

中国水产科学

Zhongguo Shuichan Kexue

第 28 卷 第 12 期(卷终) 2021 年 12 月

目 次

研究论文

- 中国对虾 4 代人工选育群体与 1 个野生群体遗传多样性分析及差异 SNP 位点筛查
.....盖超伟, 李旭鹏, 曹宝祥, 陈宝龙, 张雅文, 刘绵宇, 栾生, 孔杰, 孟宪红 (1505)
- 草鱼肾中性粒细胞的分离鉴定与活性检测
.....常藕琴, 霍礼霞, 罗满林, 石存斌, 张德峰, 潘厚军, 任燕 (1515)
- 鲮科鱼类 DNA 条形码分类系统 杨龙, 李昂, 李步苏, 王焕, 柳淑芳, 庄志猛 (1523)
- 瓯江口海域鱼类群落结构及优势种 RDA 分析 陈伟峰, 叶深, 秦松, 范青松, 陈少波, 倪勇, 彭欣 (1536)
- 基于线粒体 COI 基因的河南境内四水系日本沼虾种群遗传多样性
.....冯梦霞, 汤永涛, 刘如垚, 闫雪朦, 胡博, 聂国兴, 周传江 (1548)
- 基于标志放流信息的长江口中华鲟降海洄游和分布特征 吴建辉, 陈锦辉, 高春霞 (1559)
- 基于栖息地指数的渤海湾鱼卵环境适应性 张聿琛, 谷德贤, 徐海龙, 薛薇, 于小涵 (1568)
- 不同捕捞策略对海水青鳉不同发育阶段生长的影响 苏程程, 单秀娟, 邵长伟 (1576)
- 基于 MaxEnt 模型和 ArcGIS 预测多肋藻在中国海域的适生分布特征
.....李国梁, 汪文俊, 李宝贤, 姚海芹, 孙昕, 梁洲瑞, 鲁晓萍, 刘福利, 张朋艳 (1588)
- 雅砻江下游及其主要支流安宁河着生藻类多样性与空间分布
.....马宝珊, 魏开金, 徐进, 卢建超, 徐滨, 朱祥云 (1602)
- 异育银鲫寄生洪湖碘泡虫的鱼卵传播途径 杨坤, 翟凯旋, 刁丙文, 陈凯, 谢骏, 潘良坤 (1612)

综述

- 河口水域鱼类生境质量评价方法研究进展 杜楠, 张婷婷, 赵峰, 张涛, 庄平 (1621)

其他

- 《中国水产科学》征稿简则 (1632)
- 《中国水产科学》2021 年第 28 卷总目次 (I)

Journal of Fishery Sciences of China

Vol. 28 No.12 Dec. 2021

Contents

Genetic diversity analysis and SNP loci screening of four generations of <i>Fenneropenaeus chinensis</i> and one wild population GAI Chaowei, LI Xupeng, CAO Baoxiang, CHEN Baolong, ZHANG Yawen, LIU Mianyu, LUAN Sheng, KONG Jie, MENG Xianhong (1514)
Isolation, identification, and activity detection of neutrophils from the grass carp kidneyCHANG Ouqin, HUO Lixia, LUO Manlin, SHI Cunbin, ZHANG Defeng, PAN Houjun, REN Yan (1522)
DNA barcode analysis: species identification and phylogenetic relationships of the Carangidae family..... YANG Long, LI Ang, LI Busu, WANG Huan, LIU Shufang, ZHUANG Zhimeng (1535)
Assessment of fish community structure and redundancy analysis of dominant species in the Oujiang River estuaryCHEN Weifeng, YE Shen, QIN Song, FAN Qingsong, CHEN Shaobo, NI Yong, PENG Xin (1547)
Genetic diversity of <i>Macrobrachium nipponense</i> in Henan Province assessed using mitochondrial COI gene FENG Mengxia, TANG Yongtao, LIU Ruyao, YAN Xuemeng, HU Bo, NIE Guoxing, ZHOU Chuanjiang (1558)
Research on the downstream migration and distribution characteristics of Chinese sturgeon in the Yangtze Estuary based on tagging and releasing information WU Jianhui, CHEN Jinhui, GAO Chunxia (1567)
Environmental adaptability of fish eggs in Bohai Bay assessed using habitat suitability index method.....ZHANG Yuchen, GU Dexian, XU Hailong, XUE Wei, YU Xiaohan (1575)
Growth of <i>Oryzias melastigma</i> with different fishing strategies..... SU Chengcheng, SHAN Xiujuan, SHAO Changwei (1587)
Potential geographic distribution of <i>Costaria costata</i> in China based on the MaxEnt Model and ArcGISLI Guoliang, WANG Wenjun, LI Baoxian, YAO Haiqin, SUN Xin, LIANG Zhourui, LU Xiaoping, LIU Fuli, ZHANG Pengyan (1601)
Diversity and spatial distribution of periphytic algae in the lower reaches of the Yalong River and its main tributary, the Anning River MA Baoshan, WEI Kaijin, XU Jin, LU Jianchao, XU Bin, ZHU Xiangyun (1611)
Transovarial transmission of <i>Myxobolus honghuensis</i> in gibel carp, <i>Carassius auratus gibelio</i> (Bloch).....YANG Kun, ZHAI Kaixuan, XI Bingwen, CHEN Kai, XIE Jun, PAN Liangkun (1620)
Research progress on evaluation methods of fish habitat quality in estuaries..... DU Nan, ZHANG Tingting, ZHAO Feng, ZHANG Tao, ZHUANG Ping (1631)

DOI: 10.12264/JFSC2021-0078

中国对虾 4 代人工选育群体与 1 个野生群体遗传多样性分析及差异 SNP 位点筛查

盖超伟^{1,3}, 李旭鹏^{2,3}, 曹宝祥^{2,3}, 陈宝龙^{2,3}, 张雅文^{2,3}, 刘绵宇³, 栾生^{2,3}, 孔杰^{2,3}, 孟宪红^{2,3}

1. 水产科学国家级实验教学示范中心, 上海海洋大学, 上海 201306;
2. 海洋国家实验室海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室, 山东 青岛 266071;
3. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 农业农村部海洋渔业可持续发展重点实验室, 山东 青岛 266071

摘要: 利用 2b-RAD 技术对中国对虾(*Fenneropenaeus chinensis*) 2015 年、2016 年、2017 年、2019 年 4 代选育群体和野生群体合计 821 尾个体进行简化基因组测序, 分析中国对虾人工选育群体和野生群体遗传多样性特征, 挖掘在持续人工选育过程中受选择的 SNP 位点。测序共得到 83767 个 SNP 位点, F -统计结果显示, 野生群体与选育群体间遗传分化系数(F_{ST})均值为 0.022, 野生群体与 2019 年选育群体之间遗传分化程度最高为 0.0260, 与 2015 年选育群体之间遗传分化程度最低为 0.0190; 野生群体与选育群体之间遗传分化系数(F_{ST})均小于 0.05, 为弱遗传分化。群体主成分分析(PCA)结果显示野生群体与选育群体之间遗传结构未发生明显改变。遗传多样性统计结果表明, 野生群体与选育群体期望杂合度(H_e)均值分别为 0.1716 和 0.1806, 观测杂合度(H_o)均值分别为 0.1861 和 0.1943, 多态性信息含量(PIC)均值分别为 0.1428 和 0.1515, 核苷酸多态性(P_i)均值分别为 0.1732 和 0.1813, 其中 2017 年、2019 年选育群体各遗传多样性指数与野生群体相比均存在显著差异($P < 0.05$)。对不同世代选育群体与野生群体进行选择消除分析, 分别得到 92 个、103 个、166 个、117 个受选择 SNP 位点, 共有位点数目为 4 个。相邻世代选育群体之间等位基因频率逐代上升的共有位点数目为 7107 个, 其中 3674 个位点显著偏离哈迪-温伯格平衡($P < 0.05$); 等位基因频率逐代下降的共有位点数目为 8501 个, 其中 4101 个位点显著偏离哈迪-温伯格平衡($P < 0.05$)。研究结果表明, 中国对虾经过累代人工选育, 依然具有较高的遗传选育潜力, 可以继续作为人工选育材料。

关键词: 中国对虾; 2b-RAD; SNP 标记; 遗传多样性; 人工选择

中图分类号: S961

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2021)12-1505-10

中国对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)是我国重要的海水养殖经济物种之一, 主要分布区域位于我国黄渤海和朝鲜半岛西海岸等海域, 具有适应性强、耐低温、营养价值高等特点^[1]。20 世纪 80—90 年代以来, 中国对虾养殖技术取得重要突破, 养殖产量快速上升。然而 1993 年暴发的白斑综合征使中国对虾养殖产量急剧下降, 严重影响

了中国对虾养殖业发展。为了培育具有生长速度快、抗病能力强的新品种, 重振中国对虾养殖产业, 中国水产科学研究院黄海水产研究所自 1996 年开始实施中国对虾良种选育计划, 已先后培育了多个具有优良性状的对虾新品种^[2-5], 为中国对虾养殖产业可持续发展提供了优质的种质资源。

选择育种是中国对虾遗传改良过程中最常用

收稿日期: 2021-03-05; **修订日期:** 2021-03-25.

基金项目: 国家自然科学基金联合基金项目(U1706203); 国家重点研发计划项目(2018YFD0901302); 中国水产科学研究院创新团队项目(2020TD26).

作者简介: 盖超伟(1995-), 男, 硕士研究生, 研究方向为对虾遗传育种. E-mail: gaichaowei999@163.com

通信作者: 孟宪红, 研究员, 研究方向为水产动物遗传育种. E-mail: mengxianhong@ysfri.ac.cn

的方法,利用数量遗传学原理构建核心群体,并对相关的经济性状进行遗传评估,根据既定选择强度保留具有优良性状的个体,同时在保证较低的近交水平下进行配种繁育,通过多代持续的定向选择,得到具有优良性状且稳定遗传的后代个体,最终培育出新品种^[6-7]。随着生物技术的进步,DNA 分子标记技术逐渐成为研究水产动物遗传变异以及辅助育种的重要手段,已在水产动物遗传多样性、遗传变异分析、遗传图谱构建、分子标记辅助育种以及亲缘关系鉴定等方面取得了一定进展^[8-9]。与传统分子标记相比,SNP 标记具有在基因组内分布密度高、遗传稳定等优势^[10],逐渐成为遗传学研究中最常用的 DNA 分子标记手段。由于中国对虾基因组杂合度高,目前没有高质量参考基因组,一定程度限制了中国对虾分子标记辅助育种研究进展。近年来简化基因组测序技术的发展为水产物种 SNP 标记开发提供了新的研究手段^[11-12]。2b-RAD 技术是一项经济、高效的简化基因组测序技术,与传统的简化基因组测序技术相比,该技术能够得到更多的分子标记和更加准确的分型准确率^[13],可广泛适用于非模式生物连锁图谱构建以及遗传变异分析所需的高通量基因分型^[14-16]。

本研究中,中国对虾选育群体是自 1998 年开始,经过群体、家系累代选育与多性状复合育种技术相结合,先后于 2008 年和 2017 年获得的国家级水产新品种“黄海 2 号”和“黄海 5 号”,其中“黄海 2 号”是由中国对虾“黄海 1 号”“即抗 98”2 个选育群体以及朝鲜半岛南海群体、乳山湾群体、青岛沿岸群体及海州湾群体交配选育而成;“黄海 5 号”是由中国对虾“黄海 2 号”育种核心群、黄海群体、海州湾群体、朝鲜半岛西海岸群体组建而成的育种群体。新品种在抗病能力、生长速度、存活率等方面具有明显优势^[17]。本研究利用中国对虾 4 代选育群体和朝鲜半岛西海岸的野生群体进行 2b-RAD 简化基因组测序,并批量开发 SNP 标记,通过分析群体间遗传分化、遗传多样性和等位基因频率变化,了解人工选育群体与野生群体遗传多样性和遗传结构特征,挖掘在持续人工选育过程中受选择的 SNP 位点,为中国对虾人工

选育和种质资源评价提供基础数据及理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本研究所用实验材料为两部分,选育群体来自中国水产科学研究院黄海水产研究所水产遗传育种中心利用家系选择与家系内选择相结合的方式培育的 4 代中国对虾选育亲本(2015 年、2016 年、2017 年、2019 年),以下简称为 Fc_2015、Fc_2016、Fc_2017、Fc_2019。取样时随机选取不同家系的亲本个体,样本数量分别为 137 尾、244 尾、268 尾、112 尾;野生群体(WP)来自 2017 年引自朝鲜半岛西海岸的海捕亲虾个体 60 尾,合计 821 尾。所有样品取样后置于-80℃冰箱保存备用。

1.2 实验方法

1.2.1 基因组 DNA 提取及质检 实验用 TIANamp Marine Animals DNA Kit 试剂盒(天根)提取中国对虾肌肉组织基因组 DNA,利用 1%琼脂糖凝胶电泳以及 NanoDrop 2000 紫外分光光度计(Thermo Fisher Scientific)对基因组 DNA 进行浓度及质量检测,质量检测结束后将样品 DNA 置于-20℃冰箱保存备用。

1.2.2 2b-RAD 简化基因组文库构建及测序质控

利用 2b-RAD 五标签串联技术^[18]参考 Wang 等^[13]的方法构建中国对虾简化基因组测序文库,利用 IIB 型限制性内切酶 *Bsa*XI 对总量 ≥ 200 ng 的基因组 DNA 进行酶切,文库构建过程中样品均采用 5'-NNN-3'接头与酶切标签连接以得到更多的标记,文库质控合格后在 Illumina HiSeq X Ten 平台进行 Paired-end 测序。测序结束后利用 Pear 软件(Version 0.9.6)将成对的 raw reads 进行拼接得到拼接序列^[19]。同时对测序数据进行质控,过滤标准主要包括:过滤删除含有 N 碱基比例超过 8%的 reads;过滤质量值低于 Q30 的碱基超过 15%的低质量 reads;过滤含有接头序列的 reads。raw reads 经过过滤后得到 clean reads,对 clean reads 进一步过滤,剔除不含有酶切识别位点的 reads 后,得到 enzyme reads 用于后续的生物信息学分析。

1.2.3 SNP 标记分型 参照 RAD-typing 分型策

略^[18,20]对全基因组 SNP 标记分型, 利用 SOAP 软件^[21]将过滤得到的 enzyme reads 比对到参考序列后(参数为: -M 4 -v 2 -r 0), 利用最大似然法(ML)得到每个个体在每个位点的基因型。为了保证后续分析的准确性, 全基因组 SNP 分型完成后对分型结果进一步过滤: 剔除只含有 1 种等位基因的位点; 剔除基因组碱基为 N 的位点; 剔除同一位置两种分型的位点; 剔除所有样品中低于 80% 个体可分型的位点; 剔除最小等位基因频率(minor allele frequency, MAF)低于 0.01 的位点; 剔除等位基因大于 2 的位点。

1.2.4 SNP 标记数据统计与分析 得到 SNP 标记分型结果后, 按照群体为单位计算群体期望杂合度(H_e)、观测杂合度(H_o)、多态性信息含量(PIC)、核苷酸多态性(P_i)以及野生型等位基因频率(allele frequency), 利用 SPSS 26.0 软件对遗传多样性指数(H_e 、 H_o 、PIC、 P_i)平均值进行单因素方差分析, 运用 Duncan 多重比较以 $P < 0.05$ 作为标准检验群体间是否存在显著性差异。利用 Genepop 软件(Version 1.0.5)计算群体遗传分化系数(F_{ST})^[22], 群体间遗传距离(Reynolds' genetic distance, DR)由遗传分化系数(F_{ST})计算得到。结合 F_{ST} 和 P_i 结果, 对历代选育群体与野生群体进行选择消除分析, 并筛选 F_{ST} 值最高的前 1% 和 P_i Ratio (分别计算 4 个选育群体与野生群体 $\theta\pi$ 比值并取 $\log_{10}$)的最低值前 1% 和最高值前 1% 作为候选位点, 根据 F_{ST} 及 $\theta\pi$ 计算结果进行可视化展示。利用 Excel 软件筛选野生群体与不同世代选育群体等位基因频率差异 SNP 位点, 利用 R 包 Venn Diagram 软件(Version 1.6.20)绘制相关差异 SNP 位点韦恩图^[23]。使用 GCTA 软件(version 1.26.0)对野生群体及选育群体, 进行主成分分析(PCA)判断野生群体与选育群体之间是否形成群体结构分层^[24]。

2 结果与分析

2.1 基因组 DNA 提取

利用 TIANamp Marine Animals DNA Kit 试剂盒(天根)提取中国对虾基因组 DNA, 通过 1% 的

琼脂糖凝胶电泳检测样本 DNA 无明显拖尾现象, 利用 NanoDrop 2000 紫外分光光度计进一步检测基因组 DNA $OD_{260\text{ nm}}/OD_{280\text{ nm}}$ 在 1.8~2.0, 表明基因组 DNA 质量较好, 可以进行后续的 2b-RAD 简化基因组建库及测序。

2.2 2b-RAD 测序及 SNP 标记分型

本研究利用中国对虾野生群体和 4 个世代选育群体合计 821 尾个体的 2b-RAD 简化基因组测序数据构建了中国对虾 SNP 数据库。所有样本测序后共得到 30027775092 条 raw reads, 平均每个样本的测序 reads 数为 25533822 个, 筛选所有样本 raw reads 中含有 *Bsa* XI 酶切位点的高质量 reads, 共得到 98996323 个高质量 reads, 高质量 reads 所占比例为 75.93%。对 raw reads 进行质控过滤后统计, 所有样本共得到 523367100 个 unique 标签, 每个样本平均获得 unique 标签数目为 445040 个, 平均测序深度为 28 $\times$, 测序深度满足准确分型的要求。经过过滤后共得到 83767 个高质量的 SNP 位点, 用于后续群体遗传多样性分析, 筛选中国对虾在人工选择压力下受选择的 SNP 位点。

2.3 群体遗传多样性分析

野生群体与选育群体期望杂合度(H_e)、观测杂合度(H_o)、多态性信息含量(PIC)、核苷酸多态性(P_i)等各项遗传参数统计及 Duncan 多重比较结果如表 1 所示, 野生群体各项遗传多样性参数均低于选育群体。野生群体 H_e 、 H_o 、 P_i 与 Fc_2015、Fc_2016 群体相比无显著差异, 但与 Fc_2017、Fc_2019 群体相比存在显著差异($P < 0.05$); 野生群体 PIC 与任一选育群体相比均存在显著差异($P < 0.05$), 选育群体之间 Fc_2017、Fc_2019 与 Fc_2015、Fc_2016 群体相比存在显著差异($P < 0.05$)。F-统计结果如表 2 所示, 野生群体与选育群体不同世代 F_{ST} 范围在 0.0190~0.0260, 野生群体与 Fc_2019 群体之间分化程度最高, 与 Fc_2015 群体之间遗传分化程度最低; 野生群体与选育群体之间 F_{ST} 均小于 0.05, 属于弱遗传分化。群体间遗传距离(DR)结果显示野生群体与 Fc_2019 群体的遗传距离最远, 与 Fc_2015 群体的遗传距离最近。

表 1 中国对虾群体 SNP 位点遗传多样性参数统计

Tab. 1 Statistics of genetic polymorphism parameters of SNP loci in populations of *Fenneropenaeus chinensis*

n=83767; $\bar{x} \pm SD$				
群体 population	期望杂合度 H_e	观测杂合度 H_o	多态性信息 PIC	核苷酸多态性 P_i
Fc_2015	0.1729±0.1610 ^c	0.1866±0.2314 ^c	0.1450±0.1217 ^c	0.1737±0.1617 ^c
Fc_2016	0.1795±0.1576 ^c	0.1890±0.2155 ^c	0.1509±0.1189 ^c	0.1799±0.1579 ^c
Fc_2017	0.1892±0.1598 ^a	0.2084±0.2333 ^a	0.1586±0.1199 ^a	0.1896±0.1601 ^a
Fc_2019	0.1809±0.1624 ^b	0.1931±0.2297 ^b	0.1513±0.1230 ^b	0.1818±0.1632 ^b
野生群体 WP	0.1716±0.1676 ^c	0.1861±0.2351 ^c	0.1428±0.1278 ^d	0.1732±0.1692 ^c

注: 同列数据上标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$), 相同小写字母表示差异不显著。
Note: Data in the same column with different lowercase letters indicate significant differences ($P<0.05$), while the same letter means the difference is not significant.

表 2 中国对虾群体遗传分化系数(F_{ST})和遗传距离(DR)
Tab. 2 Genetic differentiation coefficient (F_{ST}) and genetic distance (DR) in populations of *Fenneropenaeus chinensis*

群体 population	Fc_2019	Fc_2017	Fc_2016	Fc_2015	野生群体 WP
Fc_2019	—	0.0036	0.0105	0.0074	0.0263
Fc_2017	0.0036	—	0.0063	0.0032	0.0208
Fc_2016	0.0105	0.0062	—	0.0063	0.0236
Fc_2015	0.0074	0.0032	0.0062	—	0.0192
野生群体 WP	0.0260	0.0206	0.0233	0.0190	—

注: 下三角为群体间遗传分化系数(F_{ST}), 上三角为群体间遗传距离(DR)。
Note: The lower triangle is the genetic differentiation coefficient (F_{ST}) between groups, and the upper triangle is the genetic distance between groups (DR).

2.4 群体遗传结构分析

中国对虾野生群体与选育群体间 PCA 分析结果如图 1 所示, 野生群体出现明显的聚集现象, 所有个体紧密聚为一簇, 而选育群体不同世代之间没有明显的聚集现象, 所有个体间分布较为广泛, 且与野生群体样本之间有一定距离。

2.5 SNP 位点筛选

根据分型得到的 83767 个 SNP 位点信息, 统计野生群体与选育群体野生型等位基因频率变化规律。结果如表 3 所示, 与野生群体相比, Fc_2015、Fc_2016、Fc_2017、Fc_2019 等位基因频率上升的位点数目均高于等位基因频率下降的位点数目。不同世代选育群体与野生群体等位基因频率变化的 SNP 位点差异如图 2、图 3 所示, 选育群体比野生群体等位基因频率上升的共有位点数目为 30915 个, 占总位点数比例为 36.91%, 等位基因频率下降的共有位点数目为 26906 个, 占

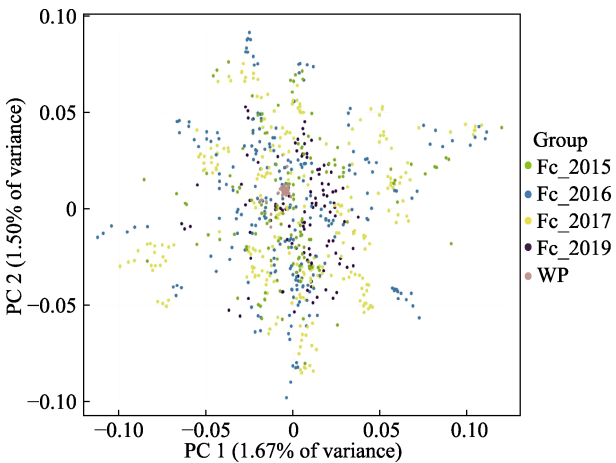


图 1 中国对虾野生群体(WP)与选育群体(Fc_)主成分分析(PCA)

Fig. 1 Principal component analysis (PCA) of wild population (WP) and breeding populations (Fc_) of *Fenneropenaeus chinensis*

表 3 中国对虾野生群体(WP)与选育群体(Fc_)等位基因频率变化

Tab. 3 Change of allele frequency in breeding populations (Fc_) and wild population (WP) of *Fenneropenaeus chinensis*

群体 population	等位基因频率变化位点 change locis of allele frequency	
	频率上升位点数目 number of locis with increased frequency	频率下降位点数目 number of locis with reduced frequency
Fc_2015-WP	42091	40053
Fc_2016-WP	44646	38018
Fc_2017-WP	45912	36315
Fc_2019-WP	42287	39306

总位点数比例为 32.12%。不同世代选育群体与野生群体选择性消除分析结果如图 4 所示, 图中紫色区域和红色区域分别代表筛选得到的选育群体

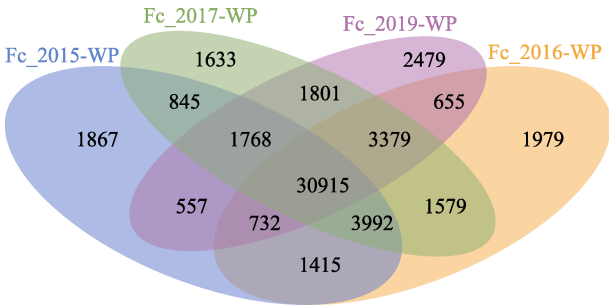


图 2 中国对虾选育群体(Fc_)与野生群体(WP)间等位基因频率上升位点 Venn 图 $\leq$

Fig. 2 The Venn diagram of the increased allele frequency between breeding populations (Fc_) and the wild population (WP) of *Fenneropenaeus chinensis*

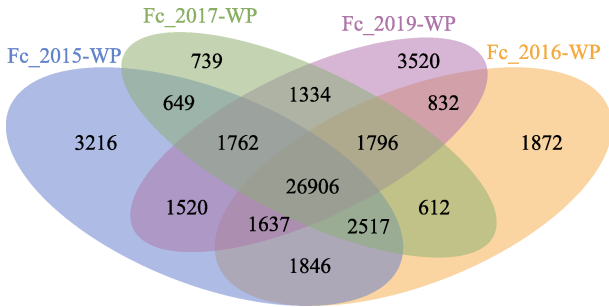


图 3 中国对虾选育群体(Fc_)与野生群体(WP)间等位基因频率下降位点 Venn 图

Fig. 3 Venn diagram of decreasing allele frequency between breeding populations (Fc_) and the wild population (WP) of *Fenneropenaeus chinensis*

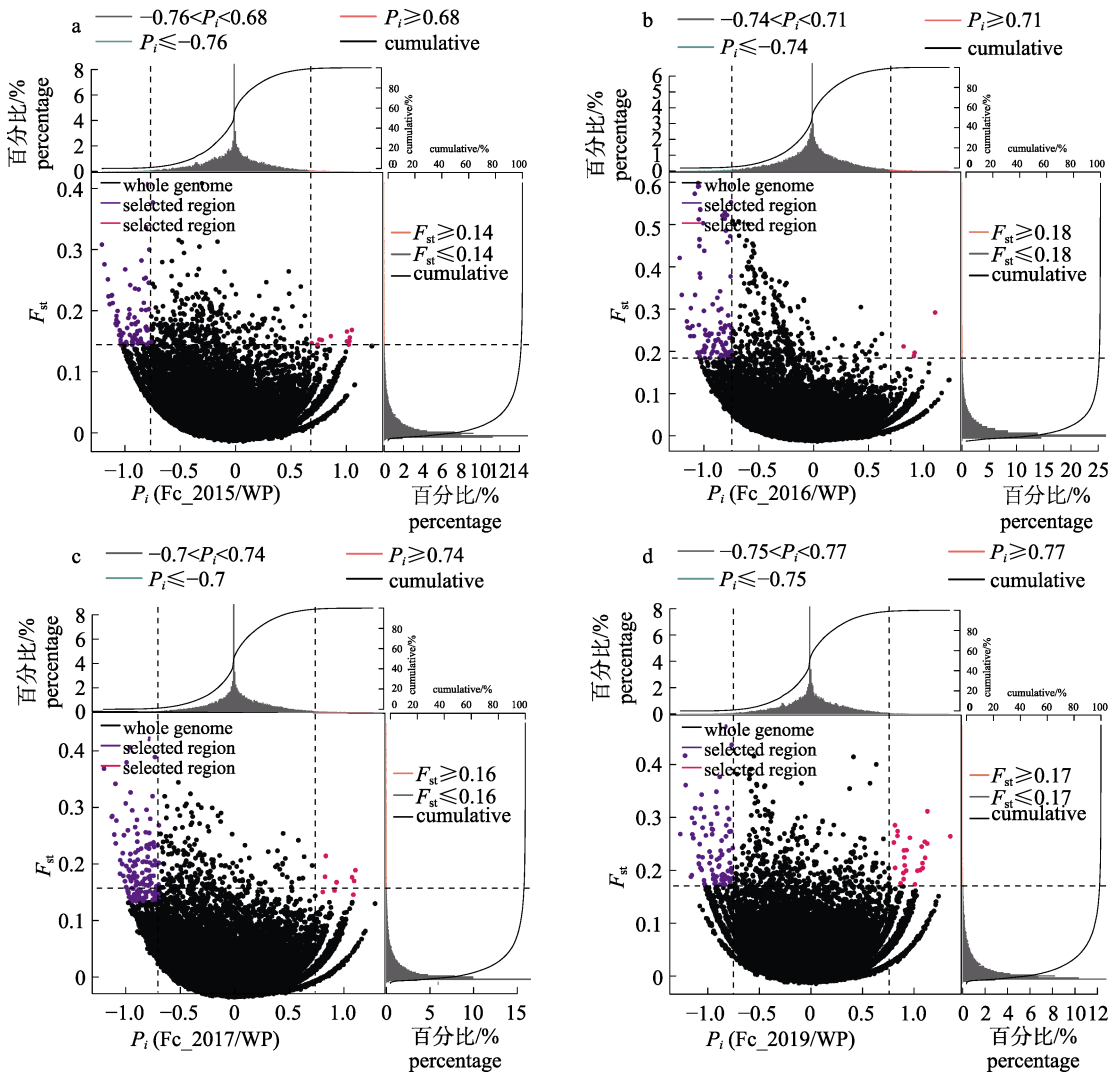


图 4 中国对虾选育群体(Fc_)与野生群体(WP)的 F_{ST} 和 $\theta\pi$ 选择消除分析

a. Fc_2015/WP; b. Fc_2016/WP; c. Fc_2017/WP; d. Fc_2019/WP.

Fig. 4 Selective sweep analysis between breeding populations (Fc_) and the wild population (WP) of *Fenneropenaeus chinensis*
a. Fc_2015/WP; b. Fc_2016/WP; c. Fc_2017/WP; d. Fc_2019/WP.

及野生群体受选择位点,各选育群体与野生群体筛选得到的受选择 SNP 位点数目分别为 92 个、103 个、166 个、117 个。将 4 组筛选得到的受选择 SNP 位点进行统计并绘制韦恩图,最终得到 4 个共有的 SNP 位点(图 5)。筛选不同世代选育群体之间等位基因频率规律性变化的位点并绘制韦恩图,结果如图 6、图 7 所示,选育群体相邻世代之间 (Fc_2015-Fc_2016、Fc_2016-Fc_2017、Fc_2017-Fc_2019),等位基因频率逐代上升的共有位点数目为 7107 个,其中 3674 个位点显著偏离哈迪-温伯格平衡($P<0.05$);等位基因频率逐代下降的共有位点数目为 8501 个,其中 4101 个位点显著偏离哈迪-温伯格平衡($P<0.05$)。

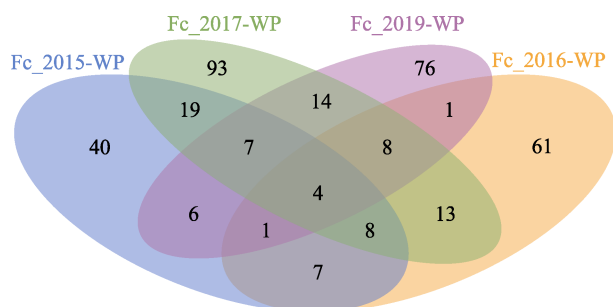


图 5 中国对虾选育群体(Fc_)与野生群体(WP)差异 SNP 位点 Venn 图

Fig. 5 Venn diagram of differences SNP loci between breeding populations (Fc_) and wild population (WP) of *Fenneropenaeus chinensis*

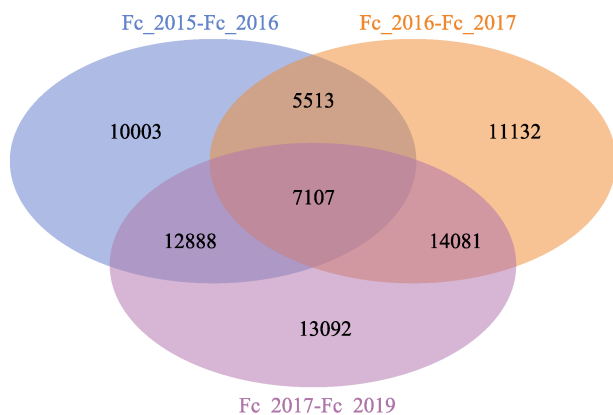


图 6 中国对虾选育群体(Fc_)相邻世代等位基因频率上升位点 Venn 图

Fig. 6 Venn diagram of the increase of allele frequency in neighboring generations of breeding populations (Fc_) of *Fenneropenaeus chinensis*

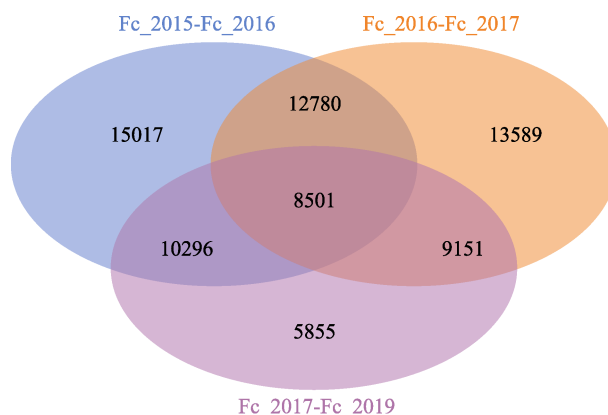


图 7 中国对虾选育群体(Fc_)相邻世代等位基因频率下降位点 Venn 图

Fig. 7 Venn diagram of the decreasing of allele frequency in neighboring generations of breeding populations (Fc_) of *Fenneropenaeus chinensis*

3 讨论

随着高通量测序技术的不断发展,分子标记技术被广泛应用于水产经济动物亲缘关系鉴定^[25]、种群遗传多样性分析^[26-27]以及遗传变异^[28]等研究方面。本研究通过 2b-RAD 技术对中国对虾 4 代选育群体和 1 个野生群体进行简化基因组测序,共得到 30027775092 条 raw reads,筛选所有样本的 raw reads 中含有 *Bsa*XI 酶切位点的高质量 reads,共得到 98996323 个高质量 reads,经过分型、过滤后,最终得到 83767 个高质量的 SNP 位点用于后续群体遗传多样性分析,以及筛选中国对虾在高强度人工选育压力下可能受选择的 SNP 位点。

遗传分化系数(F_{ST})是衡量群体间遗传分化程度的重要参数,群体遗传分化对于物种的生存、繁衍和进化具有重要作用^[29]。本研究中 F -统计结果显示,野生群体与选育群体之间 F_{ST} 均值为 0.022,野生群体与选育群体之间 F_{ST} 均小于 0.05,按照 Wright^[30]对遗传分化指数(F_{ST})标准的划分, F_{ST} 值介于 0~0.05,群体间属于弱遗传分化。选育群体与野生群体 DR 结果与 F_{ST} 结果相似,野生群体与 Fc_2015 群体间 DR 结果为 0.0192,群体间遗传距离最近,与 Fc_2019 群体间 DR 结果为 0.0263,群体间遗传距离最远,该结果与王凤娇等对中国对虾 G₉~G₁₁ 3 个连续选育世代遗传分化系数进行计算得到 3 个世代总 F_{ST} 为 0.0061,选育

群体未发生明显遗传分化的结论相似^[31]。本研究群体 PCA 结果显示, 选育群体与野生群体并未发生明显的遗传结构改变。选育群体与野生群体之间遗传分化程度相当小, 其遗传结构并未发生明显分层, 该结果与王军等^[8]利用微卫星(SSR)分子标记技术对中国对虾第 10 代选育群体与韩国西海岸野生群体之间遗传变异分析得到的结果相似(选育群体观测杂合度 $H_o=0.810$, 香农指数 $H=2.399$, 野生群体观测杂合度 $H_o=0.852$, 香农指数 $H=2.789$, 二者无显著性差异); 但不同于张辉等^[32]利用威海市乳山第一对虾养殖场中国对虾 2009 年养殖群体与野生群体(黄海及渤海水域) mtDNA 控制区序列得到的两群体间存在显著的遗传分化($F_{ST}=0.0698$, $P=0.00$)的结果, 可能是研究中涉及的 mtDNA 控制区序列信息与本研究中基因组 DNA 序列信息存在较大差异, 因而导致结果不同。本研究统计结果中选育群体 F_{st} 、DR 以及 PCA 以及各遗传多样性参数结果相较于野生群体并未出现明显降低, 说明人工选育群体依然具有较高的选育潜力。

遗传多样性统计结果中各选育群体 PIC 与野生群体存在显著差异($P<0.05$), 选育群体与野生群体 PIC 平均值分别为 0.1515 和 0.1428。PIC 是衡量基因组 DNA 变异程度高低的重要参数^[33], 根据 PIC 划分标准, $PIC>0.5$ 为高度多态, $0.25<PIC<0.5$ 为中度多态, $PIC<0.25$ 为低度多态, 说明野生群体与选育群体整体均属于低度多态性($PIC<0.25$), 该结果略低于吴莹莹等^[34]利用非标记探针 HRM 法分析中国对虾 39 个 EST-SNP 位点遗传多样性结果(PIC 均值为 0.272)。造成该结果的原因与研究物种以及分子标记类型有一定关系。例如, 岳志芹等^[35]利用 AFLP 分子标记技术对中国对虾 4 代抗病群体遗传多样性进行比较, 结果表明群体间遗传多样性差异不显著; 董丁健等^[36]对罗氏沼虾泰国群体 3 个世代遗传多样性进行分析, 结果表明 3 个世代的等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)、观测杂合度(H_o)、期望杂合度(H_e)和多态性信息含量(PIC)随着世代增加呈逐代下降的趋势。在本研究中 4 代选育群体观测杂合

度(H_o)、期望杂合度(H_e)和核苷酸多态性(P_i)平均值均高于野生群体, 其中 Fc_2017、Fc_2019 群体 H_o 、 H_e 、 P_i 与野生群体间存在显著性差异($P<0.05$), 这种结果可能是与中国对虾人工选育技术路线有关。中国对虾新品种“黄海 5 号”自 2009 年开始选育, 基础群体包括中国对虾“黄海 2 号”育种核心群体、山东省海阳附近海域的黄海群体、日照市附近海域海州湾群体和朝鲜半岛西海岸群体等 4 个基础群体, 选育群体综合了 4 个基础选育群体的遗传多样性。这与唐琼英等^[37]利用微卫星标记与线粒体基因分析相结合的方法, 对罗氏沼虾 4 个选育群体遗传多样性进行研究, 得到利用不同种质资源进行选育的数丰群体(SF)遗传多样性最高的结果相似; 也与张芹等^[38]对黄河鲤野生群体和人工养殖群体遗传多样性分析得到养殖群体经过 20 多年人工选育后依然保持较高的遗传多样性结果一致。说明中国对虾在科学的人工选育条件下依然可以保持较高的遗传多样性。

人工选择并不能产生新的等位基因, 但经过人工选育受选择位点的等位基因发生不同程度富集或缩减, 使得与目的性状相关的位点基因频率不断积累或减少, 最终达到选育目的。本研究对选育群体及野生群体进行选择消除分析得到的受选择 SNP 位点数目分别为 92 个、103 个、166 个、117 个。选育群体比野生群体等位基因频率上升的共有位点数目为 30915 个, 等位基因频率下降的共有位点数目为 26906 个。而对相邻世代选育群体之间等位基因频率规律性变化位点进行筛选, 逐代上升的共有位点数目为 7107 个, 其中 3674 个位点显著偏离哈迪-温伯格平衡($P<0.05$); 等位基因频率逐代下降的共有位点数目为 8501 个, 其中 4101 个位点显著偏离哈迪-温伯格平衡($P<0.05$)。初步筛选得到的具有规律性变化的 SNP 位点还需要进行后续的功能验证, 进一步挖掘与中国对虾人工选育目的性状相关的变异位点。随着中国对虾“黄海 2 号”“黄海 5 号”选育群体遗传改良进程推进, 在定向选育过程中有利于生产的基因仍在不断富集、固定, 中国对虾“黄海 2 号”依然具有较高的遗传选育潜力, 可以继续作为选育材料。

参考文献:

- [1] Wang Q Y. General situation of prawn culture and breeding in China[J]. Scientific Fish Farming, 2008(4): 1-3. [王清印. 我国对虾养殖和育种概况[J]. 科学养鱼, 2008(4): 1-3.]
- [2] Kong J, Luo K, Luan S, et al. The new variety of *Fenneropenaeus chinensis* “Huanghai No.2”[J]. Journal of Fisheries of China, 2012, 36(12): 1854-1862. [孔杰, 罗坤, 栾生, 等. 中国对虾新品种“黄海 2 号”的培育[J]. 水产学报, 2012, 36(12): 1854-1862.]
- [3] Li J, He Y Y, Wang Q Y, et al. Selective breeding of fast-growing and ammonia toxicity-resistant Chinese shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*)[J]. Progress in Fishery Sciences, 2015, 36(1): 61-66. [李健, 何玉英, 王清印, 等. 中国对虾 (*Fenneropenaeus chinensis*)“黄海 3 号”新品种的培育[J]. 渔业科学进展, 2015, 36(1): 61-66.]
- [4] Zhang J, Sun S Y, Li G L. Chinese shrimp culture technology of “Huanghai No.1”[J]. Scientific Fish Farming, 2011(6): 25-26. [张洁, 孙绍永, 李广来. “黄海 1 号”中国对虾养殖技术[J]. 科学养鱼, 2011(6): 25-26.]
- [5] Meng X H. Breeding and key technology of new variety “Huanghai No.5” of Chinese shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*)[J]. Management and Research on Scientific & Technological Achievements, 2020, 15(2): 89-91. [孟宪红. 中国对虾“黄海 5 号”新品种选育及配套关键技术[J]. 科技成果管理与研究, 2020, 15(2): 89-91.]
- [6] Olesen I, Gjedrem T, Bentsen H B, et al. Breeding programs for sustainable aquaculture[J]. Journal of Applied Aquaculture, 2003, 13(3-4): 179-204.
- [7] Kong J, Luan S, Tan J, et al. Progress of study on penaeid shrimp selective breeding[J]. Periodical of Ocean University of China, 2020, 50(9): 81-97. [孔杰, 栾生, 谭建, 等. 对虾选择育种研究进展[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2020, 50(9): 81-97.]
- [8] Wang J, Wang Q Y, Kong J, et al. SSR analysis on genetic diversity in breeding and wild populations of *Fenneropenaeus chinensis*[J]. Progress in Fishery Sciences, 2018, 39(2): 104-111. [王军, 王清印, 孔杰, 等. 中国明对虾人工选育群体与野生群体遗传多样性的 SSR 分析[J]. 渔业科学进展, 2018, 39(2): 104-111.]
- [9] Liu B, Wang Q, Li J, et al. A genetic linkage map of marine shrimp penaeus (*Fenneropenaeus chinensis*) based on AFLP, SSR, and RAPD markers[J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2010, 28(4): 815-825.
- [10] Wenne R. Single nucleotide polymorphism markers with applications in aquaculture and assessment of its impact on natural populations[J]. Aquatic Living Resources, 2018, 31: 2.
- [11] Su S, Li H, Du F, et al. Combined QTL and genome scan analyses with the help of 2b-RAD identify growth-associated genetic markers in a new fast-growing carp strain[J]. Frontiers in Genetics, 2018, 9: 592.
- [12] Li R, Bekaert M, Lu J, et al. Mapping and validation of sex-linked SNP markers in the swimming crab *Portunus trituberculatus*[J]. Aquaculture, 2020, 524: 735228.
- [13] Wang S, Meyer E, McKay J K, et al. 2b-RAD: a simple and flexible method for genome-wide genotyping[J]. Nature Methods, 2012, 9(8): 808-810.
- [14] Cui A, Wang B, Jiang Y, et al. Development of SNP markers for yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*) by 2b-RAD simplified genome sequencing[J]. Conservation Genetics Resources, 2020, 12: 403-407.
- [15] Dou J, Li X, Fu Q, et al. Evaluation of the 2b-RAD method for genomic selection in scallop breeding[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 19244.
- [16] Xue L Z, Guo X F, Zhou Y L, et al. Screening and characterization of sex-specific markers by 2b-RAD sequencing in zig-zag eel (*Mastacembelus armatus*) with implication of XY sex determination system[J]. Aquaculture, 2020, 528: 735550.
- [17] Pang J F, Kong J, Meng X H, et al. Real-time PCR assay for quantifying WSSV load in *Fenneropenaeus chinensis* “Huanghai No.2”[J]. Oceanologia Et Limnologia Sinica, 2013, 44(3): 782-787. [逢锦菲, 孔杰, 孟宪红, 等. 中国对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)“黄海 2 号”人工感染 WSSV 的荧光定量分析[J]. 海洋与湖沼, 2013, 44(3): 782-787.]
- [18] Wang S, Liu P, Lv J, et al. Serial sequencing of isologous RAD tags for cost-efficient genome-wide profiling of genetic and epigenetic variations[J]. Nature Protocols, 2016, 11(11): 2189-2200.
- [19] Zhang J, Kobert K, Flouri T, et al. PEAR: a fast and accurate Illumina Paired-End read merger[J]. Bioinformatics, 2014, 30(5): 614-620.
- [20] Fu X, Dou J, Mao J, et al. RADtyping: an integrated package for accurate de novo codominant and dominant RAD genotyping in mapping populations[J]. PloS ONE, 2013, 8(11): e79960.
- [21] Li R, Yu C, Li Y, et al. SOAP2: an improved ultrafast tool for short read alignment[J]. Bioinformatics, 2009, 25(15): 1966-1967.
- [22] Rousset F. Genepop' 007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux[J]. Molecular Ecology Resources, 2008, 8(1): 103-106.
- [23] Chen H, Boutros P C. VennDiagram: a package for the generation of highly-customizable Venn and Euler diagrams in R[J]. BMC Bioinformatics, 2011, 12(1): 1-7.
- [24] Yang J, Lee S H, Goddard M E, et al. GCTA: a tool for ge-

- nome-wide complex trait analysis[J]. The American Journal of Human Genetics, 2011, 88(1): 76-82.
- [25] Lemopoulos A, Prokko J M, Uusi-Heikkilä S, et al. Comparing RADseq and microsatellites for estimating genetic diversity and relatedness—Implications for brown trout conservation[J]. Ecology and Evolution, 2019, 9(4): 2106-2120.
- [26] Su Y, Zhang C, Li Q Q, et al. Genetic diversity analysis of wild and cultured *Eriocheir sinensis* populations from the Yangtze River, Yellow River, and Liaohe River based on the mitochondrial D-loop gene[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2019, 26(3): 436-444. [苏雨, 张成, 李青青, 等. 中华绒螯蟹长江、黄河和辽河水系野生和养殖群体的遗传多样性[J]. 中国水产科学, 2019, 26(3): 436-444.]
- [27] Sha H, Luo X Z, Li Z, et al. Genetic diversity of six silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) geo-graphical populations based on mitochondrial COI sequences[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2018, 25(04): 783-792. [沙航, 罗相忠, 李忠, 等. 基于 COI 序列的长江中上游鲢 6 个地理群体遗传多样性分析[J]. 中国水产科学, 2018, 25(04): 783-792.]
- [28] Cheng K, Chen K, Shi Y, et al. Genetic diversity monitoring of selected generations of Chinese soft-shelled turtle (*Pelodiscus sinensis*) based on microsatellites[J]. Genomics and Applied Biology, 2018, 37(9): 3774-3781. [程珂, 陈辰, 史燕, 等. 基于微卫星的中华鳖(*Pelodiscus sinensis*)选育世代遗传多样性监测[J]. 基因组学与应用生物学, 2018, 37(9): 3774-3781.]
- [29] Guan Y Y, Liu W G, He M X. Genetic variation during four generations of selective breeding in the pearl oyster *Pinctada fucata*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2013, 20(4): 764-770. [管云雁, 刘文广, 何毛贤. 马氏珠母贝选育群体 4 个世代的遗传变异[J]. 中国水产科学, 2013, 20(4): 764-770.]
- [30] Wright S. Evolution and the genetics of populations. A treatise in four volumes. Volume 4. variability within and among natural populations[J]. Journal of Biosocial Science, 1972, 4(2): 253-256.
- [31] Wang F J, Meng X H, Fu Q, et al. Analysis of genetic diversity in three generations of breeding populations of *Fenneropenaeus chinensis* based on reduced-representation genome sequencing[J]. Progress in Fishery Sciences, 2020, 41(4): 68-76. [王凤娇, 孟宪红, 傅强, 等. 基于简化基因组测序的中国明对虾 3 个选育世代遗传多样性分析[J]. 渔业科学进展, 2020, 41(4): 68-76.]
- [32] Zhang H, Gao T X, Zhuang Z M, et al. Comparative analysis of the mitochondrial control region between the cultured and wild populations of Chinese shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*) [J]. Journal of Fisheries of China, 2010, 34(8): 1149-1155. [张辉, 高天翔, 庄志猛, 等. 中国对虾养殖群体与野生群体线粒体控制区序列的比较[J]. 水产学报, 2010, 34(8): 1149-1155.]
- [33] Botstein D, White R L, Skolnick M, et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms[J]. American Journal of Human Genetics, 1980, 32(3): 314-331.
- [34] Wu Y Y, Meng X H, Kong J, et al. Application of unlabeled probe by HRM in development of EST-SNPs in *Fenneropenaeus chinensis*[J]. Progress in Fishery Sciences, 2014, 34(1): 111-118. [吴莹莹, 孟宪红, 孔杰, 等. 非标记探针 HRM 法在中国对虾 EST-SNP 筛选中的应用[J]. 渔业科学进展, 2014, 34(1): 111-118.]
- [35] Yue Z Q, Wang W J, Kong J, et al. AFLP analysis of four selected generations on disease-resistance trait of *Fenneropenaeus chinensis*[J]. Journal of Fisheries of China, 2005, 29(1): 13-19. [岳志芹, 王伟继, 孔杰, 等. 用 AFLP 方法分析中国对虾抗病选育群体的遗传变异[J]. 水产学报, 2005, 29(1): 13-19.]
- [36] Dong D J, Dai X L. SSR analysis on genetic diversity in different populations and generations of *Macrobrachium rosenbergii*[J]. Journal of Southern Agriculture, 2020, 51(2): 421-428. [董丁健, 戴习林. 罗氏沼虾不同群体世代遗传多样性的 SSR 分析[J]. 南方农业学报, 2020, 51(2): 421-428.]
- [37] Tang Q Y, Xie J H, Xia Z L, et al. Genetic diversity of the breeding populations of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2020, 44(5): 1097-1104. [唐琼英, 谢巨洪, 夏正龙, 等. 罗氏沼虾不同育种群体遗传多样性研究[J]. 水生生物学报, 2020, 44(5): 1097-1104.]
- [38] Zhang Q, Song W, Hou Z P, et al. Genetic diversity analysis of wild and cultured population of *Cyprinus carpio*[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2020, 48(16): 91-93. [张芹, 宋威, 侯志鹏, 等. 黄河鲤野生和人工养殖群体遗传多样性分析[J]. 安徽农业科学, 2020, 48(16): 91-93.]

Genetic diversity analysis and SNP loci screening of four generations of *Fenneropenaeus chinensis* and one wild population

GAI Chaowei^{1,3}, LI Xupeng^{2,3}, CAO Baoxiang^{2,3}, CHEN Baolong^{2,3}, ZHANG Yawen^{2,3}, LIU Mianyu³, LUAN Sheng^{2,3}, KONG Jie^{2,3}, MENG Xianhong^{2,3}

1. National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education (Shanghai Ocean University), Shanghai 201306, China;
2. Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266071, China;
3. Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resources, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China

Abstract: In this study, a total of 821 shrimps from four breeding population generations and a wild population of *Fenneropenaeus chinensis* (2015, 2016, 2017, and 2019) were sequenced using 2b-RAD technology to analyze the genetic diversity characteristics of artificial breeding and wild populations of *F. chinensis*, mining the selected single nucleotide polymorphism (SNP) sites in the continuous artificial selection process. A total of 83767 SNP sites were obtained by sequencing; F -statistics showed that the average coefficient of genetic differentiation (F_{ST}) between wild population and breeding populations was 0.022. The highest degree of genetic differentiation between the wild and breeding populations in 2019 was 0.0260; the lowest degree in 2015 was 0.0190. The F_{ST} between wild and breeding populations is less than 0.05, indicating weak genetic differentiation. The population principal component analysis results showed that the genetic structure between wild and breeding populations did not change significantly. The statistical results of genetic diversity showed that the average expected heterozygosity (H_e) of the wild population and the breeding populations were 0.1716 and 0.1806, respectively; the average observed heterozygosity (H_o) values were 0.1861 and 0.1943; and the average polymorphism information contents were 0.1428 and 0.1515. The mean values of nucleotide polymorphism (P_i) were 0.1732 and 0.1813. Among them, each genetic diversity index of the selected populations in 2017 and 2019 was significantly different compared to the wild population ($P < 0.05$). Selection and elimination analysis of different generations of breeding and wild populations yielded 92, 103, 166, and 117 selected SNP loci; the number of common loci was 4. The number of common sites with allele frequencies increasing generation by generation between adjacent generations of selective breeding populations was 7107, of which 3674 sites deviated significantly from the Hardy-Weinberg balance ($P < 0.05$). The allele frequency between adjacent generations of breeding populations decreased to 8501, of which 4101 loci significantly deviated from the Hardy-Weinberg equilibrium ($P < 0.05$). Results indicate that the population genetic diversity and genetic structure of *F. chinensis* have not changed significantly after artificial selection and breeding, and a high genetic selection potential is maintained.

Key words: *Fenneropenaeus chinensis*; 2b-RAD; SNP; genetic diversity; artificial selection

Corresponding author: MENG Xianhong. E-mail: mengxianhong@ysfri.ac.cn

DOI: 10.12264/JFSC2021-0068

草鱼肾中性粒细胞的分离鉴定与活性检测

常藕琴¹, 霍礼霞^{1,2}, 罗满林², 石存斌¹, 张德峰¹, 潘厚军¹, 任燕¹

1. 中国水产科学研究院珠江水产研究所, 农业农村部渔用药物创制重点实验室, 广东省水产动物免疫技术重点实验室, 广东 广州 510380;
2. 华南农业大学, 广东 广州 510225

摘要: 分离纯化草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)肾中性粒细胞、鉴定和检测其活性, 目的在于为研究中性粒细胞的功能和免疫防御机制提供细胞材料。本研究使用鱼类脏器组织中性粒细胞分离试剂盒和差异贴壁法分离获得草鱼肾中性粒细胞; 应用迪夫氏染色、碘化钾-吡咯红 G (KI-Py G) 染色、电镜技术鉴定细胞形态, 使用多功能酶标仪检测经 MPA 刺激的细胞活性, 台盼蓝染色法和 CCK-8 检测细胞存活率。结果显示, 获得的细胞大小均一, 细胞核圆形或肾形, 胞质有 A、B 型颗粒, 表面有皱褶, 具有中性粒细胞的形态特征; 细胞纯度达(99.3±0.53)%, 细胞活力达(97.70±0.76)%, 在体外培养 24 h 内细胞存活率可保持在(89.91±3.56)%; 在 PMA 刺激下检测到细胞表达 MPO、ROS、NO 和 NETs 的量显著提高($P<0.05$), 与刺激时间呈正相关。结果证实, 分离的细胞具有很好的活力, 具有中性粒细胞的功能特征。本研究成功建立草鱼中性粒细胞的分离方法, 细胞具有很好的活力, 可为深入研究鱼类中性粒细胞的功能和免疫机制提供基础。

关键词: 草鱼; 中性粒细胞; 分离; 鉴定; 活性检测

中图分类号: S941

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2021)12-1515-08

草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)在中国淡水养殖鱼类中产量最高, 具有重要的经济价值^[1]。随着集约化程度的提高, 病毒、细菌以及多病原混合感染草鱼的疾病频发, 因此致病机理和免疫防控一直都是草鱼病害研究的热点。中性粒细胞(neutrophil, NEU)是非特异性免疫细胞中含量最多的细胞, 也是机体防御病原体入侵机制中反应最快的细胞^[2], 在机体抵抗病原微生物入侵中起到关键作用^[3]。病原微生物入侵时, NEU 迅速聚集在损伤组织, 通过吞噬、释放胞内颗粒、产生活性氧(reactive oxygen species, ROS)等方式杀灭入侵的病原^[4-5]。近年来研究发现 NEU 可释放胞外诱捕网(neutrophil extracellular traps, NETs)^[6]。NETs 是捕获和杀灭病原体入侵并限制病原扩散

的另一种方式, 是 NEU 防御机制研究的新热点^[7-8]。非特异性免疫是水产动物病害免疫防御机制的重点之一, 有关鱼类 NEU 非特异性免疫功能的研究也逐步受到关注。已有资料报道了大菱鲂(*Scophthalmus maximus*)^[9]和半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*)^[10-11]NETs 捕获和抑制细菌的相关研究; 也有关于鲤(*Cyprinus carpio*)^[12-13]NEU 的免疫防御功能和 NETs 形成机制的相关报道。要研究鱼类 NEU 的吞噬、杀灭和捕获病原等功能, 分离纯化有活性的 NEU 成为关键步骤。

人类和哺乳动物的 NEU 分离主要采用 Percoll 密度梯度离心法、免疫磁珠法和流式细胞仪法等方法^[14-15]。鱼类中性粒细胞分离的报道鲜少, 以白细胞分离为主。由于鱼类各种免疫细胞的标志

收稿日期: 2021-02-22; 修订日期: 2021-04-08.

基金项目: 广州市科技计划项目(201904020004); 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系项目(CARS-45).

作者简介: 常藕琴(1972-), 女, 副研究员, 主要从事水产病害研究. E-mail: changouqin@163.com

通信作者: 石存斌, 研究员. E-mail: shicunbin2006@163.com

性抗体研究尚不成熟,因此免疫磁珠和流式细胞仪等方法还很难开展。目前鱼类白细胞的分离方法主要采用密度梯度离心法从外周血中分离获得。陈全震等^[16]报道了鱼类淋巴细胞分离技术,丰培金等^[17]探讨了鲤外周血白细胞的分离方法,李超等^[18]采用密度离心法探讨了罗非鱼(*Oreochromis* sp.)外周血白细胞的分离最佳条件。外周血分离获得的白细胞数量较少,很难满足细胞功能学研究需求;而中性粒细胞是白细胞的一种,要想获得充足的中性粒细胞,可尝试从免疫组织分离获得。Katzenback 等^[19]分离获得了金鱼肾中性粒细胞,温丽联^[11]使用密度梯度离心法从半滑舌鳎头肾中分离获得中性粒细胞。关于草鱼免疫器官中性粒细胞分离的相关研究迄今未见报道。草鱼的头肾和中肾是主要免疫器官,又是免疫细胞形成和发育的重要器官^[20]。因此本研究从草鱼的免疫器官入手,分离纯化中性粒细胞,对分离获得的中性粒细胞进行形态、标志性酶和活性功能等方面鉴定和检测,旨在为鱼类中性粒细胞的分离方法的建立提供基础和借鉴资料,同时为后期开展 NEU 功能研究提供细胞材料。这对于进一步研究草鱼 NEU 对病原体的天然免疫反应机制和抗菌作用具有重要科学意义。

1 材料与方法

1.1 实验动物

平均体重 25~30 g 的草鱼(购自广东省中山市某草鱼养殖基地),水温 28℃ 左右静养 1 周,眼观无异常,随机抽取 3 尾,取鳃、肠做寄生虫观察,取肝、脾、肾等主要器官做细菌培养和 GCRV 检测,确认无病原感染,作为实验健康鱼。

1.2 主要试剂及仪器

鱼类脏器中性粒细胞分离试剂盒(天津灏洋生物制品科技有限公司,中国),RPMI1640、胎牛血清(Gibco 公司,美国),迪夫快速染色试剂盒(Diff-Quick Cell Stain,珠海贝索生物技术有限公司,中国),CKK-8 试剂盒(Beyotime)、佛波醇酯(phorbol 12-myristate 13-acetate, PMA) (Sigma 公司,美国),DCFH-DA (Meilunbio)和 DAF-FM (Beyotime 碧云天,中国),DACYTATION 型多功能酶

标仪(BioTek 公司,美国),恒温培养箱 (Thermo 公司,美国)。

1.3 中性粒细胞的分离

参考 Katzenback 等^[19]的分离方法,使用鱼类脏器中性粒细胞分离试剂盒进行分离。用 0.1 g/L 三卡因甲基磺酸麻醉 10 尾健康草鱼,在无菌环境下,取出肾组织,称取 0.8 g 于 Hanks 液中,将组织剪成小块,加入组织匀浆液研磨,70 μm 细胞筛网过滤细胞到离心管中,经 450 g 离心 10 min,弃上清,用样本稀释液重悬组织细胞调整浓度为 $2 \times 10^8 \sim 1 \times 10^9$ /mL 细胞悬液。取 1 支 15 mL 离心管加入细胞分离液再加入等量细胞悬液,制成梯度界面;1000 g 水平离心 30 min,取白色细胞层,清洗 3 次,将细胞置于含有 10% 胎牛血清(FBS)的 RPMI1640 培养液的细胞培养瓶中,在 28℃、5% CO₂ 条件下培养,2~4 h 后换液去除贴壁细胞,收获悬浮中性粒样细胞。将一部分细胞用于台盼蓝染色进行分离细胞活力测定,细胞形态鉴定,剩余细胞在含有 10% 胎牛血清的 RPMI1640 培养液中继续培养进行细胞酶活性检测。

1.4 中性粒细胞鉴定

1.4.1 形态鉴定

光学显微镜样品制备 将 10 μL 浓度为 3×10^6 /mL 的细胞悬液置于载玻片,45°角推匀细胞,甲醇固定数秒,晾干玻片;迪夫氏快速染色,ZEISS Axio Scope A1 光学显微镜观察并拍照。

透射电镜样品制备 2.5%戊二醛固定细胞,分级乙醇系列脱水,锇酸后固定,制作超薄切片,经醋酸铀-柠檬酸铅染色,HT-7800 透射电镜下观察细胞的超微形态结构。

扫描电镜样品制备 将浓度为 3×10^6 /mL 的细胞悬液置于细胞爬片,2.5%戊二醛固定,分级乙醇系列脱水、冷冻干燥、镀金,扫描电子显微镜观察并拍照。

1.4.2 标志性酶髓过氧化物酶(MPO)的鉴定 碘化钾-吡咯红 G(KI-Py G)是 MPO 特有的染色方法^[21]。取 200 μL 浓度为 3×10^6 /mL 的细胞置于载玻片上,45°角轻轻推匀细胞,甲醇固定数秒,晾干玻片;加 KI-Py G 工作液染色 1~2 min,缓冲液冲洗染色液,边缘残留染色液用滤纸吸干。ZEISS Axio

Scope A1 光学显微镜观察并拍照。

1.5 纯度和活力检测

取 100 μL 分离获得的细胞混悬液推片, 进行迪夫氏染色, 显微镜下随机选取 10 个视野, 每个视野计数 100 个细胞, 计算分离获得的中性粒细胞的纯度。细胞纯度(%)=(细胞计数/100) $\times$ 100%。

取 200 μL 浓度为 $3\times 10^6/\text{mL}$ 分离获得的细胞混悬液推片, 用 0.4% 台盼蓝进行染色, 镜检。对所有细胞、活细胞和死细胞数目进行计数, 计算细胞活力。计算公式为: 细胞活力(%)=(活细胞数/观察的细胞总数) $\times$ 100%。

1.6 细胞活性检测

1.6.1 NUE 释放 MPO 的检测 将分离的细胞制成浓度为 $3\times 10^6/\text{mL}$ 的细胞悬液, 置于 96 孔细胞培养板, 每孔 100 μL , 实验组加入终浓度为 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 PMA, 对照组不作处理, 每组重复 3 孔。分别置于 5% CO_2 培养箱中 28 $^{\circ}\text{C}$ 静置 0.5 h、1 h 和 1.5 h 时, 每孔加入 50 μL TMB 显色液, 再加入 50 μL 过氧化氢, 持续显色反应 3 min, 最后加入 2 mol/L 的硫酸 50 μL 终止反应, 多功能酶标仪在 450 nm 下检测其 OD 值。每组设 3 个平行($n=3$), 结果取平均值进行比较。

1.6.2 NUE 释放 ROS 和 NO 的检测 将 10 $\mu\text{m}/\text{L}$ DCFH-DA 和 DAF-FM DA 分别加入无血清培养液制成的中性粒细胞悬液, 5% CO_2 细胞培养箱内 28 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 20 min, 无血清培养液清洗 3 次, HBSS 重悬细胞至浓度为 $3\times 10^6/\text{mL}$, 接种到 96 孔板中, 每孔 100 μL 。实验组加入终浓度为 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 PMA, 对照组不作处理, 每组重复 3 孔。分别孵育 0.5 h、1 h 和 1.5 h 时使用 DACYTATION 型多功能酶标仪检测其荧光值, 在激发光 485 nm, 吸收光 525 nm 下检测 ROS; 在激发光 495 nm, 吸收光 515 nm 下检测 NO。每组设 3 个平行($n=3$), 结果取平均值进行比较。

1.6.3 NUE 形成 NETs 的检测 将分离的细胞制成浓度为 $3\times 10^6/\text{mL}$ 的细胞悬液, 置于 96 孔细胞培养板, 每孔 100 μL , 实验组加入终浓度为 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 PMA, 对照组不作处理, 每组重复 3 孔。分别置于 5% CO_2 培养箱中 28 $^{\circ}\text{C}$ 静置 0.5 h、

1 h 和 1.5 h 时, 分别加入终浓度为 3 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 的 Sytox Green 胞外 DNA 染色液, 染色 15 min, 使用 DACYTATION 型多功能酶标仪检测其荧光值, 激发光 485 nm; 吸收光 530 nm 下检测 NET。每组设 3 个平行($n=3$), 结果取平均值进行比较。

1.7 细胞存活率的 CCK-8 检测

将 $3\times 10^6/\text{mL}$ 的细胞悬液(实验组)和空白细胞培养液(对照组), 分别置于 96 孔细胞培养板, 每孔 100 μL , 5% CO_2 培养箱中 28 $^{\circ}\text{C}$ 静置培养, 分别在 0 h、12 h、24 h、36 h、48 h、72 h 时加入 CCK-8。在波长 450 nm, 使用 DACYTATION 型多功能酶标仪测 OD 值, 计算细胞存活率, 0 h 的细胞活性基于台盼蓝染色结果。

细胞存活率(%)=(实验组 OD 值-对照组 OD 值)/(0 h 的 OD 值-对照组 OD 值) $\times$ 100%

1.8 统计分析

实验结果用 SPSS18 统计软件处理数据, 使用单因素方差(ANOVA)统计分析, 概率水平 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 细胞形态

2.1.1 光学显微镜形态检测 倒置显微镜观察到分离获得的细胞呈圆形, 大小均一, 细胞核透光度较高, 清亮, 圆形; 胞质透光度较低, 呈灰暗色(图 1a)。经迪夫氏染色的细胞核呈紫红色, 圆形或肾形, 位于细胞的一侧, 胞质呈蓝色(图 1b)。

2.1.2 电子显微镜形态检测 透射电镜观察到细胞大小和形态较为均一, 细胞核呈圆形或肾形, 核分布在细胞的一侧。胞质内含有大量圆形或棒形颗粒, 其中圆形颗粒, 电子密度中等, 数量较少, 为 A 型颗粒; 棒状或杆状颗粒, 电子密度较高, 数量较多, 为 B 型颗粒(图 1c, d)。扫描电镜观察到细胞呈圆形或椭圆形, 大小和形态较为均一, 表面粗糙, 有小皱褶(图 1e, f)。

2.2 标志性酶 MPO

MPO 是中性粒细胞的标志性酶, 细胞经 KI-Py G 染色, 可观察到颗粒状棕褐色, 呈 MPO 阳性(图 2)。

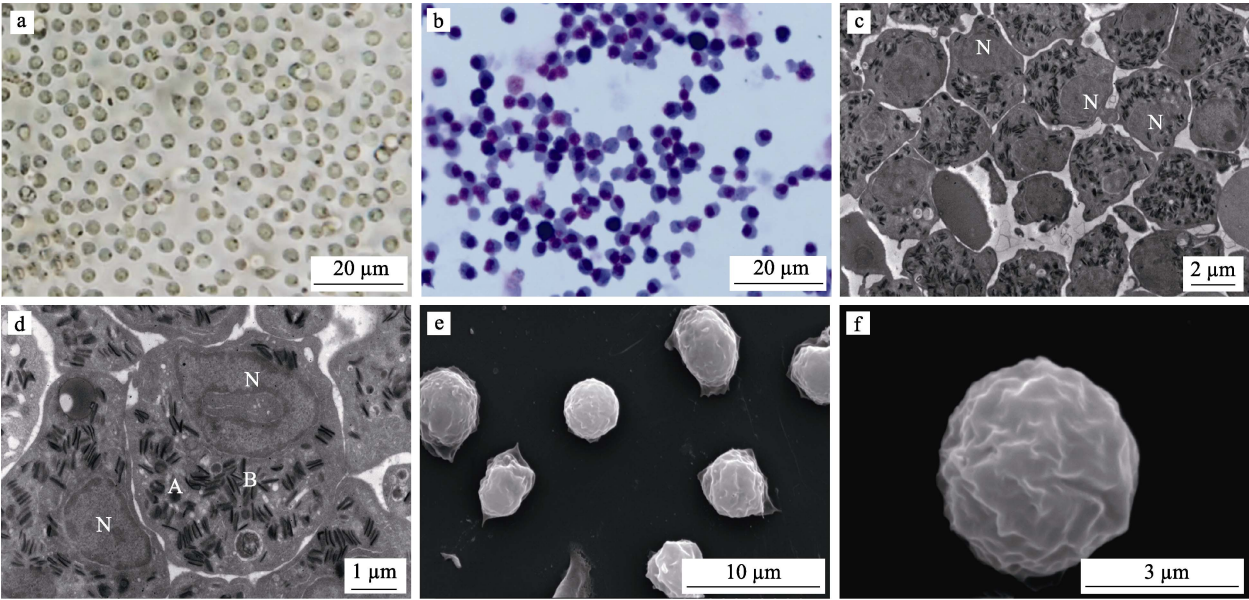


图 1 草鱼中性粒细胞形态观察

a: 分离获得的中性粒细胞; b: 迪夫氏染色的中性粒细胞; c: 透射电镜观察的中性粒细胞;
d: 透射电镜观察放大的中性粒细胞; e: 扫描电镜观察的中性粒细胞; f: 扫描电镜观察放大的中性粒细胞.
A: A 型颗粒; B: B 型颗粒; N: 细胞核.

Fig. 1 Morphological observation of neutrophils of *Ctenopharyngodon idellus*
a: neutrophils isolated from the middle kidney; b: neutrophils stained with Diff; c and d: neutrophils observed by transmission electron microscopy; e and f: neutrophils observed by scanning electron microscope.
A: type A particles; B: type B particles; N: nucleus.

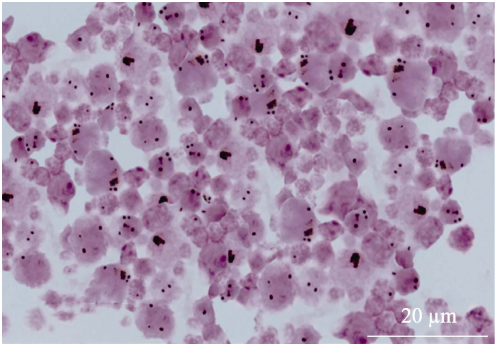


图 2 KI-PYG 染色草鱼中性粒细胞标志性酶 MPO 呈棕褐色颗粒

Fig. 2 MPO of *Ctenopharyngodon idellus* neutrophil showing brown granules stained by the KI-PYG

2.3 纯度和活力检测

显微镜下观察迪夫氏染色细胞, 随机选取 10 个视野, 每个视野计数 100 个细胞, 计算出分离获得细胞的纯度可达(99.3±0.53)%。

细胞经台盼蓝染色后, 死亡的细胞可着色浅蓝色, 无光泽; 活细胞保持正常形态, 不着色, 有光泽(图 3)。取 10 个视野统计, 细胞活性无明显差异, 均可达(97.70±0.76)%。

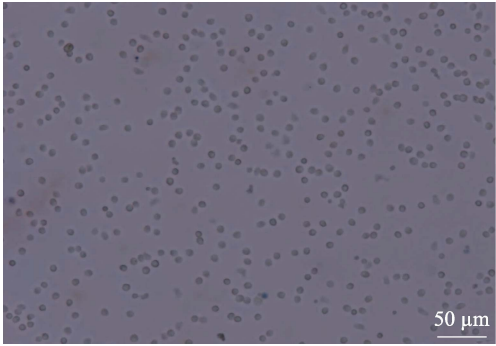


图 3 台盼蓝染色检测草鱼中性粒细胞活性

Fig. 3 *Ctenopharyngodon idellus* neutrophil activity detected by Trypan blue staining

2.4 释放 MPO 和细胞活性

使用多功能酶标仪分别在 0.5 h、1 h 和 1.5 h 时间点检测到对照组和 PMA 刺激的实验组细胞均能表达 MPO, 并且释放量呈增长趋势; 1 h 和 1.5 h 实验组细胞产生 MPO 的能力显著高于对照组($P<0.05$)(图 4A)。采用 DCFH-DA 探针法检测 PMA 刺激细胞释放 ROS 的能力, 对照组和 PMA 刺激的实验组细胞在 0.5 h、1 h 和 1.5 h 时间点均可释放 ROS, 实验组细胞释放 ROS 的量呈增长趋

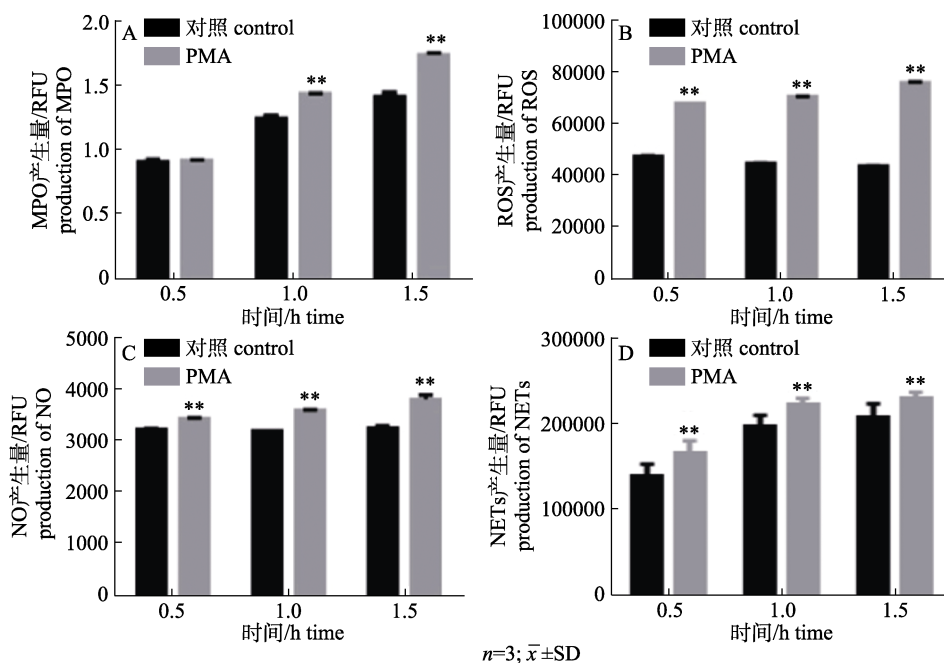


图 4 草鱼中性粒细胞的功能活性检测

A: 髓过氧化物酶; B: 氧自由基; C: 一氧化氮; D: 胞外诱捕网. “**”表示与对照组相比差异显著($P < 0.05$).

