 提取的成功率以及 DNA 条形码数据库的完整性和准确性,以便更全面地评估大亚湾鱼卵的物种多样性。

参考文献:

- [1] Wan R J, Sun S. The category composition and abundance of ichthyoplankton in the ecosystem of the Yellow Sea and the East China Sea[J]. *Acta Zoologica Sinica*, 2006, 52(1): 28-44. [万瑞景, 孙珊. 黄、东海生态系统中鱼卵、仔稚幼鱼种类组成与数量分布[J]. *动物学报*, 2006, 52(1): 28-44.]
- [2] Baumgartner G, Nakatani K, Gomes L, et al. Identification of spawning sites and natural nurseries of fishes in the upper Paran á River, Brazil[J]. *Environmental Biology of Fishes*, 2004, 71(2): 115-125.
- [3] Gao X, Zeng Y, Wang J W, et al. Immediate impacts of the second impoundment on fish communities in the Three Gorges Reservoir[J]. *Environmental Biology of Fishes*, 2010, 87(2): 163-173.
- [4] Hofmann T, Knebelberger T, Kloppmann M, et al. Egg identification of three economical important fish species using DNA barcoding in comparison to a morphological determination[J]. *Journal of Applied Ichthyology*, 2017, 33(5): 925-932.
- [5] Lewis L A, Richardson D E, Zakharov E V, et al. Integrating DNA barcoding of fish eggs into ichthyoplankton monitoring programs[J]. *Fishery Bulletin*, 2016, 114(2): 153-165.
- [6] Hebert P D N, Cywinska A, Ball S L, et al. Biological identifications through DNA barcodes[J]. *Proceedings Biological Sciences*, 2003, 270(1512): 313-321.
- [7] Hubert N, Espiau B, Meyer C, et al. Identifying the ichthyoplankton of a coral reef using DNA barcodes[J]. *Molecular Ecology Resources*, 2015, 15(1): 57-67.
- [8] Costa A C P, Garcia T M, Tavares T C L, et al. DNA barcoding reveals cryptic diversity of fish eggs in Equatorial Southwestern Atlantic[J]. *Regional Studies in Marine Science*, 2023, 65: 103069.
- [9] Wu N, Zhang N, Cao M, et al. The identification analysis of fish eggs from lagoon of Yongshu Reef based on DNA barcoding technology[J]. *Freshwater Fisheries*, 2018, 48(2): 51-57. [吴娜, 张楠, 曹明, 等. 基于 DNA 条形码技术的永暑礁潟湖鱼卵鉴定研究[J]. *淡水渔业*, 2018, 48(2): 51-57.]
- [10] Lu Z C, Li M, Zhang J, et al. Preliminary study on species composition of fish eggs of Meiji Reef Lagoon in South China Sea based on DNA barcoding[J]. *South China Fisheries Science*, 2021, 17(6): 12-21. [卢芷程, 李敏, 张俊, 等. 基于 DNA 条形码的南海美济礁潟湖鱼卵种类鉴定与组成初探[J]. *南方水产科学*, 2021, 17(6): 12-21.]
- [11] Ke Z X, Li R F, Chen D T, et al. Spatial distributions of zooplankton stable isotopes and their trophic positions in a bay under serious anthropogenic influences: the Daya Bay, China[J]. *Ecological Indicators*, 2022, 139: 108950.
- [12] Xu G Z. *Environments and resources of the Daya Bay*[M]. Hefei: Anhui Science and Technology Publishing House, 1989: 245-272. [徐恭昭. *大亚湾环境与资源*[M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1989: 245-272.]
- [13] Xu S N, Li C H, Xu J J, et al. Pollution by heavy metals in the petrochemical sewage waters of the sea area of the Daya Bay and assessment on potential ecological risks[J]. *Environmental Science*, 2014, 35(6): 2075-2084. [徐姗楠, 李纯厚, 徐娇娇, 等. 大亚湾石化排污海域重金属污染及生态风险评估[J]. *环境科学*, 2014, 35(6): 2075-2084.]
- [14] Wang Z D, Lian J S, Hu J X, et al. Characteristics of degraded ecosystem in the Daya Bay China[J]. *Ecological Science*, 2003, 22(4): 313-320. [王肇鼎, 练健生, 胡建兴, 等. 大亚湾生态环境的退化现状与特征[J]. *生态科学*, 2003, 22(4): 313-320.]
- [15] Guo J Z, Chen Z Z, Xu Y W, et al. Tempo-spatial distribution characteristics of fish resources in the Daya Bay[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2018, 48(12): 47-55. [郭建忠, 陈作志, 许友伟, 等. 大亚湾鱼类资源数量的时空分布特征[J]. *中国海洋大学学报(自然科学版)*, 2018, 48(12): 47-55.]
- [16] Wang X H, Du F Y, Qiu Y S, et al. Variations of fish species diversity, faunal assemblage, and abundances in the Daya Bay in 1980-2007[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2010, 21(9): 2403-2410. [王雪辉, 杜飞雁, 邱永松, 等. 1980—2007 年大亚湾鱼类物种多样性、区系特征和数量变化[J]. *应用生态学报*, 2010, 21(9): 2403-2410.]
- [17] Lin Z J, Zhan H G. Effects of thermal effluent on fish eggs and larvae in waters near the Daya Bay nuclear plant[J]. *Tropic Oceanology*, 2000, 19(1): 44-51. [林昭进, 詹海刚. 大亚湾核电站温排水对邻近水域鱼卵、仔鱼的影响[J]. *热带海洋*, 2000, 19(1): 44-51.]