Fig. 4 Functional activity detection of neutrophils of *Ctenopharyngodon idellus*

A: MPO; B ROS; C: NO; D: NETs. “**” means significant differences comparing with the control group ($P < 0.05$)

势, 且各时间点的释放量均显著高于对照组($P < 0.05$)(图 4B)。AF-FM DA 探针法检测 PMA 刺激细胞释放 NO 的能力, 对照组和实验组在 0.5 h、1 h 和 1.5 h 时间点均可释放 NO, 实验组均显著高于对照组($P < 0.05$), 并且实验组释放量呈增长趋势(图 4C)。检测到 0.5 h、1 h 和 1.5 h 各时间点对照组和实验组细胞均能形成 NETs, 并且释放量随刺激时间呈增长趋势; 实验组细胞 NETs 形成显著高于对照组($P < 0.05$)(图 4D)。

2.5 CCK-8 检测细胞存活率检测

基于台盼蓝染色 0 h 的细胞存活率为(97.70±0.76)%, 通过 CCK-8 试剂盒检测结果显示, 体外培养 24 h 的细胞存活率为(89.91±3.56)%, 48 h 为(65.12±5.50)%, 72 h 为(29.69±1.64)%, 细胞活力随培养时间的延长呈下降趋势, 且在 24 h 内下降较缓慢, 体外培养 24 h 后细胞活性下降较快(图 5)。

3 讨论

纯化获得的细胞经迪夫氏快速染色, 细胞核呈圆形或肾形, 具有中性粒细胞核的特征形态, 与斑马鱼的中性粒细胞特性一致^[22]。透射电镜观察到细胞呈圆形, 圆形或肾形核分布在细胞的一

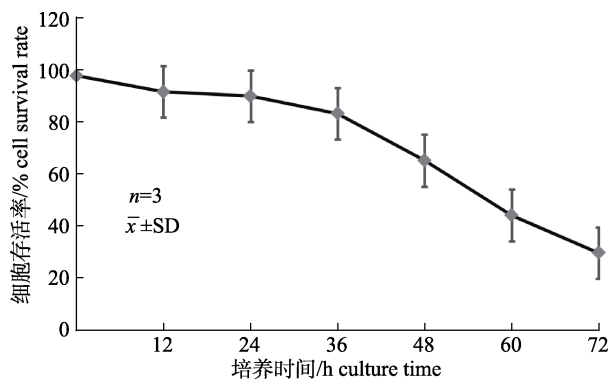


图 5 体外培养草鱼中性粒细胞的存活率变化

Fig. 5 Tendency of *Ctenopharyngodon idellus* neutrophil survival rate in vitro

侧, 胞质内含有大量不同形状的分泌颗粒, 与 Kemenade 等^[23]分离的鲤头肾中性粒细胞形态一致; 这些细胞中可观察到大量杆状的 B 型颗粒和少量圆形的 A 型颗粒, 与斑马鱼(*Danio rerio*)血液和脾脏中观察到的中性粒细胞胞质颗粒相似。扫描电镜观察到表面粗糙, 有小皱褶的圆形细胞, 与 Chi 等^[9]分离的大菱鲂头肾中性粒细胞扫描形态一致。因此, 本研究从草鱼肾分离的细胞具有中性粒细胞的形态学特征。

MPO 是 NEU 初级颗粒中高丰度存在的一种

特有酶^[24-25],已经成为中性粒细胞的功能标志和激活标志^[26]。碘化钾-吡咯红 G (KI-Py G)染色 MPO 呈棕红色,是中性粒细胞经典的染色鉴定法^[21]。分离的细胞经 KI-Py G 染色观察到棕褐色 MPO 阳性;多功能酶标仪也检测到分离细胞可以产生 MPO,且在 1.5 h 内随时间延长呈增长趋势。PMA 刺激细胞,检测到实验组和对照组细胞释放 MPO 量可持续增强,但实验组显著高于对照组,说明分离获得的细胞具有中性粒细胞特有酶特征,进一步证实分离细胞为中性粒细胞。

受刺激后的中性粒细胞释放 MPO、ROS、NO 和 NETs,可评价细胞活性^[27]。检测到受 PMA 刺激的细胞释放 MPO、ROS、NO 和 NETs 的量比对照组显著增多,并且在检测时间范围内与时间呈正相关,提示分离获得的中性粒细胞具有很好的活性^[28]。对照组的细胞 MPO 也会随时间延长呈增长趋势,可能是由于鱼类的肾脏功能类似于哺乳动物的骨髓,是主要造血器官^[20],肾组织中的 NEU 是由初级到成熟不同分化阶段的中性粒细胞群^[29],在细胞发育成熟过程中 MPO 释放量在逐渐增多,在受到 PMA 刺激时 MPO 的释放量会显著高于对照组,这与其他硬骨鱼类中性粒细胞的报道一致^[19]。

鱼类中性粒细胞的分离方法尚不成熟。主要是由于鱼类种类繁多,免疫学研究基础薄弱,各种鱼类血细胞组成、细胞密度以及形态大小种间差异较大,各种细胞的标志性抗体都不成熟,因此分离条件存在差异,各种鱼类白细胞分离方法都具有不同程度的差异,至今尚未有一种鱼类成熟通用的白细胞分离方法和统一标准。因此目前主要是采用梯度离心法,参考哺乳动物的细胞密度,再依据研究的目的进行改进和优化分离获得需要的白细胞。

本研究参考 Katzenback 等^[19]分离金鱼肾中性粒细胞和小鼠骨髓中性粒细胞分离的方法^[26],应用鱼类脏器中性粒细胞分离试剂盒,使用适合草鱼肾粒细胞的离心速度获得细胞,再经差异性贴壁,分离纯化获得的细胞纯度达 $(99.3\pm0.53)\%$,细胞活力达 $(97.70\pm0.76)\%$,可以释放 MPO、ROS、NO 和 NETs,具有很好的氧和氮呼吸爆发活性。

分离方法虽使用了规范化的试剂盒,但是不同鱼类的粒细胞密度不同,制成梯度界面时要反复尝试,调整好合适的比例和离心速率,找到适合草鱼中性粒细胞分离的最佳条件。该方法操作方便简单,省时省力,重复性高,可以满足相关的后续细胞功能研究。但离心速度是细胞分离效果的关键步骤,离心速度过高、过低都直接影响中性粒细胞分离纯度及回收率,否则分离效果不理想;每次实验应使用相同规格的离心管,标本量应基本一致。

NUE 是髓系细胞分化的终末细胞,生命周期短,一般在外周血的寿命为 24~48 h。分离获得的细胞在体外培养 24 h,细胞的存活率可保持在 $(89.91\pm3.56)\%$ 以上,与 Katzenback 等^[19]报道的金鱼肾中性粒细胞样细胞培养 24 h 的结果相似;随着体外培养时间由 48 h 延长至 72 h,细胞存活率由 $(65.12\pm5.50)\%$ 下降至 $(29.69\pm1.64)\%$,存活率下降较快,提示体外培养 24 h 之内的细胞可以开展体外实验。关于中性粒细胞体外培养后细胞功能稳定的时间尚无共识,目前也尚未有分离获得体外稳定培养的中性粒细胞系,这也是中性粒细胞体外研究的瓶颈。关于建立稳定的中性粒细胞分离方法和体外培养后细胞功能稳定时间是研究中性粒细胞体外实验的关键。因此后续研究将进一步探究便捷稳定的分离条件和延长中性粒细胞在体外培养活性的方法与技术,为 NEU 的体外功能研究提供有利条件。

综上所述,本研究分离获得草鱼肾中性粒细胞纯度高、活力好,可作为体外免疫实验的材料,为后续开展中性粒细胞功能和免疫机制研究奠定了基础。

参考文献:

- [1] Fisheries Administration Bureau of Ministry of Agriculture and Rural Affairs. China Fisheries Statistical Yearbook in 2020[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2020: 47. [农业农村部渔业渔政管理局. 2020 年中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2020: 47.]
- [2] Phillipson Mia, Kubes Paul. The neutrophil in vascular inflammation[J]. Nature Medicine, 2011(11): 1381-1390.
- [3] Malhotra S, Limoli D H, English A E, et al. Mixed communities of mucoid and nonmucoid *Pseudomonas aeruginosa*

- exhibit enhanced resistance to host antimicrobials[J]. *mBio*, 2018, 9(2): e00275-18.
- [4] Parker Heather, Dragunow Mike, Hampton Mark B, et al. Requirements for NADPH oxidase and myeloperoxidase in neutrophil extracellular trap formation differ depending on the stimulus[J]. *Journal of Leukocyte Biology*, 2012, 92(4): 841-849.
- [5] Kong W, Zhao J, Kang H, et al. ChIP-seq reveals the global regulator AlgR mediating cyclic di-GMP synthesis in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Nucleic Acids Research*, 2015, 43(17): 8268-8282.
- [6] Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria[J]. *Science*, 2004, 303 (5663): 1532-1535.
- [7] Wei Z, Zhang X, Wang J, et al. The formation of canine neutrophil extracellular traps induced by sodium arsenic in polymorphonuclear neutrophils[J]. *Chemosphere*, 2017, 196: 297-302.
- [8] Liu T, Wang F P, Wang G, et al. Role of neutrophil extracellular traps in asthma and chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Chinese Medical Journal*, 2017, 4(6): 730.
- [9] Chi H, Sun L. Neutrophils of *Scophthalmus maximus* produce extracellular traps that capture bacteria and inhibit bacterial infection[J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 2016, 56: 7-12.
- [10] Zhao M L, Chi H, Sun L. Neutrophil extracellular traps of *Cynoglossus semilaevis*: production characteristics and anti-bacterial effect[J]. *Frontiers in Immunology*, 2017, 8: 290.
- [11] Wen L L. Antimicrobial components of neutrophil extracellular traps in *Cynoglossus semilaevis*[D]. Qingdao: Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2018. [温丽联. 半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*)中性粒细胞胞外陷阱抗菌组分研究[D]. 青岛: 中国科学院海洋研究所, 2018.]
- [12] Sun J X, Wang S C, Cao Y R, et al. Cadmium exposure induces apoptosis, inflammation and immunosuppression through CYPs activation and antioxidant dysfunction in common carp neutrophils[J]. *Fish and Shellfish Immunology*, 2020, 99(4): 284-290.
- [13] Pijanowski L, Kemenade B, Chadzinska M. Chemokine CXCL1 stimulates formation of NETs in trunk kidney neutrophils of common carp[J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 2020, 103(2): 103521.
- [14] Zheng X L, LUO B, Mei Z Q, et al. Isolation and purification of human peripheral blood neutrophils using Percoll and immunomagnetic microbeads[J]. *Modern Medicine and Health*, 2011, 27(18): 2723-2724. [郑小莉, 罗波, 梅志强, 等. Percoll 分离法结合免疫磁珠法分离提纯人外周血中性粒细胞方法的建立[J]. *现代医药卫生*, 2011, 27(18): 2723-2724.]
- [15] Johnnidis J B, Harris M H, Wheeler R T, et al. Regulation of progenitor cell proliferation and granulocyte function by micrRNA-223[J]. *Nature*, 2008, 451(7182): 1125-1129.
- [16] Chen Q Z, Li Y N, Shao J Z, et al. The separation of lymphocyte from peripheral blood of fish[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 1999, 6(4): 10-12. [陈全震, 李亚南, 邵健忠, 等. 鱼类外周血淋巴细胞的分离技术[J]. *中国水产科学*, 1999, 6(4): 10-12.]
- [17] Feng P J, Lu Q, Li L R, et al. Isolation and in vitro culture of peripheral blood leukocytes from common carp[J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2004(4): 369-371. [丰培金, 卢强, 李莲瑞, 等. 鲤鱼外周血白细胞的分离和体外培养[J]. *中国兽医学报*, 2004(4): 369-371.]
- [18] Li C, Cheng M, Wang R L, et al. The optimal separation condition of leucocytes in peripheral blood and the blood cell index in tilapia[J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2009, 24(5): 10-14. [李超, 陈明, 王瑞罗, 等. 罗非鱼外周血白细胞分离与血细胞指数研究[J]. *大连水产学院学报*, 2009, 24(5): 10-14.]
- [19] Katzenback B A, Belosevic M. Isolation and functional characterization of neutrophil-like cells, from goldfish (*Carassius auratus* L.) kidney[J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 2009, 33(4): 601-611.
- [20] Lei X B, Chang O Q, Shi C B, et al. *Journal of Fisheries of China*, 2013, 37(6): 840-850. [雷雪彬, 常藕琴, 石存斌, 等. 草鱼头肾发生组织学与免疫组织化学观察[J]. *水产学报*, 2013, 37(6): 840-850.]
- [21] Chen W X, Zhu H L, Xue M, et al. Comparison of myeloperoxidase staining results of four kinds of potassium iodide and hydrogen peroxide methods[J]. *Chinese Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 2008(5): 497-501. [陈万新, 朱红琳, 薛梅, 等. 4 种碘化钾-过氧化氢法髓过氧化物酶染色结果比较[J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2008(5): 497-501.]
- [22] Lieschke G J, Oates A C, Crowhurst M O, et al. Morphologic and functional characterization of granulocytes and macrophages in embryonic and adult zebrafish[J]. *Blood*, 2001, 98(10): 3087-3096.
- [23] Kemenade B, Groeneveld A, Rens B, et al. Characterization of macrophages and neutrophilic granulocytes from the pronephros of carp (*Cyprinus carpio*)[J]. *Journal of Experimental Biology*, 1994, 187(1): 143-158.
- [24] Wang X D, Sun X J, Liu E X, et al. Microstructure and ultrastructure of zebrafish spleen[J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2019, 54(2): 222-235. [王新栋, 孙雪婧, 刘恩雪, 等. 斑马

- 鱼脾显微与超微结构[J]. 动物学杂志, 2019, 54(2): 222-235.]
- [25] Hansson M, Olsson I, Nauseef W M. Biosynthesis, processing, and sorting of human myeloperoxidase[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2006, 445(2): 214-224.
- [26] Yang L, Tian L, Zhou X, et al. Isolation, purification and activity detection of mouse bone marrow neutrophils[J]. Journal of Capital Medical University, 2018, 39(5): 699-703. [杨琳, 田蕾, 周璇, 等. 小鼠骨髓中性粒细胞分离纯化及活性检测研究[J]. 首都医科大学学报, 2018, 39(5): 699-703.]
- [27] Hurtado N M, Makni M K, Gougerot P M A, et al. Assessment of priming of the human neutrophil respiratory burst[J]. Methods in molecular biology (Clifton, N.J.), 2014, 1124: 405-416.
- [28] Wang Y, Li C X, Sun X W, et al. Optimization and improvement of the method of separation of peripheral blood neutrophils in rats[J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2019, 55(12): 108-112. [王芸, 李春晓, 孙向婉, 等. 大鼠外周血嗜中性粒细胞分离方法的优化改良[J]. 中国兽医杂志, 2019, 55(12): 108-112.]
- [29] Crowhurst M O, Layton J E, Lieschke G J. Developmental biology of zebrafish myeloid cells[J]. The International Journal of Developmental Biology, 2002, 46(4): 483-492.

Isolation, identification, and activity detection of neutrophils from the grass carp kidney

CHANG Ouqin¹, HUO Lixia^{1,2}, LUO Manlin², SHI Cunbin¹, ZHANG Defeng¹, PAN Houjun¹, REN Yan¹

1. Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences; Key Laboratory of Fishery Drug Development, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; Key Laboratory of Aquatic Animal Immune Technology, Guangdong Province, Guangzhou 510380, China;
2. South China Agricultural University, Guangzhou 510225, China

Abstract: Neutrophils are the most abundant non-specific immune cells and are critical in researching pathogen invasion resistance. Providing abundant cellular materials is fundamental for understanding the function and immune defense mechanisms of neutrophils. In the study, neutrophils were isolated from grass carp kidneys using a fish-tissue neutrophils isolation kit. The neutrophils were purified by the differential adherent method, and their morphology was identified by Diff's staining and electron microscopy. The characteristic enzyme myeloperoxidase (MPO) was identified by potassium iodide and pyrro-red G staining. Using a multifunctional microplate reader, its activity was detected by the ability to express MPO and the ability to release reactive oxygen species (ROS) and nitric oxide (NO), stimulated with Phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA). Neutrophils could also form neutrophil extracellular traps (NETs). The expression of MPO and the ability to release ROS, NO, and NETs were detected by a multifunctional enzyme plate analyzer. Survival was detected by the trypan blue staining and CCK-8. Results showed that the isolated cells had the morphological characteristics of neutrophils: they were uniform in size, with round or kidney-shaped nuclei, had type A and B particles in the cytoplasm, and indicated the characteristic enzyme of MPO by staining. Purity reached (99.3±0.53)%, the number of viable cells reached (97.70±0.76)%, and the viability remained at (89.91±3.56)% after they were cultured in vitro for 24 h. By stimulation with PMA, the expression of MPO, ROS, NO, and NETs was significantly increased and positively correlated with time. The method of isolating neutrophils from grass carp was successfully established in this study, as the neutrophils showed increased vitality. Furthermore, this study provides a foundation for further research on the function and immune mechanism of fish neutrophils.

Key words: *Ctenopharyngodon idella*; neutrophils; isolation; identification; activity detection

Corresponding author: SHI Cunbin. E-mail: shicunbin2006@163.com

DOI: 10.12264/JFSC2021-0191

鲹科鱼类 DNA 条形码分类系统

杨龙^{1,2,3}, 李昂^{2,3}, 李步苏^{2,3}, 王焕^{2,3}, 柳淑芳^{2,3*}, 庄志猛²

1. 浙江海洋大学水产学院, 浙江 舟山 316022;

2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 农业农村部海洋渔业可持续发展重点实验室, 山东 青岛 266071;

3. 青岛海洋科学与技术试点国家实验室, 海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室, 山东 青岛 266071

摘要: 为了验证 DNA 条形码在鲹科(Carangidae)鱼类物种鉴定和系统分类中的适用性, 本研究自测 6 属 7 种 17 条序列, 同时筛选了 BOLD 数据库中的有效序列, 共获得 25 属 95 种 273 条鲹科鱼类 DNA 条形码序列, 通过 BLAST 比对、遗传距离和系统关系树, 构建了鲹科鱼类的 DNA 条形码分类系统。结果表明: (1) 鲹科鱼类属间、种间、属内种间和种内三级分类单元遗传距离的平均水平分别为 0.186、0.169、0.090 和 0.008, 种间平均遗传距离是种内平均遗传距离的 21 倍, 可见 DNA 条形码适用于鲹科鱼类分类鉴定; (2) 运用 DNA 条形码技术可以识别出形态鉴定有误的物种, 表明 DNA 条形码可以弥补传统形态学鉴定的局限性, 可对鲹科鱼类形态学分类结果进行精准修正; (3) 鲹科鱼类 DNA 条形码分析表明, BOLD 数据库中仍存在一定的“同种异名”和“异种同名”现象, 建议使用该数据库信息时应严格评估信息的准确性; (4) 鲹科鱼类系统发生关系研究对物种的分类地位提出了新的见解, 即拟鲳鲹(*Parona signata*)和镰鳍波线鲹(*Lichia amia*)亲缘关系较近, 支持将二者均归为鲳鲹亚科(Trachinotinae)。本研究旨在为丰富鲹科鱼类 DNA 条形码数据, 完善鲹科 DNA 条形码分类系统, 并为鲹科鱼类物种鉴定和系统分类提供分子证据。

关键词: 鲹科; DNA 条形码; 分类鉴定; 系统关系

中图分类号: S931

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2021)12-1523-13

鲹科(Carangidae)隶属硬骨鱼纲鲈形目(Perciformes), 为海洋中上层洄游性鱼类, 广泛分布于印度洋、太平洋和大西洋, 特别是热带和亚热带海域。鲹科鱼类具有种类多、数量大, 且生长速度快、肉质鲜美、营养丰富等特点, 是世界重要暖水性和暖温性海洋经济鱼类。以日本为例, 近几年五条鲷(*Seriola quinqueradiata*)、高体鲷(*Seriola dumerili*)和黄尾鲷(*Seriola lalandi*) 3 种鲹科鲷属(*Seriola*)鱼类养殖产量占日本海水养殖鱼类总产量的 56%以上^[1]。当前我国近海渔业资源严重衰退, 为缓解资源生态压力、保障优质蛋白供给, 亟需拓展大洋洄游性鱼类资源的开发利用。

鲹科鱼类恰恰是未来深远海捕捞和养殖开发的主要对象。鲹科种类繁多, 且近缘种形态相近, 传统形态学方法对其进行的研究具有较大的局限性。Gushiken 等^[2]根据外部形态和解剖学特征将鲹科鱼类分为鲹亚科(Caranginae)、鲳鲹亚科(Trachinotinae)、鲷亚科(Naucratinae)和似鲹亚科(Scombrodinae), 包括 32 属 140 种。学者们对我国分布的鲹科物种数意见尚不统一, 孟庆闻等^[3]报道我国约有 21 属 58 种鲹科鱼类, 而黄宗国等^[4]认为我国的鲹科记录种有 74 种。鲹科鱼类的准确分类鉴定是其资源养护和可持续开发利用的前提, 因此, 鲹科鱼类 DNA 条形码研究具有重要科学意义和

收稿日期: 2021-04-23; **修订日期:** 2021-05-18.

基金项目: 国家自然科学基金项目(42076132); 中国水产科学研究院基本科研业务费资助项目(2021JC01); 国家海洋水产种质资源库项目。

作者简介: 杨龙(1994-), 男, 硕士研究生, 研究方向为渔业资源分子生态学. E-mail: 1262804971@qq.com

通信作者: 柳淑芳, 研究员, 研究方向为渔业资源分子生态学. E-mail: liusf@ysfri.ac.cn

经济学意义。

DNA 条形码提供了遗传学分类标准,是对传统形态学分类方法的完善和发展,目前已广泛应用于生物分类鉴定工作。采集鲮科 DNA 条形码信息是丰富其物种多样性认识、理清“同种异形”和“异种同形”现象、发现新物种和隐存种的便捷途径之一,能为鲮科鱼类遗传变异和进化规律研究提供可靠数据。迄今,关于鲮科鱼类 DNA 条形码的报道较少,且仅是针对部分物种或特定海域样品开展的研究,如:许则滩等^[5]利用 COI 序列对舟山普陀海域 7 属 8 种 18 尾鲮科鱼类的 DNA 条形码和物种多样性进行了研究分析;Jaafar 等^[6]对马来群岛海域的 36 种鲮的 COI 基因进行了序列分析,发现其遗传距离范围变化趋势与分类层次结构的期望基本保持一致等。本研究拟在自行采集鲮科鱼类标准 DNA 条形码的基础上,广泛获取 BOLD (Barcode of Life Data)数据库中的有效鲮科鱼类 DNA 条形码序列,探讨 DNA 条形码技术对鲮科鱼类的识别效率,弥补传统形态学鉴定方法的局限和不足,旨在丰富鲮科鱼类 DNA 条形码数据库、完善 DNA 条形码分类系统,为物种鉴定及其系统关系构建等提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

17 份鲮科鱼类组织样品来自“中国渔业生物 DNA 条形码样本库”,均采自中国南海。根据形态学特征^[7],初步鉴定为 7 属 7 种,分别为叶鲮属(*Atule*)的游鳍叶鲮(*Atule mate*)、丝鲮属(*Alectis*)的印度丝鲮(*Alectis indica*)、副业鲮属(*Alepes*)的克氏副叶鲮(*Alepes klein*)、若鲮属(*Carangoides*)的高体若鲮(*Carangoides equula*)、大甲鲮属(*Megalaspis*)的大甲鲮(*Megalaspis cordyla*)、拟鲮属(*Pseudocaranx*)的黄带拟鲮(*Pseudocaranx dentex*)及竹荚鱼属(*Trachurus*)的日本竹荚鱼(*Trachurus japonicus*)。

1.2 DNA 提取、扩增和测序

使用 TIANGEN 公司的 TIANamp Marine Animals DNA Kit 试剂盒提取样本 DNA(具体操作方法参考 TIANGEN 使用说明书)。COI 基因序列

扩增引物参考 Ward 等^[8]研究:

FishF1: 5'-TCAACCAACCACAAAGACATT-GGCAC-3',

FishR1: 5'-TAGACTTCTGGGTGGCCAAAG-AATCA-3'。

PCR 反应总体积为 25 μ L,其中包含: MIX 反应体系 12.5 μ L,引物各 1 μ L,模板 2 μ L,再加超纯水补至 25 μ L。PCR 反应条件为: 95 $^{\circ}$ C 预变性 2 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 0.5 min, 52 $^{\circ}$ C 退火 0.5 min 和 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 35 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min; 最后保持在 4 $^{\circ}$ C。扩增产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测,达标产物送往青岛 BGI 华大基因双向测序。

1.3 COI 序列处理

利用 DNA Star (<https://www.dnastar.com>)软件对每个样品正反向测序结果进行拼接,并辅以人工校对,校对后的序列同 NCBI 数据库进行相似性比对,以确保鉴定结果的准确性。

从 BOLD 数据库(<http://v4.boldsystems.org/index.php/>)下载鲮科鱼类 COI 序列。经筛选和分析,获取 BOLD 数据库鲮科 24 属 88 种 256 条 DNA 条形码序列(表 1)。合并自测鲮科鱼类 COI 基因序列和 BOLD 下载数据。本研究建立的鲮科鱼类 DNA 条形码分类系统,经初步统计,包括 4 亚科 26 属 95 种 273 条序列,包括了鲮科鱼类记录种的 67.86%,占鲮科属级分类的 81.25%。同时,下载斑马鱼(*Danio rerio*) DNA 条形码序列作为系统树的外类群序列。

通过 MEGA 6.0 软件对所有序列进行比对,计算序列的长度、碱基组成、GC 含量、简约信息位点等参数(表 2)。基于 Kimura-2-parameter (K2P)双参数模型分别计算属间(intergeneric)、种间(interspecific)、属内种间(interspecific within genera)和种内(intraspecific)三级分类单元遗传距离。利用 MEGA 6.0 软件构建邻接法(neighbor joining, NJ)系统树,同时采用 PAUP 4.0 软件构建最大简约法(maximum parsimony, MP)系统树进行两组结果相互对照和验证。系统树可信度均采用 bootstrap 检验,经 1000 次重复抽样检验得到分支树节点支持率。

表 1 95 种鲹科鱼类 DNA 条形码信息
Tab. 1 DNA barcode information of 95 species of carangidae

亚科 subfamily	属 genus	种 species	条数 number	序列号 accession no.
鲹亚科 Caranginae	叶鲹属 <i>Atule</i>	游鳍叶鲹 <i>Atule mate</i>	2	自测 sequenced in this study
	丝鲹属 <i>Alectis</i>	印度丝鲹 <i>Alectis indica</i>	2	自测 sequenced in this study
		亚历山大丝鲹 <i>Alectis alexandrina</i>	2	BIM076-13 GBMIN121540-17
	副叶鲹属 <i>Alepes</i>	克氏副叶鲹 <i>Alepes klein</i>	3	自测 sequenced in this study
		细尾副叶鲹 <i>Alepes apercna</i>	3	GBGCA11488-15 GBGCA11489-15 GBGCA11490-15
		黑鳍副叶鲹 <i>Alepes melanoptera</i>	3	DBMF016-10 DBMF028-10 DBMF042-10
		范氏副叶鲹 <i>Alepes vari</i>	3	DBMF282-10 DBMF002-10 DBMF283-10
	钩鲹属 <i>Atropus</i>	沟鲹 <i>Atropus atropus</i>	3	DBMF040-10 DBMF057-10 DBMF384-10
	若鲹属 <i>Carangoides</i>	高体若鲹 <i>Carangoides equula</i>	2	自测 sequenced in this study
		甲若鲹 <i>Carangoides armatus</i>	3	DBMF153-10 DBMF150-10 DBMF397-10
		橘点若鲹 <i>Carangoides bajad</i>	3	DBMF246-10 FOAN488-11 FOAN527-11
		长吻若鲹 <i>Carangoides chrysophrys</i>	3	CFCS028-08 CFCS029-08 CFCS227-08
		青羽若鲹 <i>Carangoides coeruleopinnatus</i>	3	DBMF046-10 DBMF176-10 DBMF238-10
		黄点若鲹 <i>Carangoides fulvoguttatus</i>	3	DBMF243-10 DBMF244-10 DBMF245-10
		裸胸若鲹 <i>Carangoides gymnostethus</i>	3	DBMF171-10 DBMF174-10 DBMF338-10
		海兰德若鲹 <i>Carangoides hedlandensis</i>	3	DBMF009-10 DBMF116-10 DBMF120-10
		马拉巴若鲹 <i>Carangoides malabaricus</i>	3	DBMF062-10 FOA1137-08 FOAJ505-09
		横带若鲹 <i>Carangoides plagiotaenia</i>	2	SAIAB049-06 SAIAB551-07
		白舌若鲹 <i>Carangoides talamparoides</i>	2	DBMF067-10 FMVIC728-08
	鲹属 <i>Caranx</i>	蓝点鲹 <i>Caranx bucculentus</i>	3	FOAC443-05 FOAC445-05 FOAL909-10
		犬鲹 <i>Caranx caninus</i>	3	RDFCA231-05 RFE270-05 SEMAR100-10
		金鲹 <i>Caranx crysos</i>	3	BIM118-13 BIM119-13 BIM161-13

(待续 to be continued)

(续表 1 Tab. 1 continued)

亚科 subfamily	属 genus	种 species	条数 number	序列号 accession no.
鲹亚科 Caranginae	鲹属 <i>Caranx</i>	黑眼鲹 <i>Caranx latus</i>	3	MFSP377-10 MFSP421-10 MFSP427-10
		阔步鲹 <i>Caranx lugubris</i>	3	AUSTR481-13 DSFSG867-13 MBFB045-07
		泰勒鲹 <i>Caranx tille</i>	3	DBMF634-10 DBMF706-10 DBMF773-10
		大马鲹 <i>Caranx caballus</i>	3	RDFCA268-05 RDFCA270-05 RDFCA384-05
		希伯氏鲹 <i>Caranx heberi</i>	3	DSFSG944-13 DSLAF740-08 DSLAF744-08
		马鲹 <i>Caranx hippos</i>	3	FOAC497-05 FOAC498-05 FOAC499-05
		浪人鲹 <i>Caranx ignobilis</i>	3	BTL062-10 BTL064-10 DBMF565-10
		蓝鳍鲹 <i>Caranx melampygus</i>	3	KANB110-17 MARQ343-12 SAIAB414-06
		巴布亚鲹 <i>Caranx papuensis</i>	3	GAMBA088-12 LIFS296-08 MBFB042-07
		六带鲹 <i>Caranx sexfasciatus</i>	3	BIFB247-13 BIFD1742-14 DBMF005-10
	鲭鲷属 <i>Chloroscombrus</i>	绿鲭鲷 <i>Chloroscombrus chrysurus</i>	3	FBW033-14 FBW035-14 FBW036-14
圆鲹属 <i>Decapterus</i>		红尾圆鲹 <i>Decapterus akaadsi</i>	3	ABFJ204-07 FSCS194-06 FSCS195-06
		无斑圆鲹 <i>Decapterus kurroides</i>	3	DBMF651-10 DBMF653-10 DBMF670-10
		颌圆鲹 <i>Decapterus macarellus</i>	3	DSLAR375-08 DSLAR376-08 DSLAR473-09
		长身圆鲹 <i>Decapterus macrosoma</i>	3	DBMF278-10 DBMF281-10 DBMF550-10
		穆氏圆鲹 <i>Decapterus muroadsi</i>	3	FOAF558-07 FOAF559-07 FOAF560-07
		黑点圆鲹 <i>Decapterus punctatus</i>	3	MFLII520-07 SCAFB627-07 SCAFB628-07
		罗氏圆鲹 <i>Decapterus russelli</i>	3	BIM164-13 DSLAF435-07 DSFSE232-07
		泰伯圆鲹 <i>Decapterus tabl</i>	3	MLIII375-08 MLIII525-08 UNAFI001-18

(待续 to be continued)

(续表 1 Tab. 1 continued)

亚科 subfamily	属 genus	种 species	条数 number	序列号 accession no.	
鲈亚科 Caranginae	无齿鲈属 <i>Gnathanodon</i>	无齿鲈 <i>Gnathanodon speciosus</i>	3	DBMF508-10 DBMF510-10 DBMF511-10	
		大甲鲈属 <i>Megalaspis</i>	大甲鲈 <i>Megalaspis cordyla</i>	3	自测 sequenced in this study
		乌鲈属 <i>Parastromateus</i>	乌鲈 <i>Parastromateus niger</i>	3	DBMF044-10 DBMF073-10 DBMF189-10
	拟鲈属 <i>Pseudocaranx</i>	黄带拟鲈 <i>Pseudocaranx dentex</i>	3	自测 sequenced in this study	
		乔奇拟鲈 <i>Pseudocaranx georgianus</i>	3	FMVIC822-08 FMVIC823-08 FMVIC824-08	
		沙拟鲈 <i>Pseudocaranx wrighti</i>	3	FMVIC825-08 FMVIC826-08 FMVIC827-08	
	凹肩鲈属 <i>Selar</i>	牛目凹肩鲈 <i>Selar boops</i>	3	DBMF012-10 DBMF125-10 DBMF127-10	
		脂眼凹肩鲈 <i>Selar crumenophthalmus</i>	3	DBMF001-10 DBMF013-10 DBMF036-10	
	月鲈属 <i>Selene</i>	布雷氏月鲈 <i>Selene brevoortii</i>	3	MFC015-08 MOP146-12 MOP663-12	
		太平洋月鲈 <i>Selene peruviana</i>	3	FISHP021-15 FISHP022-15 FISHP023-15	
		大西洋月鲈 <i>Selene setapinnis</i>	3	BCOLL431-08 BCOLL432-08 BCOLL433-08	
		突颌月鲈 <i>Selene vomer</i>	3	BAHIA137-14 BAHIA138-14 CFSAN082-11	
	竹荚鱼属 <i>Trachurus</i>	日本竹荚鱼 <i>Trachurus japonicus</i>	2	自测 sequenced in this study	
		南非竹荚鱼 <i>Trachurus capensis</i>	3	ANGBF7097-12 ANGBF7186-12 ANGBF7187-12	
		青背竹荚鱼 <i>Trachurus declivis</i>	3	FMVIC383-08 FMVIC829-08 FMVIC833-08	
		沙竹荚鱼 <i>Trachurus delagoa</i>	3	DSFSG489-11 DSLAGE1326-11 DSLAGE770-10	
		粗鳞竹荚鱼 <i>Trachurus lathami</i>	3	FARG460-08 FARG553-08 GBMIN124525-17	
		地中海竹荚鱼 <i>Trachurus mediterraneus</i>	3	BIM155-13 BIM283-13 BIM547-18	
		智利竹荚鱼 <i>Trachurus murphyi</i>	3	DSFSG941-13 FCHIL053-06 FCHIL172-06	
		新西兰竹荚鱼 <i>Trachurus novaezelandiae</i>	3	FOAC461-05 FOAK561-10 FOAK578-10	
		蓝竹荚鱼 <i>Trachurus picturatus</i>	3	BIM548-18 BIM550-18 BIM467-16	

(待续 to be continued)

(续表 1 Tab. 1 continued)

亚科 subfamily	属 genus	种 species	条数 number	序列号 accession no.
鲹亚科 Caranginae	竹荚鱼属 <i>Trachurus</i>	太平洋竹荚鱼 <i>Trachurus symmetricus</i>	3	AMS935-08 FMV191-08 UKFBJ117-08
		竹荚鱼 <i>Trachurus trachurus</i>	3	BIM036-13 BNSF027-11 BNSF028-11
		短线竹荚鱼 <i>Trachurus trecae</i>	2	IPMAF007-18 IPMAF008-18
	羽鳃鲹属 <i>Ulua</i>	短丝羽鳃鲹 <i>Ulua mentalis</i>	3	DBMF041-10 DBMF533-10 DBMF534-10
	尾甲鲹属 <i>Uraspis</i>	白舌尾甲鲹 <i>Uraspis helvola</i>	2	GBMIN124989-90 NNPF125-10
		棉口尾甲鲹 <i>Uraspis secunda</i>	3	FOA1767-09 FOAJ538-09 AMS919-08
		白口尾甲鲹 <i>Uraspis uraspis</i>	3	DBMF024-10 DBMF051-10 DBMF555-10
	似鲹亚科 Scombrodinae	革鲹属 <i>Oligoplites</i>	3	MFSP519-10 MFSP521-10 MFSP606-10
		革鲹 <i>Oligoplites saurus</i>	2	MFSP606-10 SMSA262-09
	拟鲳鲹属 <i>Parona</i>	拟鲳鲹 <i>Parona signata</i>	3	FARG062-06 FARG063-06 FARG064-06
	逆钩鲹属 <i>Scomberoides</i>	逆钩鲹 <i>Scomberoides lysan</i>	3	FOAM608-10 FTWS780-09 DBFN279-12
		横斑似鲹 <i>Scomberoides tala</i>	3	DBMF096-10 DBMF097-10 DBMF098-10
		革似鲹 <i>Scomberoides tol</i>	3	ANGEN180-15 DBMF102-10 DBMF101-10
	鲷亚科 Naucratinae	鲷属 <i>Seriola</i>	3	DBMF782-10 DBMF784-10 CFCS024-08
		马鲷 <i>Seriola hippos</i>	3	FOAC497-05 FOAC498-05 FOAC499-05
		长鳍鲷 <i>Seriola rivoliana</i>	3	CFSAN118-11 DSFSG483-11 ANGBF10671-12
		环带鲷 <i>Seriola zonata</i>	3	MFSP490-10 MFSP491-10 MFSP557-10
	小甘鲷属 <i>Seriolina</i>	小甘鲷 <i>Seriolina nigrofasciata</i>	3	DBMF033-10 DBMF052-10 DBMF568-10
	带鲷属 <i>Elagatis</i>	双带鲷 <i>Elagatis bipinnulata</i>	3	COFPL051-15 DBMF644-10 DBMF648-10
	黑带鲷属 <i>Naucrates</i>	黑带鲷 <i>Naucrates ductor</i>	3	DSL830-10 FTWS554-09 SCS418-16

(待续 to be continued)

(续表 1 Tab. 1 continued)

亚科 subfamily	属 genus	种 species	条数 number	序列号 accession no.
鲷亚科 Trachinotinae	鲷属 <i>Trachinotus</i>	非洲鲷 <i>Trachinotus africanus</i>	3	FOAH845-08 FOAH846-08 TZMSC063-05
		阿訶鲷 <i>Trachinotus anak</i>	2	FOAC409-05 FOAC410-05
		斐氏鲷 <i>Trachinotus bailloni</i>	3	DBMF106-10 DBMF107-10 DBMF108-10
		布氏鲷 <i>Trachinotus blochii</i>	3	NNPF154-10 DBMF055-10 FOAM499-10
		大斑鲷 <i>Trachinotus botla</i>	3	TZMSA220-04 TZMSA300-04 TZMSC524-05
		北美鲷 <i>Trachinotus carolinus</i>	3	BCOLL391-08 MXV298-11 MXV299-11
		科氏鲷 <i>Trachinotus coppingeri</i>	3	FOAD511-05 FOAD512-05 FOAD514-05
		镰鳍鲷 <i>Trachinotus falcatus</i>	3	MFLE348-13 MLIII183-08 MLIII196-08
		穀氏鲷 <i>Trachinotus goode</i>	3	BZLWD654-09 MFSP141-09 MFSP143-09
		长鳍鲷 <i>Trachinotus goreensis</i>	3	BAFEN355-10 BAFEN356-10 BAFEN357-10
		穆克鲷 <i>Trachinotus mookalee</i>	3	GBMIN119993-17 GBMIN124842-17 GBMIN124843-17
		登鲷 <i>Trachinotus stilbe</i>	2	LIDMA1275-12 LIDMA836-11
	波线鲷属 <i>Lichia</i>	镰鳍波线鲷 <i>Lichia amia</i>	3	DNATR805-13 DSLAR113-08 DSLAR177-08

2 结果与分析

2.1 鲷科鱼类 DNA 条形码序列比对分析及其分子多态性

将本研究自测获得的 17 条 DNA 条形码序列在 GenBank 数据库进行 BLAST 比对, 结果显示 17 条序列与数据库中 7 个物种的序列相似性均超过 99%。其中, 6 个物种(印度丝鲷、克氏副叶鲷、高体若鲷、大甲鲷、黄带拟鲷及日本竹荚鱼)与形态学鉴定结果一致; 另外一个物种形态学鉴定为游鳍叶鲷(*Atule mate*), BLAST 比对结果显示该物种 DNA 条形码序列与吉打副叶鲷(*Alepes djedaba*)的相似度达到 99.14%。根据 FishBase (<https://www.fishbase.de/>)中两个物种的形态学特征描

述, 游鳍叶鲷和吉打副叶鲷的外观形态较为相似, 形态学鉴定有误的几率极高; 而 DNA 条形码的相似度分析结果判定该物种为吉打副叶鲷。经综合研判, 判定该物种为吉打副叶鲷。由此, 自测获得的 DNA 条形码序列实际为 6 属 7 种 17 条, 与 BOLD 数据库鲷科 24 属 88 种 256 条序列合并后得到鲷科鱼类 DNA 条形码序列为 25 属 95 种 273 条。

鲷科 4 亚科 25 属 95 种鱼类的 273 条 DNA 条形码序列, 去除两端引物序列保留共有序列 555 bp, 其碱基组成比例为: A 24.2%、G 17.5%、C 27.9%和 T 30.3%, A+T 含量(54.5%)明显高于 G+C 含量(45.4%)。鲷科鱼类 DNA 条形码序列的密码

子碱基组成表现出明显偏倚性,第三位密码子的 A+T 含量最多(60.9%),其次是第二位密码子(58.2%),第一位密码子的 A+T 含量最少(44.6%); G+C 含量最高的则是第一位密码子(55.3%),其次是第二位密码子(41.5%),而第三位密码子 G+C 含量最低(39.5%)(表 2)。序列全部位点中保守位点 329 个,变异位点 226 个,简约信息位点 217 个,单突变位点 9 个。

表 2 密码子第 1 位、第 2 位和第 3 位平均组成统计表
Tab. 2 Statistics of the average composition of the first, second and third codons

碱基 base	总频率 frequency	第 1 位 1st site of codon	第 2 位 2nd site of codon	第 3 位 3rd site of codon
A	24.2	27.6	14.2	30.9
G	17.5	29.6	13.5	9.5
C	27.9	25.7	28	30
T	30.3	17	44	30
A+T	54.5	44.6	58.2	60.9
G+C	45.4	55.3	41.5	39.5

2.2 鲱科鱼类遗传距离

利用 MEGA 6.0 软件基于 K2P 模型计算 25 属 95 种 273 条鲱科鱼类 DNA 条形码的遗传距离(表 3)。结果显示,95 种鲱科鱼类的种内遗传距离范围为 0~0.124,平均值为 0.008。其中 86 种(90.53%)的种内遗传距离为 0~0.02,低于 2%的种间遗传分化界限^[9];有 9 种(9.47%)的种内遗传距离为 0.021~0.124,超过 2%的种间遗传分化界限。例如:白舌若鲱(*Carangoides talamparoides*) 2 条序列(DBMF067-10、FMVIC728-08)的遗传距达到 0.124。经 BOLD 数据库信息溯源,发现白舌若鲱 2 个样本来源地距离相隔甚远,分别来自于马来西亚雪兰莪州附近的马六甲海峡(101.096°E, 3.503°N)和澳大利亚西部(118.853°E, 17.517°S),初步推测出现上述现象的可能原因有: (1) BOLD 数据库中白舌若鲱 DNA 条形码信息不准确,可能是物种鉴定有误所致; (2)白舌若鲱可能存在“异种同名”的现象; (3)该物种的两个个体来自不同地理群,二者之间经长期地理隔离发生的遗传分化已达到种的水平。

种间遗传距离范围为 0.002~0.271,平均值为 0.169。大多数物种种间遗传距离大于 2%,仅有部分物种出现种间遗传距离小于 2%的现象。例如:太平洋竹荚鱼(*Trachurus symmetricus*)和智利竹荚鱼(*Trachurus murphyi*)的种间遗传距离为 0.002,提示这两物种可能存在“同种异名”现象。学者们通常认为, BOLD 数据库中的 DNA 条形码信息准确率较高,并将其作为物种鉴定的标准 DNA 条形码^[10],但鲱科鱼类 DNA 条形码分析表明, BOLD 数据库中仍存在一定的人为鉴定错误或者数据上传信息不准确等情况。由此得到的重要启示是, BOLD 条形码数据库中某些物种信息的准确性尚需严格审核与校准。

属内种间遗传距离范围在 0.022~0.136,平均值为 0.090。其中,竹荚鱼属(*Trachurus*)下物种间遗传距离最小,月鲱属(*Selene*)下物种间遗传距离最大。属间遗传距离范围在 0.037~0.255,平均值为 0.186,副叶鲱属(*Alepes*)和波线鲱属(*Lichia*)间遗传距离最大,沟鲱属(*Atropus*)和羽鳃鲱属(*Ulua*)间遗传距离最小。

经上述分析计算,鲱科鱼类种间遗传距离平均值(0.169)是种内遗传距离平均值(0.008)的 21 倍,符合 Hebert 等^[11]提出的“10×规则”,即物种鉴定到种的最小标准是 COI 基因序列的种间遗传距离为种内遗传距离的 10 倍以上。同时,25 个属间的遗传距离平均值为 0.186,4 个亚科间的遗传距离平均值为 0.203 (表 3)。可见,随着分类单元等级的提高,遗传距离也相应升高。

表 3 不同分类单元遗传距离(K2P)统计表
Tab. 3 Statistical table of genetic distance (K2P)

比较范围 comparative scope	最大值 maximum	最小值 minimum	平均值 mean
亚科间 inter-subfamily	0.208	0.192	0.203
属间 inter-genus	0.255	0.037	0.186
属内种间 inter-species in genus	0.136	0.022	0.090
种间 inter-species	0.271	0.002	0.169
种内 within species	0.124	0	0.008

2.3 鲱科鱼类系统关系树

为全面分析鲱科鱼类 DNA 条形码分类系统,利用 MEGA 6.0 和 PAUP 4.0 软件对鲱科 4 亚科 25

属 95 种鱼类 DNA 条形码分别构建邻接法(NJ)和最大简约法(MP)系统树。NJ 树和 MP 树的聚类结果基本一致, 鲹亚科独自形成单系分支, 鲳鲹亚科、鲷亚科和似鲹亚科 3 个亚科形成另外 3 个单系分支。虽然鲳鲹亚科、鲷亚科和似鲹亚科均为单系, 但稍有区别的是, NJ 树中, 似鲹亚科与鲳鲹亚科先聚为一支, 再与鲷亚科聚为一支; 而 MP 树中, 似鲹亚科与鲷亚科先聚为一支, 再与鲳鲹亚科聚为一支。NJ 树与 MP 树的树形差异, 推测是两个软件基于不同模型和算法所致。

值得关注的是, 拟鲳鲹(*Parona signata*)和镰鳍波线鲹(*Lichia amia*)两个物种的分子分类地位和系统关系与传统的形态学观点不一致。Smith-Vaniz^[12]和 Gushiken^[2]根据外部形态和解剖学特征, 均将拟鲳鲹归到似鲹亚科, 镰鳍波线鲹归为鲳鲹亚科。本研究的 DNA 条形码聚类分析结果显示, 拟鲳鲹和镰鳍波线鲹亲缘关系较近, 二者始终聚为一支, 在 NJ 树中归入似鲹亚科, 而在 MP 树中则归入鲳鲹亚科。为了进一步确认两个物种的分类地位, 本研究对鲳鲹亚科、似鲹亚科和鲷亚科 26 个物种的 DNA 条形码序列利用 NJ 和 MP 两种方法单独重新构建系统发生树, 拟鲳鲹和镰鳍波线鲹两个物种序列分别取 3 条, 黄带拟鲹作为外类群。NJ 和 MP 结果均显示拟鲳鲹和镰鳍波线鲹聚为一个分支后一起被归为鲳鲹亚科。由此可见, 在分子水平上, 拟鲳鲹和镰鳍波线鲹亲缘关系较近, 均应被归为鲳鲹亚科。

另外, 多数同属物种的聚类效果比较理想, 如竹荚鱼属(*Trachurus*) 12 个物种、鲳鲹属(*trachinotus*) 12 个物种、鲹属(*Caranx*) 13 个物种以属为单位全部聚成各自的分支。吉打副叶鲹(*Alepes djedaba*) (本研究最初形态学鉴定为游鳍叶鲹)与克氏副叶鲹(*Alepes kleinii*)聚为一个分支, bootstrap 值达 99, 结合 BLAST 比对结果, 再次验证了该物种的 DNA 条形码鉴定结果的准确性。个别物种的系统关系与传统形态学分类地位稍有出入, 如高体若鲹(*Carangoides equula*)并没有与同属其他个体聚在一起, 而是同拟鲹属(*Pseudocaranx*)聚在一起。

3 讨论

鲹科鱼类广泛分布于全球暖温性海域, 极喜游动的特性使其具有高度发达的肌肉组织, 因而一度成为许多国家或者地区高端食材的来源, 特别在当前近海渔业资源日渐衰竭的大环境下, 鲹科鱼类成为开发大洋性洄游鱼类资源, 发展高产量、高价值鱼类资源生产养殖的首选对象, 具有重要的科学意义和经济价值。对鲹科鱼类的准确分类鉴定, 是研究鲹科鱼类生物多样性、开发优良种质资源和推行渔业资源可持续利用和发展的前提和基础。在传统形态学鉴定有限的情况下, DNA 条形码提供了一种高效、简易的分子分类学标准, 为鲹科鱼类的进化发展及遗传变异提供了分子水平上的证据。本研究获得的 17 条鲹科鱼类 DNA 条形码序列经比对分析为 7 个有效种, 其中有 6 个物种与形态学鉴定结果一致; 另外一个物种形态学鉴定为游鳍叶鲹, 而 DNA 条形码的 BLAST 比对结果和系统发生树均支持该物种为吉打副叶鲹。据 FishBase 资料显示, 这两个物种外观形态相似度较高, 如两物种背鳍均呈暗黄色, 鳍棘均有 9 根, 软条均为 22~25, 而臀鳍鳍条, 游鳍叶鲹为 18~21, 吉打副叶鲹为 18~20, 并且两个物种均在中国南海有分布, 二者形态相似且分布范围有重叠, 导致其形态学鉴别比较困难, 因此鉴定错误的几率较大。DNA 条形码可以弥补传统形态学鉴定方法的局限和不足, 为物种的准确鉴定提供可靠的分子证据。经综合研判, 本研究将该物种鉴定为吉打副叶鲹。

本研究对鲹科 25 属 95 个物种进行种内、种间遗传距离计算时发现, 有部分物种的种内遗传距离大于 2%, 这与 Hebert 提出的 2% 的种间划分界限相冲突。经过相关背景信息溯源, 根据样品的地理分布、曾用名情况等推断可能是形态学鉴定有误、物种存在“异种同名”或者该物种因地理隔离已发生分化等原因。种间遗传距离显示, 有部分物种种间遗传距离小于 2%, 这与 Hebert 理论再次发生冲突。经过曾用名信息溯源和系统关系综合分析, 结果表明部分物种疑似“同种异名”, 提示 BOLD 条形码数据库中确实存在部分数据信

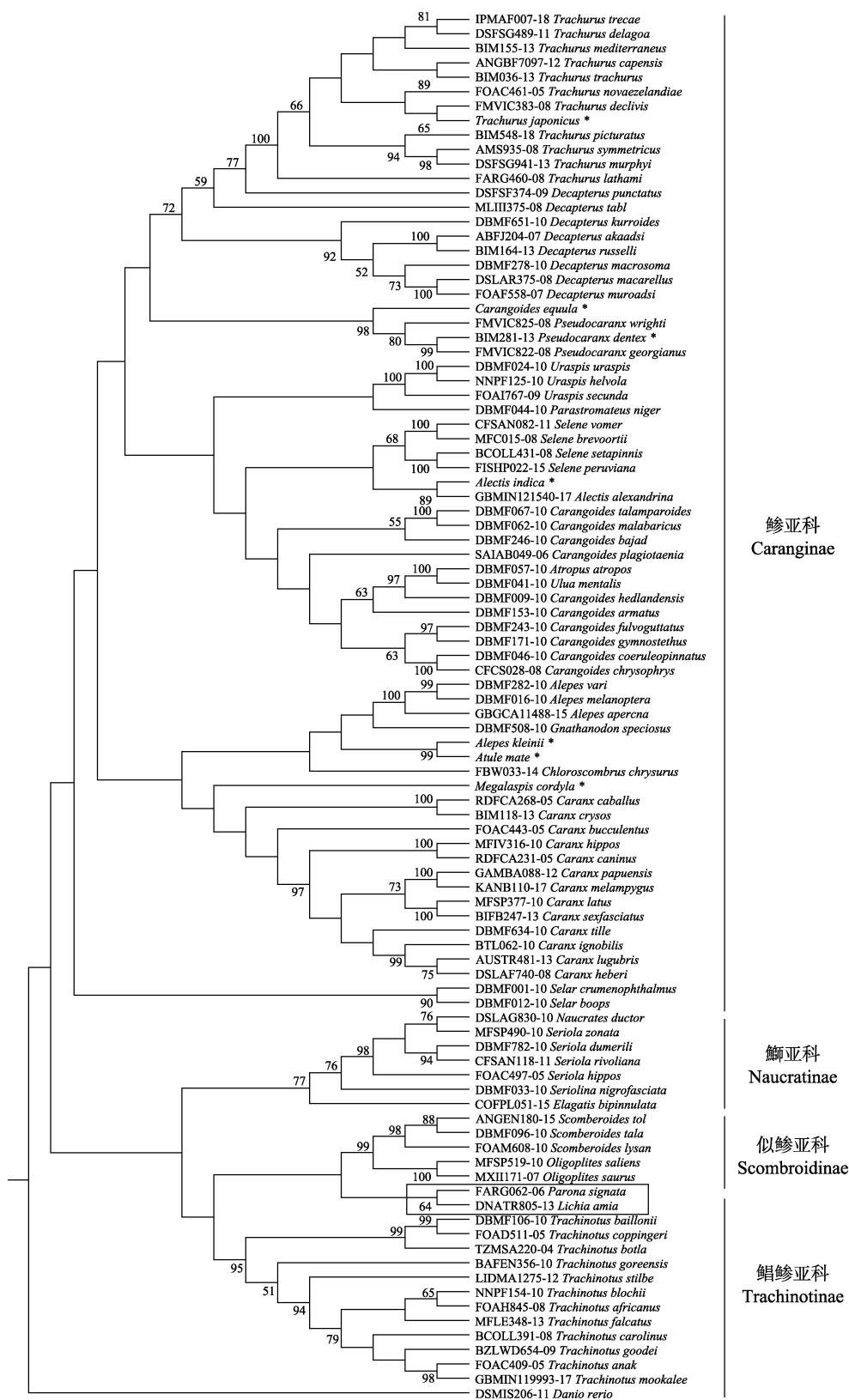


图 1 95 种鲹科鱼类 DNA 条形码 NJ 系统发生树

*表示本研究所测样品。方框内物种为与形态学观点不同的物种。

Fig. 1 Neighbor-joining phylogenetic tree of DNA barcodes for 95 species of Carangidae.

Marked with * are the samples determined in this study. The species in the box are those that are in dispute with the morphological.

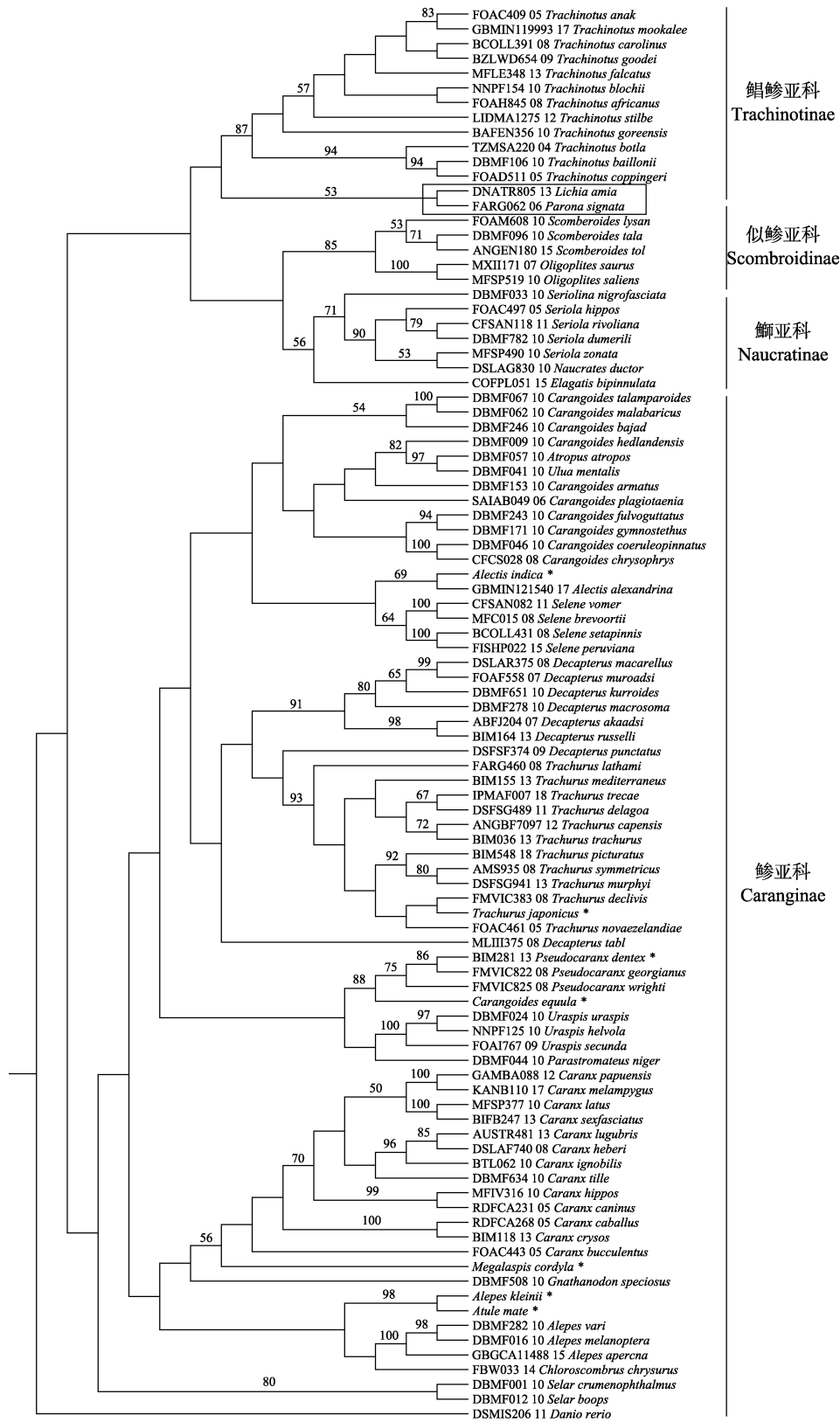


图 2 95 种鲭科鱼类 DNA 条形码 MP 系统发生树

*表示本研究所测样品。方框内物种为与形态学观点不同的物种。

Fig. 2 Maximum parsimony phylogenetic tree of DNA barcodes for 95 species of Carangidae
Marked with * are the samples determined in this study. The species in the box are those that are in dispute with the morphological.

息不准确的情况,导致以上分析结果与实际情况不符。因此,建议使用 BOLD 数据库信息时务必要设法评估信息的准确性,避免不准确的数据对后续研究和结果分析产生干扰和困惑。

本研究对近 70%的鲹科鱼类记录种进行了系统发育分析。系统发生树显示所有物种形成 4 个单系分支,即鲹亚科(Caranginae)、鲳鲹亚科(Trachinotinae)、鲷亚科(Naucratinae)和似鲹亚科(Scombrodinae) 4 个亚科均形成单系分支。两种树形均显示鲷亚科、鲳鲹亚科和似鲹亚科关系较近,聚在一起之后再同鲹亚科聚在一起,与 Jaafar 等^[6]利用 COI 基因通过邻接法(NJ)构建的部分鲹科鱼类系统发育关系相一致。而 Reed^[13]利用线粒体细胞色素 b (Cyt b)通过最大简约法(MP)、最大似然法(ML)以及 Bayesian 方法构建的部分鲹科鱼类系统发育关系表明,鲹亚科和鲷亚科先聚在一起,之后再与鲳鲹亚科聚在一起,最后似鲹亚科同前面三个亚科聚在一起。郑文娟等^[14]利用线粒体 16S rRNA 构建的部分鲹科鱼类线粒体系统发育结果也得出了同 Reed 相似的结论,表明根据不同基因得出的鲹科鱼类的 4 个亚科之间的亲缘关系存在一定差异。Gushiken 等^[2]认为拟鲳鲹和镰鳍波线鲹应分别属于似鲹亚科和鲳鲹亚科,然而本研究中这两个物种聚为一个分支,且在 2 个树形中两个物种被划分到两个不同的亚科,提示在分子水平上 2 个物种亲缘关系较近,之后对 2 个物种重建系统发生树结果更支持将拟鲳鲹和镰鳍波线鲹归为鲳鲹亚科,据此对 2 个物种的分类地位和系统关系提出了新的见解。

综上所述, DNA 条形码分类系统对于鲹科鱼类形态学分类鉴定结果的修正、“同种异名”和“异种同名”现象的澄清提供了有力的分子生物学证据,同时也为系统关系重建提供了必要的补充和修订,可为鲹科鱼类生物多样性保护、优良种质资源开发和渔业资源可持续利用及发展提供理论依据与技术支持。

参考文献:

- [1] Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries of Japan. Annual Statistics of Fishery and Aquaculture Production[R].

- Statistics Department. http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/kaimen_gyosei/attach/pdf/index-7.pdf (in Japanese). 2017.
- [2] Gushiken S. Phylogenetic relationships of the perciform genera of the family Carangidae[J]. Ichthyological Research, 1988, 34(4): 444.
- [3] Meng Q W, Su J X, Liao X Z. Fish Taxonomy[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1995: 532-533. [孟庆闻, 苏锦祥, 缪学祖. 鱼类分类学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995: 532-533.]
- [4] Huang Z G. Marine Species and Their Distributions in China's Seas[M]. Beijing: China Ocean Press, 2008: 666-754. [黄宗国. 中国海洋生物种类与分布[M]. 北京: 海洋出版社, 2008: 666-754.]
- [5] Xu Z T, Wang H P, Gu H M, Cheng Y J. DNA Barcoding Carangids in Putuo Sea[J]. Journal of Zhejiang Ocean University: Natural Science, 2015, 34(2): 105-111. [许则滩, 王红萍, 顾寒梅, 陈永久. 普陀海域鲹科的 DNA 条形码研究[J]. 浙江海洋学院学报: 自然科学版, 2015, 34(2): 105-111.]
- [6] Jaafar T M, Taylor M I, Nor S M, et al. DNA barcoding reveals cryptic diversity within commercially exploited Indo-Malay Carangidae (Teleostei: Perciformes)[J]. PloS ONE, 2012, 7(11): 49623.
- [7] Chen D G, Zhang M Z. Marine Fish of China[M]. Qingdao: Ocean University of China Press, 2015: 1075-1112. [陈大刚, 张美昭. 中国海洋鱼类[M]. 青岛: 中国海洋大学出版社, 2015: 1075-1112.]
- [8] 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.
- [9] Hebert Paul D N, Cywinska Alina, Ball Shelley L, et al. Biological identifications through DNA barcodes[J]. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 2003, 270(1512): 313-320.
- [10] Ratnasingham S, Hebert P D N. BOLD: The barcode of life data system (www.barcodinglife.org)[J]. Molecular Ecology Notes, 2007, 7(3): 355-364.
- [11] Hebert P, Ratnasingham S, Waard J D. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species[J]. Proceedings of the Royal Society B, 2003, 270: 96-99.
- [12] Smith-Vaniz W F. Carangidae: relationships[M]//Moser H G, Richards W J, Cohen D M, et al. Ontogeny and Systematics of Fishes. Amer Soc Ichthyol Herpetol: Special Publication, 1984: 522-533.
- [13] Reed D L, Carpenter K E, deGravelle M J. Molecular sys-

tematics of the Jacks (Perciformes: Carangidae) based on mitochondrial cytochrome b sequences using parsimony, likelihood, and Bayesian approaches[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2002, 23(3): 513-524.

[14] Zheng W J, Zhu S H, Zou J X, et al. Molecular phylogenetic

relationship of Carangidae based on partial sequence of mitochondrial 16S ribosomal RNA gene[J]. Journal of Fisheries of China, 2008, 32(6): 847-854. [郑文娟, 朱世华, 邹记兴, 等. 基于 16S rRNA 部分序列探讨 12 种鲹科鱼类的分子系统进化关系[J]. 水产学报, 2008, 32(6): 847-854.]

DNA barcode analysis: species identification and phylogenetic relationships of the Carangidae family

YANG Long^{1,2,3}, LI Ang^{2,3}, LI Busu^{2,3}, WANG Huan^{2,3}, LIU Shufang^{2,3}, ZHUANG Zhimeng²

1. College of Fisheries, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China;
2. Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;
3. Function Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266071, China

Abstract: Species of the Carangidae family are important warm water and temperature marine economic fish. They are also a primary product of future deep-sea fishing and aquaculture development in China. However, as there are many species of Carangidae, and their related species are similar in morphology, traditional morphological identification methods have significant limitations. The accurate classification and identification of Carangidae species is a focus area of resource conservation and sustainable development and utilization. Therefore, research on the DNA barcoding of Trachinidae fish is scientifically significant and has economic value. To verify the applicability of DNA barcodes in the identification and classification of Carangidae, 17 sequences were collected from 7 species and 6 genera, and other valid sequences in Barcode of Life Data (BOLD) were screened. A total of 273 DNA barcode sequences of 95 species in 25 genera were obtained. Then the DNA barcode classification system for Carangidae was constructed by BLAST comparison, genetic distance calculation, and phylogenetic relationship analysis. Results indicated that: (1) The average genetic distance levels of three taxa, intergeneric, interspecific within genera, interspecific, and intraspecific of Carangidae were 0.186, 0.169, 0.090, and 0.008, respectively. The average genetic distance of the interspecific was 21 times that of the intraspecific. DNA barcoding is suitable for the classification and identification of Carangidae. (2) DNA barcode technology could identify species with incorrect morphological identifications, indicating that DNA barcodes can make up for the limitations of traditional morphological identification and accurately correct the morphological classification results of Carangidae. (3) DNA barcode analysis of Carangidae shows that there are still certain “homologous” and “heterologous” phenomena in BOLD. It is suggested that the information accuracy should be strictly evaluated when using the database information. (4) The phylogenetic analysis results of 95 species of Carangidae support the classification of *Parona signata* as Trachinotinae and provide new insights into the taxonomic status of this species. This study has enriched the DNA barcode database of Carangidae and provided molecular biological evidence for the species identification and systematic classification of Carangidae.

Key words: Carangidae; DNA barcode; classification and identification; phylogenetic relationship

Corresponding author: LIU Shufang. E-mail: liusf@ysfri.ac.cn

DOI: 10.12264/JFSC2021-0018

瓯江口海域鱼类群落结构及优势种 RDA 分析

陈伟峰^{1,2}, 叶深^{1,2}, 秦松^{1,2}, 范青松^{1,2}, 陈少波^{1,2,3}, 倪勇⁴, 彭欣^{1,2}

1. 浙江省海洋水产养殖研究所, 浙江 温州 325005;
2. 浙江省近岸水域生物资源开发与保护重点实验室, 浙江 温州 325005;
3. 上海海洋大学海洋科学学院, 上海 201306;
4. 中国水产科学研究院东海水产研究所, 上海 200090

摘要: 根据 2018—2019 年的底拖网季度调查数据, 运用资源密度、相对重要性指数、多样性指数等生态指标, 对调查海域鱼类群落结构动态变化及其与环境因子的关系进行分析。结果表明, 调查海域共捕获鱼类 84 种, 隶属于 2 纲、14 目、39 科、69 属。优势种为龙头鱼(*Harpadon nehereus*)、日本带鱼(*Trichiurus japonicus*)、银姑鱼(*Pennahia argentata*)、黄鲫(*Setipinna tenuifilis*)、七星底灯鱼(*Benthosema pterotum*)、康氏侧带小公鱼(*Stolephorus commersonii*)和六丝钝尾虾虎鱼(*Amblychaeturichthys hexanema*)等 7 种, 与往年相比发生较大变化。生物量指数平均值最高出现在夏季, 为 3.25×10^3 kg/km²; 丰度指数平均值最高出现在秋季, 为 6.64×10^5 ind/km²。各季节多样性指数 H' 、均匀度指数 J' 最高值出现在冬季, 分别为 1.92 和 0.71。日本带鱼和七星底灯鱼的分布与水深和盐度呈较强的正相关, 银姑鱼的分布与水温成较强正相关, 与 pH 呈负相关, 康氏侧带小公鱼、黄鲫和龙头鱼对环境因子的偏好性较低, 分布较均匀。本研究通过探索瓯江口鱼类群落结构的时空变化, 旨在为保护河口海域渔业资源, 改善渔业环境质量与功能提供科学依据。

关键词: 鱼类群落结构; 优势种; 多样性指数; 瓯江口

中图分类号: S931

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2021)12-1536-12

河口水域具有独特的自然资源特征和生态系统过程, 在维持生物多样性上具有独特的作用^[1], 是海洋生物多样性保护研究的主要场所^[2]。河口区域内, 海洋与陆地相互作用的影响受到国内外生态学界高度重视^[3], 是生态系统健康状况研究的重要内容^[4]。河口作为生产力最高的生态系统, 不仅是多种经济鱼类的育幼场^[5], 也是洄游性鱼类的洄游通道^[6]。然而, 河口生态系统是极为敏感和脆弱的, 鱼类群落结构的改变将会直接影响着生态系统的健康^[7]。

瓯江口地处浙南沿海, 是台湾暖流和浙闽沿岸流等多种海流、水团的交汇区, 水质肥沃、饵料生物丰富, 生产力及生物多样性水平较高, 是

温州渔场的重要组成部分^[8]。近年来单拖网渔获物的计算结果也表现出鱼类资源量的下降趋势, 长期高强度拖网捕捞是造成东海近海渔业资源种群结构变化的重要原因^[9], 以往常见的大型经济种类带鱼(*Trichiurus* spp.)、大黄鱼(*Pseudoscia aeneocrocea*)等衰退明显, 取而代之的是低龄化、低值化、小型化的鱼类, 鱼类群落结构中的营养层次下降的趋势日益明显^[10-11]。但随着社会经济的高速发展, 瓯江口岸线被开发的力度越来越大, 码头林立, 浮筏养殖、港口运输、沿海工业和滩涂围垦开发等人类活动影响, 致使生态系统处于亚健康或不健康状态^[12], 海洋生物多样性退化严重, 生态功能正逐步丧失, 鱼类生境已严重片段化^[13]。

收稿日期: 2021-01-17; 修订日期: 2021-02-25.

基金项目: 国家重点研发计划项目(2020YFD0900805); 温州市科技计划项目(N20190009).

作者简介: 陈伟峰(1993-), 男, 硕士, 研究方向为渔业生态学. E-mail: wmuchenwf@yeah.net

通信作者: 彭欣, 博士, 研究方向为海洋生态学. E-mail: pengxin_1128@163.com

近年来有关瓯江口鱼类研究主要集中在鱼类群落组成和生物多样性角度^[14-15], 且研究时间主要集中在春、夏、秋三季^[10,13], 研究仍存在一定的空缺。本研究根据 2018—2019 年在瓯江口开展的 4 个航次的渔业资源调查项目数据, 利用相对重要性指数、Shannon-Wiener 多样性指数和 Pielou 均匀度指数等对该海域的鱼类群落结构进行了研究分析, 并利用环境数据对本区域鱼类分布进行了冗余分析, 研究了鱼类与环境因子的相关性。这将为该海域鱼类资源的养护修复、可持续利用和有效管理提供科学依据, 为维系生物群落多样性和实现海域的生态平衡提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 调查站位和调查方法

数据来自 2018 年 5 月(春季)、8 月(夏季)、11 月(秋季)和 2019 年 2 月(冬季)进行的“瓯江口海域渔业资源本底调查”项目。共调查站位 11 个(121°00'~121°54'E; 27°45'~28°06'N), 站位布设如图 1 所示。调查船为“浙洞渔 10109”号底拖网渔船, 船长 47 m, 总吨位 300 t, 主机功率为 396 kW。调查网具网口规格为 80 目×2000 mm, 囊网网目尺寸 20 mm。各站位以 2~3 kn 的速度拖曳 1 h 左右。调查所获的样品随机取样 40 kg, 对其鱼类样品鉴定至最小分类单元, 并记录每种的生物量和尾数。

温度、盐度和水深采样(Cstaway-CTD)测定, pH 采样水质分析仪 WTW (Multi-3630)现场测得。

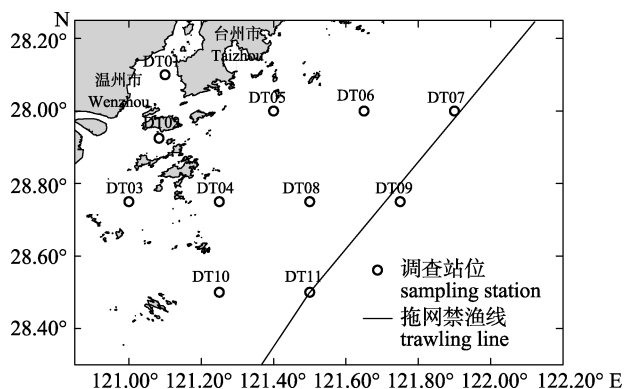


图 1 瓯江口海域渔业资源调查站位

Fig. 1 Sampling stations in Ouhang River estuary

1.2 实验方法

底拖网各站位调查数据用扫海面积法^[16]进行标准化处理, 计算公式为:

$$\rho_{ij} = C_{ij} / D(1-E)v_{ij}t_{ij}$$

式中, ρ_{ij} 为 i 月 j 站位的资源密度(kg/km² 或 10³ ind/km²); C_{ij} 为 i 月 j 站位的渔获量(kg)或尾数(ind); D 为网口水平扩张宽度(km) v_{ij} 为 i 月 j 站位的平均拖速(km/h); t_{ij} 为 i 月 j 站位的作业时间(h); E 为逃逸率(取 0.5)^[17]。

鱼类优势种主要根据相对重要性指数(index of relative importance, IRI)^[18]来确定, 其计算公式为:

$$IRI = (W_i + P_i) F$$

式中, W_i 为某种渔获物的重量占总渔获重量的百分数(%); P_i 为某种渔获物的尾数占总渔获尾数的百分数(%); F 为某种渔获物在各航次拖网总次数中出现的频率, 即出现次数与总拖网次数之百分比(%). 本研究将相对重要性指数(IRI)大于 1000 的定为优势种, 100~1000 (含)的定为常见种^[17]。

Shannon-Wiener 多样性指数(H')^[19]、Pielou 均匀度指数(J')^[20]的计算式分别为:

$$H' = -\sum_{i=1}^S (P_i) \log_2 (P_i)$$

$$J' = H' / \log_2 S$$

式中, S 为鱼类总种数; P_i 为第 i 种鱼类个体数或生物量占鱼类总个体数或总生物量的比例。

运用 Canoco4.5 软件对鱼类与环境因子之间的关系进行分析, 以解释各环境因子对鱼类分布的影响。对物种进行趋势对应分析(DCA), 根据每个轴的梯度长度(LGA)选择适宜的排序方法。当 $LGA < 3$, 采用冗余分析; $LGA > 4$, 采用典范对应分析; $3 \leq LGA \leq 4$, 两种分析方法均可采用^[21]。

对鱼类种类的鉴定主要参照《东海鱼类志》^[22]、《长江口鱼类》^[23]和《福建鱼类志》^[24]等, 分类系统参照 Nelson^[25]分类系统, 种名参照《拉汉世界鱼类系统名典》^[26]。

2 结果与分析

2.1 种类组成季节变化

在调查海域共捕获鱼类 84 种, 隶属于 2 纲、14 目、39 科、69 属(表 1)。其中鲈形目(Perciformes)

表 1 瓯江口海域鱼类组成及优势度季节变化

Tab. 1 Seasonal variation of fish composition and dominance in Oujiang River estuary

序号 code	分类地位 taxonomy	种 species	春季 spring	夏季 summer	秋季 autumn	冬季 winter
	软骨鱼纲 Chondrichthyes		IRI			
	真鲨目 Carcharhiniformes					
	真鲨科 Carcharhinidae					
1	斜齿鲨属 <i>Scoliodon</i>	宽尾斜齿鲨 <i>Scoliodon laticaudus</i>	25.30	11.35	5.52	—
	魮科 Dasyatidae					
2	半魮属 <i>Hemistrygon</i>	赤半魮 <i>Hemistrygon akajei</i>	—	—	1.70	—
	辐鳍鱼纲 Actinopterygii					
	鳗鲡目 Anguilliformes					
	合鳃鳗科 Synbranchidae					
3	前肛鳗属 <i>Dysomma</i>	前肛鳗 <i>Dysomma anguillare</i>	—	—	0.73	1.12
	海鳗科 Muraenesocidae					
4	海鳗属 <i>Muraenesox</i>	海鳗 <i>Muraenesox cinereus</i>	4.95	80.48	1.74	—
	鲱形目 Clupeiformes					
	锯腹鲷科 Pristigasteridae					
5	鲷属 <i>Ilisha</i>	鲷 <i>Ilisha elongata</i>	105.83	17.45	253.51	13.17
	鲱科 Order Engraulidae					
6	鲱属 <i>Coilia</i>	凤鲱 <i>Coilia mystus</i>	10.42	—	2.03	26.41
7		刀鲱 <i>Coilia nasus</i>	28.05	23.58	11.65	245.24
8	半棱鲱属 <i>Encrasicholina</i>	尖吻半棱鲱 <i>Encrasicholina heteroloba</i>	—	5.41	—	—
9	鲱属 <i>Engraulis</i>	日本鲱 <i>Engraulis japonicus</i>	442.34	—	—	—
10	黄鲫属 <i>Setipinna</i>	黄鲫 <i>Setipinna tenuifilis</i>	2131.72	1364.56	523.19	279.26
11	侧带小公鱼属 <i>Stolephorus</i>	康氏侧带小公鱼 <i>Stolephorus commersonii</i>	—	—	3593.03	0.41
12	梭鲈属 <i>Thryssa</i>	杜氏梭鲈 <i>Thryssa dussumieri</i>	64.27	5.89	0.55	—
13		芝茛梭鲈 <i>Thryssa chefuensis</i>	—	5.00	101.00	54.51
14		中颌梭鲈 <i>Thryssa mystax</i>	—	1.38	17.71	—
15		黄吻梭鲈 <i>Thryssa vitrirostris</i>	—	—	—	21.49
	鲱科 Clupeidae					
16	斑鲚属 <i>Konosirus</i>	斑鲚 <i>Konosirus punctatus</i>	—	—	1.48	18.72
17	小沙丁鱼属 <i>Sardinella</i>	黄泽小沙丁鱼 <i>Sardinella lemuru</i>				
	鲑形目 Siluriformes					
	鳗鲡科 Plotosidae					
18	鳗鲡属 <i>Plotosus</i>	线纹鳗鲡 <i>Plotosus lineatus</i>	—	—	0.28	—
	海鲇科 Ariidae					
19	海鲇属 <i>Arius</i>	丝鳍海鲇 <i>Arius arius</i>	—	—	0.30	—
	仙女鱼目 Aulopiformes					
	狗母鱼科 Synodontidae					
20	龙头鱼属 <i>Harpadon</i>	龙头鱼 <i>Harpadon nehereus</i>	1353.60	5336.22	12369.33	1119.95
21	蛇鲻属 <i>Saurida</i>	多齿蛇鲻 <i>Saurida tumbil</i>	173.82	24.52	—	—
	灯笼鱼目 Myctophiformes					
	灯笼鱼科 Myctophidae					
22	底灯鱼属 <i>Benthosema</i>	七星底灯鱼 <i>Benthosema pterotum</i>	852.73	432.38	12847.49	374.28
	鳕形目 Gadiformes					
	犀鳕科 Bregmacerotidae					

(待续 to be continued)

(续表 1 Tab. 1 continued)

序号 code	分类地位 taxonomy	种 species	春季 spring	夏季 summer	秋季 autumn	冬季 winter
23	犀鲂属 <i>Bregmaceros</i>	拟尖鳍犀鲂 <i>Bregmaceros pseudolanceolatus</i>	4.37	0.35	13.06	79.87
	鲛鲂目 Lophiiformes					
	鲛鲂科 Lophiidae					
24	鲛鲂属 <i>Lophius</i>	黄鲛鲂 <i>Lophius litulon</i>	—	—	—	108.22
	鲷形目 Mugiliformes					
	鲷科 Mugilidae					
25	粗唇鲷属 <i>Planiliza</i>	前鳞粗唇鲷 <i>Planiliza affinis</i>	—	0.20	—	—
	海龙目 Syngnathiformes					
	海龙科 Syngnathidae					
26	海马属 <i>Hippocampus</i>	克氏海马 <i>Hippocampus kelloggi</i>	0.16	—	—	—
27	海龙属 <i>Syngnathus</i>	舒氏海龙 <i>Syngnathus schlegeli</i>	—	—	—	5.67
	烟管鱼科 Fistulariidae					
28	烟管鱼属 <i>Fistularia</i>	鳞烟管鱼 <i>Fistularia petimba</i>	0.15	—	—	—
	鲷形目 Scorpaeniformes					
	鲷科 Scorpaenidae					
29	莒鲷属 <i>Sebastiscus</i>	褐莒鲷 <i>Sebastiscus marmoratus</i>	0.37	—	—	—
	绒皮鲷科 Aploactidae					
30	虹鲷属 <i>Erisphex</i>	虹鲷 <i>Erisphex pottii</i>	0.19	—	—	15.75
	鲷科 Triglidae					
31	绿鳍鱼属 <i>Chelidonichthys</i>	棘绿鳍鱼 <i>Chelidonichthys spinosus</i>	0.21	—	—	0.13
32	红娘鱼属 <i>Lepidotrigla</i>	翼红娘鱼 <i>Lepidotrigla alata</i>	—	0.26	—	2.74
	鲈形目 Perciformes					
	发光鲷科 Acropomatidae					
33	发光鲷属 <i>Acropoma</i>	日本发光鲷 <i>Acropoma japonicum</i>	—	14.87	7.04	0.57
34	尖牙鲈属 <i>Synagrops</i>	菲律宾尖牙鲈 <i>Synagrops philippinensis</i>	—	—	—	1.49
	花鲈科 Lateolabracidae					
35	花鲈属 <i>Lateolabrax</i>	中国花鲈 <i>Lateolabrax maculatus</i>	—	—	—	218.45
	大眼鲷科 Priacanthidae					
36	大眼鲷属 <i>Priacanthus</i>	短尾大眼鲷 <i>Priacanthus macracanthus</i>	—	5.48	—	—
	天竺鲷科 Apogonidae					
37	鹦天竺鲷属 <i>Ostorhinchus</i>	宽条鹦天竺鲷 <i>Ostorhinchus fasciatus</i>	—	—	0.14	—
38		半线鹦天竺鲷 <i>Ostorhinchus semilineatus</i>	—	0.16	—	—
39	银口天竺鲷属 <i>Jaydia</i>	截尾银口天竺鲷 <i>Jaydia truncata</i>	—	—	0.14	—
40		细条银口天竺鲷 <i>Jaydia lineata</i>	0.72	8.05	438.61	—
	鲷科 Carangidae					
41	圆鲷属 <i>Decapterus</i>	长体圆鲷 <i>Decapterus macrosoma</i>	0.49	—	—	—
42		红背圆鲷 <i>Decapterus maruadsi</i>	309.76	240.26	14.35	—
43	乌鲷属 <i>Parastromateus</i>	乌鲷 <i>Parastromateus niger</i>	—	0.44	—	—
44	竹筴鱼属 <i>Trachurus</i>	日本竹筴鱼 <i>Trachurus japonicus</i>	2.28	284.93	0.55	—
	髭鲷科 Hapalogenyidae					
45	髭鲷属 <i>Hapalogenys</i>	华髭鲷 <i>Hapalogenys analis</i>	—	—	0.13	—
	鲷科 Sparidae					
46	棘鲷属 <i>Acanthopagrus</i>	黑棘鲷 <i>Acanthopagrus schlegelii</i>	24.22	—	4.44	—

(待续 to be continued)

(续表 1 Tab. 1 continued)

序号 code	分类地位 taxonomy	种 species	春季 spring	夏季 summer	秋季 autumn	冬季 winter
47	犁齿鲷属 <i>Eyynnys</i>	二长棘犁齿鲷 <i>Eyynnys cardinalis</i>	13.65	10.50	—	—
	马鲛科 Polynemidae					
48	多指马鲛属 <i>Polydactylus</i>	六指多指马鲛 <i>Polydactylus sextarius</i>	—	136.48	9.29	—
	石首鱼科 Sciaenidae					
49	黑姑鱼属 <i>Atrobucca</i>	黑姑鱼 <i>Atrobucca nibe</i>	27.54	604.13	0.32	—
50	黄鳍牙鲷属 <i>Chrysochir</i>	尖头黄鳍牙鲷 <i>Chrysochir aureus</i>	—	3.95	81.08	0.19
51	梅童鱼属 <i>Collichthys</i>	棘头梅童鱼 <i>Collichthys lucidus</i>	43.70	—	387.94	385.06
52	叫姑鱼属 <i>Johnius</i>	鳞鳍叫姑鱼 <i>Johnius distinctus</i>	5.68	—	—	—
53		屈氏叫姑鱼 <i>Johnius trewavasae</i>	—	0.46	12.72	27.38
54	黄鱼属 <i>Larimichthys</i>	大黄鱼 <i>Larimichthys crocea</i>	0.41	5.40	253.60	—
55		小黄鱼 <i>Larimichthys polyactis</i>	37.70	495.32	46.27	1.23
56	鲛属 <i>Miichthys</i>	鲛 <i>Miichthys miiuy</i>	—	—	152.73	—
57	黄姑鱼属 <i>Nibea</i>	黄姑鱼 <i>Nibea albiflora</i>	2.28	—	11.57	—
58	银姑鱼属 <i>Pennahia</i>	截尾银姑鱼 <i>Pennahia anea</i>	—	—	0.50	—
59		银姑鱼 <i>Pennahia argentata</i>	—	1519.04	21.95	—
60		大头银姑鱼 <i>Pennahia macrocephalus</i>	67.09	894.07	278.03	34.92
	鲷科 Terapontidae					
61	鲷属 <i>Terapon</i>	鲷 <i>Terapon theraps</i>	—	—	1.04	—
	鰾齿鱼科 Champsodontidae					
62	鰾齿鱼属 <i>Champsodon</i>	短鰾齿鱼 <i>Champsodon snyderi</i>	—	0.20	1.30	30.29
	鲷科 Callionymidae					
63	斜棘鲷属 <i>Repomucenus</i>	香斜棘鲷 <i>Repomucenus olidus</i>	—	—	—	0.27
	虾虎科 Gobiidae					
64	钝尾虾虎鱼属 <i>Amblychaeturichthys</i>	六丝钝尾虾虎鱼 <i>Amblychaeturichthys hexanema</i>	0.18	1788.16	12.52	77.50
65	矛尾虾虎鱼属 <i>Chaeturichthys</i>	矛尾虾虎鱼 <i>Chaeturichthys stigmatias</i>	0.18	—	2.48	0.50
66	狼牙虾虎鱼属 <i>Odontamblyopus</i>	拉氏狼牙虾虎鱼 <i>Odontamblyopus lacepedii</i>	13.21	188.88	44.55	94.25
67	缟虾虎鱼属 <i>Tridentiger</i>	髯缟虾虎鱼 <i>Tridentiger barbatus</i>	—	—	—	0.37
68	孔虾虎鱼属 <i>Trypauchen</i>	孔虾虎鱼 <i>Trypauchen vagina</i>	3.56	—	1.82	0.00
	鲷科 Sphyraenidae					
69	鲷属 <i>Sphyraena</i>	油鲷 <i>Sphyraena pinguis</i>	—	1.22	—	—
	带鱼科 Trichiuridae					
70	小带鱼属 <i>Eupleurogrammus</i>	小带鱼 <i>Eupleurogrammus muticus</i>	—	—	10.02	39.97
71	沙带鱼属 <i>Lepturacanthus</i>	沙带鱼 <i>Lepturacanthus savala</i>	9.71	—	17.77	0.23
72	带鱼属 <i>Trichiurus</i>	日本带鱼 <i>Trichiurus japonicus</i>	5121.56	4014.08	269.25	10.42
	鲭科 Scombridae					
73	鲭属 <i>Scomber</i>	日本鲭 <i>Scomber japonicus</i>	104.04	102.14	—	—
74	马鲛属 <i>Scomberomorus</i>	蓝点马鲛 <i>Scomberomorus niphonius</i>	—	—	36.08	—
	长鲳科 Centrolophidae					
75	刺鲳属 <i>Psenopsis</i>	刺鲳 <i>Psenopsis anomala</i>	62.19	252.52	76.96	—
	鲳科 Stromateidae					
76	鲳属 <i>Pampus</i>	中国鲳 <i>Pampus chinensis</i>	0.75	—	—	—

(待续 to be continued)

(续表 1 Tab. 1 continued)						
序号 code	分类地位 taxonomy	种 species	春季 spring	夏季 summer	秋季 autumn	冬季 winter
77	鲷形目 Pleuronectiformes 舌鲷科 Cynoglossidae	镰鲷 <i>Pampus echinogaster</i>	890.57	820.82	989.54	348.71
78	舌鲷属 <i>Cynoglossus</i>	短舌鲷 <i>Cynoglossus abbreviatus</i>	—	0.48	0.37	1.08
79		长吻舌鲷 <i>Cynoglossus lighti</i>	0.91	—	0.54	—
	鲈形目 Tetraodontiformes 单角鲈科 Monacanthidae					
80	细鳞鲈属 <i>Stephanolepis</i>	丝背细鳞鲈 <i>Stephanolepis cirrifer</i>	—	0.61	—	—
	鲈科 Tetraodontidae					
81	兔头鲈属 <i>Lagocephalus</i>	黑鳃兔头鲈 <i>Lagocephalus inermis</i>	2.35	2.67	1.10	—
82		月尾兔头鲈 <i>Lagocephalus lunaris</i>	0.74	2.19	20.10	—
83	多纪鲈属 <i>Takifugu</i>	横纹多纪鲈 <i>Takifugu oblongus</i>	—	—	1.65	—
84		黄鳍多纪鲈 <i>Takifugu xanthopterus</i>	—	40.75	7.39	412.49

注: “—”表示该物种在对应季节中没有出现。
Note: “—” means that the species does not appear in the corresponding season.

种类数最为多, 为 18 科 45 种, 占总种类数的 53.57%; 鲈形目(Clupeiformes)次之, 为 3 科 13 种, 占总种类数的 15.48%; 鲈形目(Tetraodontiformes)第三, 为 2 科 5 种, 占总种类数的 5.95%。

春季共捕获鱼类 43 种, 黄鲫(*Setipinna tenuifilis*)、龙头鱼(*Harpadon nehereus*)和日本带鱼(*Trichiurus japonicus*)为春季优势种; 夏季共捕获鱼类 43 种, 黄鲫、龙头鱼、日本带鱼、银姑鱼(*Pennahia argentata*)和六丝钝尾虾虎鱼(*Amblychaeturichthys hexanema*)为夏季优势种; 秋季共捕获鱼类 55 种, 康氏侧带小公鱼(*Stolephorus commersonnii*)、龙头鱼和七星底灯鱼(*Benthosema pterotum*)为秋季优势种; 冬季共捕获鱼类 37 种, 龙头鱼为冬季优势种。4 个季节均有捕获的种类为鲈(*Ilisha elongate*)、刀鲚(*Coilia nasus*)、黄鲫、龙头鱼、七星底灯鱼、小黄鱼(*Larimichthys polyactis*)、大头银姑鱼(*Pennahia microcephalus*)、六丝钝尾虾虎鱼、拉氏狼牙虾虎鱼(*Odontamblyopus lacepedii*)、日本带鱼和镰鲷(*Pampus echinogaster*)等 11 种。

2.2 鱼类资源时空变动

调查海域各季节平均资源量指数如图 2 所示。平均生物量最大出现在夏季, 为 $3.25\times10^3\text{ kg/km}^2$, 最小值出现在冬季, 为 $0.39\times10^3\text{ kg/km}^2$, 春秋两

季数值较为接近, 分别为 $2.14\times10^3\text{ kg/km}^2$ 和 $2.25\times10^3\text{ kg/km}^2$; 丰度指数平均值最高出现在秋季, 为 $6.64\times10^5\text{ ind/km}^2$, 其次为夏季($3.39\times10^5\text{ ind/km}^2$)和春季($2.24\times10^5\text{ ind/km}^2$), 冬季平均值最低, 为 $0.42\times10^5\text{ ind/km}^2$ 。

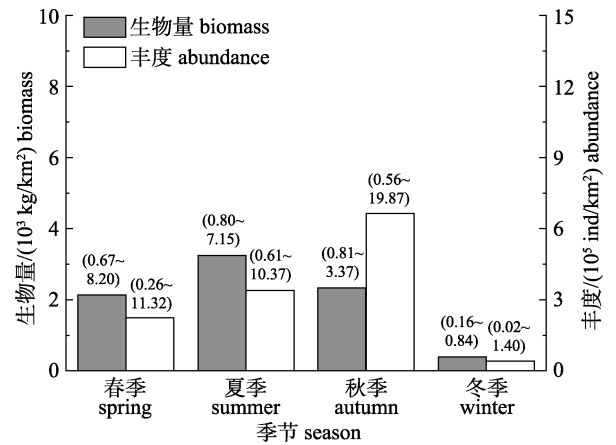


图 2 瓯江口海域生物量/丰度季节变化
Fig. 2 Seasonal variation of biomass and abundance in Oujiang River estuary

生物量和丰度的时空分布如图 3 所示。春季生物量和丰度最高的站位是 DT07 站位, 分别为 8198.57 kg/km^2 和 $1131\times10^3\text{ ind/km}^2$, 生物量最低值出现在 DT11 站位(670.78 kg/km^2), 丰度最低出现在 DT03 站位($11.80\times10^3\text{ ind/km}^2$); 夏季生物量

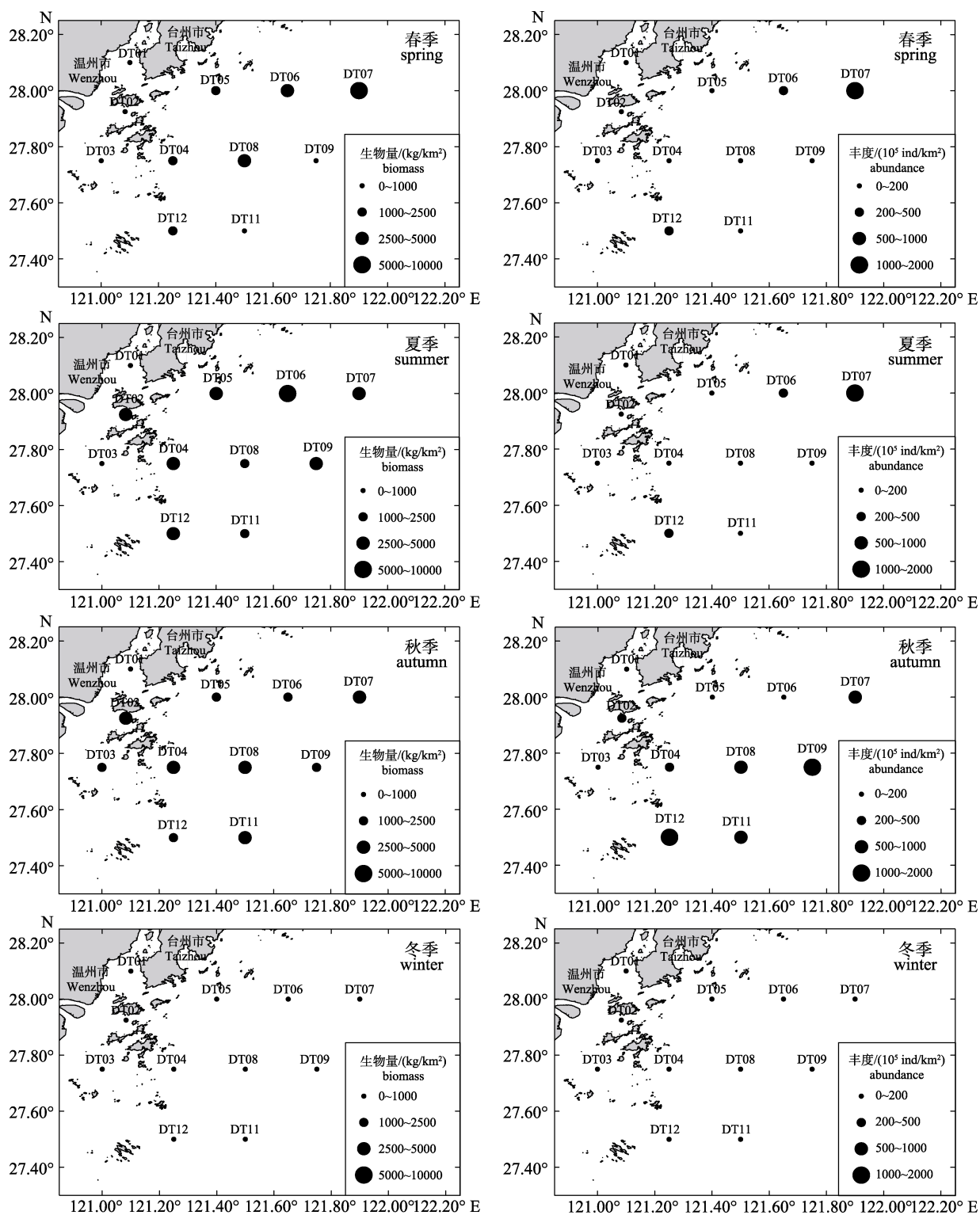


图 3 瓯江口海域生物量/丰度时空分布

Fig. 3 Spatial and temporal distribution of biomass and abundance in Oujiang River estuary

和丰度最高值出现在 DT07 站位, 分别为 7153.89 kg/km^2 和 $1037.32 \times 10^3 \text{ ind/km}^2$, 两者最低值出现在 DT03, 分别为 $798.76 \times 10^3 \text{ ind/km}^2$ 和

$61.10 \times 10^3 \text{ ind/km}^2$; 秋季生物量最高值出现在 DT08 (3373.30 kg/km^2), 丰度最高值出现在 DT12 ($1987.63 \times 10^3 \text{ ind/km}^2$), 两者最低值出现在 DT01,

分别为 813.71 kg/km² 和 56.05×10³ ind/km²; 冬季生物量最高值出现在 DT07 (836.96 kg/km²), 最低值出现在 DT05 (163.00 kg/km²), 丰度最高值出现在 DT09 (139.68×10³ ind/km²), 最低值出现在 DT06 (0.65×10³ ind/km²)。

2.3 多样性指数季节变化

各季节多样性指数 H' 、均匀度指数 J 及水温平均值如图 4 所示。多样性指数 H' 平均值最高值出现在冬季, 为 1.92, 其次依次为夏季(1.88)、秋季(1.57)和春季(1.56); 均匀度指数 J 平均值最高值出现在冬季, 为 0.71, 其次为夏季(0.60)和春季(0.56), 秋季平均值最低, 为 0.51。夏季水温最高, 为 30.43 ℃, 其次为春季(23.86 ℃)和秋季(18.81 ℃), 冬季水温最低, 为 12.34 ℃。

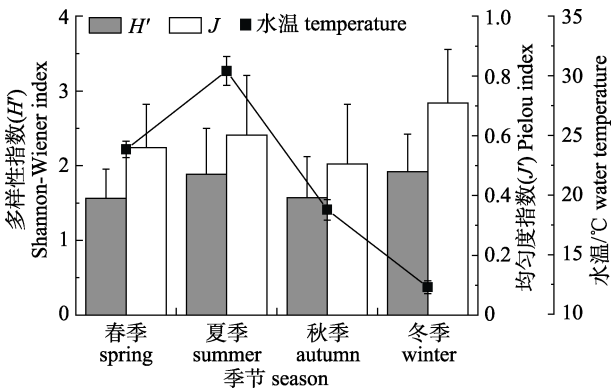


图 4 瓯江口海域多样性指数/水温季节变化
Fig. 4 Seasonal variation of diversity index and water temperature in Oujiang River estuary

2.4 优势种 RDA 分析

根据 DCA 分析结果, LGA=2.1<3, 本研究采用线性模型的 RDA 分析, 其结果显示, 调查海域水温、盐度、水深和 pH 等 4 项指标可解释该海域鱼类 39.71% 的变异情况(表 2), 轴 1 和轴 2 的特征值分别为 0.2724 和 0.0900, 分别解释了数据方差变化的 27.24% 和 9.00%; 经蒙特卡洛检验, 第一排序轴($F=6.4$, $P=0.002$)和所有排序轴($F=14.6$, $P=0.002$)均显示差异显著($P<0.05$), 即表示环境数据与鱼类种类的分布存在线性关系。其中每个环境因子单独解释量最大是水深, 解释了变异的 23.0% ($P=0.002$), 盐度次之, 为 17.1% ($P=0.002$), 温度也解释了 11.5% 的变异($P=0.002$)。在 RDA 分

析排序图中(图 5), 对轴 1 影响较大的是水深 ($r^2=0.7459$), 对轴 2 影响较大的是温度 ($r^2=-0.6252$)。带鱼、黄鲫和七星底灯鱼的分布与水深和盐度呈较强的正相关, 银姑鱼的分布与水温成较强正相关, 康氏侧带小公鱼、黄鲫和龙头鱼对以上 4 种环境因子的选择性较低。

表 2 鱼类丰度与环境因子的关系
Tab. 2 Relationship between fish abundance and environment factors

环境因子 environmental factor	相关系数 index of correlation	
	排序轴 1 Axis1 27.24%	排序轴 2 Axis2 9.00%
温度 temperature	0.3539	-0.6252
盐度 salinity	0.6517	-0.0817
pH	-0.0676	0.0004
水深 depth	0.7459	0.3196

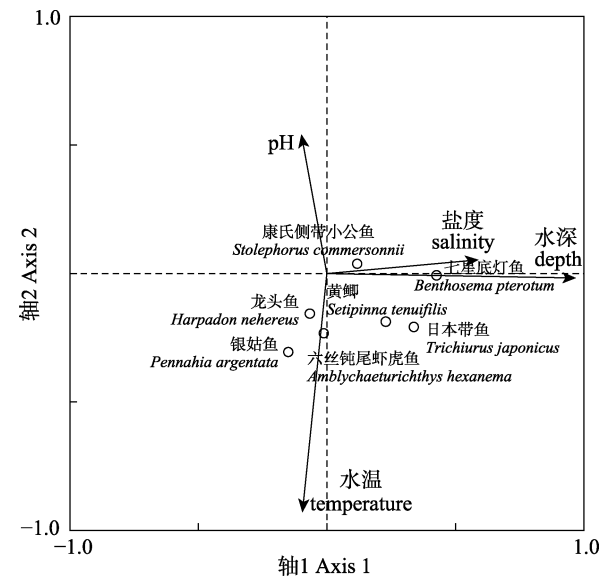


图 5 瓯江口海域优势种 RDA 分析
Fig. 5 RDA analysis of dominant species in Oujiang River estuary

3 讨论

3.1 鱼类种类组成

鱼类是海洋渔业资源中最重要的组成部分, 也是海洋生物中密不可分的一部分, 是表现海洋生命力的象征^[27]。瓯江口海域作为温州渔场的重要组成部分, 历来被众多学者所关注, 徐兆礼^[8]和沈益绿等^[14]在 2007 年夏、秋两季对瓯江口海域研究中分别发现鱼类 64 种和 72 种; 闫丽娜等^[15]、

夏陆军等^[10]在 2012 年报道了乐清湾口春、秋两季鱼类种类数均为 49 种; 颜文超等^[28]在 2013 年研究发现, 瓯江口春秋两季共有鱼类 66 种; 刘志坚等^[13]在 2015 年春、夏季对瓯江口海域的调查中共发现鱼类 40 种。本次调查共发现鱼类 84 种, 种类数多于以往研究结果, 主要是因为本次调查的时间、空间尺度均大于历史研究。本次调查未发现淡水鱼类, 主要是因为调查站位整体靠外, 离江口最近的站位为大门岛与洞头岛间的 DT02 站位, 平均盐度为 22.43。

本研究发现, 秋季为瓯江口海域鱼类种类数的高值期, 共发现鱼类 55 种, 其中七星底灯鱼(IRI=12847.49)、龙头鱼(IRI=12369.33)、康氏侧带小公鱼(IRI=3593.03)和镰鲷(IRI=1589.54)为优势种, 优势种的组成相对于 2007 年同期^[8,28]发生了较大改变。鱼类种类数的低值期出现在冬季, 为 37 种, 优势种为龙头鱼(IRI=1119.95)。受浙闽沿岸流的影响, 水温盐度相对较低, 包括红背圆鲹(*Decapterus macarellus*)、细条天竺鲷(*Apogon lineatus*)和日本竹筴鱼等暖水种^[29], 由近海向外侧海域进行越冬洄游, 导致了鱼类种类数降低。陈佳杰等^[30]根据 1971—1982 年的统计资料研究发现, 春季银姑鱼分布于禁渔线外侧海域。本次调查春季未发现银姑鱼, 而夏季银姑鱼(IRI=1519.04)却为优势种。笔者推测, 瓯江口外侧禁渔线以东海域为银姑鱼的产卵场, 瓯江口海域为银姑鱼的索饵场。根据徐兆礼等^[31]的研究发现, 瓯江口外侧禁渔线附近海域为日本带鱼的产卵场, 同时也是索饵的洄游通道。本次调查中, 日本带鱼为调查海域春季和夏季的优势种, IRI 指数分别为 5121.56 和 4014.08。研究海域内同时分布大量的黄鲫和七星底灯鱼(*Benthosema pterotum*)等小型鱼类, 均为日本带鱼的优势摄食饵料^[32], 说明瓯江口海域为带鱼良好的索饵场。

3.2 鱼类群落结构特征

鱼类作为生态系统中的重要类群, 群落结构对于维持生态系统结构与功能的稳定至关重要。按季节看, 平均生物量及丰度由高到低依次分别为夏季、秋季、春季、冬季和秋季、夏季、春季、冬季。生物量与丰度的季节变化趋势同梁海^[27]

研究结果相一致。从鱼类资源密度分析, 春季生物量及丰度的最高值出现在研究海域北侧禁渔线附近的 DT07 站位, 主要渔获物为日本带鱼、龙头鱼和七星底灯鱼。春季台湾暖流逐渐增强, 水温升高, DT07 站位的水温为 25.1 °C, 为所有站位最高值, 七星底灯鱼等优质饵料鱼多聚集于此, 龙头鱼和日本带鱼等肉食性鱼类^[33]为补充生长所需的能量和蛋白质, 向该区域进行索饵洄游, 因此 DT07 站位资源密度相对较高。夏季资源密度较高的站位集中在洞头列岛附近海域, 靠近禁渔线附近的 DT07、DT09 和 DT11 站位生物量和丰度均较低。究其原因, 夏季为瓯江的丰水期^[34], 大量的陆地淡水输入给洞头列岛附近海域带来充足的养分, 饵料生物生长迅速, 满足了大部分鱼类的索饵需求。秋季淡水输入减少, 台湾暖流逐渐减弱^[35], 水温降低, 近海的部分鱼类向东南侧深水区进行越冬洄游。调查发现, 秋季鱼类丰度值最高的分别为 DT10、DT11 和 DT12 站位, 主要渔获物为龙头鱼、镰鲷和康氏侧带小公鱼。冬季受浙闽沿岸流的影响, 水温持续降低, 各调查站位平均水温为 12.34 °C, 生物量和丰度指数均为全年最低。

多样性指数 H' 平均值最高值出现在冬季, 为 1.92; Pielou^[20]的研究结果表明种类的数量和分布的均匀度对群落的多样性指数有重要影响, 均匀度指数越高则生物多样性指数越高。本研究在冬季共发现鱼类 37 种, 各站位平均生物量和丰度指数较低, 方差值较小, 因此, 多样性指数 H' 相对较高。多样性指数 H' 平均值最低值出现在春季, 为 1.56, 低于 2013 年春季^[28]的平均值。春季大部分鱼类有洄游至近岸或是朔河性产卵的生殖特性, 近海岛礁可以给鱼类产卵提供天然的避敌场所, 而本研究调查站位多为开阔水域, 渔获物种类相对较低, 可能是春季多样性指数较低的原因。此外, 鱼类群体繁殖后产生单一类型分布的斑块化和高度集中, 这也会导致站位分布不均匀从而导致 H' 变小, 本次调查 DT06 和 DT08 站位捕获大量日本带鱼幼鱼, 平均肛长为 13.35 cm, 推测该区域为日本带鱼幼体索饵场。有研究显示, H' 可用于水体受人为影响程度的评价^[36-37], 本研究显示调

查海域 H' 平均值为 1.73, 认为其受到人为活动中度扰动。

3.3 鱼类分布与环境因子的相关性

研究表明, 鱼类的群落结构及分布与水深、温度和盐度等环境因子密切相关^[38-40]。本研究发现水温、盐度、水深及 pH 等环境因子与鱼类优势种的分布存在线性关系。RDA 分析结果显示, 七星底灯鱼位于排序轴的右侧, 与水深呈正相关。本次调查水深较深的站位集中在禁渔线附近, DT07、DT09 和 DT11 站位的平均水深为 43.5 m, 4 个航次共捕获七星底灯鱼 18380 尾, 占总渔获数量的 58.04%, 数量呈现沿岸少, 外侧较多的趋势, 与李建生等^[41]调查结果相一致。水温对鱼类的分布具有显著影响^[42], 六丝钝尾虾虎鱼位于排序轴的下方, 其分布受水温影响较大。调查海域夏季水温最高, 各站位平均水温为 30.43 °C, 六丝钝尾虾虎鱼(IRI=1788.16)在各站位分布较为均匀, 而到了冬季多分布于南侧站位。究其原因, 六丝钝尾虾虎鱼属于暖温性鱼类, 其分布与水温程正相关。龙头鱼和康氏侧带小公鱼对环境偏好相对较低, 在研究海域内分布较为均匀。

本研究结果表明, RDA 排序中的环境因子水温、盐度、水深和 pH 共反映了该区域鱼类群落组成 39.71% 的总变异, 剩余的 60.29% 可能由未调查到的其他生物和非生物因素所引起的, 需做进一步调查和研究。

参考文献:

- [1] Ross S T. Resource partitioning in fish assemblages: a review of field studies[J]. *Copeia*, 1986(2): 352-388.
- [2] Lie U. Marine ecosystems: research and management[J]. *Impact of Science on Society*, 1983, 33: 277-292.
- [3] Sonstegard R A. Great lakes coho salmon as an indicator organism for ecosystem health[J]. *Marine Environmental Research*, 1984, 14(1): 480.
- [4] Vassallo P, Fabiano M Vezzulli L. Assessing the health of coastal marine ecosystems: A holistic approach based on sediment micro and meio-benthic measures[J]. *Ecological Indicators*, 2006, 6(3): 525-542.
- [5] Shenker J M, Dean J M. The utilization of an intertidal salt and juvenile fishes: abundance, diversity and temporal variation[J]. *Estuaries*, 1997(2): 154-163.
- [6] McLusky D S, Elliott M. The Estuarine Ecosystem: ecology, threats and management(ed)[M]. Oxford: Oxford University Press, 2004.
- [7] Shi Y M, Chao M, Quan W M, et al. Fish community diversity analyses in the Yangtze River estuary, China[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2012, 19(6): 1051-1059. [史赞荣, 晁敏, 全为民, 等. 长江口鱼类群落的多样性分析[J]. *中国水产科学*, 2012, 19(6): 1051-1059.]
- [8] Xu Z L. Spatial-temporal distribution of fish density in the Oujiang estuary during summer and autumn[J]. *Acta Zoologica Sinica*, 2008, 54(6): 981-987. [徐兆礼. 夏秋季瓯江口海域鱼类数量的时空分布[J]. *动物学报*, 2008, 54(6): 981-987.]
- [9] Fan W, Zhou S F, Cui X S, et al. Impact of trawl fishing on fisheries population components in East China Sea[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2003, 14(10): 1697-1700. [樊伟, 周甦芳, 崔雪森, 等. 拖网捕捞对东海渔业资源种群结构的影响[J]. *应用生态学报*, 2003, 14(10): 1697-1700.]
- [10] Xia L J, Zhou Q S, Yu C G, et al. Study on fish community diversity in Yueqing Bay mouth during spring and autumn[J]. *Fishery Modernization*, 2016, 43(2): 68-75. [夏陆军, 周青松, 俞存根, 等. 乐清湾口海域春秋季节鱼类群落多样性研究[J]. *渔业现代化*, 2016, 43(2): 68-75.]
- [11] Sun P, Wang Y X, Tian K, et al. Taxonomic diversity of fish species in five bays in Zhejiang province[J]. *Oceanologia Et Limnologia Sinica*, 2018, 49(6): 1325-1333. [孙鹏, 王咏雪, 田阔, 等. 浙江 5 个海湾鱼类分类多样性研究[J]. *海洋与湖沼*, 2018, 49(6): 1325-1333.]
- [12] Ye X R, Zhang R B, Xu H T, et al. Analysis and evaluation of environmental quality in Oujiang estuary[J]. *Science and Technology Innovation Herald*, 2014, 11(28): 120-123. [叶新荣, 张荣保, 许恒韬, 等. 瓯江口海域环境质量现状分析与评价[J]. *科技创新导报*, 2014, 11(28): 120-123.]
- [13] Liu Z J, Li D W, Guo A T, et al. Species composition and diversity of fishery organisms in Oujiang Estuary in spring and summer[J]. *Journal of Zhejiang Agricultural Sciences*, 2016, 57(8): 1325-1327. [刘志坚, 李德伟, 郭安托, 等. 瓯江口春夏季渔业生物种类组成及多样性[J]. *浙江农业科学*, 2016, 57(8): 1325-1327.]
- [14] Shen A L, Xu Z L. Preliminary investigation on the fishes of Oujiang river estuary[J]. *Marine Fisheries*, 2008, 30(3): 285-290. [沈盎绿, 徐兆礼. 瓯江口海域夏秋季鱼类初步调查[J]. *海洋渔业*, 2008, 30(3): 285-290.]
- [15] Yan L N, Ye S, Li D W, et al. Species composition and quantitative distribution of fishes in spring and autumn in the Yueqing Bay mouth[J]. *Oceanologia Et Limnologia Sinica*, 2013, 44(4): 1062-1067. [闫丽娜, 叶深, 李德伟, 等. 乐清

- 湾口海域春、秋季鱼类种类组成和数量分布[J]. 海洋与湖沼, 2013, 44(4): 1062-1067.]
- [16] Zhan B Y. Fisheries resource assessment[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1995. [詹秉义. 渔业资源评估[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995.]
- [17] Zhang H L, Xu K D, Zhu Z J, et al. Seasonal variations of fish resources and its community diversity in Daiquyang[J]. Journal of Fisheries of China, 2012, 36(4): 601-607. [张洪亮, 徐开达, 朱增军, 等. 岱衢洋鱼类资源及其群落多样性的季节变化[J]. 水产学报, 2012, 36(4): 601-607.]
- [18] Pinkas E R. Ecology of the agamid lizard *Amphibolurus isolepis* in western Australia[J]. Copeia, 1971(3): 527-536.
- [19] Shannon C E, Weaver W, Blahut R E, et al. The Mathematical Theory of Communication[M]. Champaign: University of Illinois Press, 1963.
- [20] Pielou E C. An Introduction to Mathematical Ecology[M]. New York: Wiley-Interscience, 1969.
- [21] Fan Z W, Jiang R J, Zhang H L, et al. Community structure of ichthyoplankton and its relationship with environmental factors in Daiquyang spawning ground[J]. Journal of Fisheries of China, 2020, 44(4): 606-620. [樊紫薇, 蒋日进, 张洪亮, 等. 岱衢洋产卵场鱼卵、仔稚鱼群落结构及其与环境因子的关系[J]. 水产学报, 2020, 44(4): 606-620.]
- [22] Zhu Y D. Fishes of East China Sea[M]. Beijing: Science Press, 1963. [朱元鼎. 东海鱼类志[M]. 北京: 科学出版社, 1963.]
- [23] Zhuang P. Fishes of Yangtze Estuary, 2nd Edition[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2018. [庄平. 长江口鱼类(第2版)[M]. 北京: 中国农业出版社, 2018.]
- [24] Zhu Y D. Fishes of Fujian[M]. Fujian province: Fujian Science and Technology Press, 1985. [朱元鼎. 福建鱼类志上下卷[M]. 福州: 福建科学技术出版社, 1985.]
- [25] Nelson J S. Fishes of the World 4th Edition[M]. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc., 2006.
- [26] Wu H L. Latin-Chinese Dictionary of Fish Names by Classification system[M]. Qingdao: China Ocean University Press, 2017. [伍汉霖. 拉汉世界鱼类系统名典[M]. 青岛: 中国海洋大学出版社, 2017.]
- [27] Liang H. Studies on fish community structure and species diversity of fish in Dongtou outside sea area[D]. Zhoushan: Zhejiang Ocean University, 2019. [梁海. 洞头外侧海域鱼类群落结构及物种多样性研究[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2019.]
- [28] Yan W C, Song W H, Yu C G, et al. Study on fish diversity and community structure in spring and autumn in Oujiang estuary[J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 2018(6): 132-141. [颜文超, 宋伟华, 俞存根, 等. 甬江口海域春秋季节鱼类多样性及群落结构研究[J]. 海洋湖沼通报, 2018(6): 132-141.]
- [29] He J N, Xu Y J, Zhang H L, et al. Study on the Relationship between Fish Diversity, Quantity and Environmental Factors in the Middle Area of Zhejiang Offshore[J]. Journal of Zhejiang Ocean University: Natural Science Edition, 2017, 36(4): 283-288. [何江楠, 许永久, 张洪亮, 等. 浙江中部近海鱼类多样性及生物量与环境因子的关系研究[J]. 浙江海洋大学学报: 自然科学版, 2017, 36(4): 283-288.]
- [30] Chen J J, Xu Z L. Spatial-temporal Pattern to Fishing Ground of White Croaker in Bohai, Yellow and East China Seas[J]. Journal of Natural Resources, 2011, 26(4): 666-673. [陈佳杰, 徐兆礼. 东黄渤海白姑鱼(*Argyrosomus argentatus*)渔场空间格局的研究[J]. 自然资源学报, 2011, 26(4): 666-673.]
- [31] Xu Z L, Chen J J. Migratory routes of *Trichiurus lepturus* in the East China Sea, Yellow Sea and Bohai Sea[J]. Journal of Fisheries of China, 2015, 39(6): 824-835. [徐兆礼, 陈佳杰. 东、黄渤海带鱼的洄游路线[J]. 水产学报, 2015, 39(6): 824-835.]
- [32] Lin L S, Zhang H Y, Li H Y, et al. Study on Seasonal Variation of Feeding Habit of Hairtail (*Trichiurus japonicus*) in the East China Sea[J]. Periodical of Ocean University of China, 2006, 36(6): 932-936. [林龙山, 张寒野, 李惠玉, 等. 东海带鱼食性的季节变化[J]. 中国海洋大学学报: 自然科学版, 2006, 36(6): 932-936.]
- [33] Lin X P, Zhu Z J, Li P F. Feeding habits of *Harpadon nehereus* in the East China Sea region[J]. Marine fisheries, 2010, 32(3): 290-296. [林显鹏, 朱增军, 李鹏飞. 东海区龙头鱼摄食习性的研究[J]. 海洋渔业, 2010, 32(3): 290-296.]
- [34] Gu J Q, Shi N, Xue Y G. Climatic variation of rainfall and wet days in Zhejiang[J]. Journal of Applied Meteorological Science, 2002(3): 322-329. [顾骏强, 施能, 薛根元. 近 40 年浙江省降水量、雨日的气候变化[J]. 应用气象学报, 2002(3): 322-329.]
- [35] Li W, Wang Y H, Wang J N, et al. Distributions of water masses and hydrographic structures in the Yellow Sea and East China Sea in spring and summer 2011[J]. Oceanologia Et Limnologia Sinica, 2012, 43(3): 615-623. [李伟, 王玉衡, 汪嘉宁, 等. 2011 年春、夏季黄、东海水团与水文结构分布特征[J]. 海洋与湖沼, 2012, 43(3): 615-623.]
- [36] Zhang C C. Study on community characteristics and diversity of swimming animals in sea area of Qixing Archipelago[D]. Zhoushan: Zhejiang Ocean University, 2017. [张春草. 七星列岛海域游泳动物群落特征及多样性研究[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2017.]
- [37] Environmental protection agency of China. Manual for

- monitoring aquatic organisms[M]. Nanjing: Southeast University Press, 1993. [国家环保局. 水生生物监测手册[M]. 南京: 东南大学出版社, 1993.]
- [38] Hiddink J G, ter Hofstede R. Climate induced increases in species richness of marine fishes[J]. *Global Change Biology*, 2008, 14: 453-460.
- [39] Cardoso I, França S, Pais M P, et al. Fish assemblages of small estuaries of the Portuguese coast: A functional approach[J]. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 2011, 93: 40-46.
- [40] Johnson C M, Johnson L B, Richards C, et al. Predicting the occurrence of amphibians: an assessment of multiple scale models[M]. Washington, D C: Island Press, 2002.
- [41] Li J S, Hu F, Li S F, et al. Quantity distribution of *Benthosema pterotum* and in relationship with surface layer water temperature and salinity in the East China Sea region[J]. *Marine fisheries*, 2006, 28(2): 105-110. [李建生, 胡芬, 李圣法, 等. 东海区七星底灯鱼数量分布以及与温盐度的关系[J]. *海洋渔业*, 2006, 28(2): 105-110.]
- [42] Fisher J A D, Frank K T, Petrie B, et al. Temporal dynamics within a contemporary latitudinal diversity gradient[J]. *Ecology Letters*, 2008, 11: 883-897.

Assessment of fish community structure and redundancy analysis of dominant species in the Oujiang River estuary

CHEN Weifeng^{1,2}, YE Shen^{1,2}, QIN Song^{1,2}, FAN Qingsong^{1,2}, CHEN Shaobo^{1,2,3}, NI Yong⁴, PENG Xin^{1,2}

1. Zhejiang Mariculture Research Institute, Wenzhou 325005, China;

2. Zhejiang Key Laboratory of Exploitation and Preservation of Coastal Bioresource, Wenzhou 325005, China

3. College of Marine Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

4. East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China

Abstract: Based on quarterly bottom trawl survey data from 2018 to 2019, we analyzed the dynamic changes in fish community structure and their relationship with environmental factors in the survey area using ecological indicators, such as resource density, relative importance index, and diversity index. Results showed that there are 84 fish species in the survey area, belonging to two classes, 14 orders, 39 families, and 69 genera. There were seven dominant species, including *Harpadon nehereus*, *Trichiurus japonicus*, *Pennahia argentata*, *Setipinna tenuifilis*, *Benthosema pterotum*, *Stolephorus commersonnii*, and *Amblychaeturichthys hexanema*, whose composition has changed dramatically. The highest biomass index value was in summer, at 3.25×10^3 kg/km². The highest abundance index value was in autumn, which was 6.64×10^5 ind/km². The highest diversity index values of H' and J' were in winter, at 1.92 and 0.71. The distribution of *T. japonicus* and *B. pterotum* is positively correlated with depth and salinity. The distribution of *P. argentata* is strongly positively correlated with temperature and negatively correlated with pH. *S. commersonnii*, *S. tenuifilis*, and *H. nehereus* have a low preference for environmental factors. By exploring the spatial and temporal changes of fish community structure in the Oujiang River Estuary, the results of this study provide scientific evidence for protecting fishery resources and improving the quality and function of fishery environments in the estuary area.

Key words: fish community structure; dominant species; diversity index; Oujiang River estuary

Corresponding author: PENG Xin. E-mail: pengxin_1128@163.com

DOI: 10.12264/JFSC2021-0060

基于线粒体 COI 基因的河南境内四水系日本沼虾种群遗传多样性

冯梦霞, 汤永涛, 刘如珪, 闫雪朦, 胡博, 聂国兴, 周传江

河南师范大学水产学院, 河南省水产动物养殖工程技术研究中心, 水产动物疾病控制河南省工程实验室,
河南 新乡 453007

摘要: 日本沼虾(*Macrobrachium nipponense*)是一种经济价值较高的淡水虾类, 广泛分布于我国各淡水水体, 其在河南境内各水系均有分布。随着水产养殖业的发展、水域生态环境的变化及人为因素的影响, 日本沼虾的种质资源也逐渐受到影响。为评估河南境内水系日本沼虾的种质资源现状及其遗传多样性, 本研究利用线粒体 COI 基因对河南境内 18 个地理群体 135 尾日本沼虾开展种群遗传学研究, 样品覆盖河南境内的长江、黄河、淮河和海河 4 个水系。结果显示, 河南境内日本沼虾 18 个地理群体共包含 27 个单倍型, 群体平均单倍型多样性(H_d)为 0.78574, 平均核苷酸多样性(π)为 0.01059, 其中淮河水系日本沼虾群体平均遗传多样性最低, 长江水系日本沼虾群体平均遗传多样性最高, 且各水系群体均显示出高 H_d 低 π 的特点。AMOVA 分析显示, 日本沼虾遗传变异主要来源于日本沼虾群体内(66.03%), 群体间遗传变异为 40.22%。系统发育树和单倍型网络均未显示出明显的水系分化。中性检验、错配分布及贝叶斯天际线分析表明, 日本沼虾群体近期没有发生种群扩张, 群体相对稳定。本研究可为河南境内日本沼虾种质资源的保护和合理开发利用提供参考。

关键词: 日本沼虾; COI; 遗传多样性; 种质资源; 长江; 黄河; 淮河; 海河; 河南境内

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005–8737–(2021)12–1548–11

日本沼虾(*Macrobrachium nipponense*)俗称青虾、河虾、大眼贼, 隶属于节肢动物门(Arthropoda)、甲壳纲(Crustacea)、十足目(Decapoda)、长臂虾科(Palaemonidae)、沼虾属(*Macrobrachium*)^[1], 广泛分布于我国各淡水水体, 是一种经济价值较高的经济虾类^[2]。随着水产养殖业的快速发展, 日本沼虾养殖群体逐渐面临种质资源退化、生长速率缓慢、抗病力下降、规格变小及性早熟等一系列问题; 此外, 由于过度开发利用及天然生境的变化等诸多因素的复合影响, 野生日本沼虾种质资源也逐渐衰竭、多样性降低^[3–4]。河南省地处中国南北交界处, 境内分布有长江、黄河、淮河和海河等四大水系, 水系丰富, 地形复杂, 日本沼虾资源

较为丰富; 此外, 继黄河鲤(*Cyprinus carpio*)、淇河鲫(*Carassius auratus*, in Qihe River)国家级水产种质资源保护区在 2007 年建设后, 日本沼虾资源比较丰富的信阳光山及漯河澧河也在 2008 年和 2015 年相继被列为国家级水产种质资源保护区, 日本沼虾种质资源保护得到了越来越多的关注^[5–6]。因此, 种质资源研究对于河南境内日本沼虾种质资源的保护和合理开发利用具有十分重要的现实意义。

目前, 通过 DNA 分子标记进行种群遗传多样性研究已经成为种质资源评价的主要手段之一。作为重要的经济虾类, 日本沼虾的遗传多样性研究相对其他淡水虾类较为丰富, 其中李新正等^[7]

收稿日期: 2021-02-22; **修订日期:** 2021-03-05.

基金项目: 国家自然科学基金项目(31872199, U1504304); 河南省科技攻关重点项目(182102110007, 182102110046, 182102110237, 172102310751); 河南省创新型科技团队支持计划项目(CXTD2016043); 2019 年度河南省高等学校青年骨干教师培养计划项目(2019GGJS063).

作者简介: 冯梦霞(1995–), 女, 硕士研究生, 研究方向为鱼类资源保护与利用. E-mail: 1198916804@qq.com

通信作者: 周传江, 博士, 副教授, 研究方向为鱼类资源保护与利用. E-mail: chuanjiang88@163.com

首先对我国长臂虾总科的系统发育关系进行了系统研究调查, 为后续日本沼虾相关研究奠定了基础, 此后冯建彬等^[8]、Yang 等^[9]利用线粒体细胞色素 C 氧化酶 I (cytochrome c oxidase subunit I, COI) 基因对五大湖、长江与澜沧江水系的日本沼虾开展了群体遗传多样性研究。此外, 基于随机扩增多态 DNA (RAPD) 技术及简单重复序列中间区域 (ISSR) 标记技术对日本沼虾进行群体遗传学分析也有报道^[10-11]。我们对河南境内虾类资源调查的前期结果显示, 相对于其他淡水虾类而言, 日本沼虾在河南境内四大水系均有广泛分布, 且数量较大, 为显著优势物种, 但是其遗传多样性研究尚未开展。此外, 前人有关河南境内鱼类的种群遗传学研究显示, 四大水系的种群表现出不同程度的遗传分化^[12-13], 而河南境内的日本沼虾

遗传多样性情况以及不同水系间是否存在分化尚未见报道。

目前线粒体 COI 基因已被普遍应用于日本沼虾种群遗传学研究^[8-9], 本研究采集了河南境内 18 个野生日本沼虾群体, 基于常用的线粒体分子标记 COI 基因研究其遗传多样性和种群结构, 并评估河南境内日本沼虾种质资源现状, 为其种质资源的健康可持续发展和开发利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

2012 年至 2020 年, 在进行河南境内虾类资源调查期间, 采集了大量日本沼虾样品, 选取其中 18 个地理群体 135 尾日本沼虾样本作为研究对象 (表 1), 样本覆盖河南境内长江、黄河、淮河和海

表 1 日本沼虾采样信息
Tab. 1 Sampling information of *Macrobrachium nipponense*

水系 basin	支流 tributary	种群 population	采样点 sampling location	采样日期 sampling date	样本数 sample size
长江水系 Yangtze River	唐白河-白河 Tangbai River-Baihe River	R14	南阳市鸭河水库	2019.07.18	9
	唐白河-白河 Tangbai River-Baihe River	R17	南阳市唐河县大方庄村	2019.07.18	12
	唐白河-白河 Tangbai River-Baihe River	R19	南阳市新野县公园两河口	2019.07.16	8
	汉江-丹江 Hanjiang-Danjiang	R20	南阳市淅川县丹江口石桥码头	2018.10.10	6
黄河水系 Yellow River	干流 main reach	B07	开封市祥符区刘店镇	2020.10.23	6
	洛河-伊河 Luohe River-Yihe River	C36	洛阳市汝阳县杜康新村杜康遗址	2019.08.12	5
	沁河 Qinhe River	H07	焦作市武陟县原马蓬村	2019.09.08	11
	洛河 Luohe River	M07	三门峡市陕州区九孔桥下游	2019.08.07	4
	洛河-涧河 Luohe River-Jianhe River	M08	三门峡市渑池县涧河生态公园	2019.08.07	6
淮河水系 Huaihe River	颍河 Yinghe River	A04	郑州市登封市白沙水库	2019.08.12	9
	颍河 Yinghe River	K08	许昌市襄城县烟城路常庄	2019.08.08	6
	淮河-汝河 Huaihe River-Ruhe River	Q18	驻马店市确山县滚河镇	2019.08.11	6
	涡河 Wohe River	P16	周口市鹿邑县穆店乡秦庄村	2019.07.16	13
海河水系 Haihe River	干流 main reach	S19	信阳市平桥区肖店乡大王营村	2020.05.31	6
	卫河-淇河 Weihe River-Qihe River	E10	安阳市安阳县善应镇三仓村小南海水库	2019.08.17	13
	卫河-淇河 Weihe River-Qihe River	E14	安阳市林州市石板岩镇南谷洞水库	2019.09.03	6
	卫河-沧河 Weihe River-Canghe River	G03	新乡市卫辉市狮豹头乡小店河村	2019.09.05	4
	卫河-沧河 Weihe River-Canghe River	G04	新乡市卫辉市塔岗水库	2019.09.08	5

河等四大水系(图 1)。采集的日本沼虾直接浸泡于 95%的乙醇溶液中带回实验室保存备用。

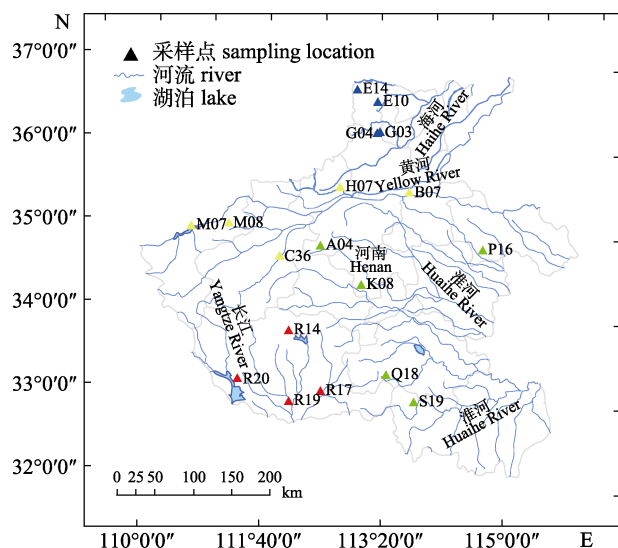


图 1 河南境内水系日本沼虾采样点位示意图
红色—长江水系; 黄色—黄河水系; 绿色—淮河水系;
蓝色—海河水系。

Fig. 1 Sampling locations of the *Macrobrachium nipponense* in Henan Province
red—the Yangtze River basin; yellow—the Yellow River basin;
green—the Huaihe River basin; blue—the Haihe River basin.

1.2 COI 基因序列获取

取约 0.01 g 日本沼虾腹部肌肉组织, 采用酚-氯仿抽提法提取基因组 DNA^[14]。用 1%琼脂糖凝胶电泳和 Nanodrop 微量紫外分光光度计分别检测基因组 DNA 的质量与浓度, 并于 -20 °C 保存备用。

扩增线粒体 COI 基因引物为 LCO1490: 5'-GG-TCAACAAATCATAAAGATATTGG-3', HCO2198: 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3'^[15], 引物由上海生工生物技术有限公司合成。PCR 反应体系为 30 μL, 包含: 2×Es Taq Master Mix 15 μL, 正反向引物各 1.5 μL, DNA 模板 1 μL (100 ng), 无菌双蒸水 11 μL。PCR 反应程序为: 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 30 s, 54 °C 退火 45 s, 72 °C 延伸 45 s, 35 个循环; 72 °C 终延伸 7 min, 4 °C 保存^[8]。PCR 产物经 1%的琼脂糖凝胶电泳检测后送至上海生工生物工程有限公司进行单向测序(引物: LCO1490)。

1.3 数据分析

测序获得的 DNA 序列采用 Lasergene v7.1 软件包中的 SeqMan^[16]软件进行人工核查、校正及

组装拼接。拼接完成的序列用 BioEdit^[17]软件进行多重比对, 剪切掉冗余片段获得一致序列备用。用 DnaSP 5.0^[18]软件计算 DNA 序列的单倍型个数(haplotypes number, h)、单倍型多样性(haplotype diversity, H_d)和核苷酸多样性(nucleotide diversity, π)等遗传多样性参数。用 MEGA 7.0^[19]软件计算序列碱基组成、变异位点、简约信息位点及组内、组间遗传距离等参数; 根据长臂虾科的系统发育关系, 选取秀丽白虾(*Palaemon modestus*)为外类群^[7], 设置 bootstrap 值为 1000 检验置信度, 根据最大似然法(maximum likelihood, ML)构建系统进化树。

用 Arlequin 3.5^[20]进行分子方差分析(analysis of molecular variance, AMOVA)以估算遗传变异在不同水系间的分布及遗传分化系数(F -statistics, F_{ST}), 进而评估不同水系日本沼虾群体的遗传分化程度; 为探究其种群历史动态, 进行 Fu's F_s 和 Tajima's D 中性检验(neutrality test)及错配分布分析(mismatch distribution analysis), 以评估其群体是否发生种群扩张。采用 Network 5.0^[21]软件中的 Median-Joining 法构建日本沼虾的单倍型网络图, 以分析其单倍型演化关系。用 BEAST v1.7.4^[22]软件进行 Bayesian Skyline Plot (BSP)分析估算日本沼虾种群历史动态的变化, 采用 1.4%的 COI 基因进化速率^[23], 由 Tracer v1.5^[24]生成贝叶斯天际线点图(Bayesian skyline plot, BSP)。

2 结果与分析

2.1 COI 基因序列特征

本研究共测序获得 135 条 COI 序列, 去除冗余片段后, 得到长度 613 bp 的一致序列。经比对分析, 日本沼虾线粒体 COI 基因共包含变异位点(V) 45 个, 占总位点数的 7.3%, 其中简约信息位点(P_i) 27 个, 单变异位点(S) 18 个, 转换与颠换的比值为 4.34 : 1; 序列 T、C、A、G 碱基的平均含量分别为 29.1%、22.6%、29.3%和 19.0%, 其中 (A+T)% 为 58.4%, (G+C)% 为 41.6%, 符合节肢动物门普遍 AT 含量较高的特点。

2.2 种群遗传多样性

日本沼虾群体的遗传多样性参数见表 2, 135 尾日本沼虾样品共包含 27 个单倍型, 其中 20 个

单倍型为单个群体独享, 7 个单倍型为共享单倍型, 其中单倍型 Hap1 是包含个体数最多的单倍型, 被 4 个水系 15 个群体 57 个个体所共享, 其次为单倍型 Hap2, 被 4 个水系 7 个群体 20 个个体所共享。日本沼虾各群体单倍型多样性范围在 0.00000~0.93333, 群体平均单倍型多样性为 0.78574, 其中 A04、E14、G04 群体单倍型多样性($H_d=0.00000$)最低, 各自均只有一个单倍型, B07 群体单倍型多样性($H_d=0.93333$)最高; 核苷酸多样性范围在 0.00000~0.01658, 群体平均核苷酸多样性为 0.01059, 其中 A04、E14、G04 群体核苷酸多样性($\pi=0.00000$)最低, R20 群体核苷酸多样性($\pi=0.01658$)最高(表 2)。分析结果显示, A04、E14 及 G04 群体无论单倍型多样性还是核苷酸多

样性均最低, B07、R20、K08 等群体则显示出相对较高的遗传多样性, 且整体而言, 长江水系显示出更高的遗传多样性, 且其平均单倍型多样性($H_d=0.74823$)及核苷酸多样性($\pi=0.01149$)均远高于其他 3 个水系。

2.3 种群遗传结构

通过 MEGA 7.0 软件对日本沼虾群体进行成对遗传距离的计算可知, 日本沼虾群体内遗传距离为 0.000~0.017, 其中 A04、E14、G04 群体组内遗传距离最小, 仅为 0.000, R20 群体组内遗传距离最大为 0.017; 两两群体间的遗传距离为 0.000~0.029, 其中 E14 与 G04 群体组间遗传距离最小, 为 0.000, A04 与 M08 群体组间遗传距离最大为 0.029。18 个日本沼虾群体中, A04、E14、G04 共

表 2 河南境内四水系日本沼虾群体的遗传多样性信息
Tab. 2 Genetic diversity of *Macrobrachium nipponense* populations from 4 river systems in Henan Province

水系 basin	种群 population	样本数 sample size	单倍型数 haplotype number	单倍型 haplotype	H_d	π	Tajima's D	Fu's F_s
长江水系 Yangtze River	R14	9	4	Hap1(5), Hap3(1), Hap8(2), Hap9(1)	0.69444	0.01191	0.23726	3.62030
	R17	12	6	Hap1(1), Hap2(7), Hap4(1), Hap5(1), Hap6(1), Hap10(1)	0.68182	0.00795	-0.96831	0.81555
	R19	8	4	Hap1(2), Hap2(4), Hap7(1), Hap11(1)	0.75000	0.00950	-0.22059	2.46210
	R20	6	4	Hap1(2), Hap5(1), Hap6(2), Hap7(1)	0.86667	0.01658	1.40701	2.50790
黄河水系 Yellow River	B07	6	5	Hap1(2), Hap2(1), Hap7(1), Hap12(1), Hap13(1)	0.93333	0.01361	-0.58900	0.43336
	C36	5	2	Hap7(3), Hap14(2)	0.60000	0.00926	1.77661	5.04223
	H07	11	4	Hap1(7), Hap2(2), Hap14(1), Hap15(1)	0.60000	0.00630	-1.02075	2.34625
	M07	4	2	Hap1(3), Hap2(1)	0.50000	0.00257	-0.75445	1.71605
淮河水系 Huaihe River	M08	6	3	Hap1(4), Hap16(1), Hap17(1)	0.60000	0.00114	-1.13197	-0.85842
	A04	9	1	Hap6(9)	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
	K08	6	5	Hap8(1), Hap14(2), Hap22(1), Hap23(1), Hap24(1)	0.93333	0.01487	-0.36101	0.58041
	Q18	6	3	Hap1(4), Hap14(1), Hap25(1)	0.60000	0.00400	-1.39031	1.31156
海河水系 Haihe River	P16	13	6	Hap1(8), Hap14(1), Hap18(1), Hap19(1), Hap20(1), Hap21(1)	0.64103	0.00409	-1.32292	-0.67801
	S19	6	4	Hap1(2), Hap2(2), Hap5(1), Hap7(1)	0.86667	0.00789	-0.75873	1.02106
	E10	13	5	Hap1(3), Hap2(3), Hap5(1), Hap7(4), Hap26(2)	0.83333	0.00981	1.10965	2.92322
	E14	6	1	Hap1(6)	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
	G03	4	2	Hap1(3), Hap27(1)	0.50000	0.00343	-0.78012	2.19722
	G04	5	1	Hap1(5)	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
总体平均数 average		18	135	27	0.78574	0.01059	-0.52984	-3.23400*

注: H_d 为单倍型多样性, π 为核苷酸多样性, Tajima's D 为 Tajima's D 中性检验值, Fu's F_s 为 Fu's F_s 中性检验值; “*”表示 Tajima's D 和 Fu's F_s 检验显著偏离中性检验模型。
Note: H_d , haplotype diversity; π , nucleotide diversity; Tajima's D , Tajima's D test; Fu's F_s , Fu's F_s test. “*”represents the Tajima's D and Fu's F_s tests significantly deviate from the standard neutral model.

3 个群体的组内遗传距离(0.0000)最小, 其中 A04 群体与其他群体之间的组间遗传距离均较大, 除与 R20 和 C36 群体组间遗传小于 0.02 外, 与其他各组组间遗传距离均大于等于 0.02; 其次是 C36 群体, 其与其他各群体的组间遗传距离也相对较大(表 3)。

日本沼虾群体间的遗传分化系数 F_{ST} (表 3) 为 -0.167~1.000, 对 F_{ST} 值进行差异显著性检验, 结果显示, A04、C36、R17、R19、B07 群体与其他多数群体都存在显著 ($P<0.05$) 或极显著 ($P<0.01$) 的遗传差异, 其中 A04 群体与 P16、S19 群体外的所有群体均达高度遗传分化 ($F_{ST}>0.25$), 且遗传分化均达到极显著水平 ($P<0.01$), 而 C36 群体与 R19、R20、B07、K08、S19 和 E10 共 6 个群体外的其他群体均达高度遗传分化 ($F_{ST}>0.25$), 且遗传分化均达到极显著水平 ($P<0.01$)。遗传分化系数

F_{ST} 与成对遗传距离结果相一致, 均显示 A04 和 C36 群体与其他群体间存在较大的遗传分化。

对河南境内 4 个水系日本沼虾群体进行分子方差分析(AMOVA), 结果显示(表 4)日本沼虾的遗传变异主要来源于群体内个体间, 占总变异的 66.03%, 群体间遗传变异占 40.22%。

以秀丽白虾(*Palaemon modestus*) (GenBank 登录号: MK412768) 作为外类群, 用 MEGA 7.0 软件构建日本沼虾 18 个群体的 ML 系统进化树(图 2a), 结果显示日本沼虾不同群体间没有随地理和水系分布形成单独的分支, 群体间系统进化关系呈交叉式嵌套, 无明显水系和地理分化。

用 Network5.0 软件绘制单倍型网络图(图 2b), 由图可知, 日本沼虾群体各水系单倍型之间未形成明显的地理结构, 不同水系和群体间均存在单倍型共享的情况。除 Hap2、Hap6、Hap7、Hap14

表 3 河南境内四水系日本沼虾群体间遗传分化指数(F_{ST} , 对角下方)、群体内遗传距离(对角线, 粗体)和群体间遗传距离(对角上方)

Tab. 3 Pairwise F_{ST} (below diagonal), genetic distance within populations (diagonal bold) and genetic distance (above diagonal) among *Macrobrachium nipponense* populations from 4 river systems in Henan Province

种群 popula- tion	长江水系 Yangtze River				黄河水系 Yellow River					淮河水系 Huaihe River					海河水系 Haihe River			
	R14	R17	R19	R20	B07	C36	H07	M07	M08	A04	K08	Q18	P16	S19	E10	E14	G03	G04
R14	0.012	0.012	0.011	0.015	0.013	0.016	0.009	0.008	0.008	0.022	0.013	0.008	0.009	0.010	0.013	0.007	0.008	0.007
R17	0.154	0.008	0.008	0.013	0.011	0.012	0.009	0.008	0.009	0.020	0.012	0.009	0.009	0.008	0.009	0.009	0.009	0.009
R19	0.048	-0.068	0.010	0.013	0.011	0.012	0.008	0.007	0.009	0.020	0.012	0.009	0.008	0.008	0.009	0.008	0.008	0.008
R20	0.011	0.065	-0.025	0.017	0.015	0.014	0.014	0.013	0.014	0.016	0.016	0.014	0.014	0.013	0.013	0.014	0.014	0.014
B07	0.017	-0.005	-0.101	-0.029	0.014	0.013	0.010	0.009	0.010	0.023	0.013	0.010	0.010	0.010	0.011	0.010	0.010	0.010
C36	0.329*	0.293**	0.180	0.051	0.096	0.009	0.013	0.014	0.016	0.017	0.015	0.015	0.015	0.012	0.011	0.016	0.015	0.016
H07	0.012	0.158**	0.046	0.195*	0.016	0.441**	0.006	0.004	0.004	0.026	0.010	0.005	0.005	0.007	0.009	0.004	0.005	0.004
M07	-0.042	0.206	0.095	0.197	0.040	0.557**	-0.139	0.003	0.002	0.027	0.009	0.003	0.003	0.006	0.009	0.001	0.002	0.001
M08	0.070	0.425**	0.333*	0.037	0.263	0.698**	0.077	0.038	0.001	0.029	0.010	0.003	0.003	0.007	0.010	0.001	0.002	0.001
A04	0.726**	0.769**	0.775**	0.536**	0.756**	0.804**	0.861**	0.973**	0.984**	0.000	0.024	0.028	0.028	0.023	0.021	0.028	0.027	0.028
K08	-0.064	0.041	-0.036	-0.031	-0.096	0.173	-0.005	-0.015	0.176	0.735**	0.015	0.010	0.010	0.011	0.013	0.009	0.010	0.009
Q18	0.011	0.291**	0.185*	0.265	0.103	0.563**	-0.064	-0.167	0.000	0.943**	0.943	0.004	0.004	0.007	0.010	0.002	0.003	0.002
P16	0.080	0.304**	0.216**	0.352**	0.177**	0.612**	-0.031	-0.165	0.018	0.910	0.114*	-0.090	0.004	0.007	0.010	0.002	0.004	0.002
S19	0.023	-0.046	-0.129	0.035	-0.106	0.264	-0.308	0.016	0.313	0.861	-0.066	0.121	0.135	0.008	0.009	0.006	0.007	0.006
E10	0.126	0.040	-0.059	0.018	-0.053	0.092	0.122	0.179	0.358**	0.723**	0.037	0.243*	0.281**	-0.054	0.010	0.010	0.010	0.010
E14	0.070	0.437**	0.349*	0.383	0.279*	0.727**	0.074	0.111	0.000	1.000**	0.188	0.000	0.001	0.343	0.366**	0.000	0.002	0.000
G03	-0.033	0.262**	0.142	0.202	0.069	0.554**	-0.067	-0.167	0.051	0.964**	0.017	-0.090	-0.070	0.083	0.212*	0.111	0.003	0.002
G04	0.040	0.413**	0.316**	0.344	0.239*	0.700**	0.048	0.063	-0.034	1.000**	0.148	-0.034	-0.023	0.304	0.349**	0.000	0.063	0.000

注: “*”表示差异显著(0.01<P<0.05); “**”表示差异极显著(P<0.01).
Note: “*”means significant differences (0.01<P<0.05); “**” means extremely significant differences (P<0.01).

表 4 河南境内四大水系日本沼虾群体 AMOVA 分析

Tab. 4 Analysis of molecular variance (AMOVA) among *Macrobrachium nipponense* populations from 4 river systems in Henan Province

变异来源 source of variation	自由度 df	平方和 sum of squares	变异组成 variance component	变异百分比/% percentage of variation	固定系数 fixation index
组间 among groups	3	18.781	-0.19428Va	-6.24	$F_{CT}=-0.06245$
组内群体间 among populations within groups	14	154.708	1.25115Vb	40.22	$F_{SC}=0.37852^{**}$
群体内 within populations	117	240.348	2.05426Vc	66.03	$F_{ST}=0.33971^{**}$
合计 total	134	413.837	3.11113		

注: F_{ST} 为种群总变异; F_{SC} 为组内变异; F_{CT} 为组间变异; “*”表示差异显著($P<0.05$); “***”表示差异极显著($P<0.01$)。
Note: F_{ST} is total variation of population; F_{SC} is variation within groups; F_{CT} is variation among groups; “*”means significant differences ($P<0.05$); “***” means extremely significant differences ($P<0.01$).

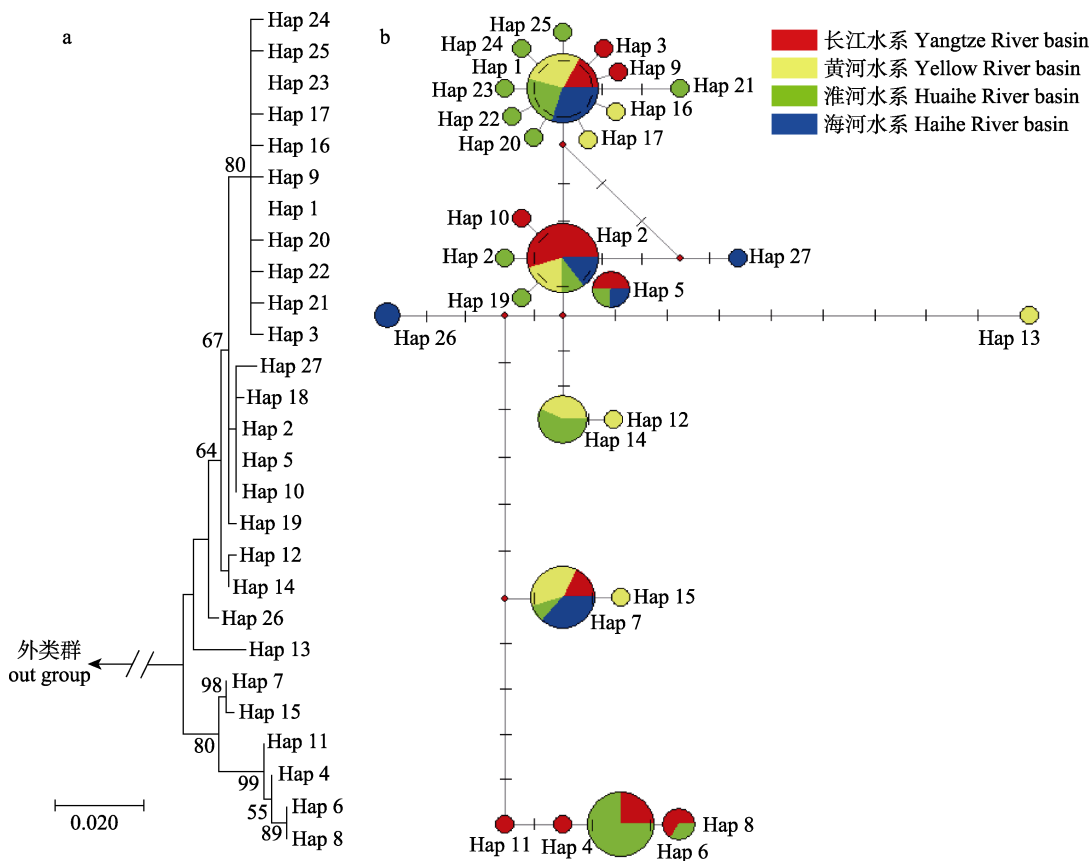


图 2 基于 COI 基因构建的河南境内四水系日本沼虾的 ML 系统进化树(a)及单倍型网络图(b)

Fig. 2 The ML maximum likelihood phylogenetic tree (a) and network of haplotype (b) of *Macrobrachium nipponense* from 4 river systems in Henan Province based on COI gene sequences

具有少量拓展单倍型外, 单倍型 Hap1 拓展单倍型最多, 推测单倍型 Hap1 可能为日本沼虾适应环境变化而形成的适应性较强、抵抗性较高的稳定群体。

2.4 日本沼虾群体的种群历史动态分析

研究采用中性检验、错配分布及 BSP 分析 3 种方法相结合, 对河南境内不同水系日本沼虾的

种群历史动态进行分析。中性检测结果(表 2)显示, 河南境内日本沼虾群体 Tajima’s D 检验为负值 (Tajima’s $D=-0.52984$), 但无显著差异, Fu’s F_s 检验为 3.234, 且呈现出显著差异($P<0.05$); 错配分布显示日本沼虾不同水系群体及整体的错配分布曲线均呈多峰型(图 3a~e), 故推测河南境内日本沼虾种群呈现相对稳定状态, 近期未发生过种群

扩张事件。为进一步估算日本沼虾群体的种群历史动态,用 BEAST 软件对其不同水系群体及整体进行 BSP 分析,结果显示日本沼虾不同水系种群和群体整体均保持稳定的趋势(图 4a~e)。

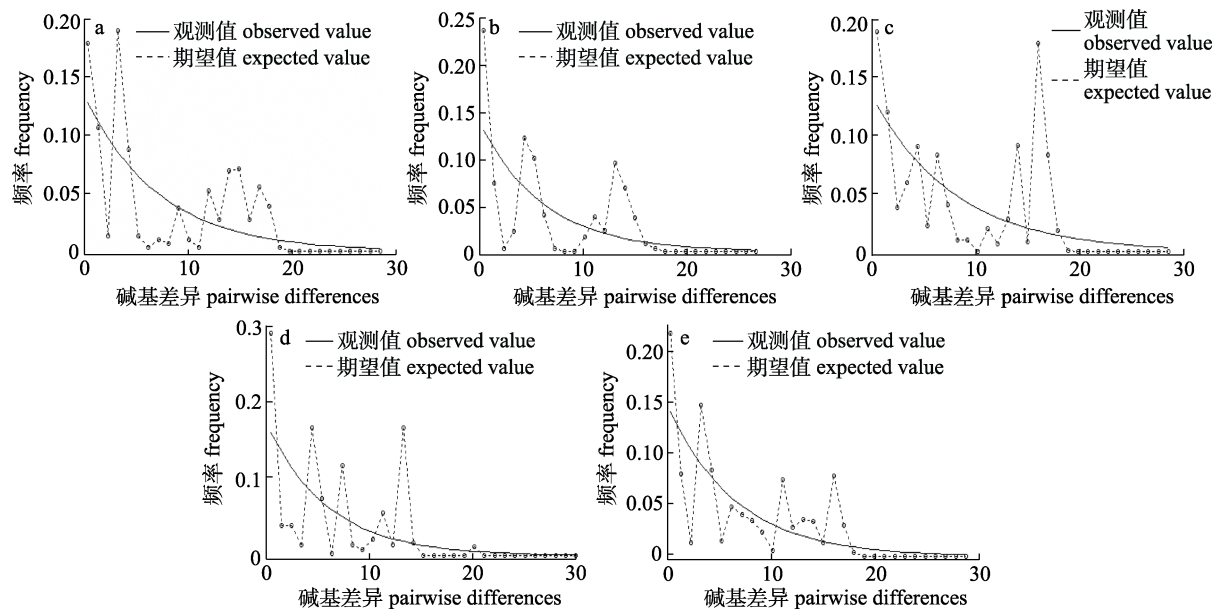


图 3 河南境内四水系日本沼虾种群错配分布分析

a: 长江水系; b: 黄河水系; c: 淮河水系; d: 海河水系; e: 总体.