- [18] Lin Z J, Wang X H, Jiang Y E. Distribution and species composition of fish eggs in the Daya Bay[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2010, 17(3): 543-550. [林昭进, 王雪辉, 江艳娥. 大亚湾鱼卵数量分布及种类组成特征[J]. 中国水产科学, 2010, 17(3): 543-550.]
- [19] Wang J J, Liu Y, Xiao Y Y, et al. Population characteristics of fish eggs and larvae and their relationship with environmental factors in the Daya Bay[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2019, 26(1): 14-25. [王九江, 刘永, 肖雅元, 等. 大亚湾鱼卵、仔稚鱼种群特征与环境因子的相关关系[J]. 中国水产科学, 2019, 26(1): 14-25.]
- [20] Ward R D, Zemlak T S, Innes B H, et al. DNA barcoding Australia's fish species[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 2005, 360(1462): 1847-1857.
- [21] Swindell S R, Plasterer T N. SEQMAN: Contig assembly[J]. Methods in Molecular Biology, 1997, 70(6): 75-89.
- [22] Kong X L, Zhang S, Chen Z Z, et al. Species composition and distribution characteristic of fish eggs and larvae based on DNA barcoding technology of the Zhujiang River Estuary in spring[J]. Haiyang Xuebao, 2023, 45(3): 52-65. [孔啸兰, 张帅, 陈作志, 等. 基于 DNA 条形码技术的珠江口春季鱼卵和仔稚鱼种类组成和分布特征的研究[J]. 海洋学报, 2023, 45(3): 52-65.]
- [23] Zhang T L, Li Q Y, Zhang Z M, et al. Application of DNA barcoding in classification and identification of nekton eggs and larvae from the Daya Bay coastal[J]. Forestry and Environmental Science, 2021, 37(5): 11-18. [张涛锂, 李庆勇, 张志敏, 等. DNA 条形码技术在大亚湾游泳动物卵和幼体分类鉴定中的应用[J]. 林业与环境科学, 2021, 37(5): 11-18.]
- [24] de Azevedo M C C, Araújo F G, Pessanha A L M, et al. Co-occurrence of demersal fishes in a tropical bay in southeastern Brazil: A null model analysis[J]. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 2006, 66(1-2): 315-322.
- [25] Hoeinghaus D J, Winemiller K O, Birnbaum J S. Local and regional determinants of stream fish assemblage structure: Inferences based on taxonomic vs. functional groups[J]. Journal of Biogeography, 2007, 34(2): 324-338.
- [26] Miller B S, Kendall A W. Early life history of marine fishes[M]. Berkeley: University of California Press, 2009.
- [27] Qiu Y S. The regional changes of fish community on the northern continental shelf of South China Sea[J]. Journal of Fisheries of China, 1988, 12(4): 303-313. [邱永松. 南海北部大陆架鱼类群落的区域性变化[J]. 水产学报, 1988, 12(4): 303-313.]
- [28] Li H, Yang R B, Peng S J. Preliminary observation on the effect of temperature on the hatching of eggs of *Leiocassis longirostris*[J]. Chinese Journal of Zoology, 1989, 24(4): 2-6. [李禾, 杨若宾, 彭绍君. 温度对长吻鲩鱼卵孵化影响的初步观察[J]. 动物学杂志, 1989, 24(4): 2-6.]
- [29] Zhou Y, Ma S S, Qu K M, et al. Toxic effects of suspended substances (SS) on the embryos and newly-hatched larvae of *Cynoglossus semilaevis* Günther[J]. Progress in Fishery Sciences, 2009, 30(3): 32-37. [周勇, 马绍赛, 曲克明, 等. 悬浮物对半滑舌鲷胚胎和初孵仔鱼的毒性效应[J]. 渔业科学进展, 2009, 30(3): 32-37.]