Fig. 3 Mismatch distribution analysis of *Macrobrachium nipponense* populations from 4 river systems in Henan Province
a: Yangtze River; b: Yellow River; c: Huaihe River; d: Haihe River; e: total.

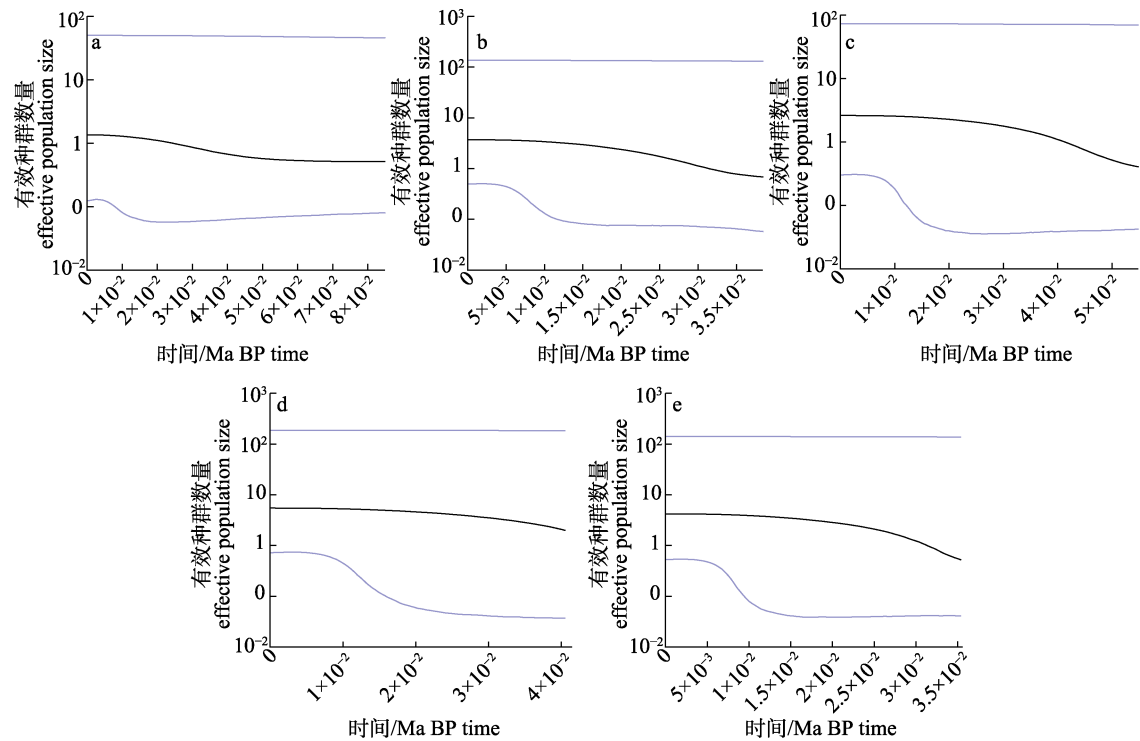


图 4 河南境内四水系日本沼虾群体贝叶斯天际线点图

a: 长江水系; b: 黄河水系; c: 淮河水系; d: 海河水系; e: 总体. 黑线表示种群大小, 蓝色线包含区域表示 95%置信区间。

Fig. 4 BSP (Bayesian skyline plots) of *Macrobrachium nipponense* populations from 4 river systems in Henan Province
a: Yangtze River; b: Yellow River; c: Huaihe River; d: Haihe River; e: total. The black line represents population size, and the blue line covering areas represent 95% confidence intervals.

3 讨论

3.1 河南境内日本沼虾的遗传多样性

遗传多样性是物种长期进化的产物, 可以反映生物群体发展进化的潜力大小以及对环境变化适应能力的强弱^[25]。作为遗传多样性的重要指标核苷酸多样性在一定程度上比单倍型多样性更能反映群体的遗传多样性^[26]。通过对河南境内 4 个水系 18 个地理群体日本沼虾 135 个样本的线粒体 COI 基因进行遗传多样性分析, 结果显示河南境内日本沼虾群体共包含 27 个单倍型, 其群体平均单倍型多样性($H_d=0.78574$)及核苷酸多样性($\pi=0.01059$)均低于我国五大湖($H_d=0.919$, $\pi=0.01253$)、长江和澜沧江日本沼虾群体($H_d=0.878$, $\pi=0.01744$)的平均值, 且整体而言, 河南境内日本沼虾群体表现出高 H_d 低 π 的特点, 这与其他日本沼虾群体的遗传多样性研究结果相一致^[8-9]。

日本沼虾 18 个群体 27 个单倍型中淮河水系 A04 群体、海河水系的 E14 及 G04 群体的单倍型多样性和核苷酸多样性均为最低($H_d=0.00000$, $\pi=0.00000$), 或因其生活环境为水库、人造湖、公园等半封闭式水体, 与外界基因交流相对较少; 长江水系 R20 群体($H_d=0.86667$, $\pi=0.01658$)、黄河水系 B07 群体($H_d=0.93333$, $\pi=0.01361$)及淮河水系 K08 群体($H_d=0.93333$, $\pi=0.01487$)的单倍型数和单倍型多样性均处在群体较高水平; 遗传多样性分析结果显示, 长江水系日本沼虾群体平均遗传多样性最高($H_d=0.74823$, $\pi=0.01149$), 表明长江水系日本沼虾群体目前还保持了比较高的遗传多样性, 这与 Yang 等^[9]和傅洪拓等^[27]的研究结果相一致, 黄河水系($H_d=0.64667$, $\pi=0.00663$)和海河水系($H_d=0.64827$, $\pi=0.00662$)次之, 淮河水系日本沼虾群体遗传多样性最低($H_d=0.60826$, $\pi=0.00617$), 这可能与该地域以日本沼虾作为重要经济水产品 and 食用产品而进行人工捕捞及开发利用有一定关系, 人为的干扰因素一定程度上导致了日本沼虾群体遗传多样性水平的衰退。

3.2 河南境内日本沼虾的遗传结构

对河南境内日本沼虾群体进行成对遗传距离和遗传分化指数计算, 结果显示, 淮河水系 A04 群体、海河水系的 E14 及 G04 群体组内遗传距离

为 0.000。但是该群体与其他群体之间组间遗传距离相对较大。此外黄河水系 C36 群体和其他群体也存在较大遗传分化, 推测可能由于生活环境较为封闭, 与外界基因交流存在一定阻隔, 导致日本沼虾遗传分化水平不高。 F_{ST} 值作为衡量群体遗传分化的重要指标显示, A04 群体为遗传分化最显著的群体, 达到高度遗传分化水平($F_{ST}>0.25$), 其次是 C36、E14、G04 群体, 其他各群体整体遗传分化水平不高。分子方差分析(AMOVA)结果表明, 日本沼虾的遗传变异主要来源于种群内, 群体内变异(66.03%)远大于群体间遗传变异(40.22%), 这与日本沼虾群体遗传分化系数 F_{ST} 相一致, 当群体内变异大于群体间变异时遗传分化系数 F_{ST} 则会呈现负值。

单倍型网络显示, 日本沼虾群体 27 个单倍型中 Hap1 和 Hap2 单倍型广泛分布于各个水系, 出现频率也较高, 分别为 57 次和 20 次, 说明该单倍型可能相对稳定且对外界环境的适应能力较强, 结果显示各单倍型在各个水系的分布亦无显著的地理和水系差别。河南境内日本沼虾群体 COI 基因的系统发育结果显示, 4 个水系日本沼虾群体呈交叉分布, 无显著水系分化。单倍型网络显示出与系统发育树相似的结果, 四大水系存在 7 个共享单倍型, 表明河南境内 4 个水系日本沼虾群体间存在一定的基因交流。据史料记载, 河南曾发生过黄河改道、水系变迁等地质事件, 且长江、黄河、淮河等流域均爆发过洪泛灾害。此外, 引黄济卫、南水北调等水系工程的建设 and 改造, 也加强了各大水系之间的沟通连接^[28-30]。因此, 河南境内不同水系日本沼虾种群可能因水系之间相互连通而存在一定基因交流, 从而未产生显著水系分化。此外, 作为重要经济物种, 人工养殖、引种驯化和人为因素等都会通过影响日本沼虾的生存环境、基因交流等方式间接影响到日本沼虾种群的遗传结构。

3.3 河南境内日本沼虾的种群历史动态

中性检测结果显示, 群体平均 F_u' F_s 值和 Tajima's D 值均为负值, 且 F_u' F_s 值达显著差异水平($P<0.05$); 错配分布显示错配分布图为多峰; BSP 分析结果显示日本沼虾群体整体上保持稳定

增加的趋势。综合以上 3 种方法分析, 结合其高单倍型多样性、低核苷酸多样性共存的特征, 推测河南境内日本沼虾种群整体相对比较稳定, 未经历过种群扩张。

综上所述, 作为广泛分布于我国各淡水水体、经济价值较高的淡水虾, 河南境内部分地区尤其是淮河水系日本沼虾群体的遗传多样性水平相对较低, 日本沼虾种质资源的保护有待进一步加强。物种演化在生物体长期的进化历程中受基因突变、自然选择等多种遗传因素影响, 此外地质变迁和气候波动等环境因素和人为因素对物种的遗传分化也会造成一定程度的影响^[31-33]。近年来人工养殖、过度捕捞、水环境污染及水利水坝工程的建设均对日本沼虾的生存环境造成了很大影响, 严重影响了日本沼虾的生存及演化。长江流域禁渔期制度及不断补充完善的禁捕措施的实施不仅为长江流域渔业资源的养护提供了保障, 更为河南省渔业资源的养护提供了参考。根据本研究结果, 建议除现有的两大国家级青虾保护区的设立外, 还应当进一步完善并加强日本沼虾种质资源的选育和生存环境的保护。

参考文献:

- [1] Liu R Y. *Palaemon* and *Macrobrachium*[J]. Bulletin of Biology, 1957(6): 14-23. [刘瑞玉. 长臂虾和沼虾[J]. 生物学通报, 1957(6): 14-23.]
- [2] Dong J, Li X Q. A study on biology of *Macrobrachium nipponense* at lake Dongping[J]. Modern Fisheries Information, 2010, 25(4): 7-9. [董俊, 李秀启. 东平湖日本沼虾的生物学研究[J]. 现代渔业信息, 2010, 25(4): 7-9.]
- [3] Feng J B, Li J L, Cheng X. Research progress on germplasm resources exploitation and protection of *Macrobrachium nipponense*[J]. Journal of Shanghai Fisheries University, 2008, 17(3): 371-376. [冯建彬, 李家乐, 程熙. 日本沼虾种质资源挖掘和保护研究进展[J]. 上海水产大学学报, 2008, 17(3): 371-376.]
- [4] Chen J, Song G T, He J X, et al. Genetic diversity analysis of *Macrobrachium nipponense* from 10 populations in Anhui province with microsatellite[J]. Freshwater Fisheries, 2018, 48(3): 7-12. [陈静, 宋光同, 何吉祥, 等. 安徽省 10 个日本沼虾群体遗传多样性微卫星分析[J]. 淡水渔业, 2018, 48(3): 7-12.]
- [5] Li J L, Nie S Z, Feng J B, et al. The comparison of growth and culture performance in cage for five stocks of Oriental river prawn from the midstream and downstream of Yangtze River[J]. Journal of Shanghai Fisheries University, 2005, 14(3): 258-262. [李家乐, 聂式忠, 冯建彬, 等. 长江中下游五个青虾群体网箱生长和养殖性能比较[J]. 上海水产大学学报, 2005, 14(3): 258-262.]
- [6] Lv D, Fu H T, Qiao H, et al. Research progress on germplasm resource of *Macrobrachium nipponense*[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2012, 28(11): 97-102. [吕丁, 傅洪拓, 乔慧, 等. 青虾种质资源研究与保护进展[J]. 中国农学通报, 2012, 28(11): 97-102.]
- [7] Li X Z, Liu R Y, Liang X Q. The zoogeography of Chinese *Palaemonidea fauna*[J]. Biodiversity Science, 2003, 11(5): 393-406. [李新正, 刘瑞玉, 梁象秋. 中国长臂虾总科的动物地理学特点[J]. 生物多样性, 2003, 11(5): 393-406.]
- [8] Feng J B, Sun Y N, Cheng X, et al. Sequence analysis of mitochondrial COI gene of *Macrobrachium nipponense* from the five largest freshwater lakes in China[J]. Journal of Fisheries of China, 2008, 32(4): 517-525. [冯建彬, 孙悦娜, 程熙, 等. 我国五大淡水湖日本沼虾线粒体 COI 基因部分片段序列比较[J]. 水产学报, 2008, 32(4): 517-525.]
- [9] Yang P, Zhang H, Chen L Q, et al. Genetic structure of the oriental river prawn (*Macrobrachium nipponense*) from the Yangtze and Lancang Rivers, Inferred from COI Gene Sequence[J]. Zoological Research, 2007, 28(2): 113-118. [杨频, 张浩, 陈立侨, 等. 利用 COI 基因序列分析长江与澜沧江水系日本沼虾群体的遗传结构[J]. 动物学研究, 2007, 28(2): 113-118.]
- [10] Yang P, Chen L Q, Wang W, et al. ISSR Analysis of genetic diversity of *Macrobrachium nipponense*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2010, 17(5): 913-921. [杨频, 陈立侨, 王伟, 等. 日本沼虾遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 中国水产科学, 2010, 17(5): 913-921.]
- [11] Ling L B. Studys on genetic diversity of different populations of *Macrobrachium nipponense*[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2005. [凌立彬. 日本沼虾不同地方种群的遗传多样性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2005.]
- [12] Wang X, Zeng H L, Meng X L, et al. Genetic diversity of wild *Micropercops swinhonis* populations in Henan Province[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2020, 27(1): 96-105. [汪曦, 曾会玲, 孟晓林, 等. 河南省小黄鲃鱼群体遗传多样性[J]. 中国水产科学, 2020, 27(1): 96-105.]
- [13] Liu H F, Zhang C, Wang J, et al. Genetic diversity of wild *Zacco platypus* populations among four river systems in Henan Province analyzed by mitochondrial COI gene[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2018, 25(2): 269-277. [刘慧芬, 张超, 王静, 等. 河南境内四水系宽鳍鲮野生群体的遗传多样性[J]. 中国水产科学, 2018, 25(2): 269-277.]
- [14] Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. Molecular Cloning: A

- Laboratory Manual[M]. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989: 1626.
- [15] Folmer O, Black M, Wr H, et al. DNA primers for amplification of mitochondrial Cytochrome C oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates[J]. Molecular Marine Biology and Biotechnology, 1994, 3(5): 294-299.
- [16] Swindell S R, Plasterer T N. SEQMAN. Contig assembly[J]. Methods in Molecular Biology, 1997, 70(70): 75-89.
- [17] Tippiann H F. Analysis for free: Comparing programs for sequence analysis[J]. Briefings in Bioinformatics, 2004, 5(1): 82-87.
- [18] Librado P, Rozas J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data[J]. Bioinformatics, 2009, 25(11): 1451-1452.
- [19] Sudhir K, Glen S, Koichiro T. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets[J]. Molecular Biology and Evolution, 2016(7): 1870.
- [20] Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis[J]. Evolutionary Bioinformatics, 2005(1): 47-50.
- [21] Bandelt H J, Macaulay V, Richards M. Median Networks: speedy construction and greedy reduction, one simulation, and two case studies from human mtDNA[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2000, 16(1): 8-28.
- [22] Heled J, Drummond A J. Bayesian inference of species trees from multilocus data[J]. Molecular Biology and Evolution, 2010, 27(3): 570-580.
- [23] Knowlton N, Weigt L A. New dates and new rates for divergence across the Isthmus of Panama[J]. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 1998 265(1412): 2257-2263.
- [24] Rambaut A, Drummond A J. Tracer v1.5[Z]. 2007. <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>.
- [25] Ni S S, Yang Y, Liu S F, et al. Population-genetics analysis of the Japanese scallop *Patinopecten yessoensis* based on mitochondrial *Cyt b* gene[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2017, 24(3): 432-439. [倪守胜, 杨钰, 柳淑芳, 等. 基于线粒体 *Cyt b* 基因的虾夷扇贝群体遗传结构分析[J]. 中国水产科学, 2017, 24(3): 432-439.]
- [26] Grant W, Bowen B. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation[J]. Journal of Heredity, 1998, 89: 415-426.
- [27] Fu H T, Qiao H, Li F J, et al. Genetic diversity of *Macrobrachium nipponense* on a regional scale in the Yangtze River[J]. Journal of Fisheries, 2010, 34(2): 204-211. [傅洪拓, 乔慧, 李法君, 等. 长江不同江段青虾的遗传多样性[J]. 水产学报, 2010, 34(2): 204-211.]
- [28] Chen Z Q. The deposition, breach and diversion in the lower Yellow River and their relationships with human activities during the historical period[J]. Progress in Geography, 2011, 20(1): 44-50. [陈志清. 历史时期黄河下游的淤积, 决口改造及其与人类活动的关系[J]. 地理科学进展, 2011, 20(1): 44-50.]
- [29] Niu Z X, Sun Z M. The relationship between the main river systems in the northern area of Henan Province and the influence by man's transformation[J]. Henan Sciences, 1985, 3(2): 106-115. [钮仲勋, 孙仲明. 历史时期豫北地区主要水系之间的关系及人类改造利用的影响[J]. 河南科学, 1985, 3(2): 106-115.]
- [30] Zhang Y Y, Li Z L, Liu X J. Evolution of interconnected river and lake networks in the Huai River Basin over the last millennium[J]. South-to-North Water Transfers and Water Science & Technology, 2016, 14(4): 77-83. [张永勇, 李宗礼, 刘晓洁. 近千年淮河流域河湖水系连通演变特征[J]. 南水北调与水利科技, 2016, 14(4): 77-83.]
- [31] Flanagan S P, Rose E, Jones A G. Population genomics reveals multiple drivers of population differentiation in a sex-role-reversed pipefish[J]. Molecular Ecology, 2016, 25(20): 5043-5072.
- [32] Günther T, Coop G. Robust identification of local adaptation from allele frequencies[J]. Genetics, 2013, 195(1): 205-220.
- [33] Yu D, Chen M, Tang Q Y, et al. Geological events and Pliocene climate fluctuations explain the phylogeographical pattern of the cold water fish *Rhynchocypris oxycephalus* (Cypriniformes: Cyprinidae) in China[J]. BMC Evolutionary Biology, 2014, 14: 225.

Genetic diversity of *Macrobrachium nipponense* in Henan Province assessed using mitochondrial COI gene

FENG Mengxia, TANG Yongtao, LIU Ruyao, YAN Xuemeng, HU Bo, NIE Guoxing, ZHOU Chuanjiang

College of Fisheries, Henan Normal University; Engineering Technology Research Center of Henan Province for Aquatic Animal Cultivation; Engineering Laboratory of Henan Province for Aquatic Animal Disease Control, Xinxiang 453007, China

Abstract: *Macrobrachium nipponense* is a freshwater prawn with high economic value. It is widely distributed in most freshwater water bodies and in all river systems of Henan Province. With the development of aquaculture, the change of ecological environment in the water area, and the influence of contrived factors, the germplasm resources of *M. nipponense* have also been gradually affected in recent years. To provide a reference for *M. nipponense* in Henan Province, we assess the germplasm resources and genetic diversity of *M. nipponense* in Henan Province. The mitochondrial COI gene was used as a marker to investigate population genetics of 135 *M. nipponense* samples from 18 populations in Henan Province. The samples covered four main water systems in Henan Province, including the Yangtze, Yellow, Huaihe, and Haihe Rivers. Results showed that the 18 populations of *M. nipponense* in Henan Province contained 27 haplotypes. The average haplotype diversity (H_d) and average nucleotide diversity (π) were 0.78574 and 0.01059, respectively. The Huaihe population had the lowest genetic diversity, and the Yangtze River population showed the highest genetic diversity. High H_d and low π were observed for the four rivers. AMOVA showed that major genetic variation (66.03%) occurred within the population, and 40.22% of the genetic variation existed among populations. There was no significant genetic differentiation for *M. nipponense* from the four water systems based on phylogenetic and haplotype network analyses. The demographic history analysis showed that *M. nipponense* of Henan province did not experience recent population expansion, maintaining a relatively stable population size. This study can provide basic guidance for protecting and reasonably utilizing the germplasm resource of *M. nipponense* in Henan Province, providing reference material for the whole of China.

Key words: *Macrobrachium nipponense*; COI; genetic diversity; germplasm resource; Yangtze River; Yellow River; Huaihe River; Haihe River; Henan

Corresponding author: ZHOU Chuanjiang. E-mail: chuanjiang88@163.com

DOI: 10.12264/JFSC2021-0086

基于标志放流信息的长江口中华鲟降海洄游和分布特征

吴建辉^{1, 3, 5}, 陈锦辉^{1, 2, 3}, 高春霞^{2, 3, 4, 5}

1. 上海市水生野生动植物保护研究中心, 上海 200092;
2. 上海海洋大学海洋科学学院, 上海 201306;
3. 长江口水生生物资源监测与保护联合实验室, 上海 202162;
4. 国家远洋渔业工程技术研究中心, 上海 201306;
5. 教育部大洋渔业资源可持续发展重点实验室, 上海 201306

摘要: 中华鲟(*Acipenser sinensis*)为国家一级重点保护野生动物。2004—2014 年在长江口水域标志放流中华鲟 12570 尾, 标志回捕中华鲟 24 尾次, 接收 18 枚落式卫星数据回收标志(PAT)信息。本研究根据标志放流信息, 分析研究长江口标志放流中华鲟降海洄游和分布特征。研究结果表明: (1)长江口标志放流中华鲟分布于经度跨度 7°, 纬度跨度 9°的长江口水域和东海及黄海海域, 主要聚集分布区为长江口水域和舟山群岛海域; (2)标志放流中华鲟具有显著的降海洄游趋势, 放流后短期滞留在长江口淡水环境, 7 d 后具有进入海洋的行为; (3)长江口标志放流中华鲟进入海洋后, 其迁移方向会出现随机性, 在迁移过程中具有折返、转向、停滞的特征。本研究通过对长江口增殖放流的中华鲟标志回捕信息开展研究, 旨在揭示中华鲟降海洄游和分布特征, 为中华鲟资源保护提供科学依据。

关键词: 中华鲟; 长江口; 标志放流; 降海洄游; 分布特征

中图分类号: S931

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2021)12-1559-09

中华鲟(*Acipenser sinensis*)是国家一级重点保护野生动物, 是我国特有的江海洄游性鱼类, 主要分布于长江干流和我国东海及黄海^[1-3]。在自然条件下, 性成熟的中华鲟溯江而上由海洋经长江口到达长江中游产卵繁殖, 孵化的幼鲟顺流而下聚集于长江口, 完成由淡水游向海水的生理适应性调节过程^[1]。由于水利工程建设、水体污染、过度捕捞等原因, 中华鲟在长江中的洄游通道被切断、产卵场遭受破坏、生活史过程受到干扰, 野生中华鲟资源量急剧减少。1976 年, 国家提出以人工增殖放流的方法来保护中华鲟^[4], 目前人工增殖放流技术已经成为了实施中华鲟主动保护的重要手段之一^[5]。自 1982 年开始, 中国水产科学院长江水产研究所持续开展了 30 多年的中华鲟人工增殖放流工作^[6]; 1984 年水利部中华鲟研究

所对野生中华鲟进行人工繁殖取得成功, 并实施增殖放流^[7]。长江口是中华鲟幼鱼降海洄游和成鱼溯河洄游的必经通道, 对中华鲟的生存意义重大^[8]。基于长江口在中华鲟保护中的重要性, 2004 年以来, 上海市农业农村委员会在长江口组织开展多次中华鲟增殖放流工作, 以增殖和保护长江口及海洋的中华鲟种群资源。

标志放流技术是研究鱼类分布规律、洄游性鱼类的洄游习性、评估人工增殖放流效果和估算自然种群数量的重要方法^[9]。标志放流作为增殖放流的主要技术手段, 常与增殖放流活动同步开展^[10]。1996 年之前长江放流的中华鲟幼鲟均未进行标志; 1996—1998 年, 常剑波^[11]采用茜素络合物浸泡的方法对部分幼鲟进行了标志放流; 1998—2002 年杨德国等^[9]采用体外挂牌和体内注射微

收稿日期: 2021-03-22; **修订日期:** 2021-04-02.

基金项目: 教育部重点实验室开放基金项目(2021-06); 农业农村部渔业资源保护和转产转业项目(2014021).

作者简介: 吴建辉(1980—), 男, 博士, 高级工程师, 主要从事长江口水生野生生物及其栖息地保护研究. E-mail: wjh0618@163.com

通信作者: 陈锦辉, 博士, 研究员, 主要从事长江口水生野生生物保护研究. E-mail: 1114260882@qq.com

型线码标记进行中华鲟增殖放流效果评估和跟踪监测研究; 2006 年陈锦辉等^[12]利用脱落式卫星数据回收标志(POP-UP satellite), 通过标志放流开展中华鲟在海域中的迁移和分布研究; 2010—2013 年王成友等^[13]在厦门九龙开展中华鲟人工放流效果评估。长江口的中华鲟标志放流研究起步较晚, 尤其长江口中华鲟降海洄游习性、在海洋中的移动和分布等方面的研究还在起步阶段。本研究基于长江口中华鲟标志放流技术, 利用 2004—2014 年标志放流信息, 探究长江口中华鲟降海洄游及其在海洋中的重要分布区域, 为长江口中华鲟增殖放流效果评估、海洋中华鲟种群的保护和管理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 放流中华鲟来源及放流地点信息

2004—2014 年累计标志放流中华鲟 12570 尾(表 1), 放流地点位于长江口南支北港水道和南支南港水道。放流中华鲟由野生中华鲟和人工繁育仔 I 代(F₁)中华鲟组成, 其中 F₁ 中华鲟为湖北中华鲟保护科研机构人工繁育, 并在位于上海市崇明岛的中华鲟保护基地内进行多年人工驯养; 野生中华鲟为抢救成活的长江口误捕中华鲟, 经抢救暂养 2~3 个月后放流自然水体。

表 1 2004—2014 年中华鲟标志放流信息表

Tab. 1 Statistics for tagging Chinese sturgeon in 2004—2014

标志放流 年份 year	标志放流 日期 date	放流数量/ind number	放流地点 release site	
			东经 east longitude	北纬 north latitude
2004	09-26	119	122°03'03"	31°23'00"
2005	09-19	1512	121°29'00"	31°25'00"
2006	08-06	3351	121°37'46"	31°30'05"
2007	04-22	2006	121°38'00"	31°30'00"
2007	06-17	51	121°45'00"	31°25'00"
2008	11-01	2550	121°31'27"	31°23'24"
2009	11-09	2569	121°48'40"	31°25'52"
2009	12-11	85	121°48'40"	31°25'52"
2010	06-06	20	121°48'40"	31°25'52"
2010	07-24	33	121°48'40"	31°25'52"
2011	06-16	42	121°48'40"	31°25'52"
2012	05-06	33	121°48'40"	31°25'52"
2013	12-08	129	121°48'40"	31°25'52"
2014	04-24	70	121°48'40"	31°25'52"

1.2 中华鲟标志方法

对放流中华鲟均进行体内体、体外双重标志。体内标志为射频综合标志(passive integrated transponder tags, PIT), 体外标志为外挂银质标志牌(silver brand tag, SBT)、飘带(plastic streamer tag, PST)、骨板标志(plastic bone armor tag, PBT)和锚标(plastic tipped dart tag, PDT)的其中一种, 部分采用悬挂脱落式卫星数据回收标志(POP-UP satellite archival tag, PAT)。其中 PIT 标志于中华鲟人工驯养伊始即植入其体内, 常规体外标志于中华鲟放流前 1 个月时悬挂, PAT 标志于放流现场悬挂并激活(图 1)。



图 1 中华鲟体外标志及标志位置
Fig. 1 The type and position of the tags in *Acipenser sinensis*

1.3 标志信息回收

标志信息通过标志中华鲟回捕和卫星接收数据获得。为有效收集标志回捕信息, 在放流前后进行宣传工作, 并在中华鲟体外标志上印制详细的信息和联络方式, 以便渔民联系。

1.4 统计方法

对不同标记方式下的中华鲟标志回捕率、回捕时间、直线洄游距离以及标志中华鲟分布区域进行统计分析, 探究中华鲟降海洄游习性、在海洋中的移动和分布特征。以上数据统计在 Excel 中完成, 回捕位置和标志脱落位置使用 ArcGIS 10.0 中绘制。

2 结果与分析

2.1 标志回捕和标志信息回收数量

2004—2014 年期间共收集到 24 尾次常规标

志中华鲟回捕信息(表 2), 常规标志回捕率为 0.19%。标志回捕中华鲟中, 回捕 1 龄 F_1 中华鲟 12 尾, 2 龄以上 F_1 中华鲟 11 尾次, 未见野生中华鲟回捕记录。其中标志号码 2013079 的标志放流中华鲟有 2 次回捕记录。

2004—2014 年间进行了 7 次 PAT 标志放流, 共计放流 34 尾携带 PAT 标志的中华鲟, 共回收 18 枚 PAT 标志信息(表 3), PAT 标志回收率为

52.9%, 但未回捕到 PAT 标志中华鲟。

2.2 常规标志放流中华鲟的分布区域

分析标志回捕地点, 常规标志放流中华鲟主要分布于长江口水域、东海海域和黄海海域(表 2、图 2)。其中回捕于放流点附近长江口水域的中华鲟 12 尾, 占到总回捕量的 50.0%; 回捕于东海海域的 10 尾, 占到总回捕量的 41.7%; 回捕于黄海海域的 2 尾。

表 2 中华鲟常规标志回收信息
Tab. 2 Receiving information of tags in *Acipenser sinensis*

标志号码 tag ID	放流日期 release date	回捕时间间隔/d days between releasing and recapturing	回捕地理位置 recapturing geographical position	直线洄游距离/km linear migration distance
2004010	2004-09-26	45	黄海 Yellow Sea	290
AA1503	2005-09-19	1	长江口南支南港水道 Yangtze River south tributary	40
AA0120	2005-09-19	71	浙江舟山群岛海域 Zhoushan sea area	125
AA0600	2005-09-19	73	浙江宁波海域 Ningbo sea area	118
AA0688	2005-09-19	80	浙江舟山群岛海域 Zhoushan sea area	133
AB2053	2006-08-06	56	长江口外近海 off Yangtze River estuary	65
AB0065	2006-08-06	2	长江口崇明岛东部滩涂水域 east Chongming coastal line	32
AB0721	2006-08-06	5	长江口崇明岛东部滩涂水域 east Chongming coastal line	33
AB1321	2006-08-06	6	长江口南支北港水道 Yangtze River south tributary	7
AC1726	2007-04-22	2	长江口南支北港水道 Yangtze River south tributary	6.5
AC1000	2007-04-22	5	长江口南支北港水道 Yangtze River south tributary	6.5
AC0996	2007-04-22	6	长江口长兴岛和横沙岛之间水道 tributary between Changxiang and Hengsha Islands	22
AC0936	2007-04-22	8	长江口南支北港水道 Yangtze River south tributary	8.5
AC1614	2007-04-22	14	长江口南支北港水道 Yangtze River south tributary	27
AC9044	2007-06-17	22	浙江舟山群岛海域 Zhoushan sea area	117
8110131	2008-11-01	64	浙江温州海域 Wenzhou sea area	423
8110129	2008-11-01	130	浙江舟山群岛海域 Zhoushan sea area	146
2013079	2013-12-08	28	黄海 Yellow Sea	128
2013078	2013-12-08	93	长崎县五岛列岛海域 Nagasaki islands sea	630
2013060	2013-12-08	115	浙江宁波海域 Ningbo sea area	216
2013079	2013-12-08	124	浙江舟山群岛海域 Zhoushan sea area	125
2014080	2014-04-24	1	长江口南支北港水道 Yangtze River south tributary	29
2014013	2014-04-24	5	长江口北支水道 Yangtze River north tributary	25
AF0041	2013-12-08	198	长江口南支北港水道 Yangtze River south tributary	25

长江口水域的标志中华鲟分布情况统计结果显示, 长江口南支北港水道 7 尾, 长江口崇明岛东部滩涂水域 2 尾, 长兴岛和横沙岛之间水道 1 尾, 长江口南支南港水道 1 尾, 长江口北支水道 1 尾。可见长江口南支北港水道是标志放流中华鲟

主要逗留场所和主要入海通道。回捕于东海的标志放流中华鲟中, 浙江舟山群岛海域 5 尾, 浙江宁波海域 2 尾, 长江口外近海、浙江温州海域、长崎县五岛列岛海域各 1 尾。标志回捕中华鲟分布于 27°48'00"~33°15'00"N、121°30'18"~128°34'15"E

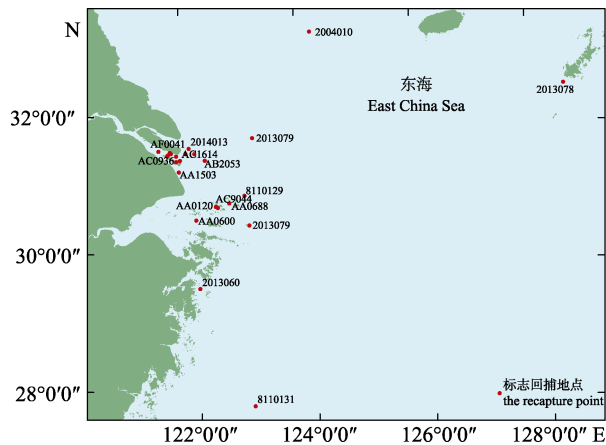


图 2 2004—2014 年常规标志放流中华鲟的回捕点示意图

Fig. 2 The recapture point of tagging Chinese sturgeon in 2004–2014

的范围内, 分布区域的纬度跨度为 5.5°, 经度跨度为 7°。由此可见, 长江口水域和舟山群岛海域是长江口标志放流中华鲟的主要聚集分布区。

2.3 PAT 标志放流中华鲟的分布

根据 PAT 标志脱落地点, 绘制出 PAT 标志中华鲟分布图(表 3、图 3)。PAT 标志脱落时标志中

华鲟均位于海洋中, 其中位于东海 9 尾, 黄海 9 尾。PAT 标志中华鲟最北到达朝鲜半岛西海岸(ID88363), 最南到达福建宁德沿海(ID64679), 最东洄游至 125°E 以东, 分布于经度跨度为 4°, 纬度跨度为 9°的沿海大陆架海域。综合 PAT 标志中华鲟和常规标志中华鲟的分布信息, 长江口标志放流中华鲟分布于经度跨度 7°, 纬度跨度为 9°的长江口水域和东、黄海海域。

2.4 标志放流中华鲟降海时间和迁移方向

经统计(表 2), 常规标志放流中华鲟回捕时间间隔最短为 1 d, 最长为 198 d。在长江口水域发现的 12 尾常规标志中华鲟中, 11 尾集中回捕于放流后 1~14 d, 1 尾回捕于放流后 198 d。回捕于东海和黄海海域的常规标志放流中华鲟共 22 尾次, 回捕间隔时间为 22~130 d。统计 PAT 标志中华鲟信息(表 3), PAT 标志于放流后 7~181 d 内发回信号, 发射信号位置均位于海洋中。其中, 138252 号 PAT 放流 7 d 后达到长江口外东海水域, 88360 号 PAT 181d 后从黄海发回信号。综合分析标志结果表明, 长江口标志中华鲟放流后会短期滞留在长

表 3 PAT 信息回收情况
Tab. 3 Receiving information of PAT

PAT 号 PAT ID	放流日期 releasing date	脱落日期 pop-up date	脱落地点 end point	设置脱落天数/d set-up pop-up days	实际脱落天数/d actual pop-up days	直线洄游距离/km migration distance
64680	2006-08-06	2006-09-05	东海 East China Sea	30	30	60
64679	2006-08-06	2006-10-01	东海 East China Sea	60	56	640
64677	2006-08-06	2006-12-12	东海 East China Sea	180	128	200
88529	2008-11-01	2008-11-20	黄海 Yellow Sea	30	19	200
88361	2008-11-01	2008-11-30	黄海 Yellow Sea	30	29	447
88530	2008-11-01	2008-12-01	黄海 Yellow Sea	30	30	260
88363	2008-11-01	2008-12-30	黄海 Yellow Sea	60	60	697
88362	2008-11-01	2008-12-09	黄海 Yellow Sea	90	39	270
88360	2008-11-01	2009-05-01	黄海 Yellow Sea	180	181	448
88530	2009-11-19	2009-12-19	黄海 Yellow Sea	30	30	416
49963	2009-11-19	2010-03-03	黄海 Yellow Sea	180	104	298
49904	2010-07-24	2010-11-04	东海 East China Sea	60	103	201
49905	2010-07-24	2010-08-19	东海 East China Sea	60	26	56
108576	2011-06-16	2011-07-16	黄海 Yellow Sea	30	30	589
108580	2011-06-16	2011-07-03	东海 East China Sea	360	17	181
108578	2011-06-16	2011-07-10	东海 East China Sea	60	24	197
49960	2013-12-08	2014-01-14	东海 East China Sea	60	37	195
138252	2014-04-24	2014-05-01	东海 East China Sea	30	7	48

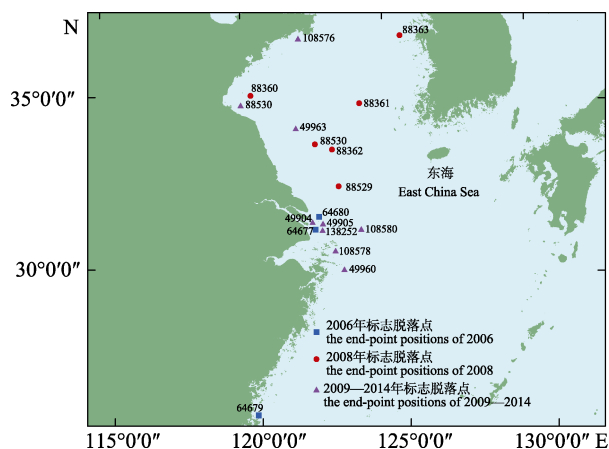


图 3 2004—2014 年 PAT 标志的脱落位置示意图

Fig. 3 The end-point positions of PAT in 2004—2014

江口, 7 d 后具有离开长江口进入海洋的趋势。

标志号 AF0041 中华鲟放流后第 198 天后被发现于长江口青草沙水库西北侧, 位于放流地点西向 25 km 处。这是唯一一次回捕时间长, 且回捕地点位于放流点上游淡水环境的记录, 不可排除有部分放流中华鲟长时间停留淡水环境中, 但也极可能是经历过海洋后洄游至淡水环境。

除 AF0041 号标志中华鲟外, 其他标志回捕中华鲟均位于放流点东向长江口水域、东海和黄海海域(图 2、图 3)。通过标志号 2013079 中华鲟的两次回捕记录分析(表 2), 该个体于 2013 年 12 月 8 日放流于长江口南支北港水道, 28 d 后第 1 次回捕于黄海海域, 此时标志中华鲟总体是朝东进入东海后, 折向黄海洄游; 原地放生后再经 96 d, 即放流后 124 d, 再次回捕于浙江舟山嵊山海域, 具有明显的南向游动轨迹。可见, 长江口标志放流中华鲟进入海海洋的迁移方向具有不确定性, 可在东海、黄海之间折返洄游。

2.5 标志放流中华鲟直线洄游距离

根据统计结果(表 2、表 3), 长江口常规标志放流中华鲟直线洄游距离平均值为 115.7 km, 东向、北向和南向最大洄游距离分别为 630 km、290 km、423 km; PAT 放流中华鲟直线洄游距离平均值为 300.17 km, 最大直线洄游距离为 640 km。图 4 表明, 长江口标志放流中华鲟直线洄游距离主要分布在 300 km 以内, 直线洄游距离与回捕数量呈现反比关系。分析标志回捕(回收)时间与直线

洄游距离发现(图 5), 随着回捕间隔时间的增加, 直线洄游距离呈现先增加后减少的趋势, 拐点出现在放流后的 60~100 d。说明标志放流中华鲟在海洋中的迁移方向具有随机性, 在迁移过程中具有折返、转向、停滞的特征。

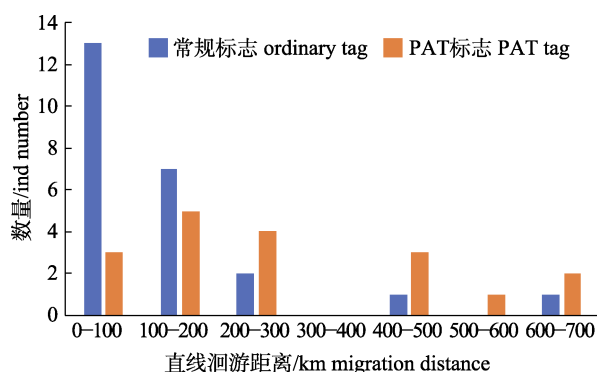


图 4 标志放流中华鲟的直线洄游距离分布范围

Fig. 4 The distribution range of migration distance

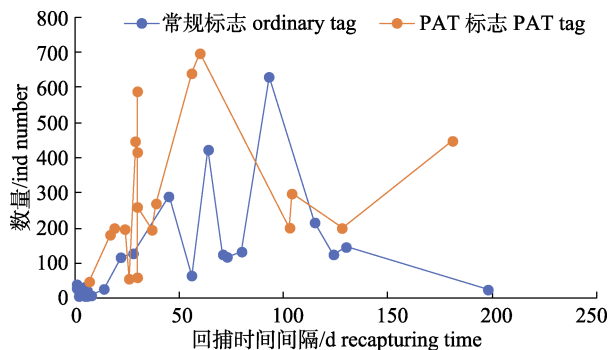


图 5 回捕间隔时间与直线洄游距离的关系

Fig. 5 The relationship between recapture time and migration distance

2.6 标志放流中华鲟海水适应能力

统计标志放流中华鲟进入海洋的情况(表 2、表 3), 2014013 号中华鲟于第 5 天回捕于长江口北支的崇明岛东旺沙咸水环境(盐度 14.00), 138252 号中华鲟于第 7 天在东海发回 PAT 信号。除一个记录以外(AF0041 号标志中华鲟), 放流第 40 天后的标志放流中华鲟均分布东海和黄海海域。表明长江口标志放流中华鲟可于短期内适应海水环境。

3 讨论

3.1 人工放流中华鲟标志方法

历史资料^[1,14]显示, 中华鲟在我国北起黄海

北部海洋岛沿岸、南抵海南岛万宁市近海,以及长江、珠江、闽江、瓯江、钱塘江和黄河均有分布。据《中国濒危动物红皮书》^[15]记录闽江、钱塘江和黄河中华鲟已经绝迹,珠江中华鲟数量稀少,仅长江中华鲟现存量相对较大^[16-17]。然而,随着葛洲坝等工程兴建,长江中华鲟产卵洄游通道阻断,被资源数量锐减,目前野生中华鲟的迁移和分布轨迹尚不清晰^[18]。人工标志放流技术是开展中华鲟洄游和分布研究的重要手段,杨德国等^[9]发现,人工放流中华鲟稚鲟和幼鲟的生长、洄游及分布与自然种群无明显差异。目前中华鲟标志包括有数码线形标志(coded wire tag, CWT)、射频综合标志(passive integrated transponder tags, PIT)等传统体内标志,外挂银质标志牌(silver brand tag, SBT)、锚标(plastic tipped dart tag, PDT)等传统体外标志,以及声呐标^[19-20]、超声波发射器^[21]、脱落式卫星数据回收标志(POP-UP satellite archival tag, PAT)等新型遥测标志。我国自 20 世纪 90 年代后期开始进行中华鲟标志放流研究,早期是通过传统的体外和体内标志回捕的方式开展洄游研究,但由于中华鲟自身特性以及在海洋中分布广阔,放流中华鲟回捕难度大,标志效果并不理想^[12]。随着科学技术的发展,具有卫星跟踪功能的 PAT 标志开始被广泛应用到了标志放流研究中。国外 1997 年开发的 PAT 已经被成功运用于金枪鱼属(*Thunnus*)和鲹形目(*Pleuronectiformes*)等洄游种群的大范围迁移和生理学研究中,内容涉及集群、洄游、生殖、摄食、资源丰度、栖息地评价与兼捕问题^[22]。我国自 2006 年陈锦辉等^[12]首次将 PAT 标志运用到中华鲟标志放流研究以来,标志信息回收率达到 64%~75%,初步证明了中华鲟 PAT 标志放流取得成功;2010—2013 年王成友等^[13]在厦门海域放流了 13 尾携带弹出式卫星档案标志(MK10-PAT)的中华鲟,标志信息回收率达到 76.9%;本研究在长江口水域基于 PAT 标志的信息回收率为 52.9%,相比厦门海域放流标记回收率,长江口的回收率相对略低,究其原因,长江口水域水文环境变化巨大,这些对卫星标志的正常运作影响较大^[13]。考虑到中华鲟洄游范围广的特点,本研究以卫星遥感标志技术为主,结合

常规标志方法,保障了数据获取的全面性。如前所述,长江口环境导致卫星标志信息反馈效率降低,后续将与标记企业加强合作,增强卫星标志的回收率,进一步获取更多的迁移轨迹信息,深入探讨长江口放流中华鲟的降海洄游路径特征。

3.2 人工放流中华鲟地点的选择

目前长江水域每年都会开展中华鲟标志放流活动,长江流域中华鲟放流地点主要集中在长江中游的宜昌、荆州和长江口上海 3 个江段^[20];另有研究开始在海洋中^[13]以及在闽江口^[23]、珠江口^[24]进行中华鲟放流研究工作,但最佳的放流地点仍存在争议。本研究选择长江口开展中华鲟放流,主要考虑以下几点特点:一是长江口为中华鲟必经的洄游通道,是长江流域中华鲟增殖放流的重要组成部分,且具有不可替代的特点;二是实践证明放流中华鲟即使未经过 1850 km 长江干流的洄游经历,也可以具备进入海洋的生存能力;三是在长江口放流中华鲟可以缩短从长江中游至下游的长途洄游距离,从而在很大程度上避免捕捞、航运、污染等各类危险,提高放流中华鲟的成活率;四是长三角区域一体化程度高,2020 年 5 月 14 日上海市人民代表大会常务委员会发布第 36 号公告,公布实施《上海市中华鲟保护管理条例》^[25]。该条例第十二条规定了“应在上海市水域开展中华鲟放流工作,并可以采取标志放流、跟踪监测等措施进行增殖放流效果评估”,为长江口中华鲟放流工作及研究奠定了法律基础。

3.3 人工放流中华鲟的迁移和分布

人工放流中华鲟在海区的迁移和分布研究较少。陈锦辉等^[12]利用 PAT 标记发现中华鲟离开长江口后进入东海、黄海海域;杨德国等^[9]利用外挂银牌和体内注射微型线码标记(CWT)双重标记法分析长江中华鲟幼鲟的分布,通过回捕发现其在浙江温岭、嵊泗以及黄海 83 海区(青岛海域附近)出现;王成友等^[13]厦门海域标志放流的中华鲟分布于黄海、东海和南海,轨迹结果显示,中华鲟分布区域主要位于中国沿海大陆架水域,集中分布区域为厦门至舟山群岛之间的近海。本研究运用 PAT 标志和常规标志结合开展长江口中华鲟标志放流,发现中华鲟主要聚集分布区为长江口水域

和舟山群岛海域, 进入海洋后随机分布于黄海和东海, 可在东海、黄海之间折返洄游, 这一研究结果与前人的研究结果一致。与厦门海域标志放流中华鲟的迁移轨迹^[13]相比较, 长江口标志放流中华鲟分布范围要小于前者, 厦门海域标志放流中华鲟分布于黄海、东海和南海, 长江口标志中华鲟分布于黄海和东海, 没有进入南海的记录, 但两者具有共同的聚集分布区——舟山群岛海域, 这一现象同样见于陈锦辉等^[12]研究结果。究其原因, 放流中华鲟虽为同一种群, 但选用的生长时期不同、分布区域不同或野生与养殖等条件不同, 因此所得结果有所差异。

参考文献:

- [1] Yangtze Aquatic Resources Survey Group of Sichuan Province. The Biology of the Sturgeons and Paddlefish in the Yangtze River and Their Artificial Propagation[M]. Chengdu: Sichuan Scientific and Technical Publishing House, 1988: 5-6. [四川省长江水产资源调查组. 长江鲟鱼类生物学及人工繁殖研究[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 1988: 5-6.]
- [2] Shi D L, Gong Z G. Looking back on the protection of juvenile Chinese sturgeon for 13 years [J]. China Fisheries, 2001(5): 22-23, 25. [施德龙, 龚志高. 回眸中华鲟幼鱼保护 13 年[J]. 中国水产, 2001(5): 22-23, 25.]
- [3] Ke F E. The protection and development of Chinese sturgeon[J]. Freshwater Fisheries, 1999, 29(9): 4-7. [柯福恩. 论中华鲟的保护与开发[J]. 淡水渔业, 1999, 29(9): 4-7.]
- [4] Xiao H. Research on the protection of Chinese sturgeon[J]. China Three Gorges, 2012(1): 22-29. [肖慧. 中华鲟保护研究探索历程[J]. 中国三峡, 2012(1): 22-29.]
- [5] Yang H L, Wei Q W. Suppressive and active protective actions in aquatic wildlife conservation[J]. Journal of Lake Sciences, 2021, 33(1): 1-10. [杨海乐, 危起伟. 论水生野生动物的主动保护与被动保护[J]. 湖泊科学, 2021, 33(1): 1-10.]
- [6] Wei Q W. Conservation of Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) based on its life history: Dilemma and breakthrough[J]. Journal of Lake Sciences, 2020, 32(5): 1297-1319. [危起伟. 从中华鲟(*Acipenser sinensis*)生活史剖析其物种保护: 困境与突围[J]. 湖泊科学, 2020, 32(5): 1297-1319.]
- [7] Wang D, Wang M Z. Saving the Chinese sturgeon[J]. Aquarium, 2008(1): 2008(1): 92-95. [王丹, 王明柱. 拯救中华鲟[J]. 水族世界, 2008(1): 92-95.]
- [8] Zhuang P, Liu J, Wang Y L, et al. The Yangtze Estuary nature research for Chinese sturgeon: Scientific studies and management[M]. Beijing, China Ocean Press, 2009: 159-160. [庄平, 刘健, 王云龙, 等. 长江口中华鲟自然保护区科学考察与综合管理[M]. 北京: 海洋出版社, 2009: 159-160.]
- [9] Yang D G, Wei Q W, Wang K, et al. Downstream migration of tag-released juvenile Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) in the Yangtze River[J]. Acta Hydrobiological Sinica, 2005, 29(1): 26-30. [杨德国, 危起伟, 王凯, 等. 人工标志放流中华鲟幼鱼的降河洄游[J]. 水生生物学报, 2005, 29(1): 26-30.]
- [10] Chen P M. Study on the method for assessment of enhancement effect of fishery stock[J]. South China Fisheries Science, 2006, 2(1): 1-4. [陈丕茂. 渔业资源增殖放流效果评估方法的研究[J]. 南方水产, 2006, 2(1): 1-4.]
- [11] Chang J B. Changes of spawning population structure and resources of the Chinese sturgeon in the Yangtze River[D]. Wuhan: Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, 1999: 76-79. [常剑波. 长江中华鲟繁殖群体结构特征和数量变动趋势研究[D]. 武汉: 中国科学院研究生院, 1999: 76-79.]
- [12] Chen J H, Zhuang P, Wu J H, et al. Migration and distribution of released *Acipenser sinensis* in the sea based on Pop-up Archival Tag technique[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2011, 18(2): 437-442. [陈锦辉, 庄平, 吴建辉, 等. 应用弹式卫星数据回收标志技术研究放流中华鲟幼鱼在海洋中的迁移与分布[J]. 中国水产科学, 2011, 18(2): 437-442.]
- [13] Wang C Y, Du H, Liu M, et al. Migrations and distributions of Chinese Sturgeon released in the Sea of Xiamen[J]. Sci Sin Vitae, 2016, 46: 294-303. [王成友, 杜浩, 刘猛, 等. 厦门海域放流中华鲟的迁移和分布[J]. 中国科学: 生命科学, 2016, 46(3): 294-303.]
- [14] Zhuang P, Wang Y H, Li S F, et al. Fishes of the Yangtze Estuary[M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2006: 137-143. [庄平, 王幼槐, 李圣法, 等. 长江口鱼类[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 137-143.]
- [15] Le P Q, Chen Y Y. Red Book of Endangered Animals in China. Fish[M]. Beijing: Science Press, 1998: 25-28. [乐佩琦, 陈宜瑜. 中国濒危动物红皮书: 鱼类[M]. 北京: 科学出版社, 1998: 25-28.]
- [16] Chen X H. Biology and Resource Status of Sturgeons[M]. Beijing: Ocean Press, 2007: 1-203. [陈细华. 鲟形目鱼类生物学与资源现状[M]. 北京: 海洋出版社, 2007: 1-203.]
- [17] Wei Q W, Ke F E, Zhang M J, et al. Biology, fisheries, and conservation of sturgeons and paddlefish in China[J]. Environment of Biology Fish, 1997(48): 241-255.
- [18] Wang C Y. Migrations for reproduction of Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) and its habitat selections in the Yangtze River[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2012:

- 40-42. [王成友. 长江中华鲟生殖洄游和栖息地选择[D]. 华中农业大学, 2012: 40-42.]
- [19] Wei Q W. Reproductive behavioral ecology of Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis* Gray) with its stock assessment [D]. Wuhan: Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Science, 2003: 1-3. [危起伟. 中华鲟繁殖行为生态学与资源评估[D]. 武汉: 中国科学院水生生物研究所, 2003: 1-3.]
- [20] Wei Q W, Du H, Zhang H, et al. Conservation biology of Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) [M]. Beijing: Science Press, 2019: 215-216. [危起伟, 杜浩, 张辉, 等. 中华鲟保护生物学[M]. 北京: 科学出版社, 2019: 215-216.]
- [21] Wei Q W, Yang D G, Ke F E. Technique of ultrasonic telemetry for Chinese sturgeon, *Acipenser sinensis*, in Yangtze River[J]. Journal of Fisheries of China, 1998(3): 20-26. [危起伟, 杨德国, 柯福恩. 长江中华鲟超声波遥测技术[J]. 水产学报, 1998(3): 20-26.]
- [22] Zhang T F, Fan W, Dai Y. Archival tags and geolocation methods for marine animals[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2015, 26(11): 3561-3566. [张天凤, 樊伟, 戴阳. 海洋动物档案式标志及其定位方法研究进展[J]. 应用生态学报, 2015, 26(11): 3561-3566.]
- [23] Lin J Z, Wang J, Su Y Q. Tagged ranching of *Acipenser sinensis* in the Minjiang River[J]. Journal of Oceanography in Taiwan Strait, 1999(4): 378-381. [林金忠, 王军, 苏永全. 中华鲟于闽江的人工放流试验[J]. 台湾海峡, 1999(4): 378-381.]
- [24] Qing S. Rerelease of Chinese sturgeons in the Pearl River[J]. Chinese Fisheries Economics, 2000(3): 46. [清水. 珠江再次放流中华鲟[J]. 中国渔业经济研究, 2000(3): 46.]
- [25] Zhong Y. Shanghai was the first city to legislate for the protection of Chinese sturgeon[J]. Prosecutorial View, 2020(11): 34-35. [仲颖. 上海率先立法保护古老鱼类中华鲟[J]. 检察风云, 2020(11): 34-35.]

Research on the downstream migration and distribution characteristics of Chinese sturgeon in the Yangtze Estuary based on tagging and releasing information

WU Jianhui^{1, 3, 5}, CHEN Jinhui^{1, 2, 3}, GAO Chunxia^{2, 3, 4, 5}

1. Shanghai Aquatic Wildlife Conservation and Research Center, Shanghai 200092, China;
2. College of Marine Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
3. Joint Laboratory for Monitoring and Conservation of Aquatic Living Resources in the Yangtze Estuary, Shanghai 202162, China;
4. National Engineering Research Center for Oceanic Fisheries, Shanghai 201306, China;
5. Key Laboratory of Sustainable Exploitation of Oceanic Fisheries Resources, Ministry of Education, Shanghai 201306, China

Abstract: Chinese sturgeon, *Acipenser sinensis*, is a first-class protected aquatic fish in China. At present, artificial proliferation and release technology have become one of the important means to actively protect Chinese sturgeon. Mark release is the primary technical method of proliferation and release. Mark release technology is an important method to study the distribution law of fish and migration habits of migratory fish, evaluate the effect of artificial proliferation and release, and estimate the number of the natural population. To study the migration and distribution characteristics of *A. sinensis* released in the Yangtze River Estuary, this study analyzed the mark information of Chinese sturgeon released in the Yangtze River Estuary. From 2004 to 2014, 12570 Chinese sturgeons were tagged and released to the Yangtze Estuary. Among them, 24 Chinese sturgeons were recaptured, and 18 POP-UP satellite archival tag signs were received. Based on tagging and releasing information, results showed that: (1) The distribution area of the tagged Chinese sturgeon is located on the Yangtze Estuary, the East Sea, and the Yellow Sea. The migration range spanned 7° longitude and 9° latitude. Chinese sturgeon were mostly distributed in the Yangtze Estuary and Zhoushan Islands. (2) The tagged Chinese sturgeon has a significant trend, moving downstream into the Eastern Sea. In the early releasing time, tagged Chinese sturgeons stayed in freshwater, entering the ocean after seven days. (3) There was no clear migration direction when the tagged Chinese sturgeon entered the ocean. The tagged Chinese sturgeon had the characteristics of turning back, changing direction, and stagnation. This study provides critical information for the proliferation and release of *A. sinensis*, indicating that the stock enhancement of Chinese sturgeon in the Yangtze Estuary significantly affects the resource protection of Chinese sturgeon.

Key words: *Acipenser sinensis*; Yangtze Estuary; tagging and releasing; downstream migration; distribution characteristics

Corresponding author: CHEN Jinhui. E-mail: 1114260882@qq.com

DOI: 10.12264/JFSC2021-0034

基于栖息地指数的渤海湾鱼卵环境适应性

张聿琛^{1,2}, 谷德贤³, 徐海龙^{1,4}, 薛薇¹, 于小涵¹

1. 天津农学院水产学院, 天津 300384;
2. 上海海洋大学海洋科学学院, 上海 201306;
3. 天津市水产研究所, 天津 300171;
4. 天津市水产生态与养殖重点实验室, 天津 300384

摘要: 为深入了解渤海湾鱼卵与栖息环境间的关系, 掌握鱼卵分布的区域特征, 本研究基于 2014 年至 2018 年(各年 5—7 月)渤海湾鱼卵和海洋环境调查数据, 根据海水表面温度(sea surface temperature, SST)、海水表面盐度(sea surface salinity, SSS)和海水 pH, 采用几何平均法(geometric mean method, GMM)、最小值法(minimum method, MINM)和连乘法(continued product method, CPM)分别建立渤海湾鱼卵 5—7 月的栖息地适宜性指数模型。结果显示, 渤海湾鱼卵主要分布的 SST、SSS 和 pH 范围分别是 21.6~24.8 °C、30.07~32.60 和 8.03~8.21; 最适 SST、SSS 和 pH 以及适应范围存在月间差异; 5 月, 鱼卵的分布可以较好地被 HSI 模型解释; 6 月和 7 月, SST、SSS 和 pH 不再成为鱼类产卵的最主要限制因子, 而其他未加入模型的因素, 如地理位置、海底底质、海流等可能主导了鱼卵的分布。研究认为, 考虑到鱼卵对环境条件要求的严苛性, CPM 更适于渤海湾鱼卵栖息地适宜性指数模型的构建, 可用于鱼卵分布区域的推测。

关键词: 鱼卵; 海水表面温度; 海水表面盐度; pH; 栖息地适应性指数; 渤海湾

中图分类号: S931

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2021)12-1568-08

鱼卵是鱼类生命周期中重要的初级阶段, 是鱼类资源可持续利用的基础^[1]。鱼卵的存活状况是影响鱼类资源补充量的关键因素之一^[2], 直接决定着成体的资源量^[3]。同时, 鱼卵作为饵料生物, 是海洋食物链上的一个重要环节, 在能量传递过程中扮演了关键角色^[4], 是构成海洋生态系统的重要组成部分。鱼卵的数量和分布是评价产卵场、估算亲体资源量和渔业补充量最直接有效的信息, 也是鱼类资源养护管理和渔业生态环境保护的重要参考依据^[5]。

鱼卵不具备游泳能力, 基本上营随水漂流的生活^[6]。鱼卵的生命力脆弱, 因此, 其数量和分布对环境条件的依赖程度非常高。谷德贤等^[7]通过建立广义加性模型, 发现温度是影响渤海湾天津

海域鱼卵丰度的主要因素。杨艳艳等^[8]基于 Pearson 相关性分析, 发现鱼卵数量与盐度之间呈显著相关。王爱勇^[9]利用多元分析方法, 发现鱼卵丰度分布与温度、盐度、pH 等相关。

渤海湾位于渤海西部, 是黄渤海多种经济鱼虾类重要的产卵场和幼体的主要育肥场^[7,10], 对我国北方海域渔业资源群体的繁育和延续起了重要的作用。但近些年, 随着环渤海地区经济的快速发展, 大量生活污水和有机污染物直接或间接地排放入海, 导致渤海湾生态环境恶化^[11]。本研究基于 2014—2018 年间(各年 5—7 月)在渤海湾开展的鱼卵丰度和海水表面温度(sea surface temperature, SST)、海水表面盐度(sea surface salinity, SSS)和海水表面 pH 的调查数据, 应用栖息地适

收稿日期: 2021-01-22; **修订日期:** 2021-04-04.

基金项目: 农业农村部物种资源保护费(渔业)项目(171821301354051015).

作者简介: 张聿琛(1998-), 男, 硕士研究生, 从事渔业海洋学方向的研究. E-mail: yczhang.shou@gmail.com

通信作者: 徐海龙, 男, 博士, 副教授, 从事渔业资源评估方向的研究. E-mail: beiji80@163.com

宜性指数(habitat suitability index, HSI)模型对渤海湾鱼卵的环境适应性进行评价,旨在丰富渤海湾鱼卵资源状况与环境条件因子关系的研究的内容,为渤海湾鱼卵资源保护、生态环境修复和渔业可持续发展提供更多的科学依据。

1 材料与方法

1.1 数据来源

本研究所用数据来源于 2014 年至 2018 年(各年 5—7 月)在渤海湾(117°45′~118°25′E, 38°15′~39°08′N)进行的季节性科学调查,共计 15 个航次 177 个站位次(图 1, 表 1),调查数据包括鱼卵丰度、海水表面温度(SST)、海水表面盐度(SSS)和海水表面 pH。调查依据《海洋调查规范》(GB/T 12763-2007)^[12]开展,其中鱼卵采集使用大型浮游生物网(网长 280 cm,网口内径 80 cm,筛绢孔径约为 0.505 mm)在每个站位进行表层(3 m 以浅)水平拖网采样,每站位拖曳时长 10 min,拖速 1~2 kn。加入样本体积量 5%的中性甲醛溶液对样品进行固定,带回实验室进行分拣、种类鉴定及计数等。

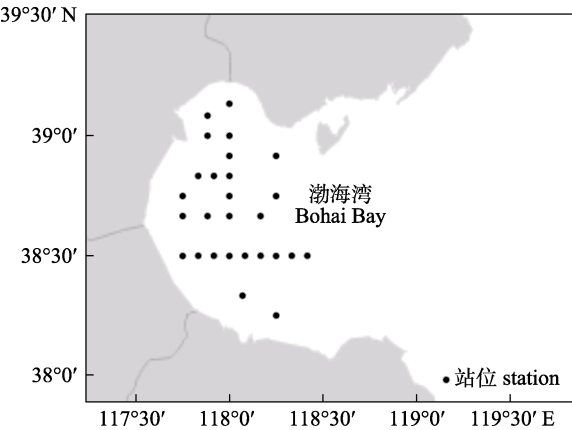


图 1 2014—2018 年渤海湾鱼卵资源调查站位示意图
Fig. 1 Schematic diagram of the scientific investigation site from 2014 to 2018 in Bohai Bay

表 1 2014—2018 年在渤海湾的科学调查站位统计
Tab. 1 The number of scientific investigation sites of each month from 2014 to 2018 in Bohai Bay

月份 month	2014	2015	2016	2017	2018
5 月 May	9	17	—	13	13
6 月 Jun.	9	9	10	26	26
7 月 Jul.	9	9	10	13	13

注: “—”表示未开展调查。
Note: “—” denotes that the scientific investigation was not carried out in this month.

1.2 栖息地适宜性指数模型的建立

相对资源密度指数(relative abundance index, RAI)是衡量资源相对密度的值^[13],由某一站次的鱼卵丰度除以所有站次的鱼卵丰度的最大值得到。本研究中,将其作为适宜性指数(suitability index, SI)的观测值,用于描述鱼卵对于单个环境因子的适宜性,SI 数值介于 0~1, 0 表示不适宜生境,1 表示最适宜生境。

$$SI_{m,i} = RAI_{m,i} = \frac{D_{m,i}}{D_{\max m,i}}$$

式中, m 为月份, $D_{m,i}$ 为 m 月第 i 个站位单位体积海水中鱼卵的个数(ind/m³), $D_{\max m,i}$ 为 m 月所有站位单位体积海水中鱼卵数量的最大值(ind/m³), $RAI_{m,i}$ 为 m 月第 i 站位的相对资源密度指数, $SI_{m,i}$ 为 m 月第 i 站位的单因子适宜性指数值。

将各环境因子按一定区间间隔(其中, SST 以 0.5 °C 为区间间隔, SSS 以 0.2 为区间间隔, pH 以 0.05 为区间间隔)划分为若干分段,以各段内 SI 的最大值为因变量,各段内 SI 的中值对应的环境因子水平为自变量,基于一元非线性回归模型^[14]分别对 3 种环境进行适宜性指数建模。

$$SI_k = e^{-a(x_k - b)^2}$$

式中, a 和 b 为待估算的参数, k 为环境因素。

栖息地适宜性指数(HSI)在 20 世纪 80 年代被提出^[15],作为一种衡量栖息地优劣程度的指数,目前已在栖息地评价、渔情预报等方面得到了广泛应用^[16-18]。本研究分别采用几何平均法(geometric mean method, GMM)、最小值法(minimum method, MINM)和连乘法(continued product method, CPM)构建栖息地适宜性指数模型。HSI 值介于 0~1, 0 表示不适宜, 1 表示最适宜。

$$HSI_{GMM} = \sqrt[3]{SI_{SST} + SI_{SSS} + SI_{pH}}$$

$$HSI_{MINM} = \min(SI_{SST}, SI_{SSS}, SI_{pH})$$

$$HSI_{CPM} = SI_{SST} \times SI_{SSS} \times SI_{pH}$$

式中, SI_{SST} 、 SI_{SSS} 和 SI_{pH} 分别为 SI 与 SST、SI 与 SSS、SI 与 pH 的适宜性指数。

1.3 栖息地适宜性指数模型评价与验证

将观察值 RAI 和预测值 HSI 进行线性回归,

通过分析线性回归模型的参数、决定系数(r^2)和赤池信息准则(Akaike's information criterion, AIC)评价模型的预测性能^[19-20]。

线性回归方程如下:

$$O_i = \alpha + \beta \times P_i$$

式中, O_i 为观察值 RAI, P_i 为预测值 HSI; α 为回归系数截距, β 为斜率。

AIC 计算公式为^[21]:

$$AIC=2k+n \times \ln \frac{RSS}{n}$$

式中, n 为观察数, RSS 为残差平方和。AIC 值越小, 模型越好。

数据处理及图形绘制使用 R×64 4.0.3 软件完成。

2 结果与分析

2.1 鱼卵的分布特征

在时间上, 鱼卵主要出现在 5 月和 6 月, 其中 5 月采集到的鱼卵占总航次的 33.94%, 6 月占 60.57%(表 2)。在空间上, 西部(近岸海域)略多于

东部, 各纬度范围内均有鱼卵分布, 其中 38.50°~38.75°N 范围的海域, 鱼卵的分布约占 90.42%。鱼卵主要分布的 SST、SSS 和 pH 范围分别是 21.6~24.8 ℃、30.07~32.60 和 8.03~8.21, 出现鱼卵的频次分别占总调查航次的 77.33%、86.48%和 86.33%。

2.2 适宜性指数模型建立

对 SST、SSS 和 pH 进行适宜性指数建模, 模型均具有显著的统计学意义($P<0.01$)(表 3)和较好的拟合(图 2)。5 月的 SI 曲线拟合度最好, r^2 均大于 0.907, 6 月的拟合度最差, r^2 最小值仅为 0.534。在 5—7 月, 鱼卵的最适宜 SSS、pH 波动不大, 7 月最适宜 SST 约为 27 ℃, 较 5 月和 6 月的适宜 SST 有明显增加。基于模型参数 a 以及 SI 曲线结果, 认为 5 月鱼卵对于 SST、SSS 以及 pH 有较窄的适宜区间, 而 6 月和 7 月, 对 SST、SSS 和 pH 均有较宽的适宜范围。

2.3 HSI 模型比较

根据 GMM、MINM 和 CPM 计算得到的 HSI 与 RAI 的拟合度进行比较发现(表 4), 在 5 月和 7

表 2 2014—2018 年渤海湾鱼卵丰度的时间统计
Tab. 2 Abundance of fish eggs from 2014 to 2018 in Bohai Bay

月份 month	2014	2015	2016	2017	2018
5 月 May	0.232	0.243	—	2.889	0.019
6 月 Jun.	0.068	0.076	1.186	1.380	0.993
7 月 Jul.	0.125	0.147	0.059	0.091	0.018

注: “—”表示未开展调查。
Note: “—” denotes that the scientific investigation was not carried out in this month.

表 3 5—7 月渤海湾鱼卵适宜性指数模型
Tab. 3 Statistics and parameters of the fitted suitability index (SI) model for fish eggs in Bohai Bay from May to July

月份 month	模型 model	参数 a parameter a	参数 b parameter b	r^2	P
5 月 May	SI _{SST}	3.193	22.008	0.945	<0.001**
	SI _{SSS}	6.253	30.459	0.907	<0.001**
	SI _{pH}	338.084	8.104	0.956	<0.001**
6 月 Jun.	SI _{SST}	0.438	23.775	0.697	0.004**
	SI _{SSS}	0.623	31.682	0.534	<0.001**
	SI _{pH}	62.309	8.129	0.851	<0.001**
7 月 Jul.	SI _{SST}	0.842	26.986	0.876	<0.001**
	SI _{SSS}	1.517	30.528	0.919	<0.001**
	SI _{pH}	55.636	8.133	0.686	0.005**

注: “**”表示相关性极显著($P<0.01$)。
Note: “**” indicates extremely significant correlation ($P<0.01$).

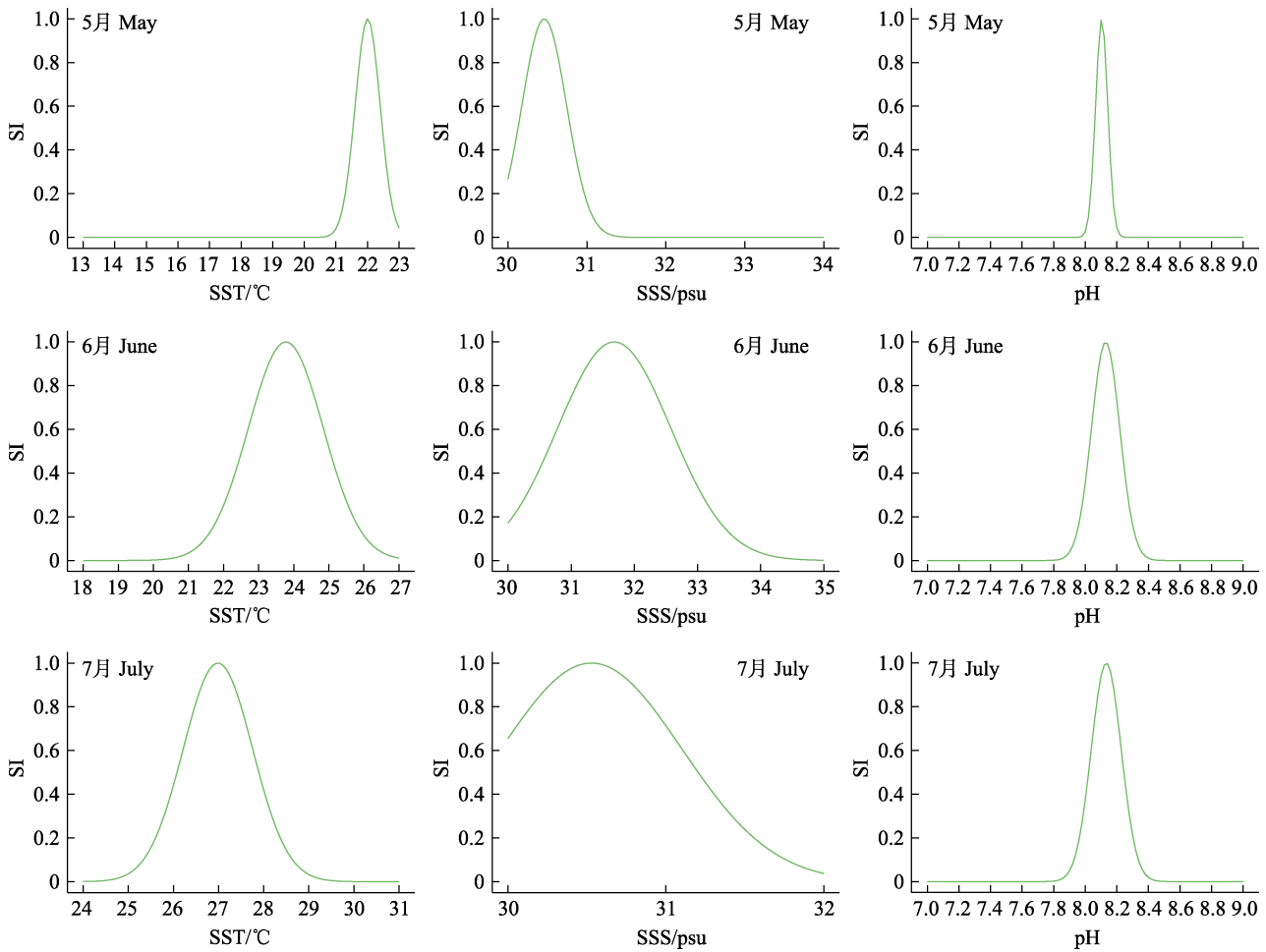


图 2 5—7 月渤海湾鱼卵适宜性指数曲线

Fig. 2 Monthly fitted suitability index (SI) curves inferred from the relationship between fish eggs abundance and sea surface temperature (SST), sea surface salinity (SSS), and pH from May to July in Bohai Bay

表 4 HSI 模型预测性能比较

Tab. 4 Predictive performance of habitat suitability index (HSI) model from May to July					
月份 month	模型 model	截距 α intercept α	斜率 β slope β	r^2	AIC
5 月 May	GMM	0.008	0.644	0.550	-44.996
	MINM	-0.004	0.865	0.550	-44.971
	CPM	0.012	1.350	0.654	-58.335
6 月 Jun.	GMM	-0.025	0.370	0.154	1.533
	MINM	0.039	0.334	0.152	2.000
	CPM	0.076	0.363	0.152	1.675
7 月 Jul.	GMM	-0.041	0.445	0.190	-6.4933
	MINM	0.019	0.417	0.149	-3.863
	CPM	0.047	0.654	0.316	-15.649

月, CPM 具有最好的拟合度(5 月: $r^2=0.654$, AIC=-58.335; 7 月: $r^2=0.316$, AIC=-15.649), 在 6 月, GMM 的拟合度稍好于 MINM 和 CPM。总体而言, 3 种方法计算得到的 HSI 模型在 5 月预测性能最

佳, 在 6 月预测性能最差。

3 讨论

渤海湾是多种经济鱼类的产卵场^[22-23], 有报

道指出,渤海湾的鱼卵主要出现在 5 月和 6 月^[7,22],本研究的结果与此一致,但历史资料显示,1983 年 5 月渤海湾鱼卵、仔稚鱼的数量占全年的 86.5%^[24],而本研究中,6 月鱼卵的占比更大一些(60.57%),这可能与开展调查的日期所处月份中的位置有关^[7]。鱼卵不具备主动游泳的能力^[6],在不考虑海流以及敌害生物摄食等因素的影响时,鱼卵的数量分布主要由生殖群体的产卵活动所决定,生殖群体具有在适宜后代生存和生长的海域进行产卵活动的本能,产卵偏好与环境因子存在明显的相关性^[25-26],故而鱼卵的数量分布与环境因子也具有相关性^[27]。

分析发现,在不同的月份,渤海湾鱼卵具有不同的最适 SST、SSS 和 pH 水平以及适宜范围。研究指出,鱼类对于低温的耐受性弱于高温^[28]。在鱼卵主要出现的 5-7 月,5 月是 SST 最低的月份。本研究结果显示,鱼卵在 5 月的 SST 有最广的分布范围,为 13.2~23.0 °C,要广于 6 月的 18.0~26.2 °C 以及 7 月的 24.0~30.6 °C。根据 SST 对应的 SI 曲线发现,相较于 6 月和 7 月,5 月 SST 对于鱼卵丰度有最高的解释能力($r^2=0.945$),故推测认为,5 月 SST 是鱼卵分布的重要限制因子,而进入到 6 月和 7 月, SST、SSS 以及 pH 基本在鱼卵生存的适宜范围,不再成为鱼类产卵的最主要限制因子,而一些未被模型考虑的因素如地理位置、海底底质、海流等因素的影响比重可能增加,成为限制鱼卵分布的主要条件因子^[2,29]。这从一定程度上解释了模型在 6 月和 7 月的拟合度较差的现象。本研究中,各 SI 以及 HSI 模型都具有统计学上的意义, SST、SSS 和 pH 这 3 个理化因子在不同的月份对于鱼卵分布的影响程度不同,反映为模型的解释能力存在差异,在 6 月出现 r^2 较低的情况,分析认为这是具有一定合理性的。

鱼卵的数量分布是多种条件共同作用的结果^[30-31],在建立 SI 指数模型时,使用单一环境因子作为解释变量时,影响鱼卵相对密度的其他因子,尤其可能起限制性作用的因子,未被完全考虑,势必会减弱模型的可靠度。本研究基于鱼类在生命阶段初期及产卵期对环境的变化最敏感^[30]的前提,在建立各单因子 SI 模型时,通过采用了

取区间内 SI 最大值(即环境因子在该水平对鱼卵最大的支持)进行非线性回归的方法,以减小单变量的解释能力不充分的不足。另外,栖息地适宜性指数方法一般假设栖息地适宜性指数值和栖息地的承载能力是直接线性的关系^[15],对输入数据的全面性和代表性有很强的依赖性,本研究中鱼卵相对资源密度值绝大多数集中在 0.0~0.2, 数据分布不均匀,这可能是影响模型拟合效果的因素之一,需要通过增加调查频次和站位,及更科学的站位布设^[32]来改善。

栖息地适宜性指数建模方法不同,估算的结果也会存在很大差异^[13]。栖息地是渔业动物资源繁衍生息、种群规模维持、甚至种群延续的基础条件,正确衡量和评价栖息地的质量是科学管理和保护栖息地的重要前提^[33-34]。本研究分别采用 GMM、MINM 和 CPM 建立 HSI 模型,以决定系数和赤池信息准则(AIC)为标准,认为 CPM 的预测性能最好。

参考文献:

- [1] Zhao J, Zhang S Y, Wang Z H, et al. Analysis on community structure and diversity of fish and macroinvertebrate in Shengsi artificial reef area[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2010, 17(5): 1045-1056. [赵静, 章守宇, 汪振华, 等. 嵊泗人工鱼礁海域鱼类和大型无脊椎动物群落结构特征[J]. 中国水产科学, 2010, 17(5): 1045-1056.]
- [2] Gao D K, Zhao J, Zhang X M. Species composition and distribution patterns of ichthyoplankton within and outside artificial reefs in Laizhou Bay[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2014, 21(2): 369-381. [高东奎, 赵静, 张秀梅, 等. 莱州湾人工鱼礁区及附近海域鱼卵和仔稚鱼的种类组成与数量分布[J]. 中国水产科学, 2014, 21(2): 369-381.]
- [3] Wan R J, Zeng D Y, Bian X D, et al. Species composition and abundance distribution pattern of ichthyoplankton and their relationship with environmental factors in the East China Sea ecosystem[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(9): 1375-1398. [万瑞景, 曾定勇, 卞晓东, 等. 东海生态系统中鱼卵、仔稚鱼种类组成、数量分布及其与环境因素的关系[J]. 水产学报, 2014, 38(9): 1375-1398.]
- [4] Fan Z W, Jiang R J, Zhang H L, et al. Community structure of ichthyoplankton and its relationship with environmental factors in Daiquyang spawning ground[J]. Journal of Fisheries of China, 2020, 44(4): 606-620. [樊紫薇, 蒋日进, 张洪亮, 等. 岱衢洋产卵场鱼卵、仔稚鱼群落结构及其与环境

- 因子的关系[J]. 水产学报, 2020, 44(4): 606-620.]
- [5] Zheng H D. Abundance distribution of fish eggs and larvae and its relation with environmental factors in spring and summer in Dongshan Bay, Fujian[J]. Journal of Applied Oceanography, 2016, 35(1): 87-94. [郑惠东. 福建东山湾春、夏季鱼卵和仔稚鱼丰度分布特征及其与环境因子的关系[J]. 应用海洋学学报, 2016, 35(1): 87-94.]
- [6] Yin M C, Blaxter J H S. Crusing speeds during early development and starvation of marine fish larvae[J]. Oceanologia Et Limnologia Sinica, 1989, 20(1): 1-9. [殷名称, Blaxter J H S. 海洋鱼类仔鱼在早期发育和饥饿期的巡游速度[J]. 海洋与湖沼, 1989, 20(1): 1-9.]
- [7] Gu D X, Wang T, Xu H L, et al. Resource dynamics of fish eggs and larvae in Tianjin sea area[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2020, 35(4): 557-563. [谷德贤, 王婷, 徐海龙, 等. 天津海域鱼卵、仔稚鱼资源动态研究[J]. 大连海洋大学学报, 2020, 35(4): 557-563.]
- [8] Yang Y Y, Gao Y J, Wang J P, et al. Community structure of ichthyoplankton and its relationship with environmental factors in Laizhou Bay[J]. Chinese Journal of Ecology, 2018, 37(10): 2976-2984. [杨艳艳, 高彦洁, 汪健平, 等. 莱州湾春、夏季鱼卵、仔稚鱼群落结构及环境因子相关性[J]. 生态学杂志, 2018, 37(10): 2976-2984.]
- [9] Wang A Y. Preliminary Study of the Ichthyoplankton Assemblage Structure in Laizhou Bay in Spring and it's Correlation with Environmental Factors[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2009. [王爱勇. 渤海莱州湾春季鱼卵、仔稚鱼群落结构及环境因子相关性的初步研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2009.]
- [10] Kang Y D. Ecological characteristics of phytoplankton in Bohai Bay in spring and its relationship with fishery resources[J]. Marine Fisheries, 1984, 6(2): 51-53. [康元德. 渤海湾春季浮游植物的生态特点及其与渔业资源的关系[J]. 海洋渔业, 1984, 6(2): 51-53.]
- [11] Yan S Q, Zhu Q L, Yu J, et al. A Quantitative Research on Carrying Capacities of Marine Resources and Environment around Bohai Bay[J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 2018 (6): 46-53. [严淑青, 朱庆林, 余静, 等. 环渤海湾海洋资源环境承载力定量研究[J]. 海洋湖沼通报, 2018(6): 46-53.]
- [12] General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration. GB/T 12763-2007, Specifications for oceanographic survey[S]. Beijing: Standards Press of China, 2008. [中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 12763-2007 海洋调查规范[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.]
- [13] Chen X J, Feng B, Xu L X. A comparative study on habitat suitability index of bigeye tuna, *Thunnus obesus* in the Indian Ocean[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2008, 15(2): 83-92. [陈新军, 冯波, 许柳雄. 印度洋大眼金枪鱼栖息地指数研究及其比较[J]. 中国水产科学, 2008, 15(2): 83-92.]
- [14] Zhang Y N, Guan W J, Li Y D. Construction and verification of a habitat suitability index model for the Indian Ocean *albacore tuna*[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2020, 29(2): 268-279. [张亚男, 官文江, 李阳东. 印度洋长鳍金枪鱼栖息地指数模型的构建与验证[J]. 上海海洋大学学报, 2020, 29(2): 268-279.]
- [15] US Fish and Wildlife Service. Standards for the Development of Habitat Suitability Index Models[M]. Division of Ecological Services, Washington D C 1981.
- [16] Chen X, Li G, Feng B, et al. Habitat suitability index of Chub mackerel (*Scomber japonicus*) from July to September in the East China Sea[J]. Journal of Oceanography, 2009, 65(1): 93-102.
- [17] Tian S, Chen X, Chen Y, et al. Evaluating habitat suitability indices derived from CPUE and fishing effort data for *Ommatrephes bratramii* in the northwestern Pacific Ocean[J]. Fisheries Research, 2009, 95(2-3): 181-188.
- [18] Zeng X, Tanaka K R, Y Chen, et al. Gillnet data enhance performance of rockfishes habitat suitability index model derived from bottom-trawl survey data: A case study with *Sebasticus marmoratus*[J]. Fisheries Research, 2018, 204: 189-196.
- [19] Liu X X, Gao C X, Tian S Q, et al. Distribution of optimal habitats for *Setipinna taty* in the south inshore of Zhejiang province based on habitat suitability index[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2020, 27(12): 1485-1495. [柳晓雪, 高春霞, 田思泉, 等. 基于栖息地适宜指数的浙江南部近海黄鲫最适栖息地分布[J]. 中国水产科学, 2020, 27(12): 1485-1495.]
- [20] Akaike H. A new look at the statistical model identification [J]. IEEE Transactions on Automatic Control, 1974, 19(6): 716-723.
- [21] Burnhan K, Anderson D. Multimodel Inference: understanding AIC and BIC in Model Selection[J]. Sociological Methods Research, 2004, 33(2): 261-304.
- [22] Xu H L, Gu D X, Qiao X T, et al. Analysis of length-weight relationship for major fishing species from Bohai Bay[J]. South China Fisheries Science, 2014, 10(1): 57-63. [徐海龙, 谷德贤, 乔秀亭, 等. 渤海湾主要渔业资源长度与体质量关系分析[J]. 南方水产科学, 2014, 10(1): 57-63.]
- [23] Xu H L, Zhang G F, Qiao X T, et al. Relationship between Body Length and Body Weight in Mantis Shrimp *Oratos*

- quilla oratoria* in Northern Yellow Sea[J]. Fisheries Science, 2010, 29(8): 451-454. [徐海龙, 张桂芬, 乔秀亭, 等. 黄海北部口虾蛄体长及体质量关系研究[J]. 水产科学, 2010, 29(8): 451-454.]
- [24] Office of Tianjin Leading Group on Comprehensive Survey of Coastal Zone and Tidal Flat Resources. Report on Comprehensive Survey of Tianjin Coastal Zone and Tidal Flat Resources[M]. Beijing: China Ocean Press, 1987. [天津市海岸带和海涂资源综合调查领导小组办公室. 天津市海岸带和海涂资源综合调查报告[M]. 北京: 海洋出版社, 1987.]
- [25] Li J S, Yan L P, Hu F. Analysis of *Scomber japonicus* spawning grounds based on fish eggs and larvae data in the Central and Southern East China Sea[J]. Marine Fisheries, 2020, 42(1): 10-19. [李建生, 严利平, 胡芬. 基于鱼卵仔鱼数据的东海中南部日本鲭产卵场分析[J]. 海洋渔业, 2020, 42(1): 10-19.]
- [26] Lin D M. Spawning strategy of Argentine shortfin squid, *Illex argentinus* (Cephalopoda: Ommastrephidae) in the southwest Atlantic[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2015. [林东明. 阿根廷滑柔鱼的产卵策略研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2015.]
- [27] Grieco A, Koubbi P. A preliminary study of the influence of a coastal frontal structure on ichthyoplankton assemblages in the English Channel[J]. Ices Journal of Marine Science, 1997, 54(1): 93-104.
- [28] Barnes R S K, Hughes R N. An Introduction to Marine Ecology[M]. London: John Wiley & Sons, 1999.
- [29] Yin J, Wang J, Zhang C L, et al. Spatial and temporal distribution characteristics of *Larimichthys polyactis* eggs in Haizhou Bay and adjacent regions based on two-stage GAM[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2019, 26(6): 1164-1174. [尹洁, 王晶, 张崇良, 等. 利用 two-stage GAM 研究海州湾及其邻近海域小黄鱼鱼卵的时空分布特征[J]. 中国水产科学, 2019, 26(6): 1164-1174.]
- [30] Sherman K, Lasker R, Richards W, et al. Ichthyoplankton and fish recruitment studies in large marine ecosystems [Includes pollution stress, spawning estimates, Fishery Management Zone, USA][J]. Marine Fisheries Review, 1983, 45(10-12): 1-25.
- [31] Gore J A, Bryant R M. Temporal shifts in physical habitat of the crayfish, *Orconectes neglectus* (Faxon)[J]. Hydrobiologia, 1990, 199(2): 131-142.
- [32] Cao J, Chen Y, Chang J H, et al. An evaluation of an inshore bottom trawl survey design for American lobster (*Homarus americanus*) using computer simulations[J]. Journal of Northwest Atlantic Fishery Science, 2014, 46: 27-39.
- [33] Gong C X, Chen X J, Gao F, et al. Review on habitat suitability index in fishery science[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2011, 20(2): 260-269. [龚彩霞, 陈新军, 高峰, 等. 栖息地适宜性指数在渔业科学中的应用进展[J]. 上海海洋大学学报, 2011, 20(2): 260-269.]
- [34] Yi Y J, Wang Z Y, Yao S M. Habitat suitability model for evaluating Chinese sturgeon spawning sites[J]. Journal of Tsinghua University: Science and Technology, 2008, 48(3): 340-343. [易雨君, 王兆印, 姚仕明. 栖息地适合度模型在中华鲟产卵场适合度中的应用[J]. 清华大学学报(自然科学版), 2008, 48(3): 340-343.]

Environmental adaptability of fish eggs in Bohai Bay assessed using habitat suitability index method

ZHANG Yuchen^{1,2}, GU Dexian³, XU Hailong^{1,4}, XUE Wei¹, YU Xiaohan¹

1. College of Fishery, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China;

2. College of Marine Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

3. Tianjin Fishery Institute, Tianjin 300171, China;

4. Tianjin Key Laboratory of Aqua-ecology and Aquaculture, Tianjin 300384, China

Abstract: As a spawning ground for many fish species, Bohai Bay plays a significant role in maintaining sustainable inshore fish stocks in Bohai and the Yellow Sea. In recent decades, the loss or fragmentation of fish habitats has been taking place in Bohai Bay as a result of exogenous interference factors, such as human activity and climate change. An understanding of the distribution pattern of fish eggs is urgently needed to protect fish recruitment. However, a comprehensive insight into how fish eggs are distributed in Bohai Bay is still lacking. To better understand how environmental conditions affect the distribution of fish eggs in Bohai Bay, an integrated habitat suitability index (HSI) model, including three physical and chemical environmental variables, sea surface temperature (SST), sea surface salinity (SSS), and seawater pH, was developed in this study. Meanwhile, three empirical HSI algorithms (geometric mean method; minimum method; continued product method, CPM) were performed to select the best algorithm. The data used for analysis comes from independent trawl surveys, applying standardized sampling protocols from 2014 to 2018. The results showed that (1) the fish eggs in Bohai Bay were mainly distributed in areas where the ranges of SST, SSS, and pH are 21.6–24.8 °C, 30.07–32.60, and 8.03–8.21, respectively. (2) The SI of each environmental variable varies by month. (3) CPM was the optimal HSI model for fish eggs in Bohai Bay based on the evaluation criteria of Akaike information criterion. (4) In May, the HSI model shows an acceptable performance. In June and July, there may be potential unconsidered factors that dominate the distribution of fish eggs under suitable SST, SSS, and pH conditions. This study enhances our understanding of the relationships between fish eggs and different environmental factors. Moreover, the models built can be used to detect potential spawning grounds for fish in Bohai Bay. These findings may increase awareness among researchers and policymakers. A more comprehensive survey and scientific site layout will be helpful to gain a deeper understanding in the future.

Key words: fish egg; sea surface temperature; sea surface salinity; pH; habitat suitability index; Bohai Bay

Corresponding author: XU Hailong. E-mail: beiji80@163.com

DOI: 10.12264/JFSC2021-0232

不同捕捞策略对海水青鲈不同发育阶段生长的影响

苏程程^{1,3}, 单秀娟^{1,2}, 邵长伟^{1,2}

1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东长岛海洋生态系统国家野外观测研究站, 山东省渔业资源与生态环境重点实验室, 山东 青岛 266071;
2. 青岛海洋科学与技术试点国家实验室, 海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室, 山东 青岛 266071
3. 上海海洋大学海洋科学学院, 上海 201306

摘要:以海洋模式物种—海水青鲈(*Oryzias melastigma*)为研究对象, 设置了 90%大个体捕捞(H-B)、90%随机捕捞(H-R)、75%大个体捕捞(M-B)、75%随机捕捞(M-R)、50%大个体捕捞(L-B)、50%随机捕捞(L-R)、75%小个体捕捞(M-S) 7 种捕捞策略处理组, 用以研究海水青鲈的生长特征在不同捕捞策略、不同世代(F_1 、 F_2 和 F_3)之间的差异。结果表明, 同代际不同捕捞策略条件下, 海水青鲈卵径和仔鱼全长呈极显著性差异($P<0.01$); 不同代际间, 高强度捕捞处理组(90%捕捞策略) 卵径增大, 低强度捕捞处理组(50%捕捞策略)卵径变小, 但不同世代对下一代鱼卵的孵化率和存活率影响较小。不同代际间, 低强度捕捞处理组在幼鱼时期增长率高于其余处理组; 同代际间仔鱼发育阶段, 高强度捕捞处理组生长迅速, 前期增长率明显高于后期, 其在仔鱼阶段其增长率低。随着外界捕捞压力的增加, 同代际间高强度捕捞处理组瞬时增长率最低; 低强度大个体捕捞策略组瞬时增长率在代际间较稳定。与现阶段捕捞策略相同, 高强度大个体捕捞会导致鱼类生物学性状在 3 代中产生极大差异。因此本研究通过模拟不同捕捞策略探讨鱼类发生的生物学性状变化, 旨在为预测鱼类进化趋势的深入研究提供依据。

关键词: 海水青鲈; 捕捞策略; 生长; 渔业资源

中图分类号: S931

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2021)12-1576-12

捕捞所引起的大小选择是一种不可控的或无意识的人工选择, 为了适应不断增加的捕捞压力和各种不同的捕捞策略, 鱼类在生长、繁殖、行为、食物转化效率、性别比例, 甚至脊椎骨的数目, 都发生了显著变化^[1-3]。鱼类种群短时间发生适应性变化, 这个过程称为捕捞诱导的适应性进化(fisheries-induced evolution, FIE)^[4]。近些年关于渔业捕捞策略对鱼类资源影响的研究主要集中在生物学和生态学特征及模型评估等方面。生物学和生态学特征的研究主要是不同捕捞策略生态学实验^[1,5-6]以及生态遗传模型^[7-8]。通过对大西洋银

汉鱼(*Menidia menidia*)进行 4 个世代大个体捕捞实验, 体重和生长率降低, 总生物量显著降低, 鱼类为了适应不断增加的捕捞压力, 增加种群繁殖力, 减少了在生长方面的能量投入^[9]。小黄鱼(*Larimichthys polyactis*)、日本鲷(*Scomber japonicus*)、带鱼(*Trichiurus japonicus*)等经济鱼类, 捕捞压力引起了其性成熟年龄提前、卵径减小、相对繁殖力增加等适应性进化^[10-11]。目前, 随着对 FIE 的深入研究, 研究层次逐步由表型可塑性向其影响机制方向发展, 研究普遍认为捕捞可能引起鱼类适应性进化^[12]。Jakobsdóttir 等^[13]和 Ther-

收稿日期: 2021-05-21; 修订日期: 2021-06-30.

基金项目: 国家重点研发计划项目(2017YFE0104400); 山东省支持青岛海洋科学与技术试点国家实验室重大科技专项(2018SDKJ0501-1); 山东省泰山学者工程资助项目; 中国水产科学研究院基本科研业务费专项(2020TD01).

作者简介: 苏程程(1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向为渔业资源生态学. E-mail: 13335088169@163.com

通信作者: 单秀娟, 研究员. E-mail: shanxj@ysfri.ac.cn

kildsen 等^[14]在来自冰岛和加拿大的大西洋鳕(*Gadus morhua*)种群中发现了由于捕捞选择而非种群替代引起的遗传差异。在孔雀鱼(*Poecilia reticulata*)^[5]、斑马鱼(*Danio rerio*)^[6]等生态学实验中均发现由于捕捞引起基因表达差异。国内对于不同捕捞策略对渔业生物影响方面的研究起步较晚, 现在研究内容主要侧重于渔业资源可持续利用模型研究^[15-16], 关于不同捕捞策略引起的鱼类适应性方面的实验研究涉及得较少。

海水青鳉(*Oryzias melastigma*)隶属于辐鳍亚纲(Actinopterygii)、颌针鱼目(Beloniformes)、怪颌鲈科(Adrianichthyidae)、青鳉属(*Oryzias*)。海水青鳉体扁平, 背部平直, 腹部呈圆弧形; 头背部平坦, 较宽; 腹膜黑色, 体背部灰褐色, 体侧和腹部银白色, 头部、体侧及臀鳍和尾鳍有多数分散小黑点; 体型较小, 世代周期较短, 可以在实验室条件下大规模饲养; 具有明显的性别特征, 耐受能力很强; 卵大, 易观察操作; 仔鱼和鱼卵对于外界刺激和生存环境中的各种污染物比较敏感。因此海水青鳉可作为生物学和生态学的海水模式生物。本研究拟以海水青鳉作为研究对象, 探究其生长特征在不同捕捞策略下 F_1 、 F_2 和 F_3 之间的变化, 及其在不同世代的传递规律, 并从不同层面和不同角度解析不同捕捞策略下鱼类的生长差异, 为了解不同捕捞策略对鱼类生长的影响提供理论基础, 也为现行渔业资源管理措施调整提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用的海水青鳉来自福建省宁德市南海水产科技有限公司。用卤虫和瓶装颗粒(德彩幼鱼开口微粒饲料)作为饵料, 每日投喂4次至饱食状态, 时间为 7:00、12:00、17:00、21:00, 光照时间为 7:00~21:00 (达到 600 lx)。实验期间每日测量水温及水质参数, 溶解氧质量浓度在 (5.85 ± 1.02) mg/L, 盐度在 29.33 ± 2.33 , 水温在 (25.65 ± 0.52) °C, pH 在 7.82 ± 0.13 , 氨氮 $0.15 \leq \text{mg/L}$ 。

1.2 实验设计

实验开始前, 海水青鳉在实验室进行驯养,

以适应饲养条件, 并尽量减少亲本的影响。当海水青鳉鱼卵孵化后, 选取健康、活力较强的仔鱼进行实验, 将其分为 7 组, 每组设 3 个重复, 每个重复 300 尾鱼, 放置于 150 L 养殖桶中, 此为 F_1 , 当发现产卵现象 1 周后(约 50%个体达到性成熟), 测量每尾鱼长度, 进行不同捕捞策略的实验, 分别采取 90%捕捞率, 75%捕捞率, 50%捕捞率。75%捕捞率是现阶段高密度捕捞中最常见的收获率^[17], 本研究将其定义为中强度捕捞, 并设置 90%高强度捕捞组和 50%低强度捕捞组, 进行对比。分别为 90%大个体捕捞[即捕捞实验鱼中体长前 90%的个体, 保留 10%体长最小的实验鱼(即 30 尾)进行下一代繁殖, 简称 90% H-B]、90%随机捕捞[即随机捕捞实验鱼, 保留 10%的实验鱼(即 30 尾)进行下一代繁殖, 简称 90% H-R]、75%大个体捕捞[即捕捞实验鱼中体长前 75%的个体, 保留 25%体长最小的实验鱼(即 75 尾)进行下一代繁殖, 简称 75% M-B]、75%随机捕捞[即随机捕捞 75%实验鱼, 保留 25%的实验鱼(即 75 尾)进行下一代繁殖, 简称 75% M-R]、50%大个体捕捞[即捕捞实验鱼中体长在前 50%的个体, 保留 50%的实验鱼(即 150 尾)进行下一代繁殖, 简称 50% L-B]、50%随机捕捞[即随机捕捞 50%实验鱼, 保留 50%的实验鱼(即 150 尾)进行下一代繁殖, 简称 50% L-R]、75%小个体捕捞[即捕捞实验鱼中体长最小的 75%个体, 保留 25%体长最大的实验鱼(即 75 尾)进行下一代繁殖, 简称 75% M-S]。捕捞后两周开始收集鱼卵, 鱼卵用淡水恒温 28 °C、持续充氧进行孵化, 经过 10 d 孵化, 5 d 内孵化出来的仔鱼为同一批次为 F_2 , 当尾数到达 350 尾时放入到新的养殖桶中并移除 F_1 , 按照上述实验步骤进行 3 个世代的捕捞实验。

1.3 实验方法

卵径测量: 鱼卵自收集当日记作 1 日龄, 每隔 1 日在显微镜下进行测量, 每组测量 10 粒, 精确到 1 μm 。

仔鱼阶段: 自出膜日记入 1 日, 每隔 1 日在解剖镜下测量全长, 每组 10 尾, 精确到 1 μm 。

生长阶段: 在 20~60 d 时, 每 5 d 进行体长、全长测量, 每次测量 30 尾, 用游标卡尺进行测量,

精确到 0.01 mm, 40 d 和 60 d 各测量 10 尾体长体重, 吸干鱼体表面水分, 用电子天平测量, 精确到 0.0001 g。

孵化率: 每个处理组分别收集同日鱼卵 300 粒, 在 1 L 烧杯中, 用淡水恒温 28 °C、持续充氧进行孵化, 每天挑出未受精以及坏卵并记录个数, 记录最终孵化的仔鱼尾数。

存活率: 取同日孵化的健康 50 尾仔鱼放置于 5 L 烧杯中, 一日 4 次喂养新鲜的蛋黄汁, 每天换水在 50%, 10 d 后记录最后存活仔鱼数量。

体长分布: 在进行捕捞时, 测量所有实验鱼全长, 精确到 1 mm, 并以 1 cm 为分度单位按照全长进行分组, 按照尾数计算不同长度组所占比例。

1.4 指标测定

1.4.1 生长指标 分别选取 40 日龄和 60 日龄仔鱼, 体长和体重的关系采用幂函数关系表示:

$$W=a \times L^b$$

式中, L 表示平均体长, W 表示 L 相对的平均体重, a 表示生长的条件因子, 一定程度反映生物体的饱满度, b 表示幂指数系数。

生长方程选用指数生长方程:

$$W_{i+1}=W_i \times e^{G_i \cdot \Delta t}$$

式中, G 表示在短时间间隔内的瞬时增长率, W_i 和 W_{i+1} 分别表示在时间 i 和时间 $i+1$ 时的体重, Δt 表示短时间间隔。

1.4.2 增长率 仔鱼阶段 1~9 日龄增长率计算公式如下:

平均日增全长(growth of average daily, ADG, mm/d): $ADG=(L_9-L_1)/9$

全长平均增长率(average growth rate of full length, FLAG, %): $FLAG=(L_9-L_1)/L_1 \times 100\%$

全长特定增长率(specific growth rate of full length, FLSG, %/d):

$$FLSG=(\lg L_{t_2}-\lg L_{t_1}) \times 100\% / (t_2-t_1)$$

式中 t_1 、 t_2 表示日龄, L_{t_1} 、 L_{t_2} 分别表示日龄 t_1 、 t_2 时体长, L_1 表示 1 日龄全长, L_9 表示 9 日龄全长。体长、全长精确到 0.01 mm。

特定日龄(40~60 d)增长率计算:

体重增长率(growth rate of weight, WGR, %): $WGR=(W_{60}-W_{40}) \times 100\% / W_{40}$

体长增长率(growth rate of body length, BLGR, %): $BLGR=(L_{60}-L_{40}) \times 100\% / L_{40}$

式中, W_{60} 、 W_{40} 分别表示 60 日龄和 40 日龄体重, L_{60} 、 L_{40} 分别表示 60 日龄和 40 日龄体长。体重精确到 0.0001 g; 体长精确到 0.01 mm。

1.4.3 孵化率与存活率

孵化率(hatchability, H , %): $H=NF/NE \times 100\%$

仔鱼存活率(survival rate, SR, %): $SR=M_t/M_0 \times 100\%$

式中, NF 表示孵化出苗的仔鱼个数, NE 表示鱼卵个数; M_t 表示 9 d 以后存活尾数, M_0 表示开始时尾数(海水青鲷在 10 d 以后存活率比较稳定, 因此本研究选取 10 d 之前进行存活率比较研究)。

1.5 统计分析

使用软件 SPSS 19.0 和 Excel 2013 进行数据处理分析, 数据采用平均值±标准差($\bar{x} \pm SD$)表示, 并用单因素方差分析(one-way ANOVA)检验不同处理组、不同日龄、不同代际之间的显著性差异, 显著水平 $P=0.05$, 极显著水平 $P=0.01$ 。

2 结果与分析

2.1 不同捕捞策略下海水青鲷卵径大小与孵化率

由表 1 可知, F_0 未施加捕捞压力, 其卵径在 1~9 d 期间变化差异较小; F_1 和 F_2 其卵径大小在 1~9 d 间的差距在 40 μm 以上。不同代际间同日龄卵径大小逐渐增加; 同日龄不同代际间, F_0 和 F_1 、 F_2 相比呈极显著性差异($P<0.05$)。根据表 2, F_0 未施加捕捞压力, 青鲷卵径在 5 d 最小, 9 d 最大, 总体差异不大。根据单因素方差分析结果, 9 d, 90% H-B 与 90% H-R、75% M-R、50% L-R 和 75% M-S 之间分别存在极显著性差异($P<0.05$); 90% H-R 与三组大个体捕捞策略组呈极显著性差异($P<0.01$)。和 F_1 卵径数据相比, F_2 的差异性更加明显, F_2 卵径大小在 1100 μm 以上, 明显大于 F_1 和 F_0 。 F_2 中, 1 d 时各处理组间差异性不显著。3 d 时, 90% H-R 与 75% M-R、50% L-B、50% L-R 相比呈现极显著性差异($P<0.01$), 且该组卵径为 3 d 卵径中最小。5 d 时, 90% H-B 与 75% M-B 呈现极显著性差异($P<0.01$); 90% H-R 与 75% M-R、50% L-R 相比呈现极显著性差异($P<0.01$), 与 75% M-B 差异显著

($P<0.05$)。7 d 时, 90% H-B 与 75% M-S 相比呈现极显著性差异($P<0.01$)。9 d 时, 90% H-B 与除 90% H-R 以外的 5 组呈现极显著性差异($P<0.01$)。

表 1 海水青鲷同日龄不同代际间卵径比较
Tab. 1 Comparison of egg diameter between different generations of *Oryzias melastigma* at the same age
 $n=20; \bar{x} \pm SD$

代际 generation	1 日 Day 1	3 日 Day 3	5 日 Day 5	7 日 Day 7	9 日 Day 9
F ₀	1081.78±37.74 ^A	1073.32±33.55 ^A	1080.08±43.82 ^A	1088.34±37.93 ^A	1087.16±36.03 ^A
F ₁	1067.60±39.78 ^B	1058.78±38.75 ^B	1081.64±40.29 ^A	1096.60±41.92 ^A	1112.67±42.35 ^B
F ₂	1113.49±52.56 ^C	1128.59±51.45 ^C	1143.71±49.77 ^B	1152.94±58.98 ^B	1157.77±64.34 ^C

注: 同一列数值上标不同字母表示有极显著性差异($P<0.01$); 相同字母表示无显著性差异。
Note: Values in the same column with different superscripts denote extremely significant differences ($P<0.01$); the same superscript denotes no significant difference.

表 2 海水青鲷 F₀~F₂ 不同捕捞策略和日龄下卵径均值
Tab. 2 Average egg diameter under different fishing strategies and ages of *Oryzias melastigma* during F₀~F₂ generations
 $n=20; \bar{x} \pm SD$

代际 generation	捕捞策略 fishing strategy	1 日 Day 1	3 日 Day 3	5 日 Day 5	7 日 Day 7	9 日 Day 9
F ₀	无 no	1081.78±37.74	1080.08±43.82	1073.32±33.55	1088.34±37.93	1087.16±36.03
	90%H-B	1084.64±43.22 ^A	1076.67±46.29 ^{aA}	1094.40±58.63 ^{aB}	1125.87±47.91 ^{aA}	1139.40±29.72 ^a
	90%H-R	1053.60±39.39 ^B	1037.40±34.56 ^{cB}	1057.93±41.95 ^b	1082.67±36.21 ^{cBC}	1086.83±37.18 ^c
	75%M-B	1066.60±42.32	1066.87±32.24 ^{abA}	1080.83±34.66 ^a	1104.80±36.43 ^{bAB}	1131.83±48.21 ^{ab}
F ₁	75%M-R	1071.62±38.37	1056.80±32.70 ^b	1088.40±39.30 ^{aB}	1102.40±38.74 ^{bcAB}	1100.67±36.33 ^{bc}
	50%L-B	1070.40±37.25	1057.40±40.62 ^b	1081.86±32.25 ^a	1089.93±35.71 ^{bcBC}	1116.13±32.33 ^b
	50%L-R	1072.76±40.10	1059.20±41.71 ^b	1088.87±31.50 ^{aB}	1100.80±43.02 ^{bcAB}	1102.33±34.08 ^{bc}
	75%M-S	1054.07±31.45 ^B	1057.13±33.27 ^b	1079.20±28.7 ^a	1069.73±33.22 ^{cC}	1110.67±52.26 ^b
F ₂	90%H-B	1110.52±45.15	1138.35±54.34	1140.00±41.94 ^{bcBCD}	1178.09±62.49 ^{aAB}	1215.74±74.44 ^{aA}
	90%H-R	1125.56±54.26	1157.70±65.96 ^{aA}	1153.93±44.98 ^{bAB}	1140.52±45.43 ^{bBC}	1186.07±56.52 ^{abAB}
	75%M-B	1127.80±68.27 ^a	1126.60±50.31 ^b	1178.93±60.13 ^{aA}	1180.87±72.26 ^{aA}	1147.93±56.38 ^{bcBC}
	75%M-R	1114.10±42.48	1112.33±49.65 ^{bb}	1116.93±42.68 ^{cD}	1143.13±36.11 ^b	1164.27±69.01 ^{bBC}
	50%L-B	1116.30±45.58	1116.60±42.66 ^{bb}	1142.13±34.19 ^{bcBCD}	1152.87±50.60	1127.80±51.04 ^{cC}
	50%L-R	1100.87±52.86 ^b	1122.23±50.18 ^{bb}	1121.33±38.52 ^{cD}	1157.60±58.42	1140.27±57.76 ^{bcC}
	75%M-S	1099.80±52.10 ^b	1132.30±35.87 ^b	1147.15±50.56 ^{bBC}	1122.13±63.27 ^{bc}	1138.67±47.73 ^{bcC}

注: 同一数值上标不同小写字母表示有显著性差异($P<0.05$), 大写字母表示极显著性差异($P<0.01$), 相同字母表示无显著性差异, 无字母表示与其他无差异。
Note: Values in the same column with different lowercase superscripts denote significant differences ($P<0.05$); different capital superscripts denote extremely significant differences ($P<0.01$); the same superscript denotes no significant difference; no superscript denote no difference.

根据图 1A, F₀ 未捕捞下其孵化率为 43.83%, F₁ 孵化率均值为 42.70%, 极差为 19%; F₃ 孵化率为 36.14%, 极差为 17%。孵化率在代际间呈现降低的趋势。在 7 个处理组中, 90% H-R 孵化率从 F₀ 44%降到 F₂ 26%; 其次下降幅度最大的为 75% M-S, 从 44%下降到 33%; 下降幅度最小的为 90%H-B 和 75% M-R。F₁ 中, 90% H-B、50% L-B

和 50% L-R 大于等于 F₀; F₂ 中, 所有实验组孵化率均小于 F₀。

根据图 1B 可知, 对于 F₁ 和 F₂, 其存活率均低于 F₀ 未捕捞实验组; F₀ 未施加捕捞压力其存活率为 98%; F₁ 存活率均值为 94%, 极差为 6%, 其中最大值为 50% L-B(97%), 最小值为 75% M-S (91%); F₂ 中, 均值为 88%, 极差为 17%, 其中存

活率最大是 75% M-S, 90% H-B 存活率最低, 为 77%。对比 F_0 和 F_2 数值, 变化幅度最大的为 90% H-B 处理组, 两代差距 21%, 其次为 50% L-B 和 50% L-R(12%), 变化范围最小的为 75% M-S(4%)。从图中曲线走势情况可以看出, F_2 的 90%大个体捕捞存活率最低(77%), 其次为 F_2 的 50%大个体捕捞和 50%随机捕捞(86%); F_1 中 50%大个体捕捞强度存活率最高(97%), 其次为 F_1 中的 50%随机捕捞(96%)。根据表 1~表 2 卵径大小对比, 90% H-B 卵径增加幅度最大, 相比较其孵化率在两代之间较其余处理组较高; 低强度捕捞组卵径增加量较小, 其孵化率代际之间波动范围较小; 在孵

化率的变化可见, 即使出膜的仔鱼数量增加但是其存活数量降低, 胚胎质量下降。

2.2 不同捕捞策略下海水青鲮仔鱼生长特征

F_0 未进行捕捞, 其平均日增全长为 0.0935 mm/d, 全长平均增长率为 22.63%, 全长特定增长率为 2.55%, 以其为基准, 与其他处理组进行比较(表 3); F_1 中, 平均日增全长最大的为 75% M-S, 最小的为 75% M-B; 90% H-R 和 75% M-B 小于 F_0 ; 全长平均增长率和全长特定增长率最大处理组为 75% M-S, 最小为 75% M-B (表 3)。

根据图 2, 图中虚线表示 F_0 (即未捕捞)在相同条件下增长率, F_0 在 1~3 d 增长率为 4.79%; F_1 增

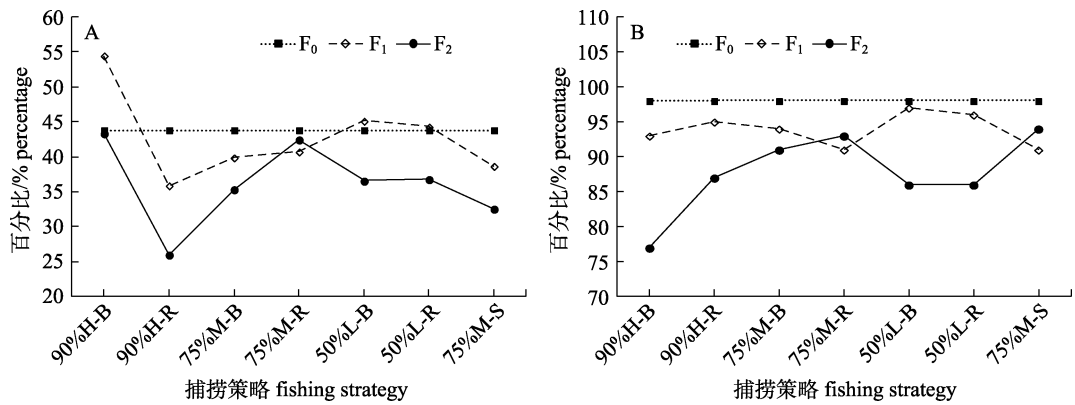


图 1 不同代际和捕捞策略下海水青鲮的孵化率(A)和存活率(B)
Fig. 1 Hatchability (A) and survival rate (B) of *Oryzias melastigma* in different generations and fishing strategy

表 3 不同捕捞策略下海水青鲮仔鱼增长率(1~9 d)

Tab. 3 Growth rates of larva under different fishing strategies of *Oryzias melastigma* (days 1–9)

代际 generation	捕捞策略 fishing strategy	平均日增全长 ADG/(μ m/d)	全长平均增长率 FLAG/%	全长特定增长率 FLSG/(%/d)
F_0	无 no	9.39	22.63	2.55
	90%H-B	9.87	24.07	2.70
	90%H-R	8.06	19.34	2.21
	75%M-B	7.48	17.56	2.02
F_1	75%M-R	9.12	22.23	2.51
	50%L-B	12.49	30.58	3.34
	50%L-R	12.34	30.31	3.31
	75%M-S	13.13	32.30	3.50
F_2	90%H-B	7.08	15.50	1.80
	90%H-R	9.89	22.06	2.49
	75%M-B	11.22	25.88	2.88
	75%M-R	12.59	30.55	3.33
	50%L-B	10.93	26.70	2.96
	50%L-R	9.93	22.85	2.57
	75%M-S	12.77	31.05	3.38

长率均值为 3.49%, 最大值为 90%H-B 处理组 (7.12%), 最小为 75%M-B 处理组为 1.06%(图 2A); F_2 增长率为 5.29%, 75% M-R 处理组增长率最大为 6.71%, 90%H-B 最小为 3.54%(图 2B)。 F_0 在 3~5 d 增长率为 2.93%; F_1 增长率均值为 2.11%, 其中 75% M-B (3.41%)和 90%H-R (3.20%)超过 F_0 , 最小为 90% H-B 处理组为 0.37%; F_2 平均增长率为 2.09%, 75% M-S 处理组增长率最大为 3.78%, 90% H-R 最小为 0.37%, 90% H-B 和 50% L-R 增长率小

于 1.00%。 F_0 在 5~7 d 增长率为 1.16%; F_1 增长率均值为 2.21%, 其中最大值为 75% M-S (3.70%)处理组, 最小为 75% M-B 处理组为 0.84%, 90%处理组小于 F_0 ; F_2 增长率为 1.02%, 只有 75% M-B 和 90% H-B 高于 F_0 , 其余均低于 F_0 。 F_0 在 7~9 d 增长率为 0.0136%; F_1 增长率均值为 1.91%, 其中最大值为 50% L-B 处理组, 为 3.96%, 所有的处理组增长率都大于 F_0 ; F_2 增长率均值为 1.23%, 50% L-R 处理组增长率最大为 2.96%, 90% H-B 最小为 0.006%。

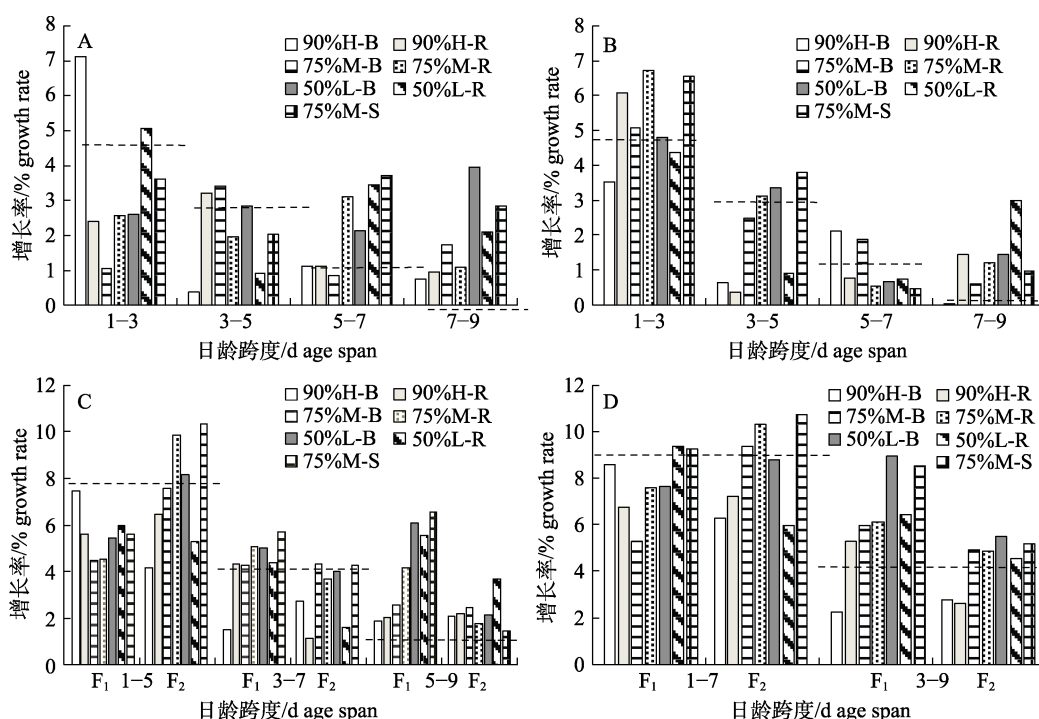


图 2 海水青鲷全长特定增长率

A: 3 d- F_1 ; B: 3 d- F_2 ; C: 5 d; D: 7 d.

Fig. 2 Specific growth rate of full length of *Oryzias melastigma*

A: 3 day-generation 1; B: 3 day-generation 2; C: day 5; D: day 7.

通过 5 d 内特定增长率的变化情况(图 2C), F_0 在 1~5 d, 3~7 d 和 5~9 d 的增长率逐渐降低, 由 7.72%降到 4.09%, 最后到 1.17%。 F_1 和 F_2 的增长率呈现降低的趋势, F_1 在 1~5 d, 3~7 d, 5~9 d 的平均增长率从 5.59%~4.32%~4.12%, F_2 从 10.32%~4.24%~1.42%, F_2 变化幅度最大。1~5 d, F_1 增长率均低于 F_0 , F_2 中, 75%M-R、50%L-B 和 75%M-S 增长率高于 F_0 , 其余均低于 F_0 且 90%H-B 最低。3~7 d, 90%H-B F_1 特定增长率低于 F_0 , 而 F_2 中仅有 75%M-B 和 75%M-S 高于 F_0 。

5~9 d, F_1 与 F_2 均高于 F_0 , F_1 中最高值为 75%M-S (6.54%), 最低值为 90%H-B (1.88%); F_2 中最高值为 50%L-R (3.67%), 最低值为 75%M-S (1.42%)。通过 1~7 d 和 3~9 d 增长率可见, 1~7 d 增长率明显高于 3~9 d, 90%捕捞组在前后两个时期的差值最大 (图 2D)。

由表 4 结果可知, F_1 未施加捕捞压力, 仔鱼在 1~9 d 时全长最大差值为 841 μm , F_2 和 F_3 在 1~9 d 全长最大差值分别为 985 μm 和 945 μm , 随着代际增加, 同日龄仔鱼全长呈现逐渐增大趋势。

根据表 5, F_1 为未捕捞, 以 F_1 为基准, F_2 中 50%低强度捕捞组卵径与 F_1 同日龄大小差异较小, 对于中高强度捕捞度差异较大, F_3 中差异较明显, 高强度捕捞组仔鱼全长明显高于 F_1 , 并且在 1~3 d 龄时差异较大。 F_2 为经过捕捞刺激后的第一代仔鱼, 其全长差异最明显的为低强度捕捞组。 F_2 与 F_1 相比变化幅度较小, 尤其是 90%捕捞组变化幅度小于其余处理组, 低强度捕捞组和小个体捕

捞组全长增量较大。 F_3 与 F_1 进行对比发现, 相同捕捞策略不同日龄下增长幅度最大的为 90%和 75%大个体和随机捕捞组, 其增加量远高于低强度捕捞组和 75%小个体捕捞组。

2.3 不同捕捞策略下海水青鳞幼鱼生长特征

在不同捕捞策略下, 根据海水青鳞体长和体重数据, 通过 SPSS 19.0 计算体长-体重关系式, 参数计算结果参考表 6。 F_1 , 在施加不同强度捕捞

表 4 同日龄不同代际间海水青鳞仔鱼全长比较

Tab. 4 Comparison of full length of larvae between different generations of *Oryzias melastigma* at the same age

$n=20$; $\bar{x} \pm SD$

代际 generation	1 日 Day 1	3 日 Day 3	5 日 Day 5	7 日 Day 7	9 日 Day 9
F_1	3720.00±220.34 ^A	4153.33±143.20 ^A	4355.56±144.31 ^A	4443.33±147.82 ^A	4561.76±160.25 ^A
F_2	3705.91±224.41 ^A	4031.44±278.10 ^B	4231.56±250.32 ^B	4445.66±238.98 ^A	4690.23±320.51 ^B
F_3	3863.00±305.94 ^B	4346.50±299.90 ^C	4540.00±301.75 ^C	4675.00±293.78 ^B	4808.50±225.01 ^C

注: 同一列数值上标不同字母表示有极显著性差异($P<0.01$); 相同字母表述无显著性差异。

Note: Values in the same column with different superscripts denote significant differences ($P<0.01$); the same superscript denotes no significant difference.

表 5 F_1 ~ F_3 不同捕捞策略和日龄下海水青鳞仔鱼全长

Tab. 5 Full length of larvae under different fishing strategies and ages of F_1 ~ F_3 generations of *Oryzias melastigma*

$n=20$; $\bar{x} \pm SD$

代际 generation	捕捞策略 fishing strategy	1 日 Day 1	3 日 Day 3	5 日 Day 5	7 日 Day 7	9 日 Day 9
F_1	无 no	3720.00±220.34	4153.33±143.20	4355.56±144.31	4443.33±147.82	4561.76±160.25
	90%H-B	3690.63±229.11	4364.10±295.12 ^{aA}	4387.50±294.36 ^{aA}	4511.43±211.12	4578.79±196.46 ^{aA}
	90%H-R	3751.72±232.41	3965.63±216.44 ^{bcBC}	4269.23±276.79	4380.95±210.97 ^{bcB}	4477.42±214.02 ^{aA}
F_2	75%M-B	3832.00±186.46 ^a	3926.47±265.50 ^{bcBC}	4247.22±202.11	4330.00±266.72 ^{cB}	4504.76±204.76 ^{aA}
	75%M-R	3692.59±197.92	3918.42±155.71 ^{cBC}	4100.00±220.91 ^{bB}	4402.38±249.38 ^{bc}	4513.33±167.61 ^{aA}
	50%L-B	3660.00±281.13	3976.67±209.57 ^{cC}	4165.00±159.4 ^b	4535.29±238.53 ^{bc}	4842.00±368.17 ^{bB}
	50%L-R	3675.00±209.45 ^b	3903.57±123.17 ^{bAB}	4168.97±230.07 ^b	4380.00±245.91 ^{aA}	4798.77±343.69 ^{bB}
	75%M-S	3665.52±181.81	4117.24±264.67 ^{bcBC}	4205.00±234.19 ^{bB}	4552.08±175.03 ^{ab}	4776.54±306.30 ^{bB}
	90%H-B	4086.67±318.11 ^{aA}	4433.33±220.24 ^{bAB}	4500.00±227.43	4723.33±244.50 ^{ab}	4720.00±215.60 ^{bB}
	90%H-R	4035.00±149.65 ^{aA}	4640.00±208.76 ^{aA}	4680.00±241.92 ^b	4765.00±215.88 ^a	4925.00±129.27 ^{aA}
F_3	75%M-B	3903.33±283.43 ^{ab}	4386.67±293.30 ^{bAB}	4643.33±211.21 ^b	4846.67±185.20 ^{aA}	4913.33±187.05 ^{aA}
	75%M-R	3710.00±342.76 ^{abB}	4330.00±317.48 ^{bcBC}	4653.33±326.67	4710.00±305.52	4843.33±207.92
	50%L-B	3770.00±261.49 ^{bcB}	4296.67±339.86 ^{cC}	4493.33±271.56	4710.00±264.38 ^{bcB}	4826.67±206.67 ^{bB}
	50%L-R	3683.33±213.48 ^{bc}	4113.33±217.72 ^{bBC}	4443.33±374.79 ^a	4513.33±320.27 ^{cB}	4666.67±268.24
	75%M-S	3910.00±268.26 ^{cB}	4323.33±248.70 ^{bcBC}	4413.33±318.11	4486.67±311.54	4803.33±214.13

注: 同一列数值上标不同小写字母表示有显著性差异($P<0.05$), 大写字母表示极显著性差异($P<0.01$), 相同字母表示无显著性差异, 无字母表示与其他无差异。

Note: Values in the same column with different lowercase superscripts denote significant differences ($P<0.05$) with different capital superscripts denoting extremely different significant differences ($P<0.01$). Same superscripts denote no significant difference, and those no superscript denote no difference.

压力下, 其体长与体重方程参数差异较小, b 值均值为 3.10, 最大值为 3.21, 是 90%H-B 处理组, 最小值是 2.97 为 50%L-B 处理组, 极差为 0.24; a 值均值为 1.67×10^{-5} , 其中最大值为 2.45×10^{-5} , 最小值为 1.13×10^{-5} , 极差为 1.32×10^{-5} 。在 F_2 , 在不同强度捕捞策略下, 其体长与体重关系式参数较 F_1 变化大, b 值均值为 3.26, 变化范围为 3.11~3.44, 极差为 0.33, 其中 90%H-R 处理组数值最大, 50%L-R 处理组最小; a 值均值为 0.937×10^{-5} , 其变化范围为 $1.32\times 10^{-5}\sim 0.612\times 10^{-5}$, 极差为 0.715×10^{-5} , 最大值为 50%L-R 处理组, 最小值为 90%H-R。 F_3 中, 在不同强度捕捞策略下, b 的均值为 2.95, 变化范围为 3.15~2.80, 极差为 0.35, 其中 75%M-R 处理组数值最大, 75%M-B 处理组最小; a 值均值

为 2.32×10^{-5} , 其变化范围为 $1.29\times 10^{-5}\sim 3.26\times 10^{-5}$, 极差为 1.96×10^{-5} 。最大值为 75%M-R 处理组, 最小值为 75%M-R。

根据指数生长方程计算其瞬时增长率(G), 结果如表 7 所示。 F_2 中, G 值在各处理组间差异较小, 最大为 50%L-B, 最小为 75%M-S; F_3 , 最小为 90%H-B 组, 仅为 0.01428, 最大值为 50%L-B。从 F_1 – F_3 , 随着捕捞压力的实施以及累积效应, F_3 幼鱼瞬时增长率均低于 F_2 对应处理组, 50%L-B 在两代中差异较小, 保持稳定水平, 其余均呈现不同程度降低, 所有处理组中 F_3 的 90%大个体捕捞组为瞬时增长率最低值。

表 8 为不同捕捞策略下幼鱼增长率, F_2 体重增长率均高于 100%, 平均值为 180.12%, 而 F_3 体

表 6 不同捕捞策略下海水青鲈体长与体重方程
Tab. 6 The model of length and weight under different fishing strategies of *Oryzias melastigma*

代际 generation	90%H-B	90%H-R	75%M-B	75%M-R	50%L-B	50%L-R	75%M-S
<i>a</i>							
F_1	1.13×10^{-5}	1.20×10^{-5}	1.27×10^{-5}	2.45×10^{-5}	2.31×10^{-5}	2.05×10^{-5}	1.29×10^{-5}
F_2	1.18×10^{-5}	6.12×10^{-6}	6.31×10^{-6}	8.27×10^{-6}	1.29×10^{-5}	1.33×10^{-5}	6.95×10^{-6}
F_3	2.60×10^{-5}	1.66×10^{-5}	3.26×10^{-5}	1.29×10^{-5}	2.70×10^{-5}	2.74×10^{-5}	1.98×10^{-5}
<i>b</i>							
F_1	3.21	3.20	3.17	2.98	2.97	3.02	3.16
F_2	3.17	3.44	3.39	3.28	3.12	3.11	3.36
F_3	2.90	3.07	2.80	3.15	2.89	2.88	3.00

表 7 不同捕捞策略下青鲈幼鱼瞬时增长率
Tab. 7 Instantaneous growth rates of juvenile *Oryzias melastigma* under different fishing strategies

代际 generation	90%H-B	90%H-R	75%M-B	75%M-R	50%L-B	50%L-R	75%M-S
F_2	—	—	0.05176	0.05140	0.05433	0.05323	0.04577
F_3	0.01428	0.02788	0.02706	0.03662	0.05171	0.02772	0.03178

表 8 不同捕捞策略下青鲈幼鱼增长率
Tab. 8 Growth rates of juvenile *Oryzias melastigma* under different fishing strategies

代际 generation	捕捞策略 fishing strategy	体重增长率 WGR	体长增长率 BLGR	代际 generation	捕捞策略 fishing strategy	体重增长率 WGR	体长增长率 BLGR
F_2	90%H-B	—	32.42	F_3	90%H-B	34.47	10.40
	90%H-R	—	21.07		90%H-R	61.22	14.17
	75%M-B	179.91	31.64		75%M-B	64.02	15.25
	75%M-R	179.53	27.46		75%M-R	112.26	24.11
	50%L-B	196.40	32.39		50%L-B	116.33	24.96
	50%L-R	206.82	32.38		50%L-R	154.47	25.28
	75%M-S	137.98	31.77		75%M-S	88.39	22.90

重增长率普遍降低, 平均值为 90.17%, F_2 为 F_3 的两倍, 且 F_2 每一个实验组增长率均高于 F_3 实验组, F_2 WGR 极差为 68.84, F_3 为 120; F_2 BLGR 极差为 11.35, F_3 为 14.88; F_2 FLGR 极差为 7.76, F_3 为 18.01, F_3 3 种增长率极差范围均大于 F_2 。 F_2 体长和全长增长率的平均值分别为 29.89%、29.23%, 而 F_3 体长增长率平均值为 19.58%、22.93%, 均低于 F_2 。 F_2 BLGR 的最低值为 90%H-R (21.07%), F_3 为 90%H-B (10.40%), F_2 最高值为 90%H-B (32.42%), F_3 为 50%L-R (25.28%), 最高、最低值差距较大。

3 讨论

卵径的大小对鱼类早期发育和存活研究具有重要的生物学意义, 一般认为大卵径鱼卵质量优于小卵径鱼卵, 大卵径鱼卵更容易存活^[18]。不同捕捞策略下, 海水青鲙在不同发育时期和代际之间卵径大小差异明显(表 1, 表 2), 随着代际增加, 其累积效应在同日卵径上差异上极显著, 并且随着日龄增加, 在不同代际间其卵径差异逐渐增加, 差异最大的为 9 日卵径, F_0 与 F_2 差异为 70 μm 。由此可见, 高强度捕捞对鱼卵大小差异十分显著, 并随着代际增加, 差异逐渐增大。为增加补充群体数量, 体型较大的个体通常有更高的存活率, 较高的繁殖力, 对异性更强的吸引力, 有更强的抵御饥饿的能力^[19], 通过对仔鱼在 1~9 d 全长分析结果, 不同代际之间有极显著性差异(表 4), 在相同捕捞策略下, 不同代际间差异性最大的为 90%和 75%中高强度捕捞组(表 5), 而低强度捕捞组在卵径和仔鱼全长形状上差异均为最小。通过中高捕捞强度刺激, 短短 3 代内, 青鲙在仔鱼全长明显增大, 不同日龄下卵径较未捕捞情况下有显著性差异。通常情况下, 海水鱼幼体死亡率在 99%^[20], 因而更大的卵径^[21]、孵化时仔鱼个体较大和更快的生长速度^[22-23]大大提高了存活的可能性, 这些幼体特征的轻微下降可能会对幼体阶段的补充群体产生相当大的后果。90%高强度捕捞组在孵化率上明显高于其余处理组, 但是其存活率却显著性下降, 卵径和仔鱼全长增加导致高强度组下孵化率的增加或维持稳定, 但是其仔鱼存

活率显著下降, 相比较, 75%和 50%捕捞强度下的处理组在两代之间差异较小, 基本处于稳定状态。高强度捕捞导致的孵化率升高、存活率降低, 与早期发育过程中卵径大小^[21]、孵化时仔鱼长度^[22]相关, 短期高强度捕捞所产生的表型性状的变化, 可能是遗传影响, 或产生的表型可塑性, 可在后续作进一步研究。

在高强度捕捞策略下, 仔鱼发育阶段全长增长率显著低于中低强度捕捞策略, 其前期增长速率明显高于后期。与此对比, 低强度捕捞策略下, 幼鱼发育阶段各项增长率显著高于其余捕捞策略组, 后期发育速度高于前期。然而, 有研究表明, 某些结构的发育速度会限制其他身体结构的增长率, 或者以其他结构缺陷作为代价, 例如快速增长的蜗牛壳会变薄, 因而更容易遭受到捕食者的袭击^[24], 快速增长会导致形态受损^[25]、疾病发病率增加^[36]、成年期高代谢率^[27]等, 因此仔鱼时期的快速增长是否会对后期某些器官、组织产生影响, 有待进一步研究。通过对体长体重方程(表 6)和指数生长方程(表 7)结果, 随着代际增加, 捕捞累积效应的存在, 导致 F_3 瞬时增长率明显低于 F_2 同处理组, 且两代中 50%大个体捕捞组瞬时增长率较稳定, 而 90%大个体捕捞组瞬时增长率最低。肥满度差异较大的是 F_2 中 90%和 75%中高强度捕捞组, 并且 F_1 和 F_3 中, 高强度捕捞组的肥满度均较小, 可以说明在高强度捕捞压力下, 海水青鲙的肥满度较差, 肥满度状况的变化会对鱼类繁殖力产生不同程度的影响。与目前我国多种经济鱼类的研究结果相同, 随着捕捞强度的增加, 20 世纪 80 年代比 60 年代 2 个小黄鱼群系个体生长速度升高, 性成熟年龄提前, 也是肥满度下降的主要原因; 小型个体所占比例升高导致异速生长因子偏向于低龄阶段生长^[28]; 蓝点马鲛 (*Scomberomorus niphonius*)繁殖群体低龄化、小型化现象突出^[29]; 东海带鱼渔获年龄已由 20 世纪 50 年代末期 0~6 龄缩短至 0~4 龄, 以 0~1 龄为主, 群体平均长度由 250 mm 降至 210 mm^[30-31]。可见面对高强度捕捞压力及环境压力, 鱼类为种群延续, 已经表现出适应性反应, 生物学特征发生变化^[32]。

本研究结果表明, 短期高强度捕捞使海水青鲈卵径增大、仔鱼全长增加, 孵化率增加但存活率下降, 世代累积效应明显, 通过对不同发育阶段的增长率分析, 高强度捕捞下海水青鲈的在仔鱼时期前期增长率明显高于后期, 幼鱼时期增长率明显低于低强度捕捞组, 高强度捕捞瞬时增长率为同代际间最低, 肥满度较差, 会导致繁殖力降低。根据本实验结果, 高强度捕捞会在短时间内对鱼类表型特征产生变化, 并且随着世代累积效应, 会加剧鱼类向小型化发展, 虽然现在网目尺寸有所放大, 但效果不显著。从渔业管理角度而言, 卵径、仔鱼长度和增长率的变化是至关重要的, FIE 导致的表型性状变化是很快的, 体型差异在表型变化到遗传变化的时间跨度需要多久还不可知, 目前的高强度捕捞会加剧这种变化, 对后续种群的恢复力和持续性影响程度如何, 有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] Walsh M R, Munch S B, Chiba S, et al. Maladaptive changes in multiple traits caused by fishing: impediments to population recovery[J]. *Ecology Letters*, 2010, 9(2): 142-148.
- [2] Johansen O G. Size-dependent predation on juvenile herring (*Clupea harengus* L.) by Northeast Arctic cod (*Gadus morhua* L.) in the Barents Sea[J]. *Sarsia*, 2010, 88(2): 136-152.
- [3] Zimmermann F, Jørgensen C. Bioeconomic consequences of fishing-induced evolution: a model predicts limited impact on net present value[J]. *Canadian Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, 2015, 72(4): 612-624.
- [4] Jørgensen C, Enberg K, Dunlop E S, et al. Managing evolving fish stocks[J]. *Science*, 2007, 318(5854): 1247-1248.
- [5] Wijk S J, Taylor M I, Creer S, et al. Experimental harvesting of fish populations drives genetically based shifts in body size and maturation[J]. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2013, 11(4): 181-187.
- [6] Uusi-Heikkilä S, Whiteley A R, Kuparinen A, et al. The evolutionary legacy of size-selective harvesting extends from genes to populations[J]. *Evolutionary Applications*, 2015, 8(6): 597-620.
- [7] Dunlop E S, Heino M, Dieckmann U. Eco-genetic modeling of contemporary life-history evolution[J]. *Ecological Applications*, 2009, 19(7): 1815-1834.
- [8] Heino M, Pauli B D, Dieckmann U. Fisheries-Induced Evolution[J]. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 2015, 46: 461-480.
- [9] Conover D O, Munch S B. Sustaining fisheries yields over evolutionary time scales[J]. *Science*, 2002, 297(5578): 94-96.
- [10] Li J S, Hu F, Yan L P, et al. The fecundity of chub mackerel (*Scomber japonicus*) spawning stocks in the central east China Sea[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2014, 35(6): 10-15. [李建生, 胡芬, 严利平, 等. 东海中部日本鲭(*Scomber japonicus*)产卵群体繁殖力特征[J]. *渔业科学进展*, 2014, 35(6): 10-15.]
- [11] Li Z L. Interannual changes in biological characteristics of small yellow croaker *Larimichthys polyactis*, Pacific Cod *Gadus macrocephalus* and Anglerfish *Lophius litulon* in the Bohai Sea and Yellow Sea[D]. Qingdao: Graduate School of Chinese Academy of Sciences, 2011: 40-55. [李忠炉. 黄渤海小黄鱼、大头鲑和黄鲛种群生物学特征的年际变化[D]. 青岛: 中国科学院研究生院, 2011: 40-55.]
- [12] Jørgensen T. Long-term changes in age at sexual maturity of Northeast Arctic cod (*Gadus morhua* L.)[J]. *Ices Journal of Marine Science*, 1990, 46(3): 235-248.
- [13] Klara B, Jakobsdóttir, Pardoe H, et al. Historical changes in genotypic frequencies at the Pantophysin locus in Atlantic cod (*Gadus morhua*) in Icelandic waters: evidence of fisheries-induced selection?[J]. *Evolutionary Applications*, 2011, 4(4): 562-573.
- [14] Therkildsen N O, Hemmer-Hansen J, Als T D, et al. Micro-evolution in time and space: SNP analysis of historical DNA reveals dynamic signatures of selection in Atlantic cod[J]. *Molecular Ecology*, 2013, 22(9): 2424-2440.
- [15] Zeng X J. Controllability and optimal catch strategy of fishery resource systems[J]. *Control Theory and Applications*, 1991, 8(4): 356-371. [曾晓军. 渔业资源系统的可控性与最优捕捞策略[J]. *控制理论与应用*, 1991, 8(4): 356-371.]
- [16] Liang R J, Lin Z S, Ren X H. Fishing strategy and study of dynamic prediction of sustainable utilize in marine fishery resources[J]. *Journal of Nanjing Normal University: Natural Science Edition*, 2006, 29(3): 108-112. [梁仁君, 林振山, 任晓辉. 海洋渔业资源可持续利用的捕捞策略和动力预测[J]. *南京师范大学学报: 自然科学版*, 2006, 29(3): 108-112.]
- [17] Lewin W, Arlinghaus R, Mehner T. Documented and potential biological impacts of recreational fishing: Insights for management and conservation[J]. *Reviews in Fisheries Science*, 2006, 14(4): 305-367.
- [18] Brooks S, Tyler C R, Sumpter J P. Egg quality in fish: what makes a good egg?[J]. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 1997, 7(4): 387-416.
- [19] Bonner R, Peters R H. The ecological implications of body

- size[J]. Journal of Applied Ecology, 1985, 22(1): 291-292.
- [20] Houde E D. Early life dynamics and recruitment variability [J]. American Fisheries Society Symposium, 1987, 2: 17-29.
- [21] Rijnsdorp A D, Vingerhoed B. The ecological significance of geographical and seasonal differences in egg size in Sole *Solea-solea*(L)[J]. Netherlands Journal of Sea Research, 1994, 32(3-4): 255-270.
- [22] Pepin P, Myers R A. Significance of egg and larval size to recruitment variability of a temperate marine fish[J]. Canadian Journal of Fisheries & Aquatic Sciences, 1991, 48(10): 1820-1828.
- [23] Houde E D. Patterns and trends in larval-stage growth and mortality of teleost fish[J]. Journal of Fish Biology, 2006, 51(sA): 52-83
- [24] Palmer A R. Do carbonate skeletons limit the rate of body growth?[J]. Nature, 1981, 292(5819): 150-152.
- [25] Arendt J D. Adaptive intrinsic growth rates: an integration across taxa[J]. Quarterly Review of Biology, 1997, 72(2): 149-177.
- [26] Saunders R L, Farrell A P, Knox D E. Progression of coronary arterial lesions in Atlantic Salmon (*Salmo salar*) as a function of growth rate[J]. Canadian Journal of Fisheries & Aquatic Sciences, 1992, 49(5): 878-884.
- [27] Franois C, Pat M, Lubna N, et al. Early nutrition and phenotypic development: 'catch-up' growth leads to elevated metabolic rate in adulthood[J]. Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences, 2018, 275(1642): 1565-1570.
- [28] Li Z L, Jin X S, Shan X J, et al. Inter-annual changes on body weight-length relationship and relative fatness of small yellow croaker (*Larimichthys polyactis*)[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2011, 18(3): 602-610. [李忠炉, 金显仕, 单秀娟, 等. 小黄鱼体长-体重关系和肥满度的年际变化[J]. 中国水产科学, 2011, 18(3): 602-610.]
- [29] Mou X X, Zhang C, Zhang C L, et al. The fisheries biology of the spawning stock of *Scomberomorus niphonius* in the Bohai and Yellow Seas[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2018, 25(6): 1308-1316. [牟秀霞, 张弛, 张崇良, 等. 黄渤海蓝点马鲛繁殖群体渔业生物学特征研究[J]. 中国水产科学, 2018, 25(6): 1308-1316.]
- [30] Ling J Z, Li S F, Yan L P, et al. Utilization and management of *Trichiurus japonicus* resources in East China Sea based on Beverton-Holt model[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2008, 19(1): 178-182. [凌建忠, 李圣法, 严利平, 等. 基于 Beverton-Holt 模型的东海带鱼资源利用与管理[J]. 应用生态学报[J]. 2008, 19(1): 178-182.]
- [31] Lu J W, Luo B Z, Lan Y L, et al. Studies on characteristics and successions of structure of fishery resources in the China seas[J]. Studia Marina Sinica, 1995, 10: 195-211. [卢继武, 罗秉征, 兰永伦, 等. 中国近海渔业资源结构特点及演替的研究[J]. 海洋科学集刊, 1995, 10: 195-211.]
- [32] Han Y. Governance and policy adjustment of marine fishery resources in China since 1949[J]. Chinese Rural Economy, 2018, 9: 14-28. [韩杨. 1949 年以来中国海洋渔业资源治理与政策调整[J]. 中国农村经济, 2018, 9: 14-28.]

Growth of *Oryzias melastigma* with different fishing strategies

SU Chengcheng^{1,3}, SHAN Xiujuan^{1,2}, SHAO Changwei^{1,2}

1. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences; National Field Observation and Research Center for Changdao Marine Ecosystem; Shandong Provincial Key Laboratory of Fishery Resources and Environment, Qingdao 266071, China;
2. Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes, Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology (Qingdao), Qingdao 266071, China;
3. College of Marine Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

Abstract: Different fishing strategies have different effects on adaptive changes in the morphological characteristics of fish species. To evaluate the impact of different fishing strategies on the growth characteristics of fish, the marine medaka (*Oryzias melastigma*) was used as the model organism. Seven fishing strategies were used: 90% large individual fishing (high-intensity large individual fishing, H-B), 90% random fishing (high-intensity random fishing, M-R), 75% large individual fishing (middle-intensity large individual fishing, H-B), 75% random fishing (middle-intensity random fishing, M-R), 50% large individual fishing (low-intensity large individual fishing, L-B), 50% random fishing (low-intensity random fishing, L-R), and 75% small individual fishing (middle-intensity small individual fishing, M-S). The growth characteristics of *O. melastigma* in the F₁–F₃ generations were determined. The egg diameter and larval length of *O. melastigma* were significantly different under the different fishing strategies in the same generation ($P < 0.01$). Among different generations, the egg diameter increased in the high-intensity fishing treatment group (90% fishing strategy condition) and decreased in the low intensity fishing treatment group (50% fishing strategy condition). However, different generations had little effect on the hatchability and survival rate of the next generation of eggs. The growth rate of the low-intensity fishing treatment group was higher than that of the other treatment groups in the juvenile stage among different generations. During the inter-generational larval development stage, the growth rate of the high-intensity fishing treatment group increased rapidly. This growth rate was significantly higher in the early stage than in the late stage. However, the growth rate of the high-intensity fishing treatment group was lower in the larval and juvenile stages. With the increase in external fishing pressure, the instantaneous growth rate of the high-intensity fishing treatment group was the lowest among the same generation. The instantaneous growth rates of the low-intensity and large individual fishing strategy groups were stable among generations. Similar to the current fishing strategy, high intensity and large individual fishing will lead to great differences in the biological characteristics of fish in three generations. Therefore, for the sustainable utilization of fishery resources and to predict the development trend of fish evolution, it is imperative to study the changes in biological traits of fish caused by fish-induced evolution by simulating the different fishing strategies.

Key words: *Oryzias melastigma*; fishing strategy; growth; fishery resources

Corresponding author: SHAN Xiujuan. E-mail: shanxj@ysfri.ac.cn

DOI: 10.12264/JFSC2021-0108

基于 MaxEnt 模型和 ArcGIS 预测多肋藻在中国海域的适生分布特征

李国梁^{1,2}, 汪文俊², 李宝贤^{2,3}, 姚海芹², 孙昕⁴, 梁洲瑞², 鲁晓萍², 刘福利², 张朋艳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黄海水产研究所, 农业农村部海洋渔业可持续发展重点实验室, 山东 青岛 266071;

3. 江苏海洋大学海洋科学与水产学院, 江苏 连云港 222005;

4. 中国海洋大学教育部海水养殖重点实验室, 山东 青岛 266100

摘要: 基于大型经济海藻的经济和生态价值, 开发具有潜力的新栽培物种是海藻栽培产业健康多样化发展的保障。多肋藻(*Costaria costata*)是一种具有很高营养价值及经济价值的大型褐藻, 但并非我国本土物种。本研究采用 MaxEnt 模型预测多肋藻在我国的适生情况, 并探究不同因子对多肋藻孢子体生长的影响, 旨在为开展多肋藻栽培提供支撑。结果表明, 当正则化参数为 1, 训练集与测试集比值为 70:30 时, 模型预测性能最佳。基于环境因子的相关性和对模型的贡献率, 筛选出 8 项用于多肋藻适生预测模型的构建, 其中温度与光强对多肋藻自然分布的影响最大, 在光强不低于 $4 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 月均温度不低于 7°C , 多肋藻的适生概率较高。模型显示, 多肋藻在我国的适生区主要分布于黄渤海, 约占该海域面积的 11.32%, 其中 8.08% 为边缘适生区和低适生区, 中适生区和高适生区分别占 1.33% 和 1.91%, 主要位于辽东湾。表明辽东湾、大连沿海以及山东半岛沿海是多肋藻引种栽培的适宜海域。但辽东湾部分区域的高适生性也预示高入侵风险性, 若开展人工栽培, 应加强生态安全性方面的评估。

关键词: 多肋藻; MaxEnt; ArcGIS; 生态风险; 适生分布

中图分类号: S932

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2021)12-1588-14

多肋藻(*Costaria costata*)是一种具有很高营养价值与经济价值的大型海藻, 富有碘及人体所需的多种微量元素, 在日本具有悠久的食用历史^[1]; 是海洋牧场及海底森林的重要组成部分, 为海胆及鲍等经济海洋动物提供饵料。多肋藻自然分布于北太平洋的潮间带或潮下带沿海地区, 包括美国阿拉斯加到加利福尼亚、俄罗斯远东的鄂霍次克海和大彼得湾、朝鲜半岛东北部、日本北部沿岸海域^[2]。近年来, 多肋藻被引入我国进行人工栽培试验^[3-5]。无论出于经济效益发展规模化栽培, 还是出于环境生态效应进行藻场移植, 多肋藻作为外来物种, 首先必须掌握其生态适应性特征,

其次还要考虑其入侵风险等生态安全性^[6-7]。然而相关研究较少。

物种分布模型(species distribution model, SDM)主要是根据物种特定的生存环境及存在的分布位点, 通过模型的数学算法模拟出其基本生态位, 可解释为物种出现的概率分布或生境适宜度等^[8]。SDM 现已广泛运用于生物引种栽培^[9-10]、生物入侵防范^[11-12]、气候变化引起的物种迁移^[13]、多样性资源保护^[14]、自然保护区的选址^[15]、病害防治^[16]等多个领域的研究。目前应用较广的 SDM 有 BIOCLIM、CLIMEX、DOMAIN、GAM、GARP、MaxEnt、ENFA 等^[9-19]。Elith 等^[15]针对 226 个物

收稿日期: 2021-03-17; 修订日期: 2021-04-10.

基金项目: 国家重点研发计划“蓝色粮仓科技创新”《重要养殖藻类种质创制与高效扩繁》项目《重要养殖藻类生态适应性与安全性评价》(2018YFD0901504); 中国水产科学研究院基本科研业务费“创新团队”项目(2020TD27).