Species composition of spring fish eggs in the Daya Bay analyzed via DNA barcoding technology

HU Kai^{1,2}, LI Min², ZHANG Shuai², JIANG Peiwen², CAI Yancong², CHEN Zuozhi², XU Shannan²

1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences; Key Laboratory for Sustainable Utilization of Open-Sea Fishery, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; Scientific Observation and Research Station of Pearl River Estuary Ecosystem of Guangdong Province, Guangzhou 510300, China

Abstract: Fish eggs play a crucial role as an initial source for replenishing fish populations, with their quantity and species composition being pivotal for determining the overall fish community structure. Variations in their abundance directly impact fishery resources. Identifying and analyzing the composition of fish eggs are indispensable for understanding fish ecology and conservation efforts, offering insights into spawning locations, timing, and reproductive dynamics across multiple species. Moreover, such analyses provide a foundational understanding for studying fish resource replenishment mechanisms, population dynamics, and sustainable fisheries management. Conventionally, research on fish eggs relies on morphological techniques, which often encounter challenges in accurately identifying egg species. To elucidate the spatial distribution, species composition, and their correlation with environmental factors of early fish resources in the Daya Bay, samples were collected from 14 sites in April 2022. Mitochondrial DNA cytochrome oxidase subunit I (CO I) fragments served as molecular markers for species identification. The findings unveiled 36 species of spring fish eggs in the Daya Bay, spanning 7 orders, 16 families, and 26 genera. Notably, 31 species, 3 genera, and 2 families were identified. The mean fish egg density stood at 10.12 ind/m³, with the highest density recorded at site S7, reaching 37.3 ind/m³. Dominant species (with dominance ≥ 0.02) included *Nuchequula nuchalis*, *Gerres decacanthus*, *Alepes kleinii*, *Stolephorus insularis*, *Thryssa mystax*, *Escualosa thoracata*, and *Photopectoralis bindus*. Environmental factor analysis revealed no significant correlation between environmental variables and the distribution of eggs from dominant species, primarily due to their eurythermal euryhaline nature, exhibiting robust adaptability to marine environments. This study highlights a predominance of small, low-value species, such as *Nuchequula nuchalis*, *Photopectoralis bindus*, and *Gerres decacanthus*, with an absence of eggs from high-value economic fish. Such observations mirror the prevailing trend in Daya Bay's fishery resources, characterized by a shift towards smaller fish groups with reduced individual size and economic worth. This trend reflects the adaptive responses of fish to marine environments. Daya Bay emerges as a crucial spawning ground for diverse fish species, underscoring the imperative to enhance the protection of its fishery resources and restore the functionality of its valuable germplasm resources.

Key words: DNA barcoding; fish egg; species composition; Daya Bay

Corresponding author: XU Shannan. E-mail: xushannan@scsfri.ac.cn