作者简介: 李国梁(1995-), 男, 硕士研究生, 研究方向为藻类资源与利用. E-mail: 898587535@qq.com

通信作者: 汪文俊, 研究员, 研究方向为藻类资源与利用. E-mail: wjwang@ysfri.ac.cn

种, 比较了 GARP、BRT、MaxEnt 等 16 种模型的预测效果, 发现 MaxEnt 较其他模型更佳。王运生等^[17]通过研究相似穿孔线虫的适生分布情况, 也证实 MaxEnt 模型比 BIOCLIM、CLIMEX、DOMAIN、GARP 等预测效果更好。赵晓同等^[18]通过对比 MaxEnt 与 GARP 在不同样本量与空间分布上的预测精度, 结果显示 MaxEnt 预测精度优于 GARP。Hernandez 等^[19]比较几种模型对不同等级样本量的预测效果, 表明 MaxEnt 的预测结果无论对大样本量还是小样本量都更稳定精确。

MaxEnt (maximum entropy)模型是基于最大熵理论, 即假设物种在没有约束的情况下, 会尽最大可能扩散蔓延, 接近均匀分布。最大熵模型以物种仅存在分布信息及相关环境因子信息, 依靠数学模型来推算物种的生态需求, 并模拟物种在目标区域的适生概率^[20]。基于 MaxEnt 模型的预测精确性及操作便捷性, 国外学者利用该模型对海洋藻类开展研究, Assis 等^[21]利用 MaxEnt 在内的 3 种生态模型对墨角藻(*Fucus vesiculosus*)的过去、现在以及未来的分布趋势进行了探讨; Neiva 等^[22]结合 MaxEnt 和线粒体 DNA(mtDNA)数据, 研究了沟鹿角菜(*Pelvetia canaliculata*)的生物地理演化信息; Pauly 等^[23]利用 MaxEnt 预测了丝毛藻属(*Trichosolen*)物种在全球珊瑚中的分布; Tyberghein 等^[24]利用刺松藻(*Codium fragile*)的分布数据和 MaxEnt 模型对 Bio-ORACLE 海洋数据集的效用进行了评价; Verbruggen 等^[25]通过 MaxEnt 模型预测了所有仙掌藻属(*Halimeda*)物种在全球范围的分布。国内 SDM 在海洋藻类中的应用才刚刚起步, 孙昕等^[26]利用 MaxEnt 模型预测了极北海带(*Laminaria hyperborea*)在我国海域的适生分布情况。本研究通过 MaxEnt 模型对多肋藻在我国海域的适生分布情况进行预测, 并对入侵风险进行探讨, 以期对引种多肋藻、发展规模化栽培提供参考。

1 材料与方法

1.1 生态模型的构建

所采用的生态位预测模型为最大熵模型 MaxEnt 3.4, 运用 ArcGIS 10.2 划分适生区。

1.1.1 数据来源

(1) 物种分布数据 多肋藻分布信息来源: 全球生物多样性信息网络 GBIF (<http://www.gbif.org/>)和文献资料, 选取明确位置的分布点, 并通过地名数据库 GNDB (Geographic Names Database) 查验经纬度坐标信息。一共获得 1200 条空间分布点数据, 将其整理成物种名-经度-纬度形式, 保存为*.CSV 格式文件。

(2) 环境变量数据 来源于全球海洋生物扩散模型环境数据库 Bio-ORACLE (<http://bio-oracle.org/>)中基于 2000—2014 年期间月平均值的气候数据编制的图层, 其空间分辨率为 5 arcmin (约为 9.2 km), 下载格式为*.asc 格式。选择影响海洋藻类分布的 42 项环境参数(表 1)。

(3) 地图数据 选用 1:400 万中国省级行政区图作为分析地图, 从国家基础地理信息系统网站(<http://nfgis.nsdi.gov.cn/>)下载。

1.1.2 数据处理

(1) 分布数据的空间过滤 1200 个物种分布点的数据通过 Excel 删除重复点后, 将剩余分布点导入 ArcGIS 中, 通过投影工具, 对分布点建立以 m 为单位的坐标系, 并以每个分布点为中心, 建立半径为 5 km 的圆型区域进行邻域分析, 删去重叠交叉的分布簇, 随机保留其中一个位点, 将最终保留下的 151 条分布点数据用于模型构建。

(2) 环境变量的相关性检验与筛选 将上述获取的 151 条分布点与 42 个环境变量导入 MaxEnt 模型中, 将 75%的分布点用于训练集以拟合模型, 剩余 25%的位点用于测试集以评估模型, 以 logistic 格式输出结果, 其余软件参数为系统默认值, 通过刀切法(Jackknife)对环境变量进行筛选, 去除 11 项对模型贡献率为 0 的环境变量。采用 ArcGIS 中的转换工具(conversion tool)将剩下的 31 个环境变量的格式转化成栅格格式(*.flt), 利用空间分析工具(spatial analyst tool)进行多重线性分析, 检验变量之间的相关性, 对相关性绝对值>0.8 的变量只保留一个用于模型构建以消除相关变量之间的过度拟合。针对相关性>0.8 的环境变量, 本研究对比了两种筛选方法对预测结果的影响: a)随机选取(随机法), b)根据对模型的贡献度大小(最

表 1 海洋水文环境参数
Tab. 1 Marine hydrological environmental factors

环境变量 environment variable	参数 parameter	环境变量 environment variable	参数 parameter	环境变量 environment variable	参数 parameter
Bio 1	最大月均海流流速 currents velocity. Lt. max	Bio 15	最高光照强度 light at bottom. max	Bio 29	最低磷酸盐 phosphate. min
Bio 2	最小月均海流流速 currents velocity. Lt. min	Bio 16	年均光照强度 light at bottom. mean	Bio 30	年均磷酸盐变化范围 phosphate. range
Bio 3	最大海流流速 currents velocity. max	Bio 17	最低光照强度 light at bottom. min	Bio 31	最高月均盐度 salinity. Lt. max
Bio 4	年均海流流速 currents velocity. mean	Bio 18	年均光照强度变化范围 light at bottom. range	Bio 32	最低月均盐度 salinity. Lt. min
Bio 5	最小海流流速 currents velocity. min	Bio 19	最高月均硝酸盐 nitrate. Lt. max	Bio 33	最高盐度 salinity. max
Bio 6	年均海流流速变化范围 currents velocity. range	Bio 20	最低月均硝酸盐 nitrate. Lt. min	Bio 34	年均盐度 salinity. mean
Bio 7	最高月均溶解氧 dissolved oxygen. Lt. max	Bio 21	最高硝酸盐 nitrate. max	Bio 35	最低盐度 salinity. min
Bio 8	最低月均溶解氧 dissolved oxygen. Lt. min	Bio 22	年均硝酸盐 nitrate. mean	Bio 36	年均盐度变化范围 salinity. range
Bio 9	最高溶解氧 dissolved oxygen. max	Bio 23	最低硝酸盐 nitrate. min	Bio 37	最高月均温度 temperature. Lt. max
Bio 10	年均溶解氧 dissolved oxygen. mean	Bio 24	年均硝酸盐变化范围 nitrate. range	Bio 38	最低月均温度 temperature. Lt. min
Bio 11	最低溶解氧 dissolved oxygen. min	Bio 25	最高月均磷酸盐 phosphate. Lt. max	Bio 39	最高温度 temperature. max
Bio 12	年均溶解氧变化范围 dissolved oxygen. range	Bio 26	最低月均磷酸盐 phosphate. Lt. min	Bio 40	年均温度 temperature. mean
Bio 13	最高月均光照强度 light at bottom. Lt. max	Bio 27	最高磷酸盐 phosphate. max	Bio 41	最低温度 temperature. min
Bio 14	最低月均光照强度 light at bottom. Lt. min	Bio 28	年均磷酸盐 phosphate. mean	Bio 42	年均温度变化范围 temperature. range

注: max-最大值; mean-均值; min-最小值; Lt. max-年最大值的平均值; Lt. min-年最小值的平均值; range-年最大值与最小值的绝对差的平均值。
Note: max-maximum record; mean-the long-term average; min-minimum record; Lt. max-average of the maximum records per year; Lt. min-average of the minimum records per year; range-the average of the absolute difference between the minimum and maximum records per year.

大贡献法)。

1.1.3 模型参数优化

(1) 正则化参数的优化 将经过空间过滤后的物种分布点与上述最大贡献法筛选出的环境变量导入 MaxEnt 模型, 设置 8 组正则化参数 β (0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0), 其他设置为系统默认值。训练集与测试集用 5-折交叉验证法验证 8 组不同正则化参数运行模型的平均测试 AUC 值, 取最高 AUC 值的正则化参数用于后续模型构建。

(2) (训练集: 测试集)比值的优化 设置 4 组训

练集与测试集组合(50 : 50、70 : 30、75 : 25、80 : 20), 正则化参数取上述 8 组不同系数经 5-折交叉验证后的最佳 β 值, 环境变量同 1.1.3(1)筛选, 并选择随机种子设置, 其余参数为系统默认值, 每组重复运行 10 次, 比较各组的平均测试 AUC 值, 选择最高 AUC 值的训练集: 测试集组合用于模型构建。

1.2 多肋藻在我国适生情况预测

1.2.1 预测模型构建 将经 1.1.2 处理的分布点、环境变量数据分别导入 MaxEnt 模型, 根据 1.1.3 优化结果设置正则化参数 β 以及训练集: 测试集参数, 构建环境变量响应曲线, 并采用刀切法检

测环境变量的贡献值, 以 logistic 格式输出概率分布预测图。

1.2.2 适生区划分 将模型输出结果的*.asc 格式图层导入 ArcGIS, 通过转换工具(conversion tool)执行 to Raster 命令, 将其转换成栅格数据格式(*.fit)。将转换完成的栅格数据图层与中国省级行政区图进行叠加。利用空间分析工具中的重分类功能(reclassify)对叠加的图层进行自然间断法划分适生区, 得到适生分布图。

MaxEnt 模型预测多肋藻的适生值是连续的栅格数据, 数值在 0~1。按照适生概率值的大小将多肋藻的适生分布区域划分为 5 个等级: 高适生区(≥ 0.5)、中适生区(0.3~0.5)、低适生区(0.1~0.3)、边缘适生区(0.05~0.1)、非适生区(≤ 0.05)^[27]。该数值同时对应于相应的入侵风险等级。

1.3 模型的评估与验证

1.3.1 ROC 曲线检验 采用受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC 曲线)对分布模型进行精度检验。ROC 曲线是以假阳性率为横坐标, 真阳性率为纵坐标, 绘制而成的曲线, 通过改变诊断阈值来获得更多真(假)阳性率值。ROC 曲线下方的面积即为 AUC (area under curve)值, AUC 的数值范围为 0~1, 一般认为 AUC 值为 0.5~0.7 时诊断模型精度较低, 0.7~0.9 时诊断价值中等, 大于 0.9 时诊断价值较高^[17]。

1.3.2 实地考察调研 2018—2020 年, 主要在黄渤海海域进行多次实地考察调研多肋藻的自然资源分布情况。

1.3.3 多肋藻孢子体生长实验

(1) 实验材料 本实验所用的多肋藻孢子体幼苗(5~20 cm)采自山东荣成育苗场(由东方海洋科技股份有限公司提供)。暂养条件为: 温度 10 °C, 光照强度 60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, 光周期 12L : 12D, 营养盐(NO_3^--N : 1 mg/L, $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$: 0.1 mg/L), 盐度 31。

(2) 实验方法 每处理组随机挑选鲜重约 3 g 的完整藻体置于 2 L 锥形瓶中充气培养, 在 GXZ 智能型光照培养箱中分别设置 4 组单因子生长实验。温度: 6 °C、10 °C、14 °C、18 °C、22 °C; 光强: 30 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 、60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 、90 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 、

120 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$; 盐度: 21、26、31、36; 营养盐 [NO_3^--N , $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}/(\text{mg}/\text{L})$]: (0, 0)、(0.5, 0.05)、(1, 0.1)、(2, 0.2)。上述单因子实验的其他条件同暂养条件。持续培养 10 d, 每隔 3 d 换 1 次培养液, 第 10 天称量鲜重, 每实验组设置 3 个平行。

(3) 数据处理 根据 $\text{RGR}=[\ln(W_t/W_0)/t]\times 100\%$ 计算其相对生长速率, 其中 W_0 为初始藻体的鲜质量(g), W_t 为实验结束时藻体的鲜质量(g), t 为实验持续的时间(d)。采用 SPSS 18.0 数据统计软件进行方差分析、多重比较, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 预测模型的构建

2.1.1 环境变量筛选 42 组环境变量通过刀切法筛选, 发现对模型贡献最大的为 Bio18 (年均光照强度变化范围), 其次为 Bio17 (最低光照强度), Bio15 (最高光照强度)、温度、盐度都有一定的影响, 而海水流速则几乎没有影响, 营养盐中磷酸盐比硝酸盐的影响大(表 2)。

对贡献率大于 0 的环境变量进行相关性检验, 根据绝对值大于 0.8% 的环境变量进行分组, 可明显分为 6 组(表 3): 通常同类环境变量之间呈显著的正向关, 如最高、最低月均光强(Bio13、Bio14), 最高光强(Bio15), 年均光强(Bio16)。但也有例外, 如 Bio35 最低盐度和 Bio36 年均盐度变化范围之间则为负相关, Bio17 最低光强和 Bio18 年均光强变化范围之间的相关性则不显著, Bio42 年均温度变化范围则与其他温度变量(Bio37~Bio41)之间相关性极弱。温度(Bio37~Bio41)和溶解氧(Bio7~Bio10)之间呈显著的负相关, 可归为一组。

综合环境变量对模型的贡献值(表 2)和环境变量之间的相关性(表 3), 筛选出 8 个环境变量分别为: Bio17 最低光强、Bio18 年均光强变化范围、Bio28 年均磷酸盐、Bio30 年均磷酸盐变化范围、Bio32 最低月均盐度、Bio36 年均盐度变化范围、Bio38 最低月均温度和 Bio42 年均温度变化范围(表 4)。另两组仅根据相关性随机选取一个环境变量的组合见表 4。

2.1.2 正则化参数的交叉验证和(训练集：测试集)比值的筛选 正则化参数 β 的 5-折交叉验证以及采用不同训练集与测试集比值运行的 AUC 值均在 0.99 以上, 其中以 $\beta=1$ 时和 70 : 30 的训练集: 测试集运行的 AUC 值最佳, 表明能最大限制模型复杂性, 提高模型预测能力, 使模型更加平滑(表 5), 后续建模采用此参数。

2.2 多肋藻在我国潜在的适生分布预测
采用随机法选取相关性高的环境变量, 运行模型得出的分布区域出现较大的偏差, 而且预测的分布范围过广, 即出现过度拟合现象, 自然分布区延伸至外海(图 1), 与多肋藻的实际分布不符。结合变量的相关性和对模型的贡献度, 筛选变量建模, 避免了过度拟合的现象(图 2), 结果表明: 多肋藻在我国的适生区主要分布于黄渤海的近岸海域, 绝大部分为边缘和低适生区, 辽东湾

内有一定的中高适生区(图 2)。在黄渤海的总体适生分布概率约占该海域面积的 11.32%, 其中, 边缘适生区占 2.99%, 低适生区占 5.09%, 中适生区占 1.33%, 高适生区占 1.91%(表 6)。

2.3 生态模型的评估与验证
2.3.1 MaxEnt 模型预测精度的检验 采用 ROC 曲线对所构模型预测多肋藻的分布区结果进行精度检验, 模型(最大贡献法)训练集的 AUC 值为 0.995, 测试集的 AUC 值为 0.993 (图 3)。检测值远远大于随机模型的 AUC 值 0.5, 表明该模型预测性能比随机模型好, 即所构建的模型预测多肋藻分布区结果可信度高。

2.3.2 多肋藻在我国自然和养殖资源情况 多肋藻在大连和山东荣成进行过养殖试验^[4-5,28-30]。同时, 本研究发现在黄渤海海域的烟台长岛以及大连的旅顺和长海县海域有自然生长的多肋藻。

表 2 环境变量对模型的贡献率
Tab. 2 Percent contribution of environmental variables

						%
环境变量 environmental variable	贡献率 percent contribution	排列重要性 permutation importance	环境变量 environmental variable	贡献率 percent contribution	排列重要性 permutation importance	
Bio 18	24.5	5.3	Bio 41	0.2	0.0	
Bio 17	19.2	1.4	Bio 37	0.2	6.3	
Bio 15	9.1	1.1	Bio 26	0.2	0.1	
Bio 38	8.6	2.7	Bio 14	0.2	2.4	
Bio10	6.7	0.7	Bio 35	0.1	0.3	
Bio 36	4.5	9.1	Bio 42	0.1	0.5	
Bio 13	3.5	0.1	Bio 29	0.1	0.1	
Bio 28	2.8	8.5	Bio 33	0.1	0.2	
Bio 30	2.6	0.2	Bio 39	0.1	0.1	
Bio 40	2.4	41.5	Bio 34	0.1	0.0	
Bio 32	2.2	5.7	Bio 3	0.0	0.3	
Bio 20	2.0	6.2	Bio 19	0.0	0.7	
Bio 9	1.9	0.0	Bio 22	0.0	1.5	
Bio 31	1.8	0.0	Bio 21	0.0	1.7	
Bio 11	1.7	0.0	Bio 12	0.0	0.9	
Bio 7	1.4	0.0	Bio 4	0.0	0.0	
Bio 16	1.3	0.2	Bio 6	0.0	0.5	
Bio 8	1.1	0.0	Bio 27	0.0	0.0	
Bio 25	0.5	0.0	Bio 5	0.0	0.0	
Bio 23	0.3	1.2	Bio 24	0.0	0.0	
Bio 1	0.3	0.3	Bio 2	0.0	0.0	

注: 环境变量全称见表 1。
Note: The full name of the environmental variables is shown in Tab. 1.

表 3 环境变量间的相关系数矩阵

Tab. 3 Correlation coefficient matrix between environmental variables

	Bio13	Bio14	Bio15	Bio16	Bio17	Bio18	Bio1	Bio7	Bio8	Bio9	Bio10	Bio11	Bio20	Bio23	Bio25	Bio26	Bio28	Bio29	Bio30	Bio31	Bio32	Bio33	Bio34	Bio35	Bio36	Bio37	Bio38	Bio39	Bio40	Bio41	Bio42
Bio13	—																														
Bio14	0.86	—																													
Bio15	0.98	0.81	—																												
Bio16	0.98	0.94	0.95	—																											
Bio17	0.72	0.94	0.65	0.83	—																										
Bio18	0.93	0.74	0.96	0.88	0.57	—																									
Bio1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	—																								
Bio7	0.05	0.01	0.07	0.04	-0.03	0.07	-1	—																							
Bio8	0.02	-0.01	0.04	0.01	-0.04	0.04	-1	0.96	—																						
Bio9	0.05	0	0.07	0.04	-0.03	0.07	-1	1	0.96	—																					
Bio10	0.04	0	0.06	0.03	-0.03	0.06	-1	0.99	0.99	0.99	—																				
Bio11	0.02	-0.02	0.03	0	-0.04	0.03	-1	0.95	1	0.95	0.98	—																			
Bio20	-0.06	-0.08	-0.05	-0.07	-0.08	-0.06	-1	0.55	0.54	0.56	0.55	0.53	—																		
Bio23	-0.06	-0.08	-0.05	-0.07	-0.08	-0.06	-1	0.52	0.51	0.53	0.52	0.51	1	—																	
Bio25	-0.06	-0.09	-0.05	-0.07	-0.11	-0.05	-1	0.62	0.59	0.63	0.61	0.58	0.95	0.93	—																
Bio26	-0.08	-0.1	-0.07	-0.09	-0.11	-0.08	-1	0.57	0.57	0.58	0.57	0.56	0.98	0.97	0.98	—															
Bio28	-0.07	-0.1	-0.06	-0.08	-0.11	-0.06	-1	0.6	0.59	0.61	0.6	0.58	0.97	0.95	0.99	0.99	—														
Bio29	-0.07	-0.1	-0.07	-0.09	-0.11	-0.08	-1	0.54	0.53	0.54	0.54	0.52	0.98	0.98	0.97	1	0.99	—													
Bio30	0.04	-0.01	0.05	0.02	-0.04	0.06	-1	0.46	0.39	0.47	0.43	0.38	0.12	0.07	0.37	0.19	0.29	0.13	—												
Bio31	-0.13	-0.12	-0.13	-0.13	-0.1	-0.15	-1	-0.56	-0.52	-0.56	-0.55	-0.5	-0.13	-0.11	-0.19	-0.16	-0.17	-0.13	-0.27	—											
Bio32	-0.2	-0.2	-0.2	-0.2	-0.18	-0.22	-1	-0.54	-0.5	-0.53	-0.53	-0.48	-0.03	-0.01	-0.08	-0.04	-0.06	-0.02	-0.26	0.92	—										
Bio33	-0.11	-0.1	-0.12	-0.11	-0.08	-0.13	-1	-0.57	-0.52	-0.56	-0.55	-0.5	-0.19	-0.17	-0.24	-0.22	-0.23	-0.19	-0.28	0.99	0.88	—									
Bio34	-0.17	-0.16	-0.17	-0.17	-0.14	-0.19	-1	-0.55	-0.51	-0.55	-0.54	-0.49	-0.08	-0.06	-0.13	-0.1	-0.12	-0.07	-0.26	0.98	0.98	0.95	—								
Bio35	-0.18	-0.19	-0.18	-0.19	-0.17	-0.2	-1	-0.54	-0.52	-0.53	-0.53	-0.5	0.02	0.04	-0.03	0.01	-0.01	0.04	-0.25	0.84	0.96	0.8	0.91	—							
Bio36	0.18	0.2	0.18	0.19	0.2	0.2	-1	0.33	0.34	0.32	0.34	0.33	-0.2	-0.21	-0.18	-0.21	-0.19	-0.23	0.15	-0.43	-0.71	-0.35	-0.57	-0.84	—						
Bio37	-0.01	0.03	-0.02	0.01	0.06	-0.02	-1	-0.96	-0.97	-0.96	-0.97	-0.96	-0.67	-0.65	-0.72	-0.69	-0.71	-0.66	-0.39	0.44	0.4	0.45	0.42	0.41	-0.23	—					
Bio38	-0.03	0.02	-0.05	-0.02	0.05	-0.05	-1	-0.98	-0.93	-0.98	-0.97	-0.92	-0.62	-0.59	-0.68	-0.63	-0.66	-0.6	-0.47	0.48	0.44	0.5	0.46	0.43	-0.23	0.96	—				
Bio39	-0.01	0.03	-0.02	0.01	0.06	-0.02	-1	-0.95	-0.97	-0.95	-0.97	-0.96	-0.68	-0.66	-0.72	-0.7	-0.72	-0.67	-0.38	0.42	0.39	0.44	0.41	0.4	-0.22	1	0.96	—			
Bio40	-0.02	0.03	-0.04	-0.01	0.06	-0.04	-1	-0.98	-0.96	-0.98	-0.98	-0.95	-0.64	-0.62	-0.7	-0.66	-0.69	-0.63	-0.44	0.47	0.43	0.48	0.45	0.43	-0.24	0.99	0.99	0.98	—		
Bio41	-0.03	0.02	-0.05	-0.02	0.05	-0.05	-1	-0.98	-0.93	-0.98	-0.97	-0.92	-0.61	-0.59	-0.68	-0.63	-0.66	-0.6	-0.47	0.48	0.44	0.5	0.46	0.43	-0.22	0.96	1	0.95	0.99	—	
Bio42	0.09	0.05	0.08	0.08	0.05	0.09	-1	-0.07	-0.28	-0.06	-0.16	-0.29	-0.32	-0.32	-0.24	-0.33	-0.29	-0.33	0.22	-0.1	-0.09	-0.11	-0.1	-0.03	-0.05	0.29	0.03	0.31	0.14	0.01	—

注: 环境变量全称见表 1.

Note: The full name of the environmental variables is shown in Tab. 1.

表 4 3 种环境变量组合
Tab. 4 Three combinations of environmental variable

筛选方法 selection method	环境变量 environmental variable							
最大贡献法 maximum contribution method	Bio17	Bio18	Bio28	Bio30	Bio32	Bio36	Bio38	Bio42
随机法 1 random method 1	Bio15	Bio16	Bio23	Bio30	Bio34	Bio36	Bio41	Bio42
随机法 2 random method 2	Bio17	Bio18	Bio23	Bio30	Bio34	Bio36	Bio38	Bio42

注：环境变量全称见表 1。
Note: The full name of the environmental variables is shown in Tab. 1.

表 5 不同正则化参数 β 和训练集与测试集比值的 AUC 值
Tab. 5 AUC values run at different ratios of the regularization parameters and training sets to testing sets
 $n_1=5, n_2=10; \bar{x} \pm SE$

模型参数 model parameter	参数值 parameter value	训练 AUC training AUC	测试 AUC testing AUC
正则化参数 regularization parameter	0.5	0.9942±0.00045	0.9938±0.00110
	1.0	0.9942±0.00045	0.9940±0.00071
	1.5	0.9942±0.00045	0.9938±0.00110
	2.0	0.9940±0.00000	0.9936±0.00152
	2.5	0.9940±0.00000	0.9936±0.00152
	3.0	0.9934±0.00134	0.9924±0.00358
	3.5	0.9940±0.00000	0.9936±0.00152
	4.0	0.9940±0.00000	0.9932±0.00192
训练集/% : 测试集/% training : testing	50 : 50	0.9959±0.00032	0.9939±0.00129
	70 : 30	0.9950±0.00000	0.9943±0.00067
	75 : 25	0.9949±0.00032	0.9940±0.00149
	80 : 20	0.9941±0.00032	0.9935±0.00097

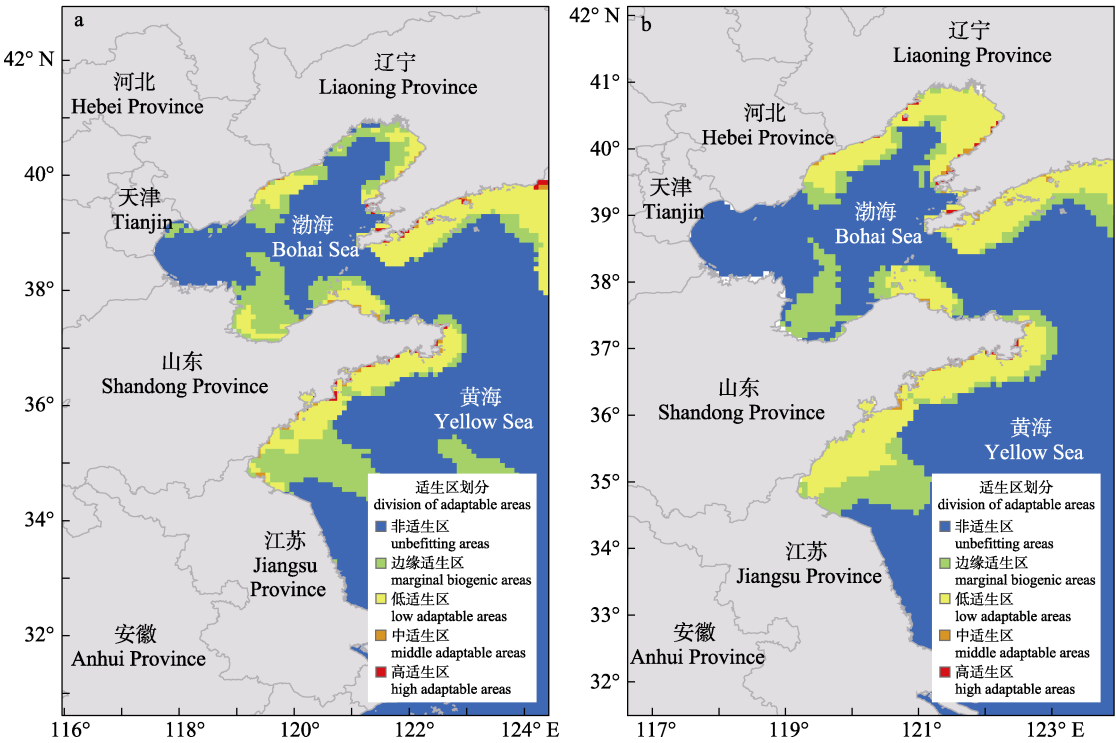


图 1 随机法预测多肋藻适生分布区的比较
a. 随机法 1; b 随机法 2.

Fig. 1 Comparison of the geographic distribution areas of *Costaria costata* with random methods in Bohai and Yellow Seas
a. random method 1; b. random method 2.

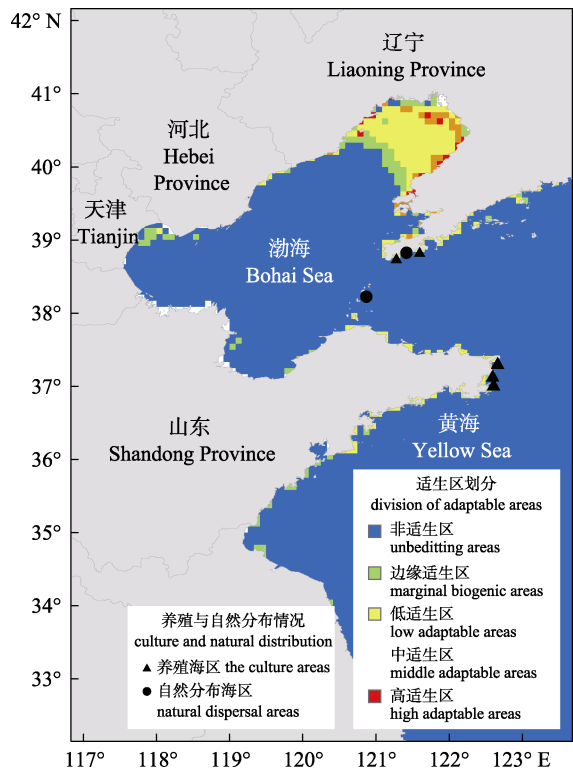


图 2 多肋藻在中国海域的适生区划分及养殖与自然分布情况

Fig. 2 Division of adaptable area, cultivation and natural distribution of *Costaria costata* in China

表 6 多肋藻在黄渤海适生区分布的最大贡献法预测
Tab. 6 Geographic distribution areas of *Costaria costata* in Bohai and Yellow Seas based on the maximum contribution method

适生区划分 geographic distribution areas	适生概率范围 probability range	频数 frequency	频率/% percentage
适生区 unbeditting areas	0–0.05	6457	88.67
边缘适生区 marginal biogenic areas	0.05–0.1	218	2.99
低适生区 low adaptable areas	0.1–0.3	371	5.09
中适生区 middle adaptable areas	0.3–0.5	97	1.33
高适生区 high adaptable areas	0.5–1	139	1.91
合计 total		7282	

调研结果与 MaxEnt 模型预测的适生分布海域相符(图 2), 证明了该模型预测结果的可靠性。

2.3.3 环境变量的影响效应与实验验证 最大贡献法所构模型, 各环境变量的贡献率依次为: 最

低光强 43.7%, 最低月均温度 25.5%、年均光照强度变化范围 10.6%、年均磷酸盐变化范围 8.3%、年均盐度变化范围 7.7%、年均磷酸盐 2.1%、最低月均盐度 1.2%、年均温度变化范围 0.9% (表 7)。仅考虑单一环境变量对建模的响应效应, 多肋藻适生概率最高的各参数值分别为: 光照强度变化范围为 52 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, 最低限制值为 4 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, 磷酸盐变化范围为 1.7 mg/L, 年均磷酸盐 0.3 mg/L 为最优值, 温度变化范围 27 $^{\circ}\text{C}$, 最低月均温度不低于 7 $^{\circ}\text{C}$, 盐度年变化范围 12, 最低月均值不低于 21。

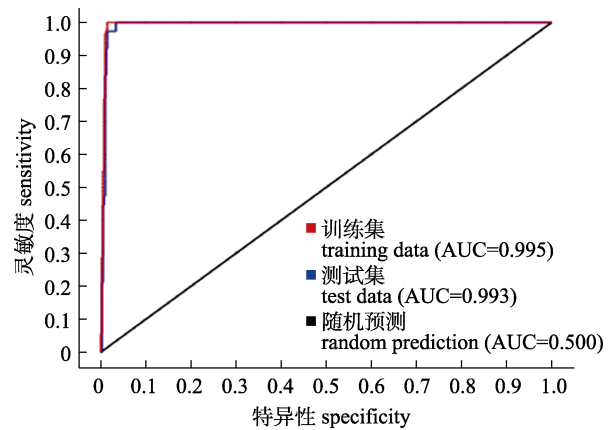


图 3 MaxEnt 模型的 ROC 曲线
Fig. 3 ROC curve of MaxEnt model

表 7 环境变量贡献分析表
Tab. 7 Analysis of contributions of environmental variables %

环境变量 environmental variable	贡献率 percent contribution	排列重要性 permutation importance
Bio 17	43.7	3.9
Bio 38	25.5	90.7
Bio 18	10.6	0
Bio 30	8.3	0.3
Bio 36	7.7	1.8
Bio 28	2.1	1.5
Bio 32	1.2	1.3
Bio 42	0.9	0.5

注:环境变量全称见表 1.
Note: The full name of the environmental variables is shown in Tab. 1.

单因子生长实验显示, 前期(5 d 内)多肋藻在温度 22 $^{\circ}\text{C}$ 时的 RGR 呈负增长, 显著低于其他温度组($P<0.05$); 18 $^{\circ}\text{C}$ 实验组的 RGR 最大, 与 10 $^{\circ}\text{C}$

组无显著性差异,但显著高于 6℃、14℃、22℃组($P<0.05$)。到第 10 天,多肋藻在温度 10℃的 RGR 最大,但与 6℃、18℃无显著性差异。光强 30~120 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 均适于幼孢子体的生长,最适光强为 60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 。在盐度为 36 时多肋藻的 RGR 最大,但与盐度 26 和 31 组间没有显著性差异,仅在盐度为 21 时表现出显著较低的生长速率($P<0.05$)。在添加硝酸盐 1 mg/L,磷酸盐 0.1 mg/L 时多肋藻表现出最大 RGR,且显著高于对照组($P<0.05$),但与添加(硝酸盐 0.5 mg/L,磷酸盐 0.05 mg/L)和(硝酸盐 2 mg/L,磷酸盐 0.2 mg/L)组间没有显著性差异。

3 讨论

3.1 物种分布数据的空间自相关

MaxEnt 模型通常假设背景上的所有位置都是以同样的概率进行采样,即依赖于一个无抽样偏差的样本。由于多肋藻在我国的自然分布点极少,而且是外来种亦没有早期的相关记录,因此本研究获取的多肋藻分布信息途径只能通过大型数据库、博物馆标本和参考文献,导致分布信息可能会因抽样方法不同、调查强度差异、错误识别、季节性变动、扩散限制、环境条件等多个因素的影响,表现出较大的抽样偏差,即分布点表现出空间自相关^[31-34]。本研究通过对分布点建立 10 km 邻域区,当邻域内存在多个位点簇时,只保留一个位点^[35-37],以达到在单个网格范围内有相似的采样密度,从而降低分布数据在空间上的自相关^[38],避免模型运行中因采样密度不均造成的过度拟合。

3.2 环境变量对多肋藻预测模型的影响

不同物种对生态的偏好不同,变量之间具有一定的相关性,因此不当的或过多的环境因子将导致模型的过度拟合。且 MaxEnt 创建的复杂特征往往已经高度相关,这也会导致对模型运行性能的高估^[39-40]。在建立模型之前,应使用相关性分析、聚类算法、主成分分析或其他降维方法去除高度相关的环境变量。理论上,对于相关性极高的环境变量任选其一用于模型运行,得出的分布结果应该一致。但本研究在分析过程发现,不

同组合间预测结果出现较大的偏差,而且预测的适生区延伸到外海区,超出多肋藻自然资源在地理上的分布范围,即结果呈现过度预测。本研究采用改进的最大贡献法,解除了过度预测现象,与近年来引入多肋藻小规模试养的海域以及本课题组发现的自然扩散的海域相符。同时,ROC 曲线显示训练集与测试集的 AUC 值接近 1,验证了预测结果的准确性及可靠性。

通过所构模型计算得出最低月均温度在 7℃、年均温度变化范围为 27℃时,多肋藻适生分布概率达到最大值。单因子生长实验发现,短时间(5 d 内)多肋藻在温度 18℃生长最快,但随着时间的延长,适宜的生长温度有所降低(10℃左右)。已有文献报道,多肋藻配子体在 20℃下生长最快^[41],幼孢子体(4.8~5.9 mm)在 17℃的相对生长速率最大^[42],孢子体成体在海水温度为 7~10℃的朝鲜半岛自然海域中表现出最大的生长速率^[43]。可见多肋藻在不同生活史阶段以及同一世代的不同生长发育阶段对温度的响应不同,孢子体幼体与成体生长的适宜温度差异显著^[44],侧面证明具有异型世代交替的多肋藻能够耐受较大的年均温度变化幅度。但由于多肋藻分布数据均是孢子体时期的,适宜配子体与孢子体生长发育的温度条件差异较大,因而导致海面温度范围在模型构建中贡献值较低(0.9%)。但最低月均温度对模型的贡献值却是年均温度变化范围的 28.33 倍,这是由于多肋藻孢子体自然分布的季节性很强,造成月均温度变化比年均温度变化的影响大。

光强是影响藻类生长发育的重要因素之一,其中最低耐受光强是决定定生藻类分布的重要限制因子,在构建多肋藻适生预测模型时,其贡献度也最高。通过模型计算多肋藻自然分布概率最高的最低限制光强为 4 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$,说明多肋藻对低光强有较好的适应能力,与极北海带低光照适应性研究结果相似^[26],这是由于大型海藻分布的底层(4~9 m)光强只有表面的 0.2%~11%,随着深度的增加光强减弱,而多肋藻通常生长在 0.5~20 m 深的海域^[45-46]。模型预测结果显示年均光照强度变化范围在 52 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 时多肋藻适

生分布概率最高。单因子实验结果显示, 在 30~120 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 均可生长, 60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ RGR 最高, 与 Park 等^[42]研究结果一致。以上结果一致说明, 多肋藻适于在一定的水深范围或透明度变化不大的海域进行栽培, 以确保光强不至于过高以及变化不至于太过剧烈。

营养盐对于藻类的适生分布也有着重要影响, 降雨、入海径流对近海营养盐水平有较大影响, 从而影响近岸海洋藻类的分布。多肋藻自然分布于低潮间带到潮下带海区, 海陆交换频繁^[47]。本研究发现, 硝酸盐对多肋藻的分布影响甚微, 而磷酸盐的影响相对较大, 由于磷酸盐和硝酸盐之间具有较强的正相关关系, 因此, 建模时仅考虑磷酸盐。当年均磷酸盐质量浓度为 0.3 mg/L、变化范围在 1.7 mg/L 时, 多肋藻适生分布概率最高。在营养盐生长实验的研究中, 氮质量浓度为 1 mg/L, P 质量浓度为 0.1 mg/L 最有利于藻体的生长。而自然海域中磷酸盐的质量浓度通常为 0.015~0.045 mg/L, 但研究海域受大陆沿岸营养物质富集的影响, 且海洋水体大, 物质交换快, 所以营养盐对多肋藻的预测模型的影响相对较小。

单因子实验结果表明, 盐度为 36 时多肋藻幼孢子体表现出最大生长速率, 但与盐度 26 和 31 组间没有显著性差异, 仅在盐度为 21 时表现出显著较低的生长速率。预测模型计算结果也表明影响多肋藻分布的月均最低盐度为 21, 总体上能耐受较高的盐度变化范围(12)。Park 等^[42]研究也证实多肋藻幼孢子体在盐度 25~35 均能生长。一致说明多肋藻孢子体能够适应较广的盐度范围, 但更喜相对较高的盐度。

除了以上变量, 通常在建模时, 还需考虑海水深度和底质类型。本研究选用底层光强用于建模, 反映了藻体实际分布深度的有效太阳辐射^[48-50]。多肋藻一般附着在海底的岩石或硬质沉积物上, 而在软泥沙质上无法附着, 本研究选用的环境数据库中未提供海底底质类型, 加之多肋藻在我国的自然资源分布点少而集中, 已发现的资源多为养殖筏架上, 无法实地测量并完善相关数据。因此, 本模型的预测结果可能会比多肋藻的实际生态位分布略广, 但多肋藻在人为引种栽培及建立

海藻场时, 通常会有浮筏网绳或人造礁石作为多肋藻的附着基, 基于引种目的, 底质类型可不考虑。

3.3 MaxEnt 模型参数对模型的影响

正则化最大限度地限制了模型的复杂性, 以防止模型过度拟合^[20,51-52]。最佳正则化参数因物种类别、发生地点、目标区域和环境数据而异, 默认的正则化参数可能不是最优的^[15,37]。本研究结果显示参数 β 为 1 时多肋藻模型性能最佳, 与 MaxEnt 系统默认值一致。可能是由于默认值是基于使用校准和评估地点的随机划分的调优实验^[53], 适用于大部分物种的研究。

分布数据通常被划分为训练与测试数据集, 前者用于模型预测运行, 后者用于评估模型。许多研究采用不同训练集: 测试集的百分比, 如 50% : 50%^[24,54]、70% : 30%^[21,27]、80% : 20%^[25]、60% : 40%^[52]、75% : 25%^[55]等。类似已有文献并未具体阐述不同百分比对模型预测性能的影响, 本研究将上述训练集与测试集百分比用于模型构建, 研究结果发现, 导出的预测图在不同百分比基础上呈现大小不同的差异。所以, 在对不同物种建模时, 对其百分比进行预测性能对比是有必要的。

3.4 多肋藻适宜养殖海区

本研究通过对 MaxEnt 参数的优化、分布数据与环境变量的多重分析与筛选, 构建了多肋藻 MaxEnt 适生预测模型, 并结合实地调研以及室内生长实验, 对模型预测结果进行了验证, 论证了该模型的准确性。预测结果表明, 辽东湾、大连以及山东半岛沿海是多肋藻引种栽培的适宜海域。在山东半岛的威海荣成及大连沿海试验养殖区, 未见多肋藻大量生长暴发, 表明上述地区适合进行多肋藻引种。

3.5 多肋藻生态风险预防

开发新栽培物种对我国海藻养殖产业的多样化发展具有重要意义, 然而, 不当的引种可能造成生物入侵风险、破坏生态系统结构、造成遗传污染和带入病原生物等生态问题。在引进多肋藻时应注意以下几点: (1) 了解我国海洋生物引进的政策和法规, 严格按照国家相关规定执行; (2) 评估该物种生态分布方面的特性, 包括其源地分布范围、繁殖特性、和传播特性等; (3) 研究其对当

地生态系统结构和功能上的影响; (4)制定针对性的入侵防治方案; (5)运用物理、统计以及数学方法建立生态模型, 以模拟该种在当地的生态适应性特征; (6)确定引种规模, 并实时对当地生态环境进行监控。本研究中, 通过 MaxEnt 模型推算了多肋藻在中国的适生分布概率, 结果表明, 在辽东湾部分海域具有多肋藻的高适生区, 同时也预示着该地区具有一定的生态风险, 因此, 若在辽东湾开展多肋藻人工栽培需慎重, 应加强生态安全性方面的评估。

参考文献:

- [1] Tanaka J, Nakamura T. Aphotographc Guide for Japanese Seaweeds[M]. Tokyo: Heibonsha Preseed, 2004: 99-100.
- [2] Yoshida T. Marine Algae of Japan Tokyo[M]. Tokyo: Uchida Rokakuho Publishing, 1998: 22-1222.
- [3] You X C, Cao S Q, Wang H R, et al. Artificial seeding of sea weed *Costaria costata* at ambient temperature[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2011, 26(1): 17-22. [由学策, 曹淑青, 王含茹, 等. *Costaria costata* 常温人工育苗的研究[J]. 大连海洋大学学报, 2011, 26(1): 17-22.]
- [4] Liang G J, Fan J H, Zhang Z Z, et al. Technique for summer seedling breeding and cultivation of *Costaria costata*[J]. Hebei Fisheries, 2017, 43(6): 36-39. [梁广津, 潘金华, 张壮志, 等. 多肋藻夏苗培育及养殖技术[J]. 河北渔业, 2017, 43(6): 36-39.]
- [5] Cao Z M, Wang W W, Qu Y Y, et al. Variations in nutritional composition in cultivated seaweed *Costaria costata* during growth period[J]. Fisheries Science, 2019, 38(5): 659-665. [曹增梅, 王伟伟, 曲艳艳, 等. 养殖多肋藻生长期营养成分测定与分析[J]. 水产科学, 2019, 38(5): 659-665.]
- [6] Yang S Y, Wu L S, Chen M R, et al. Introduction of marine plants and animals and protection of marine ecology[J]. The Taiwan Straits, 2001(2): 259-265. [杨圣云, 吴荔生, 陈明茹, 等. 海洋动植物引种与海洋生态保护[J]. 台湾海峡, 2001(2): 259-265.]
- [7] Andersen M C, Adams H, Hope B, et al. Risk assessment for invasive species[J]. Risk Analysis, 2004, 24(4): 787-793.
- [8] Cai J Y, Zhang M M, Su H J, et al. Research on the application of niche model in species habitat selection[J]. Journal of Economic Animal, 2014, 18(1): 47-52. [蔡静芸, 张明明, 粟海军, 等. 生态位模型在物种生境选择中的应用研究[J]. 经济动物学报, 2014, 18(1): 47-52.]
- [9] Verbruggen H, Tyberghein L, Belton G S, et al. Improving transferability of introduced species' distribution models: new tools to forecast the spread of a highly invasive seaweed[J]. Public Library of Science ONE, 2013, 8(6): e68337.
- [10] Castelar B, Siqueira M F, Sanchez-Tapia A, et al. Risk analysis using species distribution modeling to support public policies for the alien alga *Kappaphycus alvarezii* aquaculture in Brazil[J]. Aquaculture, 2015, 446: 217-226.
- [11] Thuiller W, Richardson D M, Pysek P, et al. Niche-based modelling as a tool for predicting the global risk of alien plant invasions[J]. Global Change Biology, 2010, 11(12): 2234-2250.
- [12] Zhang X A, Sui X Y, Lu Z, et al. A prediction of the global habitat of two invasive fishes (*Pseudorasbora parva* and *Carassius auratus*) from East Asia using Maxent[J]. Biodiversity Science, 2014, 22(2): 182-188. [张熙骛, 隋晓云, 吕植, 等. 基于 Maxent 的两种入侵性鱼类(麦穗鱼和鲫)的全球适生区预测[J]. 生物多样性, 2014, 22(2): 182-188.]
- [13] Jueterbock A, Tyberghein L, Verbruggen H, et al. Climate change impact on seaweed meadow distribution in the North Atlantic rocky intertidal[J]. Ecology and Evolution, 2013, 3(5): 1356-1373.
- [14] Chen X F. Study on amphibian and reptile diversity and geographical distribution in Bohai rim area[D]. Shenyang: Shenyang Normal University, 2017. [陈晓璠. 环渤海地区两栖爬行动物多样性及地理分布研究[D]. 沈阳: 沈阳师范大学, 2017.]
- [15] Elith J, Graham H C, Anderson P R, et al. Novel methods improve prediction of species' distributions from occurrence data[J]. Ecography, 2010, 29(2): 129-151.
- [16] Zeng H, Huang G S, Lin W, et al. Prediction of potential geographic distribution of *Microcyclops ulei* in the world using MaxEnt[J]. Plant Protection, 2008, 34(3): 88-92. [曾辉, 黄冠胜, 林伟, 等. 利用 MaxEnt 预测橡胶南美叶疫病菌在全球的潜在地理分布[J]. 植物保护, 2008, 34(3): 88-92.]
- [17] Wang Y S, Xie B Y, Wan F H, et al. Application of ROC curve analysis in evaluating the performance of alien species' potential distribution models[J]. Biodiversity Science, 2007, 15(4): 365-372. [王运生, 谢丙炎, 万方浩, 等. ROC 曲线分析在评价入侵物种分布模型中的应用[J]. 生物多样性杂志, 2007, 15(4): 365-372.]
- [18] Zhao X J, Gong J X, Zhao S S, et al. Impact of sample size and spatial distribution on species distribution model[J]. Journal of Lanzhou University: Natural Sciences, 2018, 236(2): 208-215. [赵晓罔, 巩娟霄, 赵莎莎, 等. 样本量及其空间分布对物种分布模型的影响[J]. 兰州大学学报(自然科学版), 2018, 236(2): 208-215.]
- [19] Hernandez P A, Graham C H, Master L L, et al. The effect of sample size and species characteristics on performance of different species distribution modeling methods[J]. Ecography, 2010, 29(5): 773-785.

- [20] 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.
- [21] Assis J, Serrão E A, Claro B, et al. Climate-driven range shifts explain the distribution of extant gene pools and predict future loss of unique lineages in a marine brown alga[J]. *Molecular Ecology*, 2014, 23(11): 2797-2810.
- [22] Neiva J, Assis J, Fernandes F, et al. Species distribution models and mitochondrial DNA phylogeography suggest an extensive biogeographical shift in the high-intertidal seaweed *Pelvetia canaliculata*[J]. *Journal of Biogeography*, 2014, 41: 1137-1148.
- [23] Pauly K, Jupp B P, Clerck O D. Modelling the distribution and ecology of *Trichosolen* blooms on coral reefs worldwide [J]. *Marine Biology*, 2011, 158(10): 2239-2246.
- [24] Tyberghein L, Verbruggen H, Pauly K, et al. Bio-ORACLE: a global environmental dataset for marine species distribution modelling[J]. *Global Ecology and Biogeography*, 2012, 21(2): 272-281.
- [25] Verbruggen H, Tyberghein L, Pauly K, et al. Macroecology meets macroevolution: evolutionary niche dynamics in the seaweed *Halimeda*[J]. *Global Ecology and Biogeography*, 2010, 18(4): 393-405.
- [26] Sun X, Liu F L, Liang Z R, et al. Potential geographic distribution of *Laminaria hyperborea* in the Bohai and Huanghai Seas of China based on MaxEnt model[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2019, 40(5): 71-77. [孙昕, 刘福利, 梁洲瑞, 等. 基于 MaxEnt 模型预测极北海带在我国黄渤海的适生情况[J]. *渔业科学进展*, 2019, 40(5): 71-77.]
- [27] Martín-García L, Herrera R, Moro-Abad L, et al. Predicting the potential habitat of the harmful cyanobacteria *Lyngbya majuscula* in the Canary Islands (Spain)[J]. *Harmful Algae*, 2014, 34: 76-86.
- [28] Zhang Z Y, Chen S K, Jiang H. The indoor experiment on rear and culture of *Costaria costata*[J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 1992, 7(C1): 39-48. [张泽宇, 陈树科, 蒋晖. *Costaria costata* 的室内培养与栽培试验[J]. *大连海洋大学学报*, 1992, 7(C1): 39-48.]
- [29] Wu X. Studies on the nutritional components and polysaccharides structure and properties of *Costaria costata*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2015. [吴信. 多肋藻 (*Costaria costata*) 的营养成分及多糖结构和性质研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015.]
- [30] Fu G. Physiological and ecological studies of *Costaria costata*[D]. Qingdao: Ocean University Of China 2009. [付刚. 多肋藻(*Costaria costata*)生理生态学研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2009.]
- [31] Reddy S, Dávalos L M. Geographical sampling bias and its implications for conservation priorities in Africa[J]. *Journal of Biogeography*, 2003, 30(11): 1719-1727.
- [32] Graham C H, Ferrier S, Huettman F, et al. New developments in museum-based informatics and applications in biodiversity analysis[J]. *Trends in Ecology and Evolution*, 2004, 19(9): 497-503.
- [33] Phillips S J, Dudík M, Elith J, et al. Sample selection bias and presence-only distribution models: implications for background and pseudo-absence data[J]. *Ecological Applications*, 2009, 19(1): 181-197.
- [34] Boakes E H, McGowan P J K, Fuller R A, et al. Distorted views of biodiversity: spatial and temporal bias in species occurrence data[J]. *Public Library of Science Biology*, 2010, 8(6): e1000385.
- [35] Barbet-Massin M, Jiguet F, Albert C H, et al. Selecting pseudo-absences for species distribution models: how, where and how many?[J]. *Methods in Ecology and Evolution*, 2012, 3(2): 327-338.
- [36] Waltari E, Hijmans R J, Peterson A T, et al. Locating pleistocene refugia: comparing phylogeographic and ecological niche model predictions[J]. *Public Library of Science ONE*, 2007, 2: e563.
- [37] Radosavljevic A, Anderson R P, Araújo M. Making better Maxent models of species distributions: complexity, overfitting and evaluation[J]. *Journal of Biogeography*, 2014, 41(4): 629-643.
- [38] Beatty G E, Provan J. Comparative phylogeography of two related plant species with overlapping ranges in Europe, and the potential effects of climate change on their intraspecific genetic diversity[J]. *BMC Evolutionary Biology*, 2011, 11(1): 29.
- [39] Hijmans R J. Cross-validation of species distribution models: removing spatial sorting bias and calibration with a null model[J]. *Ecology*, 2012, 93(3): 679-688.
- [40] Neftali S. What does ecological modelling model? A proposed classification of ecological niche models based on their underlying methods[J]. *Ecological Modelling*, 2011, 222(8): 1343-1346.
- [41] Sun J, Pan J H, Zhang Z Z, et al. Effect of temperatures and illuminations on the growth of the gametophytes of *Costaria costata*[J]. *Journal of Fisheries Research*, 2019, 41(1): 11-17. [孙娟, 潘金华, 张壮志, 等. 温度和光照强度对多肋藻 (*Costaria costata*) 配子体生长影响研究[J]. *渔业研究*, 2019, 41(1): 11-17.]
- [42] Park S K, Heo J S, Kim B Y, et al. Comparison on the growth of *Costaria costata* and *Undaria pinnatifida* Sporophytes in culture and their field populations[J]. *Korean Jour-*

- nal of Fisheries and Aquatic Sciences, 2011, 44(1): 71-77.
- [43] Koh C H, Shin H C. Growth and size distribution of some large brown algae in Ohori, east coast of Korea[J]. Hydrobiologia, 1990, 204: 225-231.
- [44] Morita T, Kurashima A, Maegawa M. Temperature requirements for the growth and maturation of the gametophytes of *Undaria pinnatifida* and *U. undarioides* (Laminariales, Phaeophyceae)[J]. Phycological Research, 2003, 51(3): 154-160.
- [45] Tabakaeva O V, Tabakaev A V. Lipids and fatty acids from various parts of the brown Kelp *Costaria costata*[J]. Chemistry of Natural Compounds, 2016, 52(5): 1-5.
- [46] Skriptsova V, Nabivailo Y V. Spatial distribution of algae in the *Ahnfeltia tobuchiensis* bed in Amursky Bay (Sea of Japan) [J]. Russian Journal of Marine Biology, 2009, 35(1): 1-7.
- [47] Real C, Barreiro R, Carballeira A, et al. Heavy metal mixing behaviour in estuarine sediments in the Ria de Arousa (NW Spain). Differences between metals-ScienceDirectScience[J]. Science of the Total Environment, 1993, 128(1): 51-67.
- [48] Kehoe M, Obrien K, Grinham A, et al. Randomforest algorithm yields accurate quantitative prediction models of benthic lightat intertidal sites affected by toxic *Lyngbya majuscula* blooms[J]. Harmful Algae, 2012, 19(1): 46-52.
- [49] Assis J, Coelho N C, Lamy T, et al. Deep reefs are climatic refugia for genetic diversity of marine forests[J]. Journal of Biogeography, 2016, 43: 833-844.
- [50] Graham M H, Kinlan B P, Druehl L D, et al. Deep-water kelp refugia as potential hotspots of tropical marine diversity and productivity[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2007, 104: 16576-16580.
- [51] Anderson R P, Gonzalez I. Species-specific tuning increases robustness to sampling bias in models of species distributions: An implementation with Maxent[J]. Ecological Modelling, 2011, 222(15): 2796-2811.
- [52] Burnhan K P, Anderson D R. Model selection and multi-model inference: a practical Information-theoretic approach [M]. New York: Springer, 2002: 181.
- [53] Phillips S J, Dudik M. Modeling of species distributions with Maxent: new extensions and a comprehensive evaluation[J]. Ecography, 2008, 31(2): 161-175.
- [54] Phillips S J, Dud'ik M, Schapire R E. A maximum entropy approach to species distribution modeling[C]//Proceedings of the 21st International Conference on Machine Learning. New York: ACM Press, 2004: 655-662.
- [55] Li M, Zhang C, Xu B, et al. Evaluating the approaches of habitat suitability modelling for whitespotted conger (*Conger myriaster*)[J]. Fisheries Research, 2017, 195: 230-237.

Potential geographic distribution of *Costaria costata* in China based on the MaxEnt Model and ArcGIS

LI Guoliang^{1,2}, WANG Wenjun², LI Baoxian^{2,3}, YAO Haiqin², SUN Xin⁴, LIANG Zhouhui², LU Xiaoping², LIU Fuli², ZHANG Pengyan²

1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
2. Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;
3. School of Marine Science and Fisheries, Jiangsu Ocean University, Lianyungang 222005, China;
4. Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education; Ocean University of China, Qingdao 266100, China

Abstract: Based on the economic and ecological value of macroalgae, the recruitment of new cultivated species with potential is necessary for the healthy development of the seaweed cultivation industry. *Costaria costata* is a brown alga with high nutritional and economic value. This natural seaweed resource is not found in China. In this study, the MaxEnt model and ArcGIS were used to predict the suitability and potential invasion risk of *C. costata* in China and explore the influence of different factors on the growth of sporophyte, to support the cultivation of *C. costata*. The prediction model of *C. costata* distribution was constructed based on correlation analysis between environmental factors, a selection of the global natural distribution points of *C. costata*, screening of the regulation parameter, and the ratio of the training set to test set on the prediction performance of the model. Results showed that the model performed the best when the regularization parameter was 1 and the ratio of training set to testing set was 70 : 30. The prediction model for *C. costata* distribution was constructed by eight environmental factors based on the correlation of environmental factors and model contribution rate. Among them, the temperature and light intensity had the most significant influence on the natural distribution. When the light intensity was not less than 4 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, the annual variation was 52 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, the monthly mean temperature was not less than 7 $^{\circ}\text{C}$, and the annual variation was 27 $^{\circ}\text{C}$, indicating the high suitable distribution probability of *C. costata*. The model showed that the suitable areas of *C. costata* in China were primarily distributed in the Yellow Sea and Bohai Sea, accounting for 11.32% of the total sea area; among which the marginal biogenic areas of *C. costata* in Yellow and Bohai Sea are primarily distributed in the coastal areas of Liaodong Bay, the northern coastal areas of Bohai Bay, and the coastal areas from Qingdao to Lianyungang, accounting for 2.99% of the total sea area. The low adaptable areas are primarily distributed in the coastal area of Liaodong Bay, the coastal area of Dalian, and the coastal area of Shandong Peninsula, accounting for 5.09% of the total sea area. The middle adaptable areas are primarily distributed in the southwest coastal area of Liaodong Bay, accounting for 1.33% of the total sea area. The high suitability areas are primarily distributed in the northern and southern coastal area of Liaodong Bay, accounting for 1.91% of the total sea area. The single-factor growth experiment results showed that, when the temperature was 10 $^{\circ}\text{C}$, the light intensity was 60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, the salinity was 36, the nitrate was 1 mg/L, and the phosphate was 0.1 mg/L, indicating the highly relative growth rate of *C. costata* sporophyte. Combined with the field investigation, *C. costata* was found on the floating shelf in Changdao Island in Yantai and Longwangtong Bay in Dalian, consistent with the predicted results. This study showed that the coastal areas of Liaodong Bay, Dalian, and Shandong Peninsula are suitable areas for the introduction and cultivation of *C. costata*. However, attention should be paid to the risk of high invasion in the northern and southern coastal areas of Liaodong Bay. If artificial cultivation is performed, ecological safety assessment should be strengthened.

Key words: *Costaria costata*; MaxEnt; ArcGIS; ecological risk; suitable distribution

Corresponding author: WANG Wenjun. E-mail: wjwang@ysfri.ac.cn

DOI: 10.12264/JFSC2021-0055

雅砻江下游及其主要支流安宁河着生藻类多样性与空间分布

马宝珊, 魏开金, 徐进, 卢建超, 徐滨, 朱祥云

中国水产科学研究院长江水产研究所, 湖北 武汉 430223

摘要: 于 2018 年 6–8 月对雅砻江下游干支流的着生藻类进行调查, 并以其主要支流安宁河为代表, 重点研究河流纵向梯度下着生藻类的空间分布格局(102°6'6"E, 28°46'21"N~101°49'22"E, 26°38'38"N)。结果显示: 雅砻江下游共鉴定着生藻类 95 种, 以硅藻(Bacillariophyta)、绿藻(Chlorophyta)和蓝藻(Cyanophyta)为主。雅砻江干流物种数最多, 优势种为曲壳藻属未定种 (*Achnanthes* sp.)、异极藻属未定种 (*Gomphonema* sp.)和胶质细鞘丝藻(*Leptolyngbya gelatinosa*)等; 其次为安宁河干流, 优势种为曲壳藻属未定种和细小隐球藻(*Aphanocapsa elachist*); 安宁河支流物种丰富度最低, 优势种主要为曲壳藻属未定种、胶质细鞘丝藻和异极藻属未定种等。着生藻类平均密度呈雅砻江干流<安宁河支流<安宁河干流趋势。沿着河流纵向梯度, 安宁河干流物种丰富度逐渐增加, 硅藻密度比例渐趋下降, 而绿藻和蓝藻的比例却逐渐升高。水温、浊度和底质类型与雅砻江下游流域着生藻类多样性和空间分布格局密切相关; 流速和海拔是影响纵向梯度下安宁河着生藻类分布的主要环境因子。本研究旨在为高原山区河流的水生生物多样性保护提供依据, 并为该流域食物网构建提供基础资料。

关键词: 雅砻江下游; 安宁河; 着生藻类; 纵向梯度; 环境因子

中图分类号: S931

文献标志码: A

文章编号: 1005–8737–(2021)12–1602–10

着生藻类又称为周丛藻类或底栖藻类, 生长于水中各种基质表面, 其物种数较多, 群落结构复杂, 是河流生态系统中重要的生物类群之一^[1–2]。着生藻类是水域生态系统重要的初级生产者, 在维持生态系统多样性、能量流动和物质传递方面起着重要作用。在一些流速适宜的河流中, 该类群所固定的初级生产力远比浮游植物和水生维管植物高^[3]。随着社会经济的发展, 水质恶化、梯级水电站建设、岸坡硬化护砌、采石挖沙等人为干扰显著改变了河流环境, 导致着生藻类多样性和群落结构发生变化^[4–6]。由于着生藻类具有营固着生活、繁殖迅速和生命周期较短等特性, 其数量和种类组成对环境变化和各种干扰较为敏感, 对水体富营养化、水文变化以及其他污染物都有较快的响应, 进而在河流生物多样性监测与健康评价中应用广泛^[6–7]。

通常, 着生藻类的分布格局受到河流等级、河流纵向环境梯度等因素的影响, 从而具有明显的空间异质性。环境因子与着生藻类的关系非常密切, 已有研究表明, 水温、水深、流速和营养盐等环境因子对河流着生藻类群落结构有着重要影响^[8–11]。而山区河流中流速和底质类型等环境因对着生藻类多样性的影响研究较少^[12–13], 纵向梯度下河流环境与着生藻类空间分布格局的研究则更为少见。

雅砻江是金沙江最大的一级支流, 水电资源丰富。目前雅砻江下游规划的 5 座梯级(即锦屏一级、锦屏二级、官地、二滩和桐子林)已全部建成, 河流环境明显改变。作为雅砻江下游的最大支流, 安宁河水生生物多样性对维持雅砻江水域生态系统结构和功能具有重要意义。而目前有关雅砻江下游及安宁河水生生物群落的研究报道较少, 仅见于吴乃成等^[12]和渠晓东等^[14]对雅砻江锦屏段

收稿日期: 2021-02-02; 修订日期: 2021-02-24.

基金项目: 国家自然科学基金项目(51809280).

作者简介: 马宝珊(1983–), 女, 博士, 副研究员, 研究领域为水域生态及鱼类生态学研究. E-mail: baoshanma@yfi.ac.cn

通信作者: 魏开金, 研究员. E-mail: weikj@yfi.ac.cn

着生藻类和底栖动物的多样性分析,以及马宝珊等^[15-18]对安宁河中游水生生物群落结构及其关键环境因子的分析。在此背景下,为理解河流环境变化下水生生物多样性格局及关键因子,本研究对雅砻江下游及支流安宁河的着生藻类多样性及空间格局进行研究,并以安宁河为代表,着重分析河流纵向梯度下着生藻类的空间格局,以期为高原山区河流的水生生物多样性保护提供依据,并为该流域食物网构建提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 采样时间和地点

2018 年 6—8 月在雅砻江下游干支流共设置 31 个样点进行调查采样,其中雅砻江干流采样点 10 个,一级支流安宁河干流采样点 14 个,二级支流安宁河支流采样点 7 个(图 1)。

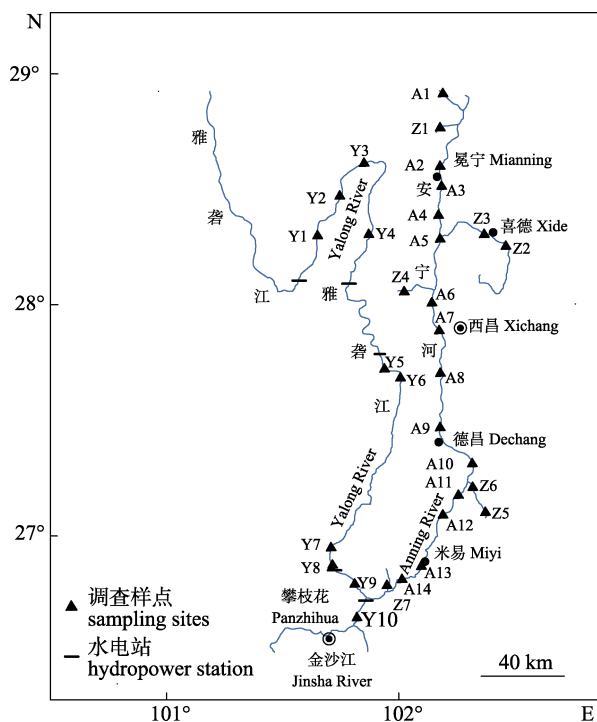


图 1 雅砻江下游着生藻类调查样点分布示意图

雅砻江下游干流 10 个样点(Y1~Y10), 安宁河干流 14 个样点(A1~A14), 安宁河支流 7 个样点(Z1~Z7)。安宁河干流 A1~A4 为上游, A5~A10 为中游, A11~A14 为下游。

Fig. 1 Sampling sites for periphytic algae in the lower Yalong River

The Yalong River, 10 sites (Y1~Y10); the Anning River, 14 sites (A1~A14); the tributaries of the Anning River, 7 sites (Z1~Z7). The upper Anning River, A1~A4; the middle Anning River, A5~A10; the lower Anning River, A11~A14.

1.2 环境参数的测定

采样期间,对采样点的河流环境进行了现场记录:经纬度、海拔、河宽、水深、透明度、流速、水温、溶氧、pH、电导率和浊度等。将每个调查河段分为 3 个等距的断面,在每个断面上测量河宽。在每个断面上选取 3 个等距截点,在每个截点处测量水深(Peedtech SM-5)和透明度,并在每个截点 60%水深处测量流速(Global Water FP-311)。水温、溶氧、pH、电导率和浊度指标通过 YSI-EXO₂ 便携式多参数水质分析仪获取^[19]。将底质类型分为 5 类: (1)淤泥和黏土(粒径<0.06 mm); (2)沙(粒径 0.06~2 mm); (3)砾石(粒径 2~64 mm); (4)卵石(粒径 64~256 mm); (5)大石(粒径>256 mm)^[20]。经现场目测后,计算各个样点各底质类型的百分比^[21]。

1.3 样本的采集和鉴定

在采样河段上下范围 100 m 内,依据河流生境不同(水深和流速等),挑选 3 块石头,每块石头选取约 9 cm² (3 cm×3 cm 的方形塑料片)的平面,用硬毛牙刷反复刷取后装入 50 mL 样本瓶中,鲁哥氏液固定^[22]。

参考胡鸿钧等^[23]以及朱惠忠等^[24]进行着生藻类的种类鉴定和数据记录。每个样品计数 2 片(0.1 mL 浮游植物计数框),每片 100 个小格,再取其平均值。

1.4 数据分析

优势度计算公式: $Y=(N_i/N)F_i$, 式中, F_i 为物种 i 的出现率, N_i 为物种 i 的密度, N 为总密度。本研究将 $Y \geq 0.02$ 的物种定为优势种^[25]。

着生藻类物种多样性指数计算如下:

Margalef's richness 指数(D): $D=(S-1)/\ln N$

Shannon-Wiener 指数(H'): $H'=-\sum P_i (\ln P_i)$

Pielou's evenness 指数(J): $J=H'/\ln S$

式中, P_i 为物种 i 的个数百分比, N 为总个数, S 为群落总物种数^[26]。

采用 Canoco 4.5 分析着生藻类群落结构与环境因子的相关性。分析前,先对环境因子(除 pH)和密度数据进行对数化处理,使数据呈正态分布;再采用除趋势对应分析(DCA)对着生藻类密度数据进行排序,依据排序轴长度决定哪种模型更为

合适。由于排序轴长度小于 3.0, 故采用冗余分析(RDA)解析着生藻类密度与环境因子的关系。RDA 分析中通过前选法和蒙特卡罗检验排除贡献较小的环境因子^[27]。本研究选取优势度>0.001 的物种进行 RDA 分析。

采用 SPSS16.0 中的方差分析(ANOVA)和 Tukey’s post hoc test 检验不同河流及不同河段间环境因子和着生藻类多样性指数的差异性, 显著水平为 0.05。文章作图采用 Origin2016。

2 结果与分析

2.1 环境参数

雅砻江下游干流、安宁河干流及安宁河支流

的环境参数见表 1。调查显示, 随着河流级别的升高, 海拔和流速呈下降趋势, 水深、河宽、水温和电导率呈上升趋势。雅砻江干流的水深、河宽、溶氧和电导均高于安宁河干支流。浊度以安宁河干流最大, 其次为安宁河支流, 雅砻江干流最低。不同河流之间的水温差异不大。雅砻江干流透明度较大, 安宁河干流水较浑浊, 而安宁河支流大部分为清澈见底的溪流。

沿“上游-下游”纵向梯度, 随着安宁河海拔的下降, 水深、河宽、水温和电导率呈上升趋势。安宁河干流不同河段之间的海拔和水温相差很大, 中下游的水深、河宽和电导率均高于上游。不同河段之间的流速、溶氧和浊度无明显差异(表 2)。

表 1 雅砻江下游及其一级、二级支流环境参数
Tab. 1 Environmental parameters of the lower Yalong River and its tributaries

参数 parameter	雅砻江干流 mainstream of Yalong River	安宁河干流 mainstream of Anning River	安宁河支流 tributaries of Anning River
海拔/m altitude	1287.38 (990.9–1615.3)	1473.40 (1044.9–2168.7)	1706.26 (1041.3–2311.0)
河宽/m channel width	306.08 (104.20–845.83)	95.65 (10.63–236.03)	32.75 (3.23–91.43)
水深/m water depth	37.04 (16.37–55.00)	0.79 (0.33–1.11)	0.58 (0.31–0.86)
透明度/cm transparency	63.47 (9.9–190.0)	21.28 (3.33–69.83)	>24.61 (3.93–63.77)
流速/(m/s) current velocity	0.74 (0.33–1.87)	1.07 (0.55–1.77)	1.30 (0.97–1.70)
水温/℃ water temperature	19.49 (16.53–24.86)	18.69 (13.11–22.44)	16.93 (12.68–24.11)
溶氧/(mg/L) dissolved oxygen	8.73 (7.45–10.54)	7.76 (6.48–8.30)	7.73 (7.32–8.09)
pH	8.42 (8.14–8.70)	8.11 (7.68–8.46)	8.27 (7.83–8.50)
电导率/(μS/cm) conductivity	185.63 (134.93–203.67)	121.47 (0.63–192.53)	93.32 (7.95–144.77)
浊度/(FNU) turbidity	48.57 (2.71–191.32)	289.86 (10.01–986.41)	186.66 (3.36–554.80)

注: 表中数据为平均值, 括号中数据为范围值。
Note: Values are in average and those in parentheses are their ranges.

表 2 安宁河干流环境参数
Tab. 2 Environmental parameters in the mainstream of the Anning River

参数 parameter	上游 upstream	中游 midstream	下游 downstream
海拔/m altitude	1855.58 (1675.6–2168.7)	1461.95 (1261.3–1619.1)	1108.4 (1044.9–1178.0)
河宽/m channel width	26.48 (10.63–44.13)	110.41 (60.3–179.5)	142.7 (72.77–236.03)
水深/m water depth	0.51 (0.33–0.70)	0.88 (0.66–1.09)	0.94 (67.07–111.43)
透明度/cm transparency	54.08 (32.5–69.83)	7.82 (3.33–17.00)	8.66 (6.47–12.97)
流速/(m/s) current velocity (m/s)	1.14 (0.73–1.3)	1.02 (0.55–1.77)	1.07 (0.6–1.4)
水温/℃ water temperature	14.50 (13.11–15.13)	19.29 (16.06–20.78)	21.98 (21.44–22.44)
溶氧/(mg/L) dissolved oxygen	8.13 (7.95–8.30)	7.68 (6.48–8.23)	7.52 (7.43–7.56)
pH	7.91 (7.68–8.19)	8.22 (8.12–8.46)	8.15 (8.06–8.27)
电导率/(μS/cm) conductivity	43.58 (0.63–75.00)	139.42 (86.05–178.13)	172.44 (150.97–192.53)
浊度/(FNU) turbidity	138.47 (10.01–438.59)	402.61 (87.27–986.41)	272.12 (252.74–294.88)

注: 表中数据为平均值, 括号中数据为范围值。
Note: Values are in average and those in parentheses are their ranges.

2.2 着生藻类群落结构

2.2.1 着生藻类物种丰富度及组成 本研究共采集着生藻类 95 种, 隶属于 5 门 49 属。其中硅藻门(Bacillariophyta) 24 属 57 种, 绿藻门(Chlorophyta)15 属 20 种, 蓝藻门(Cyanophyta)7 属 14 种, 甲藻门(Dinophyta) 1 属 2 种, 裸藻门(Euglenophyta) 2 属 2 种。其中雅砻江干流物种丰富度最高(57 种), 安宁河干流次之(52 种), 安宁河支流最低(49 种, 表 3)。物种组成上, 雅砻江干流中除了蓝藻、硅藻和绿藻种类以外, 还有少量甲藻和裸藻种类; 而安宁河干支流中仅采集到蓝藻、硅藻和绿藻。

雅砻江干流优势种为曲壳藻属未定种(*Achnanthes* sp.)、异极藻属未定种(*Gomphonema* sp.)、胶质细鞘丝藻(*Leptolyngbya gelatinosa*)、针杆藻属未定种(*Synedra* sp.)、舟形藻属未定种(*Navicula* sp.)、大卵囊藻(*Oocystis naegelii*)和桥弯藻属未定种(*Cymbella* sp.), 安宁河干流优势种为曲壳藻属未定种和细小隐球藻(*Aphanocapsa elachista*), 安宁河支流优势种为曲壳藻属未定种、胶质细鞘丝藻、异极藻属、舟形藻属和扁圆卵形藻(*Cocconeis placentula*)(表 3)。

沿“上游-下游”纵向梯度, 安宁河干流藻类物种丰富度呈上升趋势(表 3); 安宁河上游全部为硅藻, 中游为硅藻和绿藻, 下游则蓝藻、硅藻和绿藻均有。安宁河中上游的优势种与下游差异明显,

中上游优势种全部为硅藻种类(舟形藻属未定种、桥弯藻属未定种、异极藻属未定种、扁圆卵形藻和曲壳藻属未定种), 而下游的优势种仅有蓝藻门一种(细小隐球藻)。

2.2.2 着生藻类密度 雅砻江干流着生藻类平均密度为 12.67×10^8 ind/m², 安宁河干流为 72.91×10^8 ind/m², 安宁河支流为 30.96×10^8 ind/m²。雅砻江干流着生藻类密度低于安宁河干支流, 安宁河干流着生藻类密度高于支流。安宁河干流密度以蓝藻占优势, 支流密度以硅藻占据优势(图 2)。

安宁河上游着生藻类平均密度为 2.72×10^8 ind/m², 中游为 17.25×10^8 ind/m², 下游为 226.59×10^8 ind/m²。沿着河流纵向梯度, 由上游至下游, 安宁河干流硅藻比例渐趋下降, 而绿藻和蓝藻的比例却逐渐升高, 下游密度以蓝藻占据绝对优势(99.20%)(图 2)。

2.2.3 着生藻类多样性 丰富度指数(*D*)以雅砻江干流最高, 其次为安宁河支流, 安宁河干流最低。多样性指数(*H'*)以雅砻江干流最高, 其次为安宁河干流, 安宁河支流最低。均匀度指数(*J*)以安宁河干流最高, 其次为雅砻江干流, 安宁河支流最低(图 3a)。但从方差分析结果来看, 雅砻江下游不同河流等级的着生藻类丰富度指数(*D*)、多样性指数(*H'*)和均匀度指数(*J*)均无显著性差异。

纵向梯度下安宁河干流着生藻类丰富度指数

表 3 雅砻江下游着生藻类种类数、主要优势种及优势度
Tab. 3 Species number and dominant periphytic algae and their dominance in the lower Yalong River

种类 species	雅砻江干流 mainstream of Yalong River	安宁河干流 mainstream of Anning River	安宁河支流 tributaries of Anning River	安宁河干流 Anning River		
				上游 upstream	中游 midstream	下游 downstream
种类数 species in number	57	52	49	23	27	38
细小隐球藻 <i>Aphanocapsa elachista</i>	—	0.06	—	—	—	0.22
胶质细鞘丝藻 <i>Leptolyngbya gelatinosa</i>	0.07	—	0.15	—	—	—
针杆藻 <i>Synedra</i> sp.	0.05	—	—	—	—	—
舟形藻 <i>Navicula</i> sp.	0.05	—	0.04	0.03	—	—
桥弯藻 <i>Cymbella</i> sp.	0.02	—	—	0.03	—	—
异极藻 <i>Gomphonema</i> sp.	0.16	—	0.06	0.18	—	—
扁圆卵形藻 <i>Cocconeis placentula</i>	—	—	0.02	0.06	0.09	—
曲壳藻 <i>Achnanthes</i> sp.	0.24	0.10	0.49	0.64	0.87	—
大卵囊藻 <i>Oocystis naegelii</i>	0.03	—	—	—	—	—

注: “—”表示未发现。
Note: “—” means undetectable.

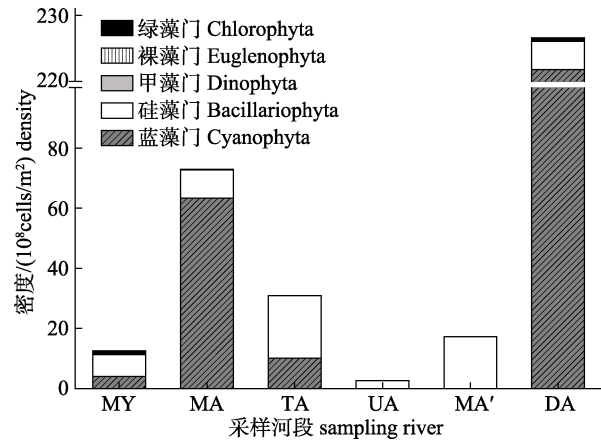


图 2 雅砻江下游着生藻类的密度
DA: 安宁河下游, MA: 安宁河干流, MA': 安宁河中游,
MY: 雅砻江干流, TA: 安宁河支流, UA: 安宁河上游.
Fig. 2 Density of periphytic algae from the lower Yalong River
DA: the downstream of the Anning River; MA: the mainstream
of the Anning River; MA': midstream of the Anning River;
MY: the mainstream of the Yalong River; TA: the tributaries
of the Anning River; UA: upstream of the Anning River.

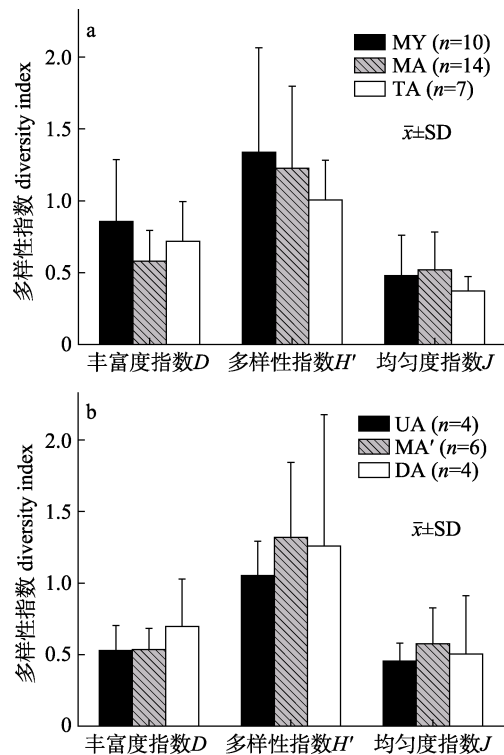


图 3 雅砻江下游流域着生藻类的物种多样性
MY: 雅砻江干流; MA: 安宁河干流; TA: 安宁河支流;
DA: 安宁河下游; MA': 安宁河中游; UA: 安宁河上游.
Fig. 3 Species diversity of periphytic algae in
the lower Yalong River basin
MY: the mainstream of the Yalong River; MA: the mainstream
of the Anning River; TA: the tributaries of the Anning River;
DA: downstream of the Anning River; MA': midstream of the
Anning River; UA: upstream of the Anning River.

(D)呈上升趋势。而多样性指数(H')和均匀度指数(J)却以中游最高,其次为下游,上游最低(图 3b)。安宁河不同河段着生藻类的多样性指数均无显著性差异。

2.3 着生藻类与环境因子的关系

冗余分析结果显示,雅砻江下游流域着生藻类密度与水温、浊度和底质类型(砾石)显著相关($P<0.05$,表 4,图 4a)。第一和第二排序轴所反映的物种信息量共计 53.4%。水温与第一排序轴的正相关性最高,其次为砾石;浊度与第一排序轴呈负相关。砾石与第二排序轴呈正相关,水温和浊度与第二排序轴呈负相关。绝大部分藻类密度与砾石比例呈正相关,与浊度呈负相关。细小隐球藻、多形眉藻(*Calothrix polymorpha*)、大卵囊藻(*Oocystis naegelii*)和双对栅藻(*Scenedesmus bijuga*)等蓝绿藻密度与水温呈正相关,扁圆卵形藻、偏肿桥弯藻(*Cymbella ventricosa*)、优美桥弯藻(*Cymbella delicatula*)和冬生等片藻中型变种(*Diatoma hiemale* var. *mesodon*)等大部分硅藻密度与水温呈负相关。

表 4 雅砻江下游着生藻类密度与环境因子
关系的 RDA 分析结果

因子 variable	前选所获得的因子 forward selection of variable		与排序轴的相关系数 correlation with canonical axes	
	F	P	Axis 1	Axis 2
水温 water temperature	3.09	0.004	0.5964	-0.3627
浊度 turbidity	2.30	0.014	-0.3386	-0.2381
砾石 pebbles and gravel	2.02	0.025	0.3962	0.3101

RDA 结果显示,安宁河着生藻类密度与流速显著相关($P<0.05$),与海拔相关性较高,但并不显著($P=0.059$,表 5,图 4b)。第一和第二排序轴所反映的物种信息量共计 69.7%。流速和海拔与第一排序轴呈负相关;流速与第二排序轴呈正相关,海拔与第二排序轴呈负相关。绝大部分藻类密度与流速呈负相关。桥弯藻、曲壳藻、扁圆卵形藻和异极藻等硅藻密度与海拔呈正相关,而

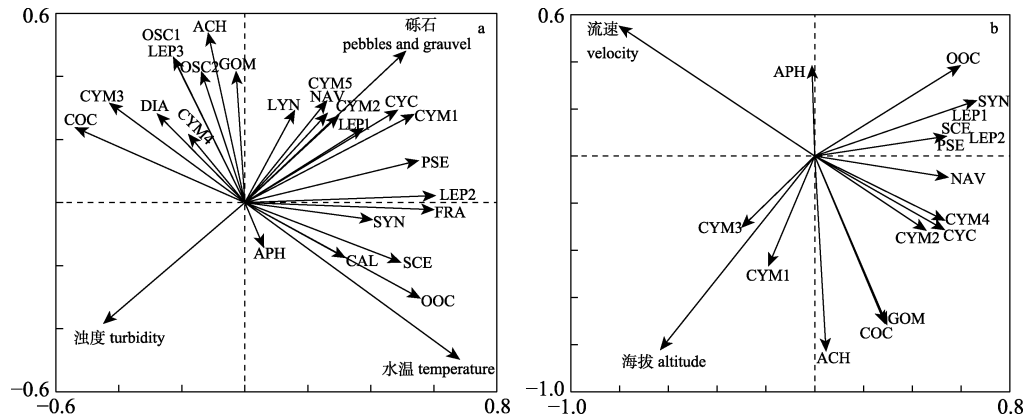


图 4 着生藻类群落结构与环境因子的 RDA 排序图

a: 雅砻江不同河流等级; b: 安宁河不同河段; APH: 细小隐球藻; OSC1: 钻头颤藻; OSC2: 颤藻属未定种; LYN: 近稀疏鞘丝藻; PSE: 链状假鱼腥藻; LEP1: 胶质细鞘丝藻; LEP2: 浮游细鞘丝藻; LEP3: 细鞘丝藻属未定种; CAL: 多形眉藻; CYC: 小环藻属未定种; DIA: 冬生等片藻中型变种; FRA: 钝脆杆藻; SYN: 针杆藻属未定种; NAV: 舟形藻属未定种; CYM1: 近缘桥弯藻; CYM2: 膨胀桥弯藻; CYM3: 偏肿桥弯藻; CYM4: 优美桥弯藻; CYM5: 桥弯藻属未定种; GOM: 异极藻属未定种; COC: 扁圆卵形藻; ACH: 曲壳藻属未定种; OOC: 大卵囊藻; SCE: 双双栅藻。

Fig. 4 RDA diagram of periphytic algae community and environmental factors

a: different river grades of the Yalong River; b: different sections of the Anning River; APH: *Aphanocapsa elachista*; OSC1: *Oscillatoria terebriformis*; OSC2: *Oscillatoria* sp.; LYN: *Lyngbya subconfervoides*; PSE: *Pseudanabaena catenate*; LEP1: *Leptolyngbya gelatinosa*; LEP2: *Leptolyngbya planktonica*; LEP3: *Leptolyngbya* sp.; CAL: *Calothrix polymorpha*; CYC: *Cyclotella* sp.; DIA: *Diatoma hiemale* var. *mesodon*; FRA: *Fragilaria capucina*; SYN: *Synedra* sp.; NAV: *Navicula* sp.; CYM1: *Cymbella affinis*; CYM2: *Cymbella tumida*; CYM3: *Cymbella ventricosa*; CYM4: *Cymbella delicatula*; CYM5: *Cymbella* sp.; GOM, *Gomphonema* sp.; COC: *Cocconeis placentula*; ACH: *Achnanthes* sp.; OOC: *Oocystis naegeli*; SCE: *Scenedesmus bijuga*.

表 5 安宁河着生藻类密度与环境因子关系的 RDA 分析结果

Tab. 5 RDA results relating densities of periphytic algae to environmental factors in Anning River

因子 variable	前选所获得的因子 forward selection of variable		与排序轴的相关系数 correlation with canonical axes	
	F	P	Axis 1	Axis 2
流速 current velocity	2.44	0.014	-0.7090	0.4092
海拔 altitude	1.98	0.059	-0.5240	-0.5743

细小隐球藻和大卵囊藻等藻类则与海拔呈负相关。

3 讨论

3.1 梯级电站对雅砻江下游着生藻类空间分布格局的影响

本研究结果表明, 雅砻江下游干流着生藻类密度低于安宁河干支流分析其主要原因可能如下: (1)自然状态下, 雅砻江下游干流着生藻类的密度便低于支流, 比如, 在梯级电站建成前, 雅砻江锦屏江段干流着生藻类的密度远低于支流^[12]; (2)梯级电站的建设, 导致水位升高, 流速降低, 原有的流水生境丧失, 底质类型发生改变, 着生

藻类缺乏适宜的栖息生境, 故其密度显著下降^[18]; (3)雅砻江干支流底质组成存在较大差异, 雅砻江干流生境以高坝深库为主, 库区环境不利于着生藻类的生长, 故雅砻江干流的密度及优势种等与安宁河差异较大, 而安宁河干支流底质以大石和卵石为主, 比较适合着生藻类的生长发育。

此外, 梯级电站建成前, 雅砻江锦屏江段物种组成以硅藻占据绝对优势, 不管丰水期还是枯水期优势种都全部由硅藻组成^[12]。本次调查中锦屏江段(Y1~Y4)仍以流水为主, 其着生藻类优势类群主要以硅藻为主; 但随河流梯度往下, 雅砻江干流出现大量的蓝藻和绿藻, 而且蓝绿藻的比例呈上升趋势, 这与雅砻江下游梯级电站的建成运行有一定关系。电站建成后, 雅砻江下游干流大部分江段形成库区, 其水位高, 流速低, 原有的流水生境丧失, 底质类型发生改变, 导致库区的藻类群落呈现蓝藻和绿藻种类和密度增加的趋势, 蓝藻和绿藻种类也逐渐成为优势种^[4]。陈家厚等^[4]指出, 大顶子山航电枢纽蓄水运行后, 水环境变化导致松花江哈尔滨段着生藻类中蓝绿藻

比例升高。吴乃成^[28]对香溪河水电站建设前后进行对比,结果表明,电站蓄水运行后,下游流速、水深和河宽等主要水文指标显著改变,进而导致着生硅藻总密度、桥弯藻密度、直立型硅藻相对含量、物种丰富度以及 Margalef 多样性指数等显著下降。Jansen 等^[29]对加利福尼亚州鳗鱼河建坝干流和未建坝支流着生藻类的比较,也表明建坝蓄水会影响着生藻类和底栖动物的群落结构组成及其密度,进而影响整个食物网的能量传输。综上所述,梯级电站的建设对水环境将产生累积效应,最终导致下游水体蓝绿藻比例升高,硅藻密度、物种丰富度和生物多样性等呈下降趋势。

3.2 河流纵向梯度下着生藻类空间分布格局及其主要环境因子

河流可被视为一个由上游至下游的线性等级结构,沿着这一纵向梯度,许多非生物因子呈现出连续性的空间变化,并对水生生物的空间分布产生重要影响^[30]。河流连续统及相关理论认为,河流的环境特征沿水流方向呈现一定的规律性,如海拔降低、水温升高、流速变缓、水深增加等^[31]。Jiang 等^[21]对尼洋河的调查结果也显示,沿着河流纵向梯度,尼洋河水深和水温逐渐升高,流速逐渐降低。本研究中,纵向梯度下安宁河干流的海拔和流速呈下降趋势,水深、河宽、水温和电导率呈上升趋势;沿着河流纵向梯度,安宁河干流中上游水深较浅,流速非常快,底质主要由大石、卵石和砾石组成,着生藻类主要以硅藻为主,下游水深较深,流速较缓,底质虽然也以大石、卵石和砾石为主,但沙粒和黏土占据一定比例,绿藻和蓝藻的比例相对较高。

纵向梯度下安宁河干流的物种多样性指数(Shannon-Wiener 指数, H')呈现出一定的规律,符合中间高度膨胀(mid-altitude bulge)理论,即安宁河中游着生藻类多样性指数最大,上游河段和下游河段相对较低。中间高度膨胀理论指出,在中间海拔区域内物种的多样性指数最高,而在高海拔或低海拔区域内物种的多样性指数呈下降趋势^[18]。刘海平等^[13]也指出尼洋河着生藻类 Shannon-Wiener 指数在中游最大,中上游河段和中下游河段呈下降趋势。

海拔与物种分布存在一定相关性。海拔高度决定了一个地区的水温和光照强度等环境条件的变化,对河流着生藻类的群落结构组成的影响较大^[5,13]。肖妮娜等^[5]指出,海拔对赣江中游着生藻类群落结构有显著影响,海拔越高,着生藻类物种数、密度和多样性指数越低。本研究结果表明,纵向梯度下安宁河着生藻类物种数、总密度及丰富度指数(D)均呈上升趋势。刘海平等^[13]研究西藏尼洋河着生藻类时也有相似结果。此外,本研究中部分硅藻种类密度与海拔呈正相关,由于海拔提升,水温降低,喜低温的硅藻成为优势种,因此中上游主要以硅藻为主,下游海拔低,水温高,喜高温的蓝绿藻比例显著上升。

水温影响着生藻类细胞代谢、酶活性及繁殖生长等生物特性。在适度范围内,水温上升有利于藻类的生长繁殖^[9]。已有研究表明,藻类最适生长水温也依种类不同而有所差异,例如,绿藻和蓝藻喜高温,硅藻喜低温^[17]。本研究中沿着河流纵向梯度,安宁河干流水温逐渐升高,硅藻比例渐趋下降,而绿藻和蓝藻的比例却逐渐升高,这对解释上述现象提供了佐证。本研究 RDA 结果也显示细小隐球藻等蓝藻的密度以及大卵囊藻等绿藻的密度与水温呈正相关,而扁圆卵形藻和桥弯藻等大部分硅藻的密度与水温呈负相关。

流速也是影响着生藻类分布的重要环境因子^[32]。韦丽丽等^[33]指出,新疆伊犁河着生藻类的生物量与流速呈极显著的负相关。安宁河上游流速较高,水流对石块上附着藻类的冲刷,导致着生藻类密度下降^[13]。下游流速较缓,着生藻类的适宜生境较多,有利于其生长繁殖。本研究 RDA 结果表明大部分藻类密度与流速呈负相关。另外流速与河床底质类型存在一定的相关性^[13],马宝珊等^[18]对安宁河中游着生藻类的调查也表明流速和底质类型共同影响丰水期着生藻类的群落结构。

自然状态下,在雅砻江这种高海拔山区河流中,着生藻类往往是鱼类及其他水生动物主要的饵料来源^[34-35]。因此,着生藻类多样性及现存量对于维持雅砻江水生生物多样性及河流生态功能具有重要作用。然而,随着雅砻江下游水电梯级的全面实施,水域生态环境和鱼类群落结构已发

生明显变化^[36-37]。分析区域内着生藻类的空间分布格局, 有利于理解流域水生态系统结构和功能的变化。在干流梯级开发加速推进的背景下, 加强支流水生态环境的保护显得尤为重要。

参考文献:

- [1] Azim M A, Beveridge M C M, van Dam A A, et al. Periphyton and aquatic production: an introduction[M]//Azim M A, Verdegem M C J, van Dam A A, et al. Periphyton: Ecology, Exploitation and Management. Oxfordshire: CABI, 2005: 1-14
- [2] Stevenson R J. An introduction to Algal ecology in freshwater benthic habitats[M]//Stevenson R J, Bothwell M L, Lowe R L. Algal Ecology-Freshwater Benthic Ecosystem. New York: Academic Press, 1996: 3-30.
- [3] Fu B R, Li X, Guo H J, et al. Community structure and spatial-temporal distribution of periphytic algae in rivers of Shenyang-Fushun Connection Belt[J]. China Water and Wastewater, 2019, 35(1): 68-72, 76. [付保荣, 李雪, 郭海娟, 等. 沈抚连接带河流着生藻类群落结构及时空分布特征[J]. 中国给水排水, 2019, 35(1): 68-72, 76.]
- [4] Chen J H, Sun Z M, Bai Y J, et al. Influence of Dadingzishan closure on attached algae of Songhua River in Harbin Section[J]. Environmental Science and Management, 2010, 35(5): 46-50. [陈家厚, 孙子孟, 白羽军, 等. 大顶子山航电枢纽工程蓄水后对松花江哈尔滨江段着生藻类的影响[J]. 环境科学与管理, 2010, 35(5): 46-50.]
- [5] Xiao N N, Zhang M, Peng B, et al. Community structure of periphytic algae and their relationship to water environmental factors in Ganjiang River Basin during the high water period[J]. Resources and Environment in the Yangtze Basin, 2020, 29(4): 900-910. [肖妮娜, 张萌, 冯兵, 等. 丰水期赣江流域着生藻类群落结构及其与水环境因子的关系[J]. 长江流域资源与环境, 2020, 29(4): 900-910.]
- [6] Gillett N D, Pan Y, Asarian J E et al. Spatial and temporal variability of river periphyton below a hypereutrophic lake and a series of dams[J]. Science of the Total Environment, 2016, 541: 1382-1392.
- [7] Wen H, Cai J L, Su Y, et al. Characteristics of periphytic algal community and its relationship with aquatic environmental factors in streams of Lake Dianchi watershed in wet season[J]. Journal of Lake Sciences, 2011, 23(1): 40-48. [文航, 蔡佳亮, 苏玉, 等. 滇池流域入湖河流丰水期着生藻类群落特征及其与水环境因子的关系[J]. 湖泊科学, 2011, 23(1): 40-48.]
- [8] Chételat J, Pick F R, Morin A, et al. Hamilton. Periphyton biomass and community composition in rivers of different nutrient status[J]. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 1999, 56: 560-569.
- [9] Asarian J E, Pan Y D, Gillett N D, et al. Periphyton assemblages and associated environmental conditions in the Klamath River 2004-2013[M]. Klamath: Klamath Basin Tribal Water Quality Work Group, 2015.
- [10] Tang T, Qu X D, Li D F, et al. Benthic Algae of the Xiangxi River, China[J]. Journal of Freshwater Ecology, 2004, 19(4): 597-604.
- [11] Li J, Zhou Q, Xie C X, et al. Studies on the community structure of periphyton in the Irtysh River of Xinjiang Uygur Autonomous Region[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2014, 38(6): 1033-1039. [李君, 周琼, 谢从新, 等. 新疆额尔齐斯河周丛藻类群落结构特征研究[J]. 水生生物学报, 2014, 38(6): 1033-1039.]
- [12] Wu N C, Tang T, Li D F, et al. Benthic algal communities in Jinping reach of Yalong River and its main tributaries in relation to environmental variables[J]. Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(4): 1697-1703. [吴乃成, 唐涛, 黎道丰, 等. 雅砻江(锦屏段)及其主要支流底栖藻类群落与环境因子的关系[J]. 生态学报, 2009, 29(4): 1697-1703.]
- [13] Liu H P, Ye S W, Yang X F, et al. Spatio-temporal dynamics of aquatic organism community and their relationships to environment in Niyang River, Tibet: 2. periphytic algae[J]. Journal of Lake Sciences, 2013, 25(6): 907- 915. [刘海平, 叶少文, 杨雪峰, 等. 西藏尼洋河水生生物群落时空动态及与环境因子关系: 2.着生藻类[J]. 湖泊科学, 2013, 25(6): 907- 915.]
- [14] Qu X D, Cao M, Shao M L, et al. Macrobenthos in Jinping reach of Yalongjiang River and its main tributaries[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2007, 18 (1): 158-162. [渠晓东, 曹 明, 邵美玲, 等. 雅砻江(锦屏段)及其主要支流的大型底栖动物[J]. 应用生态学报, 2007, 18(1): 158-162.]
- [15] Ma B S, Xu B, Wei K J, et al. Macroinvertebrate community structure and its relation to the environmental conditions in the middle Anning River[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2019, 43(3): 643-653. [马宝珊, 徐滨, 魏开金, 等. 安宁河中游底栖动物群落结构及其与环境因子的关系[J]. 水生生物学报, 2019, 43(3): 643-653.]
- [16] Ma B S, Xu B, Wei K J, et al. Zooplankton resource and its relation to the environmental conditions in the Anning River[J]. Freshwater Fisheries, 2017, 47(6): 56-64. [马宝珊, 徐滨, 魏开金, 等. 安宁河浮游动物资源现状及其与环境因子的关系[J]. 淡水渔业, 2017, 47(6): 56-64.]
- [17] Ma B S, Xu B, Wei K J, et al. Phytoplankton community structure and its relation to the environmental conditions in the middle Anning River[J]. Chinese Journal of Ecology, 2020, 39(10): 3332-3341. [马宝珊, 徐滨, 魏开金, 等. 安宁河中游浮游植物群落结构及其与环境因子的关系[J].

- 生态学杂志, 2020, 39(10): 3332-3341.]
- [18] Ma B S, Xu B, Wei K J, et al. Periphytic algal community and its relation to the environmental conditions in the middle Anning River[J]. *Freshwater Fisheries*, 2020, 50(6): 30-39. [马宝珊, 徐滨, 魏开金等. 安宁河中游着生藻类群落结构及其与环境因子的关系[J]. *淡水渔业*, 2020, 50(6): 30-39.]
- [19] Chen B, Meng X C, Zhang D, et al. Longitudinal patterns in taxonomic and functional organizations of fish assemblages in the Xin'an River[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2019, 39(15): 5730-5745. [陈兵, 孟雪晨, 张东, 等. 河流鱼类分类群和功能群的纵向梯度格局—以新安江流域为例[J]. *生态学报*, 2019, 39(15): 5730-5745.]
- [20] Barbour M T, Gerritsen J, Snyder B D, et al. Rapid bioassessment for use in streams and Wadeable rivers: periphyton, benthic macroinvertebrates and fish. Second edition[M]. Washington D C: USA, Environment Protection Agency, Office of Water, 1999: 240.
- [21] Jiang X M, Xie Z C, Chen Y F. Longitudinal patterns of macroinvertebrate communities in relation to environmental factors in a Tibetan-plateau river system[J]. *Quaternary International*, 2013, 304: 107-114.
- [22] Wang Z Y, Ge J W, Li J F, et al. Relationship between periphyton distribution and water quality of Gufu River of Three Gorges Reservoir Area[J]. *Plant Science Journal*, 2013, 31(3): 219-227. [王自业, 葛继稳, 李建峰, 等. 三峡库区古夫河着生藻类分布与水质因子的关系[J]. *植物科学学报*, 2013, 31(3): 219-227.]
- [23] Hu H J, Wei Y X. The freshwater algae of China—systematics, taxonomy and ecology[M]. Beijing: Science Press. 2006: 9-478. [胡鸿钧, 魏印心. 中国淡水藻类—系统、分类及生态[M]. 北京: 科学出版社, 2006: 9-478.]
- [24] Zhu H Z, Chen J Y. Bacillariophyta of the Xizang Plateau[M]. Beijing: Science Press. 2000: 87-341. [朱蕙忠, 陈嘉佑. 中国西藏硅藻[M]. 北京: 科学出版社, 2000: 87-341.]
- [25] Yang W, Zhang T T, Sun Y S, et al. Community structure characteristics of phytoplankton in small lakes of Huaibei excavating coal subsidence region[J]. *Freshwater Fisheries*, 2020, 50(1): 51-59. [杨威, 张婷婷, 孙雨琛, 等. 淮北采煤塌陷区小型湖泊浮游植物群落结构特征[J]. *淡水渔业*, 2020, 50(1): 51-59.]
- [26] Belaoussoff S, Kevan P G, Murphy S, et al. Assessing tillage disturbance on assemblages of ground beetles (Coleoptera: carabidae) by using a range of ecological indices[J]. *Biodiversity and Conservation*, 2003, 12(5): 851-882.
- [27] Ter Braak C J F. Canonical correspondence analysis: a new eigenvector technique for multivariate direct gradient analysis[J]. *Ecology*, 1986, 67(5): 1167-1179.
- [28] Wu N C. Using benthic algal communities to assess the impacts of small hydropowers on river ecosystem- a case study of Xiangxi River[D]. Wuhan: Institute of Hydrobiology, the Chinese Academy of Sciences, 2006: 24-41. [吴乃成. 应用底栖藻类群落评价小水电对河流生态系统的影响—以香溪河为例[D]. 武汉: 中国科学院水生生物研究所, 2006: 24-41.]
- [29] Jansen L S, O'Dowd A, Bouma-Gregson K. A comparison of benthic algal and macroinvertebrate communities in a dammed and undammed Mediterranean river (Eel River watershed, California, USA)[J]. *River Research and Applications*, 2020, 36(8): 1668-1681.
- [30] Jiang X M, Xiong J, Xie Z C, et al. Longitudinal patterns of macroinvertebrate functional feeding groups in a Chinese river system: A test for river continuum concept (RCC). *Quaternary International*, 2011, 244: 289-295.
- [31] Fullerton A H, Torgersen C E, Lawler J J, et al. Rethinking the longitudinal stream temperature paradigm: region-wide comparison of thermal infrared imagery reveals unexpected complexity of river temperatures[J]. *Hydrological Processes*, 2015, 29(22): 4719-4737.
- [32] Jo Y M, Oh J M, Yoo J G. Environmental characterization of periphyton community[J]. *Journal of Ocean University of China*, 2006, 5(4): 305-310.
- [33] Wei L L, Zhou Q, Xie C X, et al. Community structure of periphyton and biological assessment of water quality in the Yili River, Xinjiang Uyghur Autonomous Region[J]. *Journal of Hydroecology*, 2015, 36(6): 29-38. [韦丽丽, 周琼, 谢从新, 等. 新疆伊犁河周丛藻类群落结构及其水质生物学评价[J]. *水生态学杂志*, 2015, 36(6): 29-38.]
- [34] Rott E, Cantonati M, Füreder L, et al. Benthic algae in high altitude streams of the Alps—a neglected component of the aquatic biota[J]. *Hydrobiologia*, 2006, 562: 195-216.
- [35] Asaeda T, Son D H. Spatial structure and populations of a periphyton community: a model and verification[J]. *Ecological Modelling*, 2000, 133(3): 195-207.
- [36] Yang Q R, Chen Q W, Ma X F. Status of fish resources and protection measures in the lower reaches of Yalong River[J]. *Journal of Hydroecology*, 2011, 32(3): 94-98. [杨青瑞, 陈求稳, 马徐发. 雅砻江下游鱼类资源调查及保护措施[J]. *水生态学杂志*, 2011, 32(3): 94-98.]
- [37] Ru H J, Zhang Y, Li Y F, et al. Community composition and status of fish resources in Anning River[J]. *Journal of Hydroecology*, 2016, 37(5): 68-74. [茹辉军, 张燕, 李云峰, 等. 雅砻江支流安宁河鱼类群落组成及资源现状[J]. *水生态学杂志*, 2016, 37(5): 68-74.]

Diversity and spatial distribution of periphytic algae in the lower reaches of the Yalong River and its main tributary, the Anning River

MA Baoshan, WEI Kaijin, XU Jin, LU Jianchao, XU Bin, ZHU Xiangyun

Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuhan 430223, China

Abstract: The Yalong River is the biggest tributary of the Jinsha River. Periphytic algae are an important component of the aquatic ecosystem, playing an important role in the energy flow and matter cycling of river food chains. To understand the community structure of periphytic algae and its relation to the environmental conditions, surveys were conducted in the lower Yalong River and its tributaries between June and August 2018 (102°6'6"E, 28°46'21"N – 101°49'22"E, 26°38'38"N). A total of 95 species of periphytic algae belonging to 49 genera of five phyla were identified, among which Bacillariophyta (57 species) were the dominant taxa, followed by Chlorophyta (20 species) and Cyanophyta (14 species). The species richness was highest in the Yalong River, followed by the Anning River, and lowest in the Anning River tributaries. The dominant species in the lower Yalong River were *Achnanthes* sp., *Gomphonema* sp., *Leptolyngbya gelatinosa*, *Synedra* sp., *Navicula* sp., *Oocystis naegelii*, and *Cymbella* sp.; the dominant species in the Anning River were *Achnanthes* sp. and *Aphanocapsa elachista*; and the dominant species in the tributaries of the Anning River were *Achnanthes* sp., *L. gelatinosa*, *Gomphonema* sp., *Navicula* sp., and *Cocconeis placentula*. The algal density in the Yalong River was significantly lower than that in the Anning River and its tributaries. The algal density in the Anning River was higher than that in the tributaries. Upstream to downstream, the species richness in the Anning River increased under a longitudinal gradient, the proportion of Bacillariophyta in the Anning River decreased gradually, while the proportion of Chlorophyta and Cyanophyta increased gradually. Redundancy analysis indicated that the periphytic algae structure in the lower Yalong River was relative to the ecological factors, such as water temperature, turbidity, and substrate type. Current velocity and altitude were the main environmental factors affecting the distribution of periphytic algae in the Anning River under a longitudinal gradient. This study provides a scientific basis for the research on and conservation of biodiversity in high-altitude areas.

Key words: lower reaches of Yalong River; Anning River; periphytic algae; longitudinal gradient; environmental factors

Corresponding author: WEI Kaijin. E-mail: weikj@yfi.ac.cn

DOI: 10.12264/JFSC2021-0202

异育银鲫寄生洪湖碘泡虫的鱼卵传播途径

杨坤^{1,2}, 翟凯旋¹, 习丙文^{1,2}, 陈凯², 谢骏², 潘良坤²

1. 南京农业大学无锡渔业学院, 江苏 无锡 214081;

2. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 农业农村部淡水渔业和种质资源利用重点实验室, 江苏 无锡 214081

摘要: 洪湖碘泡虫(*Myxobolus honghuensis*)是引起异育银鲫(*Carassius auratus gibelio* Bloch)“喉孢子病”的重要病原, 每年导致养殖苗种和成鱼大量死亡。本研究通过隐性感染异育银鲫母本人工受精、实验室条件下受精卵孵化和幼鱼培育, 采用单管半巢式 PCR、荧光定量 PCR 和寡核苷酸荧光原位杂交等检测手段进行亲本、卵和幼鱼等环节的检测分析, 探究异育银鲫寄生洪湖碘泡虫是否存在经卵传播途径。结果表明, 所采用的 34 尾异育银鲫母本(A1~A22, B1~B12)的洪湖碘泡虫隐性感染率达 50%~75%, 其中, 卵和伪鳃检出率高于卵巢组织样品; 特异性寡核苷酸探针荧光原位杂交在隐性感染母本的卵巢、伪鳃、肾、脾组织检测到洪湖碘泡虫前孢子生成阶段营养体; 实验室条件下阳性母本所产的卵经孵化和培育出的幼鱼 15 dph 和 30 dph 样品可以检出阳性(A1、A18、B8 和 B9); 荧光原位杂交显示 15 dph 幼鱼在伪鳃、鳃和肾脏组织检测出阳性信号。本研究进一步揭示了异育银鲫寄生洪湖碘泡虫存在经卵传播途径; 研究结果可为相关疾病制定防控措施奠定重要的理论基础。

关键词: 银鲫; 洪湖碘泡虫; 传播途径; PCR; 荧光原位杂交

中图分类号: S941

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2021)12-1612-09

洪湖碘泡虫(*Myxobolus honghuensis*)是当前异育银鲫(*Carassius auratus gibelio* Bloch)养殖中引起苗种和成鱼发生“喉孢子病”的重要寄生虫病原, 每年导致全国各地养殖异育银鲫大量死亡, 给水产养殖产业造成极大的经济损失^[1-2]。目前, 针对“喉孢子虫病”还没有确切有效的治疗药物^[3-4], 因此, 开展洪湖碘泡虫感染传播规律和致病机制研究, 将为制定疾病综合防控措施奠定重要理论基础。

黏孢子虫多数具有复杂的两替换宿主(two alternative-host)生活史^[5-6]。鱼类宿主感染黏孢子虫的传播途径主要通过无脊椎动物宿主释放的放射孢子虫以及部分类群中存在的鱼-鱼水平传播^[6]。国内研究人员在异育银鲫寄生的黏孢子虫生活史方面已经开展了大量研究, 先后发现和报道了 20

余种放射孢子虫^[7-12]; 然而, 截至目前仍没有发现洪湖碘泡虫的无脊椎动物宿主和放射孢子虫。在前期研究过程中, 作者团队通过 PCR 检测在发病池塘成鱼的卵巢中检测到很高的阳性率(40%)^[13], 并且在试验基地水泥池养殖异育银鲫自然繁殖幼鱼(2~3 cm)中发生了“喉孢子病”。基于这些发现, 作者推测洪湖碘泡虫在养殖异育银鲫中可能存在垂直传播。为了验证该推测, 本研究采用单管半巢式 PCR、荧光定量 PCR 和寡核苷酸荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)等检测手段, 分析隐性感染异育银鲫母本在人工受精、实验室条件下孵化, 培育幼鱼中洪湖碘泡虫感染情况。相关研究结果将为进一步研究洪湖碘泡虫的致病机制, 寻找疾病早期防治手段等提供一定的理论依据。

收稿日期: 2021-05-10; 修订日期: 2021-05-24.

基金项目: 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系项目(CARS-45); 国家自然科学基金项目(32073019).

作者简介: 杨坤(1995-), 男, 硕士研究生, 研究方向为鱼类寄生虫. E-mail: 764513834@qq.com

通信作者: 习丙文, 研究员, 研究方向为水生动物寄生虫病与防治. E-mail: xibw@ffrc.cn

1 材料与方法

1.1 异育银鲫人工繁殖

在 2020 年 4—5 月, 分 2 批从中国水产科学院淡水渔业研究中心南泉试验基地鲫鱼养殖池塘(前期检测群体中存在洪湖碘泡虫隐性感染)随机挑选 22 尾和 12 尾性成熟异育银鲫(体重 150~250 g)作为母本, 以建鲤(*Cyprinus carpio*, 体重 1~1.5 kg)作为父本, 人工注射催产素, 开展人工授精和孵化。

待雌鱼排卵后, 逐条擦干体表, 用手挤压鱼体腹腔, 将卵挤至一次性塑料容器中; 部分卵收集到 50 mL 离心管中保存留待后续 PCR 检测。随后立即将建鲤精液挤入容器中; 加入曝气自来水快速搅拌均匀, 使卵受精。将受精卵均匀撒到棕片上, 挂入室内控温循环水养殖桶中的 80 目网箱中孵化和培育; 水体保持溶氧>6 mg/L、水温(23±1) °C。每尾亲本的受精卵分别置于单独的网箱。取异育银鲫母本分别解剖其伪鳃、卵巢和建鲤精液等留做后续检测。

1.2 受精卵孵化及饲养管理

受精卵孵化过程中, 每隔 6 h 采集部分受精卵于解剖镜下观察其发育进程。待仔鱼孵化后, 投喂蛋黄 1 周, 每天 4 次。1 周后投喂丰年虫(由本实验室自行孵化)及商品开口料, 每天 3 次。每周对养殖桶定期清污, 养殖全程所用工具均严格消毒处理。

1.3 样品采集及 PCR 检测

分别采集异育银鲫母本的伪鳃、卵巢, 孵化后 3 d、15 d 及 30 d 子代幼鱼, 组织及幼鱼样品均采集 2 份, 分别置于-80 °C 冰箱中保存用于 PCR 检测以及 4%多聚甲醛固定液中保存用于组织切片和荧光原位杂交检测。

1.3.1 样品 DNA 提取 洪湖碘泡虫 DNA 提取: 本研究所用洪湖碘泡虫对照样品由本实验室-80 °C 冷冻保存。将洪湖碘泡虫胞囊样品解冻后按照 Ezup 柱式动物基因组 DNA 抽提试剂盒(生工)说明书步骤提取虫体 DNA, 获得的 DNA 保存于-20 °C 冰箱中, 作为 PCR 阳性对照备用。

母本组织 DNA 提取: 将冻存组织样品解冻,

剪取 20~50 mg, 放入 1.5 mL 灭菌 EP 管中, 使用电动研磨器匀浆, 按照 Ezup 柱式动物基因组 DNA 抽提试剂盒说明书步骤提取组织基因组 DNA, 保存于-20 °C 备用。

卵及幼鱼 DNA 提取: 卵及孵化后 3 d 的幼鱼, 均整体进行匀浆; 孵化后 15 d、30 d 幼鱼各取 15 尾在解剖镜下取伪鳃、卵巢、脾、肾组织, 每 5 尾的组织混合为 1 个样品进行匀浆。按照 Ezup 柱式动物基因组 DNA 抽提试剂盒说明书步骤提取组织基因组 DNA, 保存于-20 °C 备用。

1.3.2 单管半巢式 PCR 检测 单管半巢式 PCR (singal-tube semi-nested PCR)检测参考前期研究所建立的方法^[7], 引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成, 引物信息见表 1。PCR 扩增结束后, 使用 2%的琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物, 统计各组织/幼鱼洪湖碘泡虫阳性检出情况, 阳性 PCR 产物送至生工生物工程(上海)股份有限公司测序验证。测序获得片段经 NCBI 数据库 BLAST 比对分析。每个样品检测分别重复 3 次。

表 1 单管半巢式 PCR 引物设计
Tab. 1 Single tube semi-nested PCR primer design

引物 primer	名称 code	序列 sequence (5'-3')	T _m /°C
上游 forward	Myh_1176F	GTTGGTCCCCCTGGGAAACC	61.91
下游 reverse	Myh_1618R	TCCATGAGGCAGCGTAAAGG	57.75
下游 reverse	Mh-in-r	AGCGAGCCCAGAATGCTAC	57.97

1.3.3 荧光定量 PCR 检测 荧光定量 PCR 检测采用洪湖碘泡虫特异性引物 Mh-in-F/R, 并以鲫管家基因 β -actin 作为内参(引物信息见表 2)。采用 20 μ L 反应体系, 包括: TB Green Premix Ex Taq II 10 μ L, 引物正向 0.8 μ L, 引物反向 0.8 μ L, DNA 模板 2.0 μ L, ddH₂O 6 μ L。反应程序为 95 °C 预变性 30 s; 95 °C 变性 3 s, 60 °C 退火 34 s, 40 个循环; 熔解曲线设置为 95 °C 15 s, 60 °C 1 min, 95 °C 15 s。

表 2 荧光定量 PCR 检测引物
Tab. 2 Real time-PCR primer design

引物 primer	名称 code	序列 sequence (5'-3')	T _m /°C
上游 forward	β -actin-F	CTCCCTCAATCCCAAAGCCAA	62.56
下游 reverse	β -actin-R	ACACCATCACCAGAATCCATCA	59.42
上游 forward	Mh-in-F	GTCCGGACATCGAAAGGAT	54.50
下游 reverse	Mh-in-r	AGCGAGCCCAGAATGCTAC	57.97

对第二批异育银鲫母本各组织及子代幼鱼样品进行重复检测验证。每个样品检测分别重复 3 次, 记录统计各组织/幼鱼的洪湖碘泡虫阳性率。

1.4 寡核苷酸探针荧光原位杂交(FISH)检测

1.4.1 洪湖碘泡虫特异性寡核苷酸探针设计 根据银鲫常见感染的洪湖碘泡虫、瓶囊碘泡虫(*Myxobolus ampullicapsulatus*)、武汉单极虫(*The-lohanellus wuhanensis*)、吴李碘泡虫(*M. wulii*)、茄

形碘泡虫(*M. toyamai*)、长孢碘泡虫(*M. longisporus*)、塔形碘泡虫(*M. pyramidis*)、培养碘泡虫(*M. cultus*)以及宿主异育银鲫的 18S rDNA 序列进行比对分析(Clustal X 软件), 选取洪湖碘泡虫高度特异性区域设计 DNA 探针(图 1): 5'-FAM-TCATAAACATTACACCCTGAGCGAGCCCAGAATGCTACTTTTATG-3', 长度为 45 bp, 由上海生工技术有限公司合成。



图 1 洪湖碘泡虫与常见黏孢子虫和宿主异育银鲫 18S rDNA 序列片段比对及探针设计位点

Fig. 1 Alignment between the SSU 18S rDNA sequences of *Myxobolus honghuensis* and other myxosporans and fish host *Carassius auratus gibelio*

1.4.2 荧光原位杂交 根据单管半巢式 PCR 检测结果, 挑取阳性母本组织及子代幼鱼, 进行荧光原位杂交检测, 分析洪湖碘泡虫在异育银鲫卵巢及孵化幼鱼中的组织分布。

荧光原位杂交的实验流程: 将固定在 4%多聚甲醛中的组织/幼鱼取出, 制作组织切片, 无需染色, 常规脱蜡至水洗。切片使用 30% H_2O_2 和纯甲醇混合液(1:9, 体积比)室温处理 10 min, 之后用 DEPC 水洗 3 次; 处理后的切片置于湿盒(内含 35 mL 5×SSC 和 35 mL 甲酰胺)中, 常温反应 15 min, 之后用 DEPC 水洗 2 次; 滴加蛋白酶 K 覆盖组织, 放入湿盒, 在分子杂交仪中 37 °C 下反应 20 min; 用 0.2% 甘氨酸洗液洗 1 min, 终止反应。生理盐水(PBS)洗 2 次, 4%多聚甲醛固定组织 10 min, PBS 洗 3 次, 乙酸酐洗 2 次, 每次 5 min, PBS 洗 5 次; 用 5×SSC 溶液洗 2 次后, 将切片放入湿盒内, 用预杂交液覆盖组织, 65 °C 下预杂交 1 h。取出湿盒, 向切片滴加探针, 覆盖组织, 65 °C 杂交 48 h; 杂交结束后, 用 2×SSC 溶液洗 1 次, 甲酰胺和 4×SSC 混合液(1:1, 体积比)在 65 °C 烘箱中洗 3 次, 每次 20 min, 取出后用 PBS 洗 5 次; 将 DAPI 染液用 DEPC 水稀释 1000 倍, 滴加到组织

上染色 5 min; 用 PBS 洗 3 次后, 滴加防淬灭剂, 用指甲油封片。制备好的杂交玻片在 LEICA DM2500 荧光显微镜下观察并采集图像。

2 结果与分析

2.1 建鲤精液和异育银鲫母本伪鳃、卵巢、未受精卵的 PCR 检测结果

本研究所用的到建鲤精液的单管半巢式 PCR 检测都为阴性; 分别采集了 34 尾异育银鲫母本的伪鳃、卵巢和未受精卵, 其中, 第一批和第二批各 22 尾和 12 尾(A1~A22, B1~B12, 表 3, 表 4)。单管半巢式 PCR 检测结果显示, 第一批母本伪鳃、卵巢和未受精卵阳性总检出率 50% (11/22, 表 3), 其中, 卵巢样本检测都为阴性, 伪鳃样本阳性率较高达 36.4% (8/22, A6、A8、A10、A13、A16、A17、A18 和 A20), 卵的阳性率为 27.3% (6/22, A1、A9、A16、A17、A19 和 A20); 伪鳃样本检出率高于卵和卵巢。第二批母本样品采用单管半巢式 PCR 和荧光定量 PCR 两种检测方法分析, 其中荧光定量 PCR 的灵敏度和阳性检出率高于单管半巢式 PCR。尤其卵巢样品中, 单管半巢式 PCR 法未检出; 然而, 荧光定量 PCR 的检出率达

50%。第二批母本伪鳃、卵巢、卵样品基于荧光定量 PCR 的总阳性检出率达 75% (9/12, B1、B2、B3、B6、B7、B8、B9、B10、B12)。阳性样本 PCR 产物测序获得的序列与洪湖碘泡虫 (MH329617) 完全一致。

2.2 感染异育银鲫母本组织荧光原位杂交

选取 PCR 检测阳性的异育银鲫母本的卵巢、伪鳃、体肾、脾组织进行制备切片和荧光原位杂

交检测。原位杂交检测结果显示, 在异育银鲫的卵巢结缔组织中可观察到大量绿色荧光信号(图 2A), 在伪鳃的鳃丝周边结缔组织可观察到绿色荧光信号分布(图 2B), 在体肾拟淋巴组织附近分布有少量绿色荧光信号(图 2C), 在脾脏中也可观察到绿色荧光信号分布(图 2D)。检测结果表明, 在异育银鲫卵巢、伪鳃、体肾及脾脏等组织中均有洪湖碘泡虫的前孢子生成细胞(营养体)存在。

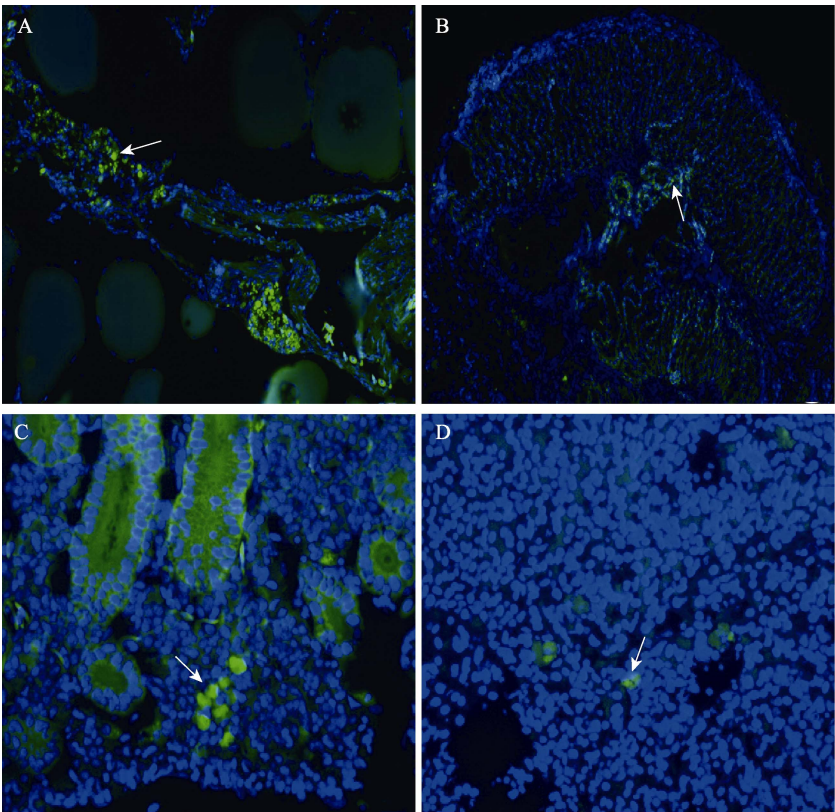


图 2 洪湖碘泡虫感染异育银鲫组织切片荧光原位杂交(绿色为荧光探针, 蓝色为 DAPI 染色)

A: 母本卵巢中的洪湖碘泡虫营养体(箭头); B: 母本伪鳃中的洪湖碘泡虫营养体(箭头);
C: 母本体肾中的洪湖碘泡虫营养体(箭头); D: 母本脾脏中的洪湖碘泡虫营养体(箭头).

Fig. 2 In situ hybridized sections of *Myxobolus honghuensis* in infected tissues of *Carassius auratus gibelio*
(Green is fluorescent probe and blue is DAPI staining)

A: *M. honghuensis* trophozoite in ovary of broodfish (arrow); B: *M. honghuensis* trophozoite in pseudobranch of broodfish (arrow);
C: *M. honghuensis* trophozoite in kidney tissue of broodfish (arrow); D: *M. honghuensis* trophozoite in spleen of broodfish (arrow).

2.3 孵化幼鱼 PCR 检测

室内循环水孵化的异育银鲫幼鱼 3 d、15 d 及 30 d 样品的单管半巢式 PCR 检测结果显示, 第一批母本孵化幼鱼对应的 A1 母本所产卵孵化出 30 d 幼鱼(30 dph)和 A18 的 15 dph 样品检出洪湖碘泡虫阳性, 其余幼鱼检测结果均为阴性(表 3)。

第二批母本孵化幼鱼分别采用单管半巢式 PCR 和荧光定量 PCR 两种检测方法分析(表 4)。孵化出 3 天幼鱼都未检出阳性。母本 B8 所产卵孵化出幼鱼 15 dph 样品单管半巢式和荧光定量 PCR 都检出阳性。母本 B9 所产幼鱼 30 dph 样品荧光定量 PCR 检出阳性。母本 B10 所产幼鱼

表 3 单管半巢式 PCR 第一批幼鱼洪湖碘泡虫检测结果

Tab. 3 Detection results of the first batch of fish fry by single-tube semi-nested PCR

n=15

母本编号 fish-code	伪鳃 pseudo-branch	卵巢 ovary	未受精卵 oocyte	3 dph	15 dph	30 dph	母本编号 fish-code	伪鳃 pseudo-branch	卵巢 ovary	未受精卵 oocyte	3 dph	15 dph	30 dph
A1	—	—	+	—	—	+	A12	—	—	—	—	—	—
A2	—	—	—	—	—	—	A13	+	—	—	—	—	—
A3	—	—	—	—	—	—	A14	—	—	—	—	—	—
A4	—	—	—	—	—	—	A15	—	—	—	—	—	—
A5	—	—	—	—	—	—	A16	+	—	+	—	—	—
A6	+	—	—	—	—	—	A17	+	—	+	—	—	—
A7	—	—	—	—	—	—	A18	+	—	—	—	+	—
A8	+	—	—	—	—	—	A19	—	—	+	—	—	—
A9	—	—	+	—	—	—	A20	+	—	+	—	—	—
A10	+	—	—	—	—	—	A21	—	—	—	—	—	—
A11	—	—	—	—	—	—	A22	—	—	—	—	—	—

注：“+”表示阳性结果；“—”表示阴性结果。
Note: “+” represents positive result; “—” represents negative result.

表 4 第二批幼鱼洪湖碘泡虫检测结果

Tab. 4 Detection results of the second batch of fish fry

n=15

母本编号 fish-code	伪鳃 pseudobranch		卵巢 ovary		未受精卵 oocyte		3 dph		15 dph		30 dph	
	semi-nested PCR	real-time PCR	semi-nested d PCR	real-time PCR	semi-nested d PCR	real-time PCR	semi-nested d PCR	real-time PCR	semi-nested d PCR	real-time PCR	semi-nested d PCR	real-time PCR
B1	—	—	—	+	+	+	—	—	—	—	—	—
B2	+	+	—	+	+	+	—	—	—	—	—	—
B3	—	—	—	+	+	+	—	—	—	—	—	—
B4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B6	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
B7	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
B8	+	+	—	+	+	+	—	—	+	+	—	—
B9	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+
B10	+	+	—	—	+	+	—	—	—	+	—	—
B11	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B12	+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—

注：“+”表示阳性结果；“—”表示阴性结果。
Note: “+” represents positive result; “—” represents negative result.

15 dph 样品荧光定量 PCR 检出阳性。

2.4 孵化幼鱼荧光原位杂交检测

孵化 3 d 幼鱼样品 PCR 没有检出阳性，因此，选取了 PCR 阳性实验组的 15 d 幼鱼进行整条鱼的组织切片和荧光原位杂交检测。如图 3 所示，在

孵化 15 d 幼鱼鳃部的鳃丝和前面的伪鳃组织中有较为集中的绿色荧光信号(图 3A)，肾及体肾组织中也检测到有阳性信号(图 3B)。原位杂交结果表明，孵化 15 d 后的异育银鲫幼鱼在鳃、伪鳃和肾脏组织出现疑似洪湖碘泡虫营养体感染分布。

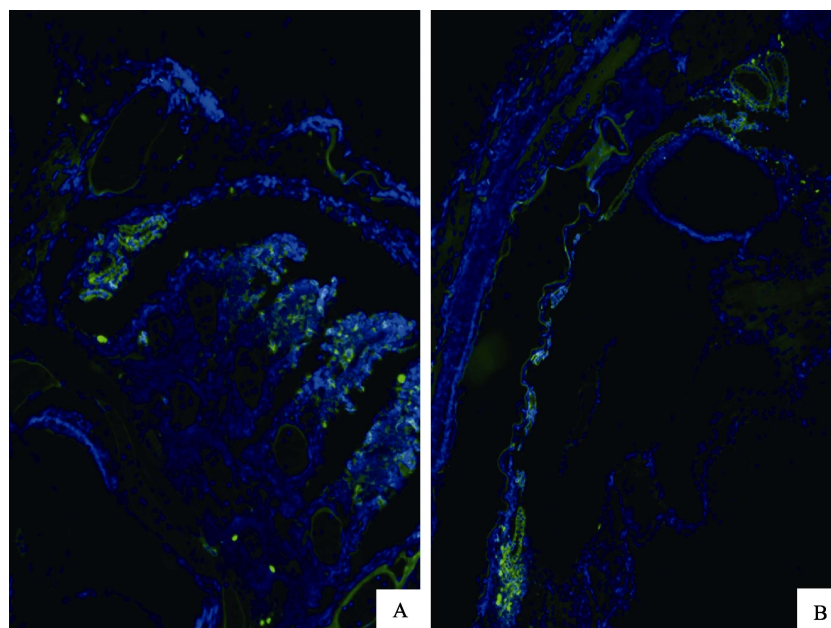


图 3 孵化 15 d 异育银鲫幼鱼整鱼组织切片原位杂交检测

A: 幼鱼鳃及伪鳃中的洪湖碘泡虫营养体(箭头, ×40); B: 幼鱼头肾及体肾中的洪湖碘泡虫营养体(箭头, ×100). 绿色为荧光探针, 蓝色为 DAPI 染色.

Fig. 3 In situ hybridized sections of infected *Carassius auratus gibelio* fry 15 d post hatching (A, ×40; B, ×100)

A: *M. honghuensis* trophozoite in gill and pseudobranch of infected fry (arrow);

B: *M. honghuensis* trophozoite in head kidney and kidney of infected fry (arrow).

3 讨论

异育银鲫寄生洪湖碘泡虫的完整生活史和鱼体感染传播途径等问题受到了广泛关注。尽管罗丹等^[14]通过荧光定量 PCR 在池塘水体中检测到洪湖碘泡虫 DNA, 但是前期大量的疫区养殖池塘调查采样都没有发现其对应的放射孢子虫^[15]。根据前期流行病学研究基础, 本课题组推测洪湖碘泡虫除可能的放射孢子虫感染途径外, 也许还存在随鱼卵传播途径。目前, 世界范围内报道的、可寄生在鱼类卵细胞内的黏孢子虫种类 17 种以上, 如 *Sphaerospora plagiognathopis*^[16]、*Myxobolus dahomeyensis*^[17]、*M. testicularis*^[15]、*Kudoa ovi-vora*^[18]及 *K. azevedoi*^[19]等。然而, 黏孢子虫是否可以随宿主鱼卵传播一直没有相关的报道^[20]。本研究通过 PCR 和荧光原位杂交检测, 在隐性感染异育银鲫母本卵巢、卵及实验室条件下繁育子代幼鱼中均检出洪湖碘泡虫, 提示异育银鲫寄生洪湖碘泡虫应该存在经鱼卵传播途径。本研究结果进一步支持 Wang 等^[21]发现洪湖碘泡虫可通过感

染异育银鲫母本直接传染幼鱼的结论。

核苷酸探针荧光标记原位杂交被广泛应用于细胞生物学和病原生物学研究相关领域^[21-25]。Dubuffet 等^[22]采用 RNA 探针揭示了微孢子虫 *Nosema granulosis* 和 *Dictyocoela duebenum* 在宿主钩虾(*Gammarus duebeni*)卵巢分布和垂直传播。Holzer 等^[23]、Bjork 等^[24]和 Markussen 等^[25]分别利用原位杂交分别研究了苔藓鲑四囊虫(*Tetracapsuloides bryosalmonae*)、角形虫(*Ceratomyxa shasta*)、伪鳃小囊虫(*Parvicapsula pseudobranchicola*)等在鲑鳟宿主体内组织分布和迁移路径。本研究采用荧光原位杂交直观地检测出 PCR 阳性样品的母本卵巢和幼鱼组织器官中洪湖碘泡虫分布。在卵样本检测中发现, 多聚甲醛固定后的卵黄颗粒也呈现很强的荧光信息, 由于当前采用的检测方法暂时无法确定是否为假阳性。因此, 洪湖碘泡虫在卵中的定位检测有待后续技术优化。

本研究所采用的荧光定量 PCR 检测的灵敏度优于单管半巢式 PCR, 更适用于没有临床症状的洪湖碘泡虫隐性感染亲本和苗种检测。在研究所

分析的卵巢样品中,单管半巢式 PCR 法都未检出,荧光定量 PCR 的检出率达 50%;此外,荧光定量 PCR 检测的伪鳃、卵巢、卵的结果呈现较好的吻合度。在检出阳性的异育银鲫卵巢样本中,荧光定量 PCR 的 C_t 值普遍较高(30~34),可能卵巢组织成分复杂造成洪湖碘泡虫 DNA 相对含量低于单管半巢式 PCR 检测阈值。

在异育银鲫阳性母本所产幼鱼检测中仅有部分网箱样品检出阳性(A1、A18、B8 和 B9),低于母本感染率(50%~75%)。在 A1 和 B9 母本网箱幼鱼中仅在 30 dph 样本中检测出洪湖碘泡虫感染,3 dph 和 15 dph 样本都未检测出;在 A18 和 B9 母本网箱幼鱼中仅在 15 dph 样本中检出阳性,3 dph 和 30 dph 样本都未检出。幼鱼感染检出率低于母本以及幼鱼孵化不同天数样本感染检出差异现象,可能由于洪湖碘泡虫在幼鱼体内没有快速大量增殖,生物量低于当前检测技术阈值,或者洪湖碘泡虫对于卵巢中卵的感染不是均匀分布,幼鱼中不是所有个体都携带有洪湖碘泡虫。关于这一疑问,有待洪湖碘泡虫随卵传播机制的进一步研究。

本研究所用的异育银鲫母本 PCR 检出有很高的洪湖碘泡虫感染率,并且在前期养殖过程中没有明显的临床症状。虽然,当前研究无法判断这些阳性母本是由于近期感染还是前期携带,但是洪湖碘泡虫存在经鱼卵传播的研究结果表明异育银鲫苗种生产必须重视亲本的病原检验检疫。此外,隐性感染洪湖碘泡虫在国内异育银鲫不同种群分布情况以及隐性感染在鱼可持续多长时间等问题也有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Xi B W, Xie J, Zhou Q L, et al. Mass mortality of pond-reared *Carassius gibelio* caused by *Myxobolus ampullicap-sulatus* in China[J]. Diseases of Aquatic Organisms, 2011, 93: 257-260.
- [2] Zhao Y L, Liu X H, Sato H, et al. RNA-seq analysis of local tissue of *Carassius auratus gibelio* with pharyngeal myxosporidiosis: Insights into the pharyngeal mucosal immune response in a fish-parasite dialogue[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2019, 94: 99-112.
- [3] Li Z W, Lu H D, Cao G P, et al. Histopathology and pathophysiology of *Carassius auratus gibelio* infected by *Myxobolus pharynae*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2016, 23(6): 1339-1350. [李振伟, 陆宏达, 操良萍, 等. 异育银鲫咽碘泡虫组织病理与病理生理[J]. 中国水产科学, 2016, 23(6): 1339-1350.]
- [4] Ma Y, Zhou J X, Wang H, et al. Investigation report of *Carassius auratus gibelio* "Zhongke 3" myxosporiasis in Jilin province[J]. Scientific Fish Farming, 2015(12): 84-85. [马悦, 周井祥, 王好, 等. 吉林省异育银鲫“中科 3 号”黏孢子虫病调查报告[J]. 科学养鱼, 2015(12): 84-85.]
- [5] Wu Y S, Xiao W H, Wang J G, et al. A review of the life cycle of Myxosporean[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2000, 24(2): 182-189. [吴英松, 肖武汉, 汪建国, 等. 黏孢子虫生活史的研究进展[J]. 水生生物学报, 2000, 24(2): 182-189.]
- [6] Zhao D D. Life cycle of several freshwater myxozoans and taxonomy of actinosporean collective groups[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2017. [赵丹丹. 几种淡水黏体动物的生活史及其放射孢子虫集合群的分类学研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2017.]
- [7] Xi B W, Li P, Liu Q C, et al. Description of a new Neoaetionomyxon type actinosporean from the oligochaete *Branchiura sowerbyi* Beddard[J]. Systematic Parasitology, 2017, 94(1): 73-80.
- [8] Xi B W, Zhou Z G, Xie J, et al. Morphological and molecular characterization of actinosporeans infecting oligochaete *Branchiura sowerbyi* from Chinese carp ponds. [J]. Diseases of Aquatic Organisms. 2015, 114(3): 217-228.
- [9] Sun H W, Xi B W, Xie J, et al. Morphological characters and DNA identification of a new actinosporean type *Guyenotia CZ* collected from oligochaete *Branchiura sowerbyi*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2014, 38(6): 1179-1184. [孙海伟, 习丙文, 谢骏, 等. 一种 *Guyenotia* 放射孢子虫的形态和分子序列特征[J]. 水生生物学报, 2014, 38(6): 1179-1184.]
- [10] Gu W, Xi B W, Xie J, et al. Morphological characterization of a novel Echinactinomyxon type collected from *Branchiura sowerbyi*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2013, 20(1): 218-223. [顾伟, 习丙文, 谢骏, 等. 苏氏尾鳃蚓寄生放射孢子虫的形态描述[J]. 中国水产科学, 2013, 20(1): 218-223.]
- [11] Xi B W, Zhang J Y, Xie J, et al. Three actinosporean types (Myxozoa) from the oligochaete *Branchiura sowerbyi* in China[J]. Parasitology Research, 2013, 112(4): 1575-1582.
- [12] Wang G T, Yao W J. First report of the actinosporean in Oligochaetes in China[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2000, 24(2): 198-200. [王桂堂, 姚卫建. 放射孢子虫在中国的首次发现[J]. 水生生物学报, 2000, 24(2): 198-200.]
- [13] Yang K, Gao Z P, Xi B W, et al. Development a single-tube, semi-nested PCR method for the detection of *Myxobolus*

- honghuensis* (Myxoporea: Bivalvulida)[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2020, 27(8): 927-933. [杨坤, 高志鹏, 习丙文, 等. 洪湖碘泡虫单管半巢式 PCR 检测方法的建立及应用[J]. 中国水产科学, 2020, 27(8): 927-933.]
- [14] Luo D, Zhao Y L, Liu X H, et al. Development of a SYBR Green I real-time PCR assay for detection of *Myxobolus honghuensis* and its application[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2020, 44(2): 268-274. [罗丹, 赵媛莉, 刘新华, 等. 洪湖碘泡虫 SYBR Green I 实时荧光定量 PCR 检测方法的建立及其应用[J]. 水生生物学报, 2020, 44(2): 268-274.]
- [15] Tajdari J, Matos E, Mendonça I, et al. Ultrastructural morphology of *Myxobolus testicularis* sp. n., parasite of the testis of *Hemiodopsis microlepis* (Teleostei: Hemiodontidae) from the NE of Brazil[J]. Acta Protozoologica, 2005, 44(4): 377-384.
- [16] Chen Q L, Xie X R. A new genus and two new species of family Myxobolidae from freshwater fishes of China (Myxosporidia: Myxobolidae)[J]. Zoological Systematics, 1984, 9(2): 3-7. [陈启鏊, 谢杏人. 中国淡水鱼类寄生黏孢子虫碘泡科一新属及二新种[J]. 动物分类学报, 1984, 9(2): 3-7.]
- [17] Grankoto A, Pampoulie C, Marques A, et al. *Myxobolus dahomeyensis* infection in ovaries of Tilapia species from Benin (West Africa)[J]. Journal of Fish Biology, 2010, 58(3): 883-886.
- [18] Swearer S E, Robertson D R. Life History, Pathology, and Description of *Kudoa ovivora* n. sp. (Myxozoa, Myxosporidia): An Ovarian Parasite of Caribbean Labroid Fishes[J]. The Journal of Parasitology, 1999, 85(2): 337-353.
- [19] Mansour L, Thabet A, Chourabi K, et al. *Kudoa azevedoi* n. sp. (Myxozoa, Multivalvulida) from the oocytes of the Atlantic horse mackerel *Trachurus trachurus* (Perciformes, Carangidae) in Tunisian coasts[J]. Parasitology Research, 2013, 112(4): 1737-1747.
- [20] Sitjà-Bobadilla A. Can Myxosporean parasites compromise fish and amphibian reproduction?[J]. Proceedings Biological Sciences The Royal Society, 2009, 276: 2861-2870.
- [21] Wang S, Zhang B, Guo Q, et al. Molecular and light microscopy evidence for the transfer of *Myxobolus honghuensis* from *Carassius auratus gibelio* broodfish to progeny[J]. Journal of Fish Diseases, 2020, 43(10): 1177-1184.
- [22] Dubuffet A, Smith J E, Solter L, et al. Specific detection and localization of microsporidian parasites in invertebrate hosts by using in situ hybridization[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2013, 79(1): 385-388.
- [23] Holzer A S, Sommerville C, Wootten R. Molecular studies on the seasonal occurrence and development of five myxozoans in farmed *Salmo trutta* L. [J]. Parasitology, 2006, 132(2): 193-205.
- [24] Bjork S J, Bartholomew J L. Invasion of *Ceratomyxa shasta* (Myxozoa) and comparison of migration to the intestine between susceptible and resistant fish hosts[J]. International Journal for Parasitology, 2010, 40(9): 1087-1095.
- [25] Markussen T, Agusti C, Karlsbakk E, et al. Detection of the myxosporean parasite *Parvicapsula pseudobranchicola* in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) using in situ hybridization (ISH)[J]. Parasites & Vectors, 2015, 8(105): 1-6.

Transovarial transmission of *Myxobolus honghuensis* in gibel carp, *Carassius auratus gibelio* (Bloch)

YANG Kun^{1,2}, ZHAI Kaixuan¹, XI Bingwen^{1,2}, CHEN Kai², XIE Jun², PAN Liangkun²

1. Wuxi Fisheries College, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081, China

2. Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China

Abstract: *Myxobolus honghuensis* is a parasitic pathogen that causes pharyngeal myxosporidiosis. The infection often results in massive mortality in cultured gibel carp *Carassius auratus gibelio* (Bloch). Currently, there is no effective drug for treating pharyngeal myxosporidiosis. Most myxosporeans have a complex life history involving two alternative hosts. Myxosporean infection in fish hosts occurs primarily through the horizontal transmission of actinosporean released by invertebrate hosts. Domestic researchers have performed many studies on the life history of myxosporea parasitized by *C. auratus gibelio*. Approximately 20 species of actinosporean have been discovered and reported. However, no invertebrate host and actinosporean have been found in *M. honghuensis*. In this study, gibel carp larvae were obtained by artificial insemination, hatched, and nursed in an indoor water circulation system with tap water at a temperature of (23±1) °C. Single tube semi-nested PCR, fluorescence quantitative PCR, and oligonucleotide fluorescence in situ hybridization (FISH) were used to detect *M. honghuensis* infection in brood stock tissues, eggs, and larvae. The overall infection rate of *M. honghuensis* in the 34 gibel carp females used in this study (A1–A22, B1–B12) was 50% to 75%. The positive infection rate in eggs and pseudobranch was higher than that in ovarian tissue samples. The pre-sporogenic stage of *M. honghuensis* was detected in the ovary, pseudobranch, kidney, and spleen of gibel carp. The 15 and 30 days post-hatch samples of gibel carp larvae (A1, A8, B8, and B9) obtained from infected females and completely cultured indoors were positive for *M. honghuensis* infection. The presence of *M. honghuensis* in the pseudobranch, gill, and kidney tissues of 15 days post-hatch larva was confirmed via FISH. The collective results reveal transovarian transmission of *M. honghuensis* in gibel carp.

Key words: *Carassius auratus gibelio*; *Myxobolus honghuensis*; transmission; PCR; FISH

Corresponding author: XI Bingwen. E-mail: xibw@ffrc.cn

DOI: 10.12264/JFSC2021-0261

河口水域鱼类生境质量评价方法研究进展

杜楠^{1, 2}, 张婷婷^{1, 3, 4}, 赵峰^{1, 2, 3, 4}, 张涛^{1, 3, 4}, 庄平^{1, 2, 3, 4}

1. 中国水产科学研究院东海水产研究所, 农业农村部东海与长江口渔业资源环境科学观测实验站, 上海 200090;
2. 南京农业大学无锡渔业学院, 江苏 无锡 214081;
3. 上海长江口渔业资源增殖与生态修复工程技术研究中心, 上海 200090;
4. 中国水产科学研究院长江口渔业生态重点实验室, 上海 200090

摘要: 河口水域是鱼类重要的栖息生境, 在渔业资源的可持续发展中占据重要地位。开展河口水域生境质量的评价研究, 对了解河口水域的生境功能现状以及提供科学管理依据具有重要意义。本文对河口水域鱼类生境质量评价的研究方法及应用进展进行综述, 主要集中在 3 个方面: (1) 基于鱼类数量分布特征: 通过鱼类的数量分布特征与环境因子之间的相关关系, 探究鱼类物种的适宜生境分布格局; (2) 基于鱼类生存表现特征: 筛选鱼类生活史各阶段的生存表现特征指标, 对不同功能类型的生境进行质量评价; (3) 基于鱼类的群落结构特征: 通过构建鱼类群落评价指数, 对河口水域鱼类生境质量进行综合评价。对河口水域鱼类生境质量的评价研究有助于深入了解河口渔业生态功能的变化机制, 并可为合理管控河口沿岸的人类活动、研发河口水域生境质量监测预警技术、科学开展河口生境保护和修复工作提供理论依据。

关键词: 河口水域; 鱼类生境质量; 数量分布特征; 生存表现特征; 群落结构特征

中图分类号: S931

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2021)12-1621-11

生境质量(habitat quality)是反映生态系统生境功能现状的重要指标^[1], 用于评价生态系统为个体、种群或群落提供适宜生存条件的能力^[2]。河口水域是许多鱼类的重要栖息生境, 发挥着育幼场、产卵场、索饵场和洄游通道等生态支持功能, 对保障渔业资源的可持续发展具有重要意义^[3-4]。然而, 河口沿岸地区经济发达、人口密度大, 这使河口水域的生态状况极易受到人类活动的影响。人类活动的不断加剧, 如水利工程建设、污染输入、过度捕捞等^[5-6], 使河口水域面临着诸多严峻的生态威胁(水环境恶化、污染加剧、生境萎缩、渔汛消失等), 导致河口水域的渔业资源衰退^[3]、生物多样性降低^[7]、物种生存性能下降^[8]。由于河口水域的生境质量水平在不断下降, 生境

功能逐渐退化^[9-10], 对渔业资源的健康发展产生了极大的负面影响。

本文从河口水域的环境特征及其为鱼类物种提供的生境功能角度出发, 梳理了国内外河口水域鱼类生境质量评价方法的研究进展, 主要集中在 3 个方面: (1) 基于鱼类数量分布特征: 通过鱼类的数量分布特征与环境因子之间的相关关系, 探究鱼类物种的适宜生境分布格局; (2) 基于鱼类生存表现特征: 筛选鱼类生活史各阶段的生存表现特征指标, 对不同功能类型的生境进行质量评价; (3) 基于鱼类的群落结构特征: 通过构建鱼类群落评价指数, 对河口水域鱼类生境质量进行综合评价。开展河口水域鱼类生境质量评价研究有助于了解河口水域的生境功能现状及其机制, 并

收稿日期: 2021-05-31; 修订日期: 2021-06-05.

基金项目: 国家重点研发计划项目(2019YFD0901201; 2018YFD0900802); 国家自然科学基金项目(32071584); 上海市自然科学基金项目(19ZR1470300); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(2020TD13).

作者简介: 杜楠(1997-), 男, 硕士研究生, 研究方向为河口生态学. E-mail: dn18751244520@126.com

通信作者: 庄平, 研究员. E-mail: pzhuang@ecsf.ac.cn

为河口渔业水域生态健康评估和管理提供科学依据。

1 河口水域的环境特征与生境功能

河口作为河流、海洋与近岸陆地之间的过渡水域,其环境受到三者之间相互影响^[11],构成独特的水域生境,支撑着河口丰富的渔业资源。河口水域具有较高的初级生产力,上游的淡水输入^[12]、河口附近城市的点源排放^[13]、河口近岸湿地生态系统(红树林^[14]、盐沼^[15])的横向交换为河口水域源源不断地输送营养物质。这使河口水域成为大量营养盐和有机碎屑的聚集地,是初级生产力产生和次级生产力转化的良好场所,使其具备较高的渔业生产力^[16]。河口水域受到河流输入和近海潮汐效应的双重影响,进一步塑造了其水体环境高度扰动性(浊度较高)和复杂性(盐度高异质性)的特点,这些环境特征为鱼类躲避天敌捕食提供了良好的藏匿条件^[17],以及为许多鱼类生活史关键阶段提供了重要的栖息条件。

河口水域独特的环境特征为许多重要鱼类物种提供了育幼场、产卵场、洄游通道等重要生境服务功能,具有极高的渔业经济和保护价值。已有研究表明河口水域是高质量的鱼类育幼场^[18],能够为许多鱼类的幼鱼阶段提供优质的生长发育和摄食条件。河口水域也是许多经济鱼类物种的进行繁殖产卵活动的重要场所,如棘头梅童鱼(*Collichthys lucidus*)^[19]、松江鲈(*Trachidermus fasciatus*)^[20]、小黄鱼(*Larimichthys polyactis*)^[21]等。此外,河口水域还是许多重要渔业物种的洄游通道,它们需要通过河口水域往返于淡水和海水之间满足其生殖和索饵的需要,如中华鲟(*Acipenser sinensis*)^[22]、日本鳗鲡(*Anguilla japonica*)^[23]、大西洋鲑(*Salmo salar*)等^[24]。

2 河口水域鱼类生境质量评价研究方法

河口水域鱼类生境质量评价研究方法主要以鱼类的数量分布特征、生存表现特征、群落结构特征作为评价依据,分别对鱼类适宜生境特征状况、鱼类不同功能类型生境质量、鱼类综合生境质量进行了评价研究探索。

2.1 鱼类的数量分布特征

鱼类的数量分布特征是评价生境质量水平的基础指标,常用的指标包括鱼类的丰度、密度、存在概率等^[25-26]。鱼类在自然水域中的分布具有一定“趋利避害”本能^[27-28],即鱼类会主动选择向适宜生存的水域环境中迁移。鱼类的生境选择导致在空间上呈现数量分布差异,能一定程度上反映不同区域的生境质量差异。许多学者以此作为河口水域鱼类生境质量评价研究的理论依据,运用广义可加模型(generalized additive model, GAM)^[29]、广义线性模型(generalized linear model, GLM)^[26]、增强回归树(boosted regression trees, BRT)^[30]、最大熵模型(maximum entropy model, MaxEnt)^[31]等统计模型以及构建栖息地适宜性指数(habitat suitability index, HIS)^[25],分析河口水域鱼类数量分布特征与环境因子之间的相关关系,以探究鱼类适宜生境的分布格局及其环境阈值范围。

O'Connor 等^[26]通过 GLM 研究了美洲鲈(*Alosa sapidissima*)、条纹鲈(*Morone saxatilis*)存在概率与溶解氧、盐度、时间、沿河距离等指标之间的相关关系,进而模拟预测两种幼鱼在美国哈德逊河河口的潜在的高密度聚集区。Stoner 等^[29]分析了美国纳威辛克河河口 6 年期间的美洲拟鲈(*Pseudopleuronectes americanus*)幼鱼捕捞数据,通过 GAM 确定了不同规格幼鱼存在概率与水温、盐度、底质有机质含量之间的关系,并揭示了不同规格幼鱼育幼场核心区域的动态变化规律。Vinagre 等^[25]和杨红等^[32]分别根据葡萄牙塔霍河河口的欧洲鲷(*Solea solea*)和塞内加尔鲷(*Solea senegalensis*)幼鱼密度、长江口的中华鲟幼鱼密度与水深、盐度、温度等指标之间的相关关系构建 HSI,确定了这些物种在河口水域育幼场的适宜分布范围。

通过鱼类的数量分布特征指标与环境因子之间的相关性,可以明确鱼类适宜生境的分布范围、潜在区域、时空变动格局等状况。但由于影响鱼类数量分布特征的环境因素较为复杂,加之摄食来源、捕食竞争、气候变化等难以量化的因素也会影响鱼类在水域中的数量分布,这使鱼类

在水域的数量分布特征呈现强烈的时空波动^[33], 无法进一步深入探究生境质量变化对鱼类数量分布的影响机制。

2.2 鱼类的生存表现特征

鱼类的生存表现特征是评价河口水域鱼类生境质量水平的功能指标, 常用指标包括幼鱼的生长发育指标^[34]和成鱼的繁殖性能指标^[35]。由于鱼类在生活史各阶段的能量分配策略不同, 导致其呈现不同的生存表现特征, 从而体现了其不同生活史阶段对生境功能的需求差异。在幼鱼阶段,

鱼类将获取的能量几乎全部用于体细胞的生长与蛋白质的合成^[36-37], 以获得快速的生长发育。在鱼类的繁殖期, 鱼类会将获取的能量以脂肪形式主要储存在肝脏中, 为性腺组织的发育和繁殖产卵活动提供营养物质和能量储备^[38-39]。鱼类的能量分配策略反映了不同生活史阶段的生存需求及其生境需求。因此, 许多研究以鱼类的生存表现特征作为河口水域鱼类生境质量评价依据, 主要在鱼类的育幼场(幼鱼的生长发育指标)和产卵场(成鱼的繁殖性能指标)应用较多(表 1)。

表 1 常用于评价河口水域鱼类生境质量的生理生化指标及其生物学意义
Tab. 1 Physiological and biochemical indexes commonly used to assess the quality of estuarine fish habitats and their biological significance

评价指标 evaluating index	生物学意义 biological significance	评价生境类型 evaluation of habitat type	参考文献 reference
RNA/DNA	鱼类体细胞中 DNA 含量较为稳定, RNA 含量的变化则反映了体内蛋白质的合成速度, RNA/DNA 比值能够反映鱼类体内蛋白质的合成速率, 主要用于评价鱼类的生长状况和营养水平。	育幼场	[40-41]
皮质醇浓度 cortisol concentration	当鱼类遭受外界环境胁迫时, 其中枢神经系统会促进皮质醇的合成与释放。因此, 鱼类体内皮质醇浓度常作为评估鱼类所处的环境压力指标。	育幼场	[42-43]
Fulton's K 条件指数 Fulton's K condition indices	Fulton's K 条件指数基于鱼类体长与体重之间的关系对鱼类健康形态进行评估, 表达式为 $K=1000(W/L^3)$ 。该指标假设基于给定长度的鱼类, 体重高的个体相较于体重轻的个体更为健康。	育幼场	[44-45]
耳石边缘增量宽度 marginal otolith increment width	耳石的生长与鱼类的生长密切相关, 其中基于耳石边缘增量宽度测量能够反映鱼类近期的生长速度, 是衡量鱼类生长状况、摄食状况、生境质量的有效指标。	育幼场	[8,46]
肝胰腺指数 HSI hepatosomatic index	表达式为 $HSI=100(HW/W)$, 反映鱼类肝胰腺发育状况。肝胰腺作为鱼类的供能组织, 为鱼类的生命活动提供能量来源。肝胰腺指数主要反映鱼类的健康水平和能量储存水平。	育幼场、产卵场	[47-48]
性腺指数 GSI gonadosomatic index	表达式为 $GSI=100(GW/W)$, 反映鱼类性腺组织的发育程度。性腺组织的发育程度决定了鱼类的产卵量。	产卵场	[35,48]
消化道指数 DSI digestivosomatic index	表达式为 $DSI=100(DW/W)$, 反映鱼类的摄食状况, 以评估生境的可捕食条件。	育幼场、产卵场	[18,35]
脂质含量 lipid content	脂质含量反映了鱼类的营养和能量储备水平。根据研究取样组织的不同, 分为肌肉脂质含量和肝脏脂质含量, 分别用于评价幼鱼的营养水平和成鱼的能量储备。	育幼场、产卵场	[49-50]

注: L 为鱼类体长, HW 为肝脏重量, GW 为性腺重量, DW 为消化道重量, W 为鱼类体重。
Note: L is fish body length; HW is liver weight; GW is gonad weight; DW is digestive tract weight; W is body weight.

2.2.1 鱼类育幼场生境质量评价研究 幼鱼阶段的能量分配策略侧重于生长发育, 但若幼鱼所处生境质量水平较差, 对幼鱼的生长发育造成了一定的环境压力, 幼鱼会在生长与生存之间进行权

衡选择。尤其在极端的环境压力条件下, 幼鱼会以牺牲生长为代价, 通过调节自身代谢和能量分配来应对外界环境的压力条件, 以优先满足自身生存^[36,51]。一般认为, 高质量的育幼场是更加有

利于幼鱼生长和存活的场所^[10]。因此, RNA/DNA 比值、耳石边缘增量宽度、Fulton's *K* 条件指数等反映幼鱼生长发育的特征指标可以用于区分育幼场生境质量差异, 幼鱼的皮质醇浓度可以用于评估生境的环境压力水平。

Amara 等^[52]通过对欧川鲈幼鱼的 RNA/DNA 比值、Fulton's *K* 条件指数、耳石边缘增量宽度进行比较, 对东英吉利海峡 3 个河口水域的鱼类育幼场生境质量进行评估, 并结合 Cd、Cr、Cu、Pb 等重金属浓度进行分析, 结果表明重金属污染是导致了 3 个河口水域育幼场生境质量下降的主要原因, 从而对幼鱼的生长发育产生了负面影响, 导致了鱼类育幼场功能下降。Yamashita 等^[18]以石鲈(*Platichthys bicoloratus*)幼鱼 RNA/DNA 比值、消化道指数、皮质醇浓度作为育幼场生境质量的评价指标, 比较了日本仙台湾河口水域与邻近近岸水域石鲈幼鱼的生境质量差异状况, 研究结果表明, 河口水域石鲈幼鱼的这 3 个指标均显著高于近岸水域, 即河口水域虽然使幼鱼遭受一定的环境压力, 但仍能够为幼鱼提供良好的生长发育条件, 相较于近岸水域仍是鱼类优质的育幼场。De Raedemaeker 等^[56]研究发现, 黄盖鲈(*Pseudopleuronectes yokohamae*)和欧洲鲈(*Platichthys flesus*)幼鱼的 RNA/DNA 比值、Fulton's *K* 条件指数呈现显著的时空分布差异, 尤其强调了 RNA/DNA 比值是短期时间尺度上指示生境质量的高敏感性指标, 并通过 GAM 分析进一步分析了幼鱼生长发育差异表现与环境特征、摄食特征之间的功能关系, 其研究结果进一步证明高质量育幼场生境特征能够促进幼鱼的生长。

2.2.2 鱼类产卵场生境质量评价研究 鱼类在繁殖期的能量分配策略侧重于能量的积累与性腺组织的发育, 但鱼类的繁殖表现会受到环境因素所影响^[54], 从而影响成鱼的性腺组织发育^[55]、繁殖力水平^[56]以及后代的生存能力^[57]。一般认为, 高质量的产卵场能够为鱼类提供较高的能量储备, 使其在繁殖期具备更强的生存和生殖能力^[58-59]。因此, 性腺指数、肝胰腺指数等反映鱼类繁殖性能的特征指标可以用于评价产卵场生境质量水平。

Lloret 等^[35]为了确定水域保护等级、底质类型、水深对白鲷(*Diplodus sargus*)繁殖性能的影响, 以白鲷的肝胰腺指数、性腺指数、消化道指数、脂质含量作为其繁殖性能的评价指标。研究结果表明, 在保护区水域、岩石底质水域、深层水域相较于开放水域、沙质底质水域、浅层水域更有利于白鲷进行繁殖产卵活动, 是白鲷产卵场高质量的环境特征。Vitale 等^[48]根据 1996 年至 2004 年大西洋鳕(*Gadus morhua*)的捕捞数据, 以成熟雌鱼的比例以及个体的肝胰腺指数、性腺指数、Fulton's *K* 条件指数的表现作为区分大西洋鳕产卵场与非产卵场的判断指标, 并绘制了产卵场核心区域的时空变动趋势, 为开展渔业管理工作提供了参考。

2.3 鱼类的群落结构特征

鱼类的群落结构特征是评价河口水域鱼类生境质量水平的综合指标, 常用指标主要包括物种多样性、物种丰度、营养结构特征、生境利用类型等^[60]。首先, 鱼类作为水域生态系统中重要生物组成部分, 鱼类群落的物种多样性及物种丰度差异能够在一定程度上反映生境质量水平^[61]。其次, 鱼类群落的营养结构特征主要通过鱼类的摄食类型进行描述, 如滤食性鱼类、食鱼性鱼类、底栖动物食性鱼类等, 这一指标反映了水域生境的物质循环和能量流动状况^[62-63]。此外, 河口水域作为鱼类生活史关键阶段的重要栖息地, 鱼类对河口水域不同生境功能的利用现状^[64], 反映了河口水域生境功能及质量状况。

1981 年 Karr 等^[65]首次提出了鱼类生物完整性指数(fish-index of biological integrity, F-IBI), 根据鱼类群落的种类组成、营养结构、健康状况等 12 项指标, 通过评价指标的筛选、指标权重的确定、评分标准的建立等步骤, 开创了利用鱼类群落结构特征指标用于水域生态质量评价研究的先河。随后, 越来越多的研究者构建了鱼类群落指数工具用于河口水域鱼类生境质量评价, 如美国的河口生物完整性指数(estuarine biotic integrity, EBI)^[66-67]、南非的河口鱼类群落指数(estuarine fish community index, EFCI)^[68]、葡萄牙的河口鱼

类评价指数(estuarine fish assessment index, EFAI)^[69]、法国的河口和潟湖鱼类指数(estuarine and lagoon fish index, ELFI)^[70]等(表 2)。如 Breine 等^[71]建立了基于特定区域的河口生物完整性指数(zone-specific fish-based estuarine biotic index, Z-EBI), 对比利时塞舍尔德河口生境质量进行评估, 并结合对不同河口水域的人类活动压力指标分析, 结果表明 Z-EBI 的评价结果成功验证了不同河口水域鱼类生境质量差异状况。Ramos 等^[72]分别对幼鱼和成鱼构建 EBI、AFI、EFAI, 评估了 4 种不同污染程度河口水域的鱼类生境质量状况, 研究结果显示幼鱼在应对环境压力的表现较成鱼更为敏感, 表明以幼鱼构建鱼类群落指数具有更好的预警作用。Viana 等^[73]分别应用 EFCI、TFCI、EBI 对帕拉河口 3 个受不同水平工业活动影响的水域进行生境质量评估, 3 种鱼类群落评价指数

表 2 常用于河口水域鱼类生境质量评价的鱼类群落指数
Tab. 2 Fish community indices commonly used in estuarine habitat quality evaluation

鱼类群落指数 fish community index	应用国家 application country		评价指标 evaluating index	参考文献 reference
河口生物完整性指数 estuarine biotic integrity index	美国, 英国	物种丰度及组成	鱼类物种数量, 鱼类物种丰度, 丰度达到 90%的鱼类物种数量, 底层栖息的鱼类数量百分比	[66-67]
		生境利用类型	河口定居性鱼类物种数量, 利用河口育幼场功能的鱼类数量, 在河口产卵的鱼类数量	
		健康状况	体型异常的鱼类数量百分比	
河口鱼类群落指数 estuarine fish community index	南非	物种丰度及组成	鱼类物种数量, 稀有或濒危鱼类物种数量, 外来鱼类物种数量, 相对于参考集合的鱼类物种丰度, 丰度达到 90%的鱼类物种数量	[68]
		生境利用类型	河口定居性鱼类物种数量, 依赖河口栖息的海洋鱼类物种数量, 河口定居性鱼类的相对丰度, 依赖河口栖息的海洋鱼类的相对丰度	
		营养结构	底栖动物食性鱼类物种数量, 食鱼性鱼类物种数量, 底栖动物食性鱼类物种的相对丰度, 食鱼性鱼类物种的相对丰度	
AZTI 鱼类指数 AZTI's fish index	西班牙	物种丰度及组成	鱼类物种数量, 污染指示物种的数量百分比, 外来鱼类物种的数量百分比, 比目鱼数量的百分比	[74-75]
		生境利用类型	河口定居性鱼类物种数量	
		营养结构	杂食性鱼类数量百分比, 鱼食性鱼类数量百分比	
过渡性鱼类分类指数 transitional fish classification index	英国	健康状况	健康状况受影响的鱼类的数量百分比	[76]
		物种丰度及组成	物种数量, 相对于参考集合的物种组成, 指示物种的存在, 相对于参考集合的物种相对丰度, 丰度达到 90%的物种数量	
		生境利用类型	河口定居性鱼类物种数量, 依赖河口栖息的海洋鱼类物种数量	
河口和潟湖鱼类指数 estuarine and lagoon fish index	法国	营养结构	摄食功能群的组成, 底栖动物食性鱼类物种数量, 食鱼性鱼类物种数量	[70]
		物种丰度及组成	鱼类总密度, 鱼类总丰度, 底层栖息鱼类密度	
		生境利用类型	河口定居性鱼类密度, 海洋迁徙幼鱼的密度;淡水鱼类的密度, 海淡水洄游鱼类的密度	
河口鱼类评价指数 estuarine fish assessment index	葡萄牙	物种丰度及组成	鱼类物种丰度, 鱼类物种数量, 外来物种数量, 敏感性鱼类数量	[69]
		生境利用类型	海洋迁徙鱼类数量的百分比, 河口定居性鱼类数量的百分比	
		营养结构	食鱼性鱼类数量的百分比	

的评价结果均呈现高度相似的结果, 研究结果表明受工业活动影响最大的河口水域其生境质量水平最低。

3 讨论与展望

鱼类的数量分布特征是了解鱼类在河口水域的适宜生境分布格局的基础, 但仅通过与环境因子的统计学关系了解鱼类物种在河口水域的分布格局, 无法深入解释造成鱼类分布差异的原因与机制^[26]。鱼类的生存表现特征则考虑了鱼类生活史各阶段的生存需求以及对河口水域生境功能的利用, 相较于鱼类的数量分布特征, 更有利于从功能机制角度了解河口水域鱼类生境质量水平及现状。以各种鱼类群落结构特征指标开发的各类鱼类评价指数, 可从生态系统水平对河口水域鱼类生境质量状况进行综合评价^[77]。开展河口水域鱼类生境质量评价方法的研究有助于了解河口渔业生态功能的变化机制, 并可为开展河口水域生境管理保护工作提供科学指导意见。

3.1 为合理管控河口沿岸的人类活动提供理论依据

河口是全球生态价值最高的生态系统之一, 但同时也是最易受到人类活动威胁的沿海生态系统之一^[78]。许多关于河口水域鱼类生境质量评价研究证实, 污染输入^[55]、港口建设^[79]、滩涂围垦^[80]等人类活动是导致河口水域生境质量下降的主要原因。这些研究结果为规划河口沿岸的人类活动, 以避免其对河口生态环境造成负面影响提供了有效的借鉴。因此, 河口的沿岸城市在注重经济发展的同时, 要对各项人类活动进行合理管控, 尽可能在河口沿岸的经济发展与生态保护之间寻求平衡。

3.2 为研发河口水域生境质量监测预警技术提供理论基础

在许多关于河口水域生境质量评价的研究中, 一些学者强调了河口水域生境质量水平与环境因子之间的联系, 这为开展河口水域生境质量评价监测预警技术的研究提供了一定的理论基础。当前, 空间信息技术的发展广泛地应用于渔业水域的生态监测领域^[81], 这为建立适用于河口水域的

生境质量监测预警技术提供了必要的技术支持。根据河口水域生境质量水平与环境因子之间的关系, 借助空间信息技术有望实现对河口水域生境质量的变动趋势做出一定的监测预判, 以便及时开展科学的河口生境管理措施。

3.3 为科学开展河口生境保护和修复工作提供理论指导

河口水域生境质量评价方法的应用, 对了解河口水域生境质量水平的分布状况提供了极大的帮助, 能够为开展河口生境保护和修复工作提供了理论指导。针对在河口水域生境质量较高区域可以采取建立生境保护区的管理策略, 以减少人类活动对其产生的干扰。针对河口水域生境质量较低的区域可以开展生境修复措施。目前已经开展了多种适用于河口水域的生境修复工作, 如人工牡蛎礁的建立^[82]、海草床的修复^[83]、底栖动物的投放^[84]等。这些生境修复措施的实施为渔业物种在净化水质、创造良好的摄食条件、适宜栖息的物理条件等方面产生了显著的效果。因此, 在以后开展河口水域生境质量的评价研究, 要试图为开展河口水域生境保护及修复工作提供指导意见, 深度剖析影响生境质量的分布趋势以及造成生境质量下降的外来因素。

参考文献:

- [1] Le Pape O, Gilliers C, Riou P, et al. Convergent signs of degradation in both the capacity and the quality of an essential fish habitat: state of the Seine estuary (France) flatfish nurseries[J]. *Hydrobiologia*, 2007, 588(1): 225-229.
- [2] Johnson, Matthew D. Measuring habitat quality: a review[J]. *Condor*, 2007, 109: 489-504.
- [3] Zhuang P. Habitat and aquatic fauna resources in the Yangtze River Estuary[J]. *Science*, 2012, 64(2): 19-24. [庄平. 长江口生境与水生动物资源[J]. *科学*, 2012, 64(2): 19-24.]
- [4] Lamberth S J, Turpie J K. The role of estuaries in south African fisheries: economic importance and management implications[J]. *South African Journal of Marine Science*, 2003, 25(1): 131-157.
- [5] Elliott M, Whitfield A K. Challenging paradigm in estuarine ecology and management[J]. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 2011, 94(4): 306-314.
- [6] Claassens L, Barnes R S K, Wasserman J, et al. Knysna

- estuary health: ecological status, threats and options for the future[J]. *African Journal of Aquatic Science*, 2020, 45(1): 65-82.
- [7] James N C, Cowley P D, Whitfield A K. The marine fish assemblage of the east Kleinemonde estuary over 20 years: declining abundance and nursery function? [J]. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2018, 214: 64-71.
- [8] Burke J S, Peters D S, Hanson P J. Morphological indices and otolith microstructure of Atlantic croaker, *Micropogonias undulatus*, as indicators of habitat quality along an estuarine pollution gradient[J]. *Environmental Biology of Fishes*, 1993, 36(1): 25-33.
- [9] Dobson A, Lodge D, Alder J, et al. Habitat loss, trophic collapse, and the decline of ecosystem services[J]. *Ecology*, 2006, 87(8): 1915-1924.
- [10] Gibson R N. Impact of habitat quality and quantity on the recruitment of juvenile flatfishes[J]. *Netherlands Journal of Sea Research*, 1994, 32(2): 191-206.
- [11] Miró J M, Megina C, Donázar-Aramendía I, et al. Environmental factors affecting the nursery function for fish in the main estuaries of the Gulf of Cadiz (south-west Iberian Peninsula)[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 737: 139614.
- [12] Statham P J. Nutrients in estuaries-an overview and the potential impacts of climate change[J]. *Science of the Total Environment*, 2012, 434: 213-227.
- [13] Buesseler C K O. Submarine groundwater discharge of nutrients and copper to an urban subestuary of Chesapeake Bay (Elizabeth River)[J]. *Limnology and Oceanography*, 2004, 49(2): 376-385.
- [14] Souza M F L, Gomes V R, Freitas S S, et al. Net ecosystem metabolism and nonconservative fluxes of organic matter in a tropical mangrove estuary, Piauí River (NE of Brazil)[J]. *Estuaries and Coasts*, 2009, 32(1): 111-122.
- [15] Zhou J, Wu Y, Zhang J, et al. Carbon and nitrogen composition and stable isotope as potential indicators of source and fate of organic matter in the salt marsh of the Changjiang estuary, China[J]. *Chemosphere*, 2006, 65(2): 310-317.
- [16] Meynecke J O, Lee S Y, Duke N C, et al. Relationships between estuarine habitats and coastal fisheries in Queensland, Australia[J]. *Bulletin of Marine Science*, 2007, 80(3): 773-793.
- [17] Onabule O A, Mitchell S B, Couceiro F. The effects of freshwater flow and salinity on turbidity and dissolved oxygen in a shallow macrotidal estuary: a case study of Portsmouth Harbour[J]. *Ocean and Coastal Management*, 2020, 191: 105179.
- [18] Yamashita Y, Tominaga O, Takami H, et al. Comparison of growth, feeding and cortisol level in *Platichthys bicoloratus* juveniles between estuarine and nearshore nursery grounds[J]. *Journal of Fish Biology*, 2003, 63(3): 617-630.
- [19] Qu Y J, Liao R, Li J E, et al. Studies on the spawning period and growth of *Collichthys lucidus* in estuary of Pearl River based on otolith daily annulus[J]. *Journal of Oceanography in Taiwan Strait*, 2012, 31(1): 85-88. [区又君, 廖锐, 李加儿, 等. 利用耳石日轮研究珠江口棘头梅童鱼的产卵期及生长[J]. *台湾海峡*, 2012, 31(1): 85-88.]
- [20] Onikura N, Takeshita N, Matsui S, et al. Spawning grounds and nests of *Trachidermus fasciatus* (Cottidae) in the Kashima and Shiota estuaries system facing Ariake Bay, Japan[J]. *Ichthyological Research*, 2002, 49(2): 198-201.
- [21] Xu Z L, Cheng J J. Analysis on migratory routine of *Larimichthys polyactis*[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2009, 16(06): 931-940. [徐兆礼, 陈佳杰. 小黄鱼洄游路线分析[J]. *中国水产科学*, 2009, 16(6): 931-940.]
- [22] Zhao F, Zhuang P, Zhang T, et al. New timing record of juvenile *Acipenser sinensis* appearing in the Yangtze Estuary[J]. *Marine Fisheries*, 2015, 37(3): 288-292. [赵峰, 庄平, 张涛, 等. 中华鲟幼鱼到达长江口时间新记录[J]. *海洋渔业*, 2015, 37(3): 288-292.]
- [23] Zhi Y L, Hou J L, Zhang T, et al. Spatiotemporal distribution patterns of elver (*Anguilla japonica*) in the Yangtze River Estuary of China[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2013, 32(10): 2750-2755. [智玉龙, 侯俊利, 张涛, 等. 长江口日本鳗鲡苗时空分布特征[J]. *生态学杂志*, 2013, 32(10): 2750-2755.]
- [24] Chalifour L, Scott D C, MacDuffee M, et al. Habitat use by juvenile salmon, other migratory fish, and resident fish species underscores the importance of estuarine habitat mosaics[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2019, 625: 145-162.
- [25] Vinagre C, Fonseca V, Cabral H, et al. Habitat suitability index models for the juvenile soles, *Solea solea* and *Solea senegalensis*, in the Tagus estuary: defining variables for species management[J]. *Fisheries Research*, 2006, 82(1-3): 140-149.
- [26] Megan P, Juanes F, McGarigal K, et al. Describing juvenile American shad and striped bass habitat use in the Hudson River estuary using species distribution models[J]. *Ecological Engineering*, 2012, 48: 101-108.
- [27] Lecchini D, Dixon D L, Lecellier G, et al. Habitat selection

- by marine larvae in changing chemical environments[J]. Marine Pollution Bulletin, 2017, 114(1): 210-217.
- [28] Komyakova V, Swearer S E. Contrasting patterns in habitat selection and recruitment of temperate reef fishes among natural and artificial reefs[J]. Marine Environmental Research, 2019, 143: 71-81.
- [29] Stoner A W, Manderson J P, Pessutti J P. Spatially explicit analysis of estuarine habitat for juvenile winter flounder: combining generalized additive models and geographic information systems[J]. Marine Ecology Progress Series, 2001, 213: 253-271.
- [30] Amorim E, Ramos S, Elliott M, et al. Dynamic habitat use of an estuarine nursery seascape: ontogenetic shifts in habitat suitability of the European flounder (*Platichthys flesus*)[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2018, 506: 49-60.
- [31] Linhoss A C, Camacho R, Ashby S. Oyster habitat suitability in the northern Gulf of Mexico[J]. Journal of Shellfish Research, 2007, 35(4): 841-849.
- [32] Yang H, Ding J, Wang C F. et al. Assessment on the habitat suitability of *Chinese sturgeon* juvenile in the Yangtze River Estuary[J]. Marine Science Bulletin, 2012, 31(06): 675-679. [杨红, 丁骏, 王春峰, 等. 长江口中华鲟幼鲟栖息地适宜性评价[J]. 海洋通报, 2012, 31(6): 675-679.]
- [33] Rose K A. Why are quantitative relationships between environmental quality and fish populations so elusive? [J]. Ecological Applications, 2000, 10(2): 367-385.
- [34] Piazza B P, Peyre R K L. Using *Gambusia affinis* growth and condition to assess estuarine habitat quality: a comparison of indices[J]. Marine Ecology Progress, 2010, 412(12): 231-245.
- [35] Lloret J, Planes S. Condition, feeding and reproductive potential of white seabream *Diplodus sargus* as indicators of habitat quality and the effect of reserve protection in the northwestern Mediterranean[J]. Marine Ecology Progress Series, 2003, 248: 197-208.
- [36] Biro P A, Post J R, Abrahams M V. Ontogeny of energy allocation reveals selective pressure promoting risk-taking behavior in young fish cohorts[J]. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 2005, 272(1571): 1443-1448.
- [37] Post J R, Parkinson E A. Energy allocation strategy in young fish: allometry and survival[J]. Ecology, 2001, 82(4): 1040-1051.
- [38] Do Carmo Silva J P, Da Costa M R, Araújo F G. Energy acquisition and allocation to the gonadal development of *Cynoscion leiachus* (Perciformes, Sciaenidae) in a tropical Brazilian bay[J]. Marine Biology Research, 2019, 15(2): 170-180.
- [39] Grande M, Murua H, Zudaire I, et al. Energy allocation strategy of skipjack tuna *Katsuwonus pelamis* during their reproductive cycle[J]. Journal of Fish Biology, 2016, 89(5): 2434-2448.
- [40] Chen Q T, Hu B, Zhang J N. Application of RNA/DNA ratio in aquatic animal research[J]. Feed Industry, 2008, 29(2): 30-31. [陈庆堂, 胡兵, 张蕉南. RNA/DNA 比值在水产动物研究中的应用[J]. 饲料工业, 2008, 29(2): 30-31.]
- [41] Sivaraman G K, Barat A, Ali S, et al. Prediction of fish growth rate and food availability in the Himalayan waterbodies by estimation of RNA/DNA ratios[J]. The IUP Journal of Genetics and Evolution, 2011, 4(3): 15-19.
- [42] Wendelaar B S E. The stress response in fish[J]. Physiological Reviews, 1997, 77(3): 591-625.
- [43] Gesto M, Hernández J, López-Patiño M A, et al. Is gill cortisol concentration a good acute stress indicator in fish? a study in rainbow trout and zebrafish[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology, 2015, 188: 65-69.
- [44] Sutton S G, Bult T P, Haedrich R L. Relationships among fat weight, body weight, water weight, and condition factors in wild Atlantic salmon parr[J]. Transactions of the American Fisheries Society, 2000, 129(2): 527-538.
- [45] Froese R. Cube law, condition factor and weight-length relationships: history, meta-analysis and recommendations[J]. Journal of Applied Ichthyology, 2006, 22(4): 241-253.
- [46] Gilliers C, Amara R, Bergeron J P. Comparison of growth and condition indices of juvenile flatfish in different coastal nursery grounds[J]. Environmental Biology of Fishes, 2004, 71(2): 189-198.
- [47] Cantafaro A, Ardizzone G, Enea M, et al. Assessing the importance of nursery areas of European hake (*Merluccius merluccius*) using a body condition index[J]. Ecological Indicators, 2017, 81: 383-389.
- [48] Vitale F, Börjesson P, Svedäng H, et al. The spatial distribution of cod (*Gadus morhua* L.) spawning grounds in the Kattegat, eastern North Sea[J]. Fisheries Research, 2008, 90(1-3): 36-44.
- [49] Amara R, Méziane T, Gilliers C, et al. Growth and condition indices in juvenile sole *Solea solea* measured to assess the quality of essential fish habitat[J]. Marine Ecology Progress

- Series, 2007, 351: 201-208.
- [50] Jones C L, Anderson T W, Edwards M S. Evaluating eel-grass site quality by the settlement, performance, and survival of a marine fish[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2013, 445: 61-68.
- [51] Mogensen S, Post J R. Energy allocation strategy modifies growth-survival trade-offs in juvenile fish across ecological and environmental gradients[J]. *Oecologia*, 2012, 168(4): 923-933.
- [52] Amara R, Selleslagh J, Billon G, et al. Growth and condition of 0-group European flounder, *Platichthys flesus* as indicator of estuarine habitat quality[J]. *Hydrobiologia*, 2009, 627(1): 87-98.
- [53] De Raedemaeker F, Brophy D, O'Connor I, et al. Dependence of RNA: DNA ratios and Fulton's *K* condition indices on environmental characteristics of plaice and dab nursery grounds[J]. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2012, 98: 60-70.
- [54] Faria A M, Lopes A F, Silva C S E, et al. Reproductive trade-offs in a temperate reef fish under high pCO₂ levels[J]. *Marine Environmental Research*, 2018, 137: 8-15.
- [55] Marteinsdottir G, Begg G A. Essential relationships incorporating the influence of age, size and condition on variables required for estimation of reproductive potential in Atlantic cod *Gadus morhua*[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2002, 235: 235-256.
- [56] Morgan M J, Lilly G R. The impact of condition on reproduction in flemish cap cod[J]. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science*, 2006, 37: 81-86.
- [57] Brooks S, Tyler C R, Sumpter J P. Egg quality in fish: what makes a good egg?[J]. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 1997, 7(4): 387-416.
- [58] Dutil J D, Lambert Y. Natural mortality from poor condition in Atlantic cod (*Gadus morhua*)[J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2000, 57(4): 826-836.
- [59] Baker R L. Condition and size of damselflies: a field study of food limitation[J]. *Oecologia*, 1989, 81(1): 111-119.
- [60] Pérez-Domínguez R, Maci, S, Courrat, A, et al. Current developments on fish-based indices to assess ecological-quality status of estuaries and lagoons[J]. *Ecological Indicators*, 2012, 23: 34-45.
- [61] Aguilar-Medrano R, Durand J R, Cruz-Escalona V H, et al. Fish functional groups in the San Francisco estuary: understanding new fish assemblages in a highly altered estuarine ecosystem[J]. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2019, 227: 106331.
- [62] Shen C, Li J, Kang B. Trophic Structure of Fish Community in the Minjiang River Estuary[J]. *Journal of Jimei University (Natural Science Edition)*, 2020, 25(1): 8-15. [沈忱, 李军, 康斌. 闽江口鱼类群落营养结构的探究[J]. 集美大学学报(自然科学版), 2020, 25(1): 8-15.]
- [63] Zhang B, Wu Q, Jin X S. Feeding ecology of fish assemblages and its variations in the Laizhou Bay[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2013, 34(2): 1-9. [张波, 吴强, 金显仕. 莱州湾鱼类群落的营养结构及其变化[J]. 渔业科学进展, 2013, 34(2): 1-9.]
- [64] Strydom N A, Kisten Y. Review of fish life history strategies associated with warm temperate South African estuaries and a call for effective integrated management[J]. *African Journal of Aquatic Science*, 2020, 45(1-2): 217-227.
- [65] Karr J R. Ecological perspective on water quality goals[J]. *Environmental Management*, 1981, 5(1): 55-68.
- [66] Chun K, Weaver M J, Deegan L A. Assessment of fish communities in New England embayments: application of the estuarine biotic integrity index[J]. *The Biological Bulletin*, 1996, 191(2): 320-321.
- [67] Deegan L A, Finn J T, Ayvazian S G, et al. Development and validation of an estuarine biotic integrity index[J]. *Estuaries*, 1997, 20(3): 601-617.
- [68] Harrison T D, Whitfield A K. A multi - metric fish index to assess the environmental condition of estuaries[J]. *Journal of Fish Biology*, 2004, 65(3): 683-710.
- [69] Cabral H N, Fonseca V F, Gamito R, et al. Ecological quality assessment of transitional waters based on fish assemblages in Portuguese estuaries: the Estuarine Fish Assessment Index (EFAI)[J]. *Ecological Indicators*, 2012, 19: 144-153.
- [70] Delpech C, Courrat A, Pasquaud S, et al. Development of a fish-based index to assess the ecological quality of transitional waters: the case of French estuaries[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2010, 60(6): 908-918.
- [71] Breine J, Quataert P, Stevens M, et al. A zone-specific fish-based biotic index as a management tool for the Zeeschelde estuary (Belgium)[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2010, 60(7): 1099-1112.
- [72] Ramos S, Cabral H, Elliott M. Do fish larvae have advantages over adults and other components for assessing estuarine ecological quality? [J]. *Ecological Indicators*, 2015, 55: 74-85.
- [73] Viana A P, Frédou F L, Frédou T. Measuring the ecological integrity of an industrial district in the Amazon estuary, Bra-

- zil[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2012, 64(3): 489-499.
- [74] Borja A, Franco J, Valencia V, et al. Implementation of the European water framework directive from the Basque country (northern Spain): a methodological approach[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2004, 48(3-4): 209-218.
- [75] Uriarte A, Borja A. Assessing fish quality status in transitional waters, within the European water framework directive: Setting boundary classes and responding to anthropogenic pressures[J]. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 2009, 82(2): 214-224.
- [76] Coates S, Waugh A, Anwar A, et al. Efficacy of a multi-metric fish index as an analysis tool for the transitional fish component of the water framework directive[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2007, 55(1-6): 225-240.
- [77] Souza G B G, Vianna M. Fish-based indices for assessing ecological quality and biotic integrity in transitional waters: a systematic review[J]. *Ecological Indicators*, 2020, 109: 105665.
- [78] Barbier E B, Hacker S D, Kennedy C, et al. The value of estuarine and coastal ecosystem services[J]. *Ecological Monographs*, 2011, 81(2): 169-193.
- [79] Able K W, Manderson J P, Studholme A L. Habitat quality for shallow water fishes in an urban estuary: the effects of man-made structures on growth[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 1999, 187: 227-235.
- [80] SuFeng X, Tao S, Heyue Z, Dongdong S. Suitable habitat mapping in the Yangtze River Estuary influenced by land reclamations[J]. *Ecological Engineering*, 2016, 97: 64-43.
- [81] Zhang T T, Zhang T, Hou J L, et al. Application of spatial information technologies in monitoring and assessment of fishery resources and ecological environment[J]. *Marine Fisheries*, 2014, 36(3): 272-281. [张婷婷, 张涛, 侯俊利, 等. 空间信息技术在渔业资源及生态环境监测与评价中的应用[J]. *海洋渔业*, 2014, 36(3): 272-281.]
- [82] Anderson L, Sacks P, Donnelly M, et al. Oyster reef enhancement utilizing gardened oysters in a subtropical estuary[J]. *Restoration Ecology*, 2019, 27(5): 966-973.
- [83] Leschen A S, Ford K H, Evans N T. Successful eelgrass (*Zostera marina*) restoration in a formerly eutrophic estuary (Boston Harbor) supports the use of a multifaceted watershed approach to mitigating eelgrass loss[J]. *Estuaries and Coasts*, 2010, 33(6): 1340-1354.
- [84] Shen X Q, Chen Y Z, Quan W M, et al. Restoration effect of benthos on the ecological environment of the Changjiang River estuary[J]. *Journal of Fisheries*, 2007, 31(2): 199-203. [沈新强, 陈亚瞿, 全为民, 等. 底栖动物对长江口水域生态环境的修复作用[J]. *水产学报*, 2007, 31(2): 199-203.]

Research progress on evaluation methods of fish habitat quality in estuaries

DU Nan^{1,2}, ZHANG Tingting^{1,3,4}, ZHAO Feng^{1,2,3,4}, ZHANG Tao^{1,3,4}, ZHUANG Ping^{1,2,3,4}

1. Scientific Observing and Experimental Station of Fishery Resources and Environment of the East China Sea and Yangtze Estuary, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China;
2. Wuxi Fisheries College, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081, China;
3. Shanghai Engineering Research Center of Fisheries Resources Enhancement and Ecological Restoration of the Yangtze Estuary, Shanghai 200090, China;
4. Key Laboratory of Fisheries Ecology of the Yangtze Estuary, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China

Abstract: Estuary is an essential habitat for fish, occupying an important position in the sustainable development of fishery resources. Carrying out evaluation research on estuary habitat quality is of great significance for understanding the status of estuary habitat functions and providing management bases. In this paper, the research methods and application progress of estuarine fish habitat quality assessment are reviewed, mainly focusing on three aspects: (1) based on the quantity distribution characteristics of fish, through the correlation between the quantity distribution characteristics of fish and environmental factors, exploring the suitable habitat distribution pattern of fish species; (2) based on the survival performance characteristics of fish, screening the survival performance characteristics indicators of each stage of fish life history and evaluating the quality of different types of habitats; and (3) based on the community structure characteristics of fish, comprehensive evaluating estuary fish habitat quality by constructing a fish community evaluation index. The evaluation of habitat quality of estuarine fish is helpful for understanding the change mechanism of estuarine fishery ecological function, providing a theoretical basis for the rational control of human activities along estuaries, the development of monitoring and early warning techniques for estuarine habitat quality, and the scientific implementation of estuarine habitat protection and restoration.

Key words: estuary; fish habitat quality; quantity distribution characteristics; survival performance characteristics; community structure characteristics

Corresponding author: ZHUANG Ping. E-mail: pzhuang@ecsf.ac.cn

《中国水产科学》征稿简则

《中国水产科学》以反映水产科学领域的最新进展、最新成果、最新技术和方法为办刊方向,主要刊载水产科学基础研究、水产生物病害与防治、水产生物营养与饲料、渔业生态和水域环境保护、水产养殖与增殖、水产资源、海水捕捞以及水产品保鲜、加工与综合利用等方面的研究论文,少量刊载综述和学术动态、书讯等。对于国家级、省部级基金项目资助的较高水平研究论文优先录用,尤其欢迎中外合作以及国外基金资助的研究成果与论文。

总体要求与说明

1. 本刊只接受原创性论文。署名作者应为主要参加研究的人员,能够对研究内容及结果负责。

2. 对于国家重大、重点项目及基金项目有突破性进展、重要理论发现等方面的研究成果和论文,本刊承诺将在最短时间内予以优先发表。

3. 提交论文时,请通过本刊网上投稿系统进行投稿及查询稿件信息 网址: www.fishscichina.com。本编辑部只受理通过网上投稿系统投来的稿件。

4. 本刊对来稿有删改权,必要时返回作者修改并清稿;未录用的稿件一律退还作者。论文发表后,其著作权归作者所有。论文发表前清样将返回作者校核与确认。论文一经发表,文责由作者自负,编辑版权归本刊所有;本刊将酌付稿酬,并赠送 1~2 份当期期刊和 10 份论文单行本。

5. 来稿被正式录用后,根据实际排版页数收取作者版面费和审稿费,加急发表酌情加收部分费用。

6. 凡在本刊发表的论文,均视为已获得作者著作权的使用许可(包括各种介质的使用许可),本刊有权将所出版的刊物加入各相关网络、数据库,或制成光盘版。作者著作权的使用费包括在稿酬中,不再另外支付,作者如有异议,请务必在投稿时声明。

7. 凡经本刊审定录用的稿件均可在本刊网络版上首发,网络首发论文视同正式发表。

写作要求

1. **全文** 请用 word 文档格式排版:正文汉字体为 5 号宋体,外文字母及符号为 5 号 Times New Roman 体;大小写、正斜体、上下角标、数字和易混淆的字母必须书写清楚,文中物种名首次出现时,应在其后面的括号中标注拉丁学名,拉丁学名在文中首次出现时不能缩写。

2. **页首信息** 作者排序与作者单位要明确、没有争议,基金项目要注明立项主管单位(如科技部)、项目名称及编号;应提供第一作者姓名、出生年月、性别、职称、学位、研究方向及 E-mail 地址;注明通信作者姓名、职称、研究方向与 E-mail。

3. **摘要** 应为独立完整的、第 3 人称的报道性短文,中文摘要要求 400~600 字,包括研究目的、研究方法、主要结果和结论;英文摘要要求大摘要,除上述信息外,还应包括研究背景以及讨论中的重要信息,不少于 600 个英文单词。

4. **正文主体** 至少应包括 4 个独立部分,即前言、材料与方法、结果、讨论。必要时应有结论部分。

5. **图** 应有自明性,必要时应有图注解符号含义、注

明实验参数。图题信息要完整,图片应提供 JPG 或 EPS 格式电子文本,必要时需按编辑部要求提供原格式图片。照片图应清晰,黑白照片分辨率不低于 600 dpi,彩色照片分辨率不低于 300 dpi。欢迎高清晰度、质量好的彩色照片。图中文字内容要求中、英文双语。

6. **表** 要求采用三线表,表中尽量不使用竖线和斜线,必要时可适当添加线段。表题信息要完整。表自明性要强,必要时应用注解。表中各栏目文字内容及注解要求中、英文双语。图表重复时,提倡留表删图。

7. **关键词** 3~8 个,中、英文要对应,尽量选取能反映论文主题的、规范的名词术语。

8. **参考文献** 按中国国家标准化管理委员会于 2015 年 5 月 15 日发布的 GB/T 7714-2015《信息与文献 参考文献著录规则》著录,采用顺序编码制,即按其在正文中出现顺序连续编码,在正文中以中括号标注于引用处右上角。西文人名、西文刊名中,缩写点一律省略代以空格,人名按姓前名后排列。每条文献的题名后请注明文献类型:期刊论文[J],专著[M],论文集[C],报纸文章[N],学位论文[D],报告[R],标准[S],专利[P],类型不明的文献[Z]。公开发行的专著、论文集、报告集等必须注明出版地与出版社。例如:

[期刊] [序号] 作者(不超过 3 人者全部写出,超过者只写前 3 名,后加“等”或“et al.”作者之间用逗号间隔). 文题[J]. 期刊名, 年, 卷(期): 起止页码。

[书籍] [序号] 作者. 书名[M]. 译者. 版次(第 1 版不写). 出版地: 出版单位(国外出版单位可用标准缩写,不加缩写点), 出版年: 起止页码。

[论文集] [序号] 作者. 题名[C]//主编. 论文集名. 出版地: 出版者, 出版年: 起止页码。

[学位论文] [序号] 作者. 题名[D]. 保存地点: 保存单位, 年份. 起止页码。

[电子文献] [序号] 作者. 题名[文献类型标识/OL]. 出版地: 出版者, 出版年 (发表或更新日期)/[引用日期](任选). 电子文献的网址。

参考文献中的中文文献需有英文对照。

9. **斜体的使用** 单字母表示的量符号一般用斜体表示,如速度 V 、长度 L 、时间 t , 多字母标示的量符号正体书写,如特定生长率 SGR; 物种拉丁学,如 *Acipenser sinensis*; 限制性内切酶局部名称,如 *Eco* RI、*Hind* I、*Bam* HI。

10. **量单位与量名称** 一律按国家技术监督局 1993 年 12 月 27 日发布的 GB3100~3102-93 号标准《量和单位》中规定的外文字母书写,使用要规范,如 g/L(mL)、mol/L(不用 M)、 hm^2 (不用亩)等。量名称应使用标准化名称,例如,根据混合物的具体情况使用“质量分数”、“体积分数”或“质量浓度”,而不能使用已废弃的“重量百分数”、“体积百分比浓度”等。

投稿网址: www.fishscichina.com

编辑部通信地址:

北京市丰台区永定路南青塔村 150 号《中国水产科学》编辑部, 邮编 100141

电话: (010) 68673921, 68673931; 传真: (010) 68673931

E-mail: zgscckx@cafs.ac.cn

《中国水产科学》2021 年第 28 卷第 1-12 期

总 目 次

第 1 期

研究论文

- 鱼肠道弧菌胶体金快速检测试纸研制 绳秀珍, 王新趁, 李嘉文, 唐小千, 邢婧, 迟恒, 战文斌 (1)
- 中国明对虾钙调磷酸酶基因 *calcineurin B* 表达量的遗传变异分析
..... 李波波, 孔杰, 卢霞, 孙犁, 隋娟, 刘绵宇, 罗坤, 孟宪红, 陈宝龙, 曹宝祥, 刘宁, 栾生 (12)
- 恒温高温调节对赤点石斑鱼幼鱼的生长、性腺发育以及 *gnrh*、*fsh β* 和 *lh β* 基因表达的影响
..... 徐文刚, 唐永政, 张建柏, 真锅颯一郎, 征矢野清, 邹华锋 (19)
- 温度对长牡蛎和葡萄牙牡蛎及其杂交稚贝生长和存活的影响 姜高伟, 李琪, 徐成勋, 刘士凯 (29)
- 大豆浓缩蛋白对大黄鱼生长和肠道微生物菌群的影响
..... 水晓梅, 林舸, 赵欣涛, 黄俊, 何娇娇, 娄宇栋, 冯建, 王萍 (37)
- 池塘和稻田两种养殖模式下建鲤肠道菌群、免疫酶活性及肌肉氨基酸比较分析
..... 赵柳兰, 龙亚男, 罗杰, 刘巧, 周剑, 杜军, 周亚, 杨佰维, 杨淞 (48)
- 急性高温胁迫对虹鳟和硬头鳟幼鱼抗氧化酶活性的影响
..... 姜旭阳, 黄铭, 杨小刚, 周演根, 高勤峰, 董双林 (57)
- 基于 LIM-MCMC 模型研究海州湾食物网能量流动特征
..... 徐从军, 隋昊志, 徐宾铎, 张崇良, 纪毓鹏, 任一平, 薛莹 (66)
- 基于声学映像的南海灯光罩网渔业中鲢的时空分布 王腾, 张鹏, 李杰, 张俊, 谢斌, 晏磊, 杨炳忠 (79)
- 基于线粒体 *Cyt b* 基因序列的棘头梅童鱼种群遗传结构
..... 张帅, 李敏, 闫帅, 孔啸兰, 朱江峰, 徐姗楠, 陈作志 (90)
- 舟山群岛东侧海域春秋季节主要鱼类空间生态位及其分化
..... 刘坤, 俞存根, 郑基, 许永久, 颜文超, 韩磊, 刘惠, 孙蓓蓓, 戴冬旭, 于南京 (100)

综述

- 脊椎骨在软骨鱼类年龄、摄食及洄游研究中的应用 李云凯, 沈永富 (112)

第 2 期

研究论文

- 缺刻缘绿藻 CDP-乙醇胺:1, 2-二酰甘油乙醇胺磷酸转移酶的基因特征与功能鉴定
..... 焦建璐, 封兵, 毕燕会, 周志刚 (123)
- 熊本牡蛎三倍体与二倍体性腺发育特征比较 武祥伟, 张跃环, 肖述, 秦艳平, 喻子牛 (136)
- 温度和盐度对中间球海胆胚胎发育早期进程联合效应
..... 吴洋磊, 甄昊, 王莹, 谭八梅, 裴泓霖, 丁君, 常亚青 (144)
- 投喂频率对池塘循环水养殖大口黑鲈消化酶、组织结构及脂代谢酶基因表达的影响
..... 谢苏明, 徐钢春, 王裕玉, 聂志娟, 孙毅, 李全杰 (157)

Cd 对凡纳滨对虾血细胞活性氧含量(ROS)、细胞凋亡率及应激反应基因表达的影响	
..... 李玲, 吴方舟, 梁金荣, 陈丽芬, 郭慧, 申玉春	(167)
氨和空气暴露对大鳞副泥鳅肝脏抗氧化能力的影响	张云龙, 商泽昊, 王光毅, 米笛, 尤昆 (176)
苯磷硫胺对饲喂高糖饲料团头鲂血浆生化指标及肝糖脂代谢的影响	
..... 徐超, 刘文斌, 李远友, 谢帝芝, 丁志荣, 李向飞	(186)
潮流与布放时间对青岛石雀滩海域海洋牧场刺网 CPUE 的影响	
..... 李忠义, 于小涛, 关丽莎, 林群, 李娇, 单秀娟, 金显仕	(195)
环境 DNA 技术在象山港水域鱼类多样性调查中的应用与评估	
..... 凌建忠, 姜亚洲, 孙鹏, 袁兴伟, 张辉, 唐保军	(205)
南海圆舵鲈栖息地影响因素分析	范江涛, 张鹏, 冯雪, 陈作志 (215)
东太平洋南北部海域大眼金枪鱼生物学特性对比研究	
..... 黄洪基, 许柳雄, 周成, 王学昉, 万荣, 朱文斌, 臧迎亮, 陈晓军	(222)
西藏黑斑原鲌消化道寄生蠕虫的分布类型及种间关系	
..... 潘瑛子, 付佩佩, 王且鲁, 周建设, 牟振波, 胡光冉	(231)
综述	
鱼类卵子发育与卵泡闭锁的研究进展	强俊, 马俊蕾, 曹哲明, 朱昊俊, 陶易凡, 徐跑, 何杰, 包景文 (239)

第 3 期

研究论文

大黄鱼 <i>cGPDH</i> 和 <i>mGPDH</i> 基因克隆及低温胁迫下的表达差异分析	张东玲, 徐浩, 张震西, 王志勇 (253)
多元统计方法和 SSR 标记对不同海域文蛤及选育群体亲缘关系分析	
..... 曹奕, 陈爱华, 吴杨平, 张雨, 陈素华, 张志东, 田镇	(265)
横带髯鲷早期生长发育特征	平洪领, 张涛, 史会来, 卢斌, 何建瑜, 蒋日进, 俞学军 (276)
舟山群岛外海域虾类群落结构及其与环境因子的关系	
..... 于南京, 俞存根, 许永久, 郑基, 江新琴, 戴东旭, 孙蓓蓓, 刘坤, 张佩怡	(288)
渤海莱州湾芙蓉岛人工鱼礁区浮游动物群落结构特征及其与环境因子的关系	
..... 陈传曦, 张建柏, 王新萌, 方光杰, 魏双武, 于梦杰, 唐衍力	(299)
不同饵料投喂模式对中华绒螯蟹幼蟹生长和生理生化的影响	
..... 韩文峰, 孙云飞, 刘健, 鹿珍珍, 肖昌伦, 张亚文, 成方舟, 成永旭	(314)
银杏叶提取物对鲤生长性能、抗氧化功能和免疫相关基因表达的影响	
..... 何勤, 贾睿, 曹丽萍, 杜金梁, 顾郑琰, Galina Jeney, 徐跑, 殷国俊	(326)
2014 年江苏沿海定置张网渔业生产时空分布特征	刘勇, 程家骅, 张寒野, 吴磊 (337)
南海灯光罩网渔业中点斑原海豚的声波驱赶	王腾, 张鹏, 李杰, 傅伟杰, 谢斌, 晏磊, 杨炳忠 (348)
褐篮子鱼鳃寄生多唇虫病的病原鉴定及其病理观察	
..... 吴建绍, 杨求华, 陆振, 许朝辉, 朱志煌, 周宸, 葛辉	(355)
胭脂鱼寄生单殖吸虫形态特征及其系统发育分析	翟凯旋, 刁丙文, 陈凯, 潘良坤, 朱新鹏 (364)

综述

- 北太平洋渔业资源种类目标强度研究进展 田思泉, 薛铭华, 童剑锋, 王学昉 (371)
- 南极磷虾寄生虫多样性与生态学研究进展: 簇虫、线虫和纤毛虫 朱国平, 董佳琪 (380)

行业聚焦

- 增产控污, 水产养殖业绿色发展初见成效——第二次全国污染源普查水产养殖业排污情况解读
..... 穆希岩, 黄瑛, 罗建波, 李应仁 (389)

第 4 期

研究论文

- 基于微卫星标记的许氏平鲉卵巢不同分区子代多重父权分析
..... 罗芷晴, 董建宇, 张宗航, 徐秀文, 张秀梅 (391)
- 裸腹鲟人工繁殖技术研究初报 卢国, 纪锋, 郑鹏, 贾东升, 吕伟华, 王念民, 张颖 (403)
- 海洋牧场营造设施对浮游动物群落的影响——以象山港为例 高倩, 凌建忠, 唐保军, 孙鹏, 姜亚洲 (411)
- 长江湖口段四大家鱼卵资源及其产卵场分布 何晓辉, 谈龙飞, 彭云鑫, 方弟安, 徐东坡 (420)
- 基于最大熵模型的智利外海竹筴鱼栖息地研究 冯志萍, 余为, 陈新军, 邹晓荣 (431)
- 山东半岛南部海域小黄鱼时空分布及其与环境因子的关系
..... 李迎冬, 张崇良, 纪毓鹏, 薛莹, 徐宾铎, 任一平 (442)
- 海州湾鱼类 β 多样性变化 李雪童, 徐宾铎, 薛莹, 任一平, 张崇良 (451)
- 暂养期健康海带和患病海带附生菌群落结构及多样性分析 冯磊, 钟晨辉, 林琪, 唐隆晨 (460)
- 浙江南部近海海洋生物脂肪酸含量及组成分析 任崇兰, 张俊波, 尹方, 朱文斌, 刘家林, 万荣 (470)
- 基于捕食者 CPUE 权重的浙江南部近海龙头鱼摄食习性分析 刘志豪, 韩东燕, 高春霞, 叶深 (482)
- 黄渤海蓝点马鲛双船拖网渔业 CPUE 时空变化及其标准化
..... 马亚宸, 徐宾铎, 张崇良, 于华明, 薛莹, 任一平 (493)
- 一株分离自团头鲂的嗜水气单胞菌病原学及其与 ST251 型菌株的全基因组比较
..... 王超杰, 王至诚, 康兴宇, 黎洁, 刘乃瑜, 王卫民, 罗毅 (503)
- 基于专利分析的设施水产养殖发展现状与态势研究 刘晃, 龙丽娜, 林祥明 (517)

综述

- 白藜芦醇生物学活性及其在水产动物中的应用 吴迪, 王连生 (528)

第 5 期

研究论文

- 虾夷扇贝 *Dmrt1* 基因的分子鉴定及表达模式分析
..... 赵丹, 周丽青, 郑言鑫, 孙秀俊, 吴彪, 刘志鸿, 吴宙, 吴磊 (541)
- 鳕 SIRT3 蛋白在传染性脾肾坏死病毒感染中的作用
..... 李科瑾, 付小哲, 林强, 刘礼辉, 牛银杰, 梁红茹, 罗霞, 李宁求 (550)
- 黄带拟鲮染色体核型特征分析 马青, 姜晨, 周丽青, 孙涛, 柳淑芳, 庄志猛 (561)

淡水石首鱼人工催产与胚胎发育观察	
..... 张亮, 闻海波, 郑冰清, 李红霞, 宋长友, 金武, 马学艳, 徐跑, 华丹, 顾若波	(569)
厚朴酚对嗜水气单胞菌感染异育银鲫的抗氧化因子及抗炎 <i>TLR-5/MyD88</i> 通路基因表达的影响	
..... 吴家玉, 陈凯, 习丙文, 谢骏, 潘良坤	(579)
鱼源植物乳杆菌 HS-07 胞外多糖对鲤的益生作用	
..... 陈永艳, 冯军厂, 李梦, 刘莎莎, 蔡忠良, 黄梦媛, 常绪路, 张建新	(591)
基于代谢组学技术的无机砷对三疣梭子蟹鳃组织的毒性作用机制研究	
..... 刘鸽, 李焕军, 张秀珍, 崔艳梅, 姜芳, 何金霞, 曹伟, 王明磊, 田秀慧, 徐英江	(602)
高效脱氮菌强化挂膜生物滤器对海水养殖尾水净化效果研究	
..... 李秋芬, 康传磊, 张艳, 陈碧鹃, 陈世波	(614)
不同海拔稻鲤综合种养梯田大型底栖动物群落结构特征	
..... 许越, 房景辉, 徐钢春, 蒋增杰, 聂志娟, 梁博, 蔺凡	(624)
采样设计对近岸水域鱼类浮游生物物种丰富度估计的影响	
..... 马依宏, 纪毓鹏, 张崇良, 薛莹, 任一平, 徐宾铎	(635)
基于 Hurdle-GAMMs 模型研究影响海州湾小黄鱼摄食的主要因素	
..... 宋业晖, 徐从军, 任一平, 徐宾铎, 纪毓鹏, 张崇良, 薛莹	(646)
秘鲁外海茎柔鱼栖息地时空分布及对环境因子的响应差异	
..... 方星楠, 何妍, 余为, 陈新军	(658)
综述	
适用于数据缺乏渔业的资源评估方法研究进展	
..... 石永闯, 樊伟, 张衡, 周为峰, 唐峰华, 吴祖立, 程田飞, 赵国庆, 张孝民	(673)

第 6 期

大水面生态渔业专刊 · 序言	刘家寿	(693)
----------------------	-----	-------

研究论文

三峡水库鱼类群落结构及主要鱼类种群年龄与生长.....	廖传松, 陈思宝, 叶少文, 卢涛, 李为, 王齐东, 郭传波, 张堂林, 刘家寿	(695)
基于稳定同位素技术的阳澄湖鱼类群落营养结构研究.....	叶学瑶, 任洸, 匡箴, 王媛, 徐东坡	(703)
丹江口水库浮游植物群落时空特征及其鱼产力评估.....	熊满堂, 王普泽, 叶少文, 虞功亮, 苑晶, 刘家寿, 张堂林	(715)
通江湖泊石臼湖鱼类群落结构现状及其季节变化.....	贺婉路, 刘鹏飞, 詹政军, 徐东坡, 任洸, 匡箴, 景丽	(728)
鱼类群落调控在浅水湖泊生态修复中的作用: 以傀儡湖为例.....	蔡杏伟, 李为, 樊厚瑞, 方涛, 李伟, 常锋毅, 刘家寿, 廖传松	(737)
鄱阳湖刀鲚的鉴定与资源动态研究.....	吴金明, 李乐康, 程佩琳, 张辉, 杨海乐, 刘志刚, 高小平, 危起伟	(743)
基于 ELEFAN I 和 LBB 的竺山湖贝氏鲮资源状况评估.....	叶学瑶, 赵旭昊, 任洸, 任可成, 徐东坡	(751)

基于生态通道模型的鲢鳙淀生态系统营养结构和能量流动研究	
..... 齐延凯, 陈曦, 郭楠楠, 裘丽萍, 孟顺龙, 陈家长	(762)
基于 Ecopath 模型的浍水水库生态系统特征及鲢、鳙生态容量分析	
..... 范泽宇, 白雪兰, 徐聚臣, 王晓宁, 吕亚兵, 侯杰, 何绪刚	(773)
基于 Ecopath 模型的太湖鲢鳙生态容量评估	赵旭昊, 徐东坡, 任浈, 徐跑 (785)
大型河流中鱼类组成的 eDNA 监测效率: 以长江武汉江段为例	
..... 杨海乐, 吴金明, 张辉, 杜浩, 李君轶, 王成友, 沈丽, 刘志刚, 危起伟	(796)

综述

大水面鳊增殖放流技术及效果评估研究进展	
..... 李为, 刘家寿, 叶少文, 林明利, 苑晶, 李钟杰, 张堂林	(808)

第 7 期

研究论文

中国西南区水域增殖放流回顾与对策研究	
..... 叶志祥, 张辉, 吴金明, 杜浩, 杨海乐, 邹巧林, 危起伟	(819)
基于 Cyt b 及 AFLP 标记探讨仿石鲈科及相关科属分子系统进化关系	
..... 陈铭, 范蔓桦, 张癸新, 李子博, 李清清, 李江涛, 周萌, 梁日深, 林鑫	(832)
大菱鲂生长性状表型正交化混合模型关联分析	蒋仪, 宋禹昕, 高进, 陈鹤丽, 杨润清 (845)
长臂虾科线粒体基因组结构与系统进化分析	朱陇强, 朱志煌, 林琪, 朱雷宇, 王定全, 王健鑫 (852)
凡纳滨对虾育种基础群体收获体重的未知亲本组效应分析	
..... 陈美佳, 孔杰, 谭建, 罗坤, 孟宪红, 卢霞, 隋娟, 代平, 陈宝龙, 曹宝祥, 陈国良, 栾生	(863)
虾夷扇贝的闭壳力及其对捕食者海星的逃跑响应	
..... 张继红, 夏玉莹, 高振坤, 刘毅, 吴文广, 张紫轩	(871)
獐子岛海域虾夷扇贝底播增殖生态容量评估	
..... 张紫轩, 张继红, 吴文广, 张坤阳, 胡婧, 张峰玮	(878)
基于 GAM 和权重分析的西北太平洋秋刀鱼渔情预报研究	刘瑜, 花传祥 (888)
罗非鱼罗湖病毒 ORF10 蛋白的亚细胞定位及组织表达分析	陈中元, 王荣华, 刘志昕, 余乃通 (896)
杀鱼假交替单胞菌 2515 的抗弧菌效果及在对虾养殖中的应用	
..... 王枫林, 王秀华, 张宇哲, 王树茂, 朱娜	(903)
池塘内循环流水养殖斑点叉尾鮰肌肉品质的分析	
..... 董立学, 喻亚丽, 毛涛, 张浪, 周运涛, 陈婷婷, 何力	(914)

综述

金枪鱼延绳钓渔获性能研究进展	宋利明, 许回 (925)
----------------------	---------------

第 8 期

研究论文

不同体色鲤的生长、酪氨酸酶活性、黑色素含量及基因表达比较	
..... 傅建军, 朱文彬, 罗文韬, 王兰梅, 罗明坤, 董在杰	(939)

性成熟中华绒螯蟹脑、性腺的性别差异调控机制研究	
..... 王美焱, 葛家春, 俞菊华, 唐永凯, 苏胜彦, 李建林, 李红霞, 李辉, 冯伟	(948)
团头鲂 <i>PGC1β</i> 基因克隆及高糖胁迫、葡萄糖和胰岛素负荷对其 mRNA 表达的影响	
..... 徐超, 刘文斌, 谢帝芝, 丁志荣, Jean-Jacques Yao Adjoumani, 石泉, 李向飞	(959)
低盐对青蛤抗氧化酶和 ATP 酶的影响及碳酸酐酶基因的克隆与表达	
..... 葛红星, 李雯倩, 柳佳玲, 任国梁, 吴雨晨, 谢玲莉, 问露洁, 董志国	(968)
多纹钱蝶鱼胚胎发育及胚后发育观察	
..... 刘鉴毅, 李琪, 孙艳秋, 庄平, 冯广朋, 邹雄, 赵峰, 余焱方, 孙雪娜, 杨俊, 王妤, 黄晓荣	(978)
青石斑鱼(♀)×蓝身大斑石斑鱼(♂)杂交后代及其父母本群体的染色体核型分析	
..... 陈帅, 田永胜, 成美玲, 李振通, 李子奇, 黎琳琳, 王林娜, 王晓梅	(988)
饲料中添加果寡糖和德式乳酸菌对锦鲤生长、血液指标和抗氧化指标的影响	
..... 张春暖, 普畅畅, 袁小玉, 黄海龙, 张洁, 郭梦格, 祝焱彬	(1001)
不同 LED 光谱对红鳍东方鲀幼鱼生长、摄食及消化酶活性的影响	
..... 刘松涛, 李伊晗, 李鑫, 魏平平, 马贺, 刘鹰, 田野	(1011)
气候变化对东南太平洋智利竹筴鱼渔获量的影响	肖启华, 黄硕琳 (1020)
中东太平洋长鳍真鲨年龄与生长	沈永富, 吴峰, 戴小杰, 李云凯 (1030)
大亚湾黑棘鲷的摄食习性	郭家彤, 王腾, 陈得仿, 刘永, 全秋梅, 王九江, 李纯厚 (1041)
山东海域口虾蛄肥满度的时空变化及其影响因素	耿玉玲, 张崇良, 张云雷, 徐宾铎, 薛莹, 任一平 (1051)
厦门湾春、秋季鱼类群落结构及其多样性	魏观渊, 黄桂芳 (1060)
基于集成学习的大西洋热带海域黄鳍金枪鱼渔情预报	宋利明, 任士雨, 张敏, 隋恒寿 (1069)
基于 OpenFOAM 的全潜式网箱网衣系缚方式研究	朱传之, 杨永春, 黄六一, 王刚 (1079)

第 9 期

研究论文

黄河口西南侧潮下带中国明对虾放流迁移跟踪	左涛, 左明, 王俊, 张家旭, 陈瑞盛, 孙坚强 (1091)
微卫星分子标记技术在大黄鱼增殖放流效果评估中的应用	
..... 吴利娜, 张凝莹, 孙松, 袁吉贵, 陈佳, 李苗苗, 林楠, 游宇, 王伟继, 丁少雄	(1100)
17 α -甲基睾酮对大口黑鲈生长及性腺发育的影响	周家辉, 杜金星, 姜鹏, 邵嘉棋, 白俊杰, 李胜杰 (1109)
翘嘴鲌学习记忆相关基因 <i>c-fos</i> 对食欲基因的调控	梁慧, 何珊, 梁旭方 (1118)
吉富罗非鱼钙敏感受体基因的克隆、表达与其参与调控细胞凋亡的机制	
..... 李连歌, 曹哲明, 陶易凡, 张丽, 马俊蕾, 李鸣霄, 包景文, 朱昊俊, 徐跑, 强俊	(1129)
凡纳滨对虾不同品系繁育性状的比较分析	
..... 樊云鹏, 谭建, 栾生, 孟宪红, 罗坤, 隋娟, 陈宝龙, 曹家旺, 孔杰	(1141)
长江口凤鲚仔稚鱼主要繁殖季节的时空分布特征	胡丽娟, 宋超, 耿智, 赵峰, 蒋俊, 刘若晖, 庄平 (1152)
南黄海和东海中南部小黄鱼种群形态分化	薛艳会, 刘尊雷, 李圣法, 吴磊, 卢占晖, 程家骅 (1162)

浙江沿岸日本鳀幼鱼数量分布及其与环境因子的关系	
..... 朱文斌, 朱海晨, 张亚洲, 王晶, 蒋日进, 卢占晖, 崔国辰, 戴乾	(1175)
山东近海春季口虾蛄空间分布与关键环境因子及生物学特性的关系	
..... 李鹏程, 张崇良, 任一平, 徐宾铎, 薛莹	(1184)
智利外海智利竹筴鱼与茎柔鱼栖息地变动对 ENSO 事件响应的差异	
..... 冯志萍, 张艳婧, 余为, 陈新军	(1195)
三疣梭子蟹体内镉的蓄积特性及相应防控	张艳, 韩雅荃, 黄翠玲, 陈碧鹃, 李善新 (1208)
叶尔羌河流域斑重唇鱼寄生单式指环虫的空间分布	
..... 容梦婕, 郝翠兰, 张文润, 喀迪尔丁·艾尔肯, 穆妮热·喀迪尔, 田胜利, 冯龙基, 岳城	(1220)

综述

鱼类趋化因子家族的研究进展	丁祝进, 崔虎军, 谷昭天 (1227)
南极大磷虾胃含物分析进展及其在食性研究中的应用	薛梅, 朱国平 (1238)

第 10 期

研究论文

温度对不同规格双齿围沙蚕运动行为特征的影响	
..... 房景辉, 孟珊, 袁伟, 蒋增杰, 方建光, 毛玉泽, 梁博	(1251)
光唇鱼对单色光偏好的性别差异及相关生理机制	颜志刚, 杨范利 (1263)
水下金属的腐蚀电场诱发西伯利亚鲟摄食行为反应	张旭光, 陈佳, 刘鑫, 季遥 (1272)
垂钩胁迫对中华倒刺鲃幼鱼群体行为的影响	曾令清, 刘小玲, 何衍, 陈欢 (1281)
盐度对罗氏沼虾能量代谢和运动能力的影响	
..... 李江涛, 邱小龙, 邱晓桐, 方俊超, 黄菲菲, 梁日深, 李清清, 林鑫, 吕晓静	(1291)
不同生活史阶段高体鳊化学预警通讯及其环境依赖性	张宁, 夏继刚 (1303)
溶解氧对三疣梭子蟹争斗行为和能量代谢的影响	李叶森, 刘晶晶, 宿宪朋, 王芳 (1311)
低氧胁迫下虾夷扇贝的行为特征及生理生化响应	夏玉莹, 张继红, 刘毅 (1319)
不同溶解氧水平下厚壳贻贝的贝壳开放行为和呼吸代谢	
..... 江天棋, 张扬, 姜亚洲, 李磊, 孙鹏, 唐保军	(1329)
基于物种分布模型的全球绿海龟空间分布及洄游廊道预测	邢衍阔, 王林龙, 刘敏, 赵林林, 康斌 (1337)

综述

知鱼、识鱼、管鱼：从个性研究开始	张东, 王莉平 (1346)
诱饵式远程水下视频技术的研究进展	
..... 欧哲扬, 吴忠鑫, 张泽鹏, TWEEDLEY James, 董世淇, 王兆国, 高东奎, 刘敏, 邢彬彬, 田涛	(1359)

第 11 期

研究论文

三角帆蚌溶血磷脂酰胆碱酰基转移酶 1 <i>HcLPCAT1</i> 基因功能分析及壳色性状相关 SNP 筛选	
..... 张进盼, 白志毅, 张梦莹, 颜玲, 陆风辉, 王贺	(1373)
海湾扇贝 <i>Dmrt1</i> 基因分子特征及功能分析	曹为安, 宁军号, 卢霞, 陈敏, 刘博, 王春德 (1385)

- 南极鱼亚目鱼类 DNA 条形码及分子系统学..... 姜邴轩, 张吉昌, 樊钢洲, 李昂, 柳淑芳, 庄志猛 (1396)
- 大口黑鲈 *MsDmrt3* 的基因结构、系统进化及时空表达.....
-生锡绘, 董浚键, 孙成飞, 李武辉, 胡婕, 田园园, 高凤英, 闫宁宁, 杨超, 卢迈新, 陈刚, 叶星 (1406)
- 基于 COI 基因探讨塔里木河流域裂腹鱼属鱼类的亲缘关系.....
-海萨·艾也力汗, 张人铭, 牛建功, 胡江伟, 刘鸿, 张钰, 吐尔逊·提立瓦尔地, 封永辉 (1417)
- 肌肉注射感染嗜冷黄杆菌虹鳟的组织嗜性与动态分布.....
-柴静茹, 王荻, 陈福广, 曹永生, 卢彤岩, 李绍戊 (1426)
- Cd 胁迫对泥鳅 Cd 积累及相关生理代谢的影响..... 李宗访, 滕爽爽, 张炯明, 方军, 肖国强, 谢尚庶 (1436)
- 花鲈 *ISG15* 基因 cDNA 序列的克隆及传染性脾肾坏死病毒胁迫下表达谱分析.....
-刘勇, 闫路路, 文国樑, 范嗣刚, 张雅晴, 赵超, 王鹏飞, 邱丽华, 乔秀亭 (1447)
- 扑草净对四角蛤蜊抗氧化酶活性及组织细胞的影响.....
-黄会, 王共明, 任利华, 官向红, 彭中校, 徐英江, 刘慧慧, 王玮云, 张秀珍 (1457)
- 南海美济礁瀉湖区鱼类优势种和生物多样性的长期变化..... 张俊, 陈作志, 蔡研聪, 李媛洁, 林昭进 (1466)
- 杭州湾北岸水域仔稚鱼的多样性和聚类分析..... 郭祉宾, 钟俊生, 洪波, 周轩, 王淼 (1477)
- 综述**
- 海洋渔业装备生物附着控制技术研究进展..... 张俊波, 孙名山, 万荣 (1489)

第 12 期

研究论文

- 中国对虾 4 代人工选育群体与 1 个野生群体遗传多样性分析及差异 SNP 位点筛查.....
-盖超伟, 李旭鹏, 曹宝祥, 陈宝龙, 张雅文, 刘绵宇, 栾生, 孔杰, 孟宪红 (1505)
- 草鱼肾中性粒细胞的分离鉴定与活性检测.....
-常藕琴, 霍礼霞, 罗满林, 石存斌, 张德峰, 潘厚军, 任燕 (1515)
- 鲈科鱼类 DNA 条形码分类系统..... 杨龙, 李昂, 李步苏, 王焕, 柳淑芳, 庄志猛 (1523)
- 瓯江口海域鱼类群落结构及优势种 RDA 分析..... 陈伟峰, 叶深, 秦松, 范青松, 陈少波, 倪勇, 彭欣 (1536)
- 基于线粒体 COI 基因的河南境内四水系日本沼虾种群遗传多样性.....
-冯梦霞, 汤永涛, 刘如垚, 闫雪朦, 胡博, 聂国兴, 周传江 (1548)
- 基于标志放流信息的长江口中华鲟降海洄游和分布特征..... 吴建辉, 陈锦辉, 高春霞 (1559)
- 基于栖息地指数的渤海湾鱼卵环境适应性..... 张聿琛, 谷德贤, 徐海龙, 薛薇, 于小涵 (1568)
- 不同捕捞策略对海水青鳉不同发育阶段生长的影响..... 苏程程, 单秀娟, 邵长伟 (1576)
- 基于 MaxEnt 模型和 ArcGIS 预测多肋藻在中国海域的适生分布特征.....
-李国梁, 汪文俊, 李宝贤, 姚海芹, 孙昕, 梁洲瑞, 鲁晓萍, 刘福利, 张朋艳 (1588)
- 雅砻江下游及其主要支流安宁河着生藻类多样性与空间分布.....
-马宝珊, 魏开金, 徐进, 卢建超, 徐滨, 朱祥云 (1602)
- 异育银鲫寄生洪湖碘泡虫的鱼卵传播途径..... 杨坤, 翟凯旋, 习丙文, 陈凯, 谢骏, 潘良坤 (1612)

综述

- 河口水域鱼类生境质量评价方法研究进展..... 杜楠, 张婷婷, 赵峰, 张涛, 庄平 (1621)

Journal of Fishery Sciences of China

Total Contents

No. 1–No. 12, 2021

Vol. 28 No. 1 2021

- Development of a competitive gold immunochromatography test strip for rapid detection of *Vibrio ichthyenteri* in fish
 SHENG Xiuzhen, WANG Xinchun, LI Jiawen, TANG Xiaoqian, XING Jing, CHI Heng, ZHAN Wenbin (11)
- An analysis of genetic variation in calcineurin B gene expression in *Fenneropenaeus chinensis*
 LI Bobo, KONG Jie, LU Xia, SUN Li, SUI Juan,
 LIU Mianyu, LUO Kun, MENG Xianhong, CHEN Baolong, CAO Baoxiang, LIU Ning, LUAN Sheng (18)
- Effects of regulation of constant high water temperature on growth and gonadal development, as well as *gnrh*, *fsh β* , and *lh β*
 gene expression in the juvenile red spotted grouper *Epinephelus akaara*
 XU Wengang, TANG Yongzheng, ZHANG Jianbai, MANABE Soichiro, SOYANO Kiyoshi, ZOU Huafeng (28)
- Effects of temperature on the growth and survival of reciprocal hybrids of two oyster species, *Crassostrea gigas* and
Crassostrea angulata JIANG Gaowei, LI Qi, XU Chengxun, LIU Shikai (36)
- Effects of soy protein concentrate on growth and intestinal microbiota of large yellow croaker, *Larimichthys crocea*
 SHUI Xiaomei, LIN Ge, ZHAO Xintao, HUANG Jun, HE Jiaojiao, LOU Yudong, FENG Jian, WANG Ping (47)
- Analysis and comparison of intestinal microbiota, immune enzyme activities, and muscle flavor of Jian carp in two culture modes
 ZHAO Liulan, LONG Yanan, LUO Jie, LIU Qiao, ZHOU Jian, DU Jun, ZHOU Ya, YANG Baiwei, YANG Song (56)
- Antioxidant enzyme activities of juvenile rainbow and steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) in response to acute
 high-temperature stress
 JIANG Xuyang, HUANG Ming, YANG Xiaogang, ZHOU Yangen, GAO Qinfeng, DONG Shuanglin (65)
- Energy flows in the Haizhou Bay food web based on the LIM-MCMC model
 XU Congjun, SUI Haozhi, XU Binduo, ZHANG Chongliang, JI Yupeng, REN Yiping, XUE Ying (74)
- Distribution of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) associated with a light falling-net in the South China Sea
 WANG Teng, ZHANG Peng, LI Jie, ZHANG Jun, XIE Bin, YAN Lei, YANG Bingzhong (89)
- Population genetic structure analysis of big head croaker (*Collichthys lucidus*) based on mitochondrial cytochrome *b* gene sequences
 ZHANG Shuai, LI Min, YAN Shuai, KONG Xiaolan, ZHU Jiangfeng, XU Shannan, CHEN Zuozhi (99)
- The spatial niche and differentiation of major fish species in the waters east of the Zhoushan Islands in spring and autumn
 LIU Kun, YU Cungen, ZHENG Ji, XU Yongjiu, YAN Wenchao, HAN Lei, LIU Hui, SUN Beibei, DAI Dongxu, YU Nanjing (111)
- A review of studies on the age, feeding habits, and migration using vertebrae of cartilaginous fishes
 LI Yunkai, SHEN Yongfu (121)

Vol. 28 No. 2 2021

- Characterization and identification of a CDP-ethanolamine: 1, 2-diacylglycerol ethanolamine phosphotransferase gene from
 the microalga (*Myrmecia incisa*) JIAO Jianlu, FENG Bing, BI Yanhui, ZHOU Zhigang (135)
- Comparative study of gonadal development in triploid and diploid *Crassostrea sikamea*
 WU Xiangwei, ZHANG Yuehuan, XIAO Shu, QIN Yanping, YU Ziniu (143)
- Interactive effect of temperature and salinity on early embryo development processes of the sea urchin (*Strongylocentrotus*
intermedius) WU Yanglei, ZHEN Hao, WANG Luo, TAN Bamei, PEI Honglin, DING Jun, CHANG Yaqing (156)

Effects of feeding frequency on digestive enzymes, histomorphology, and gene expression of lipid metabolic enzymes of largemouth bass (<i>Micropterus salmoides</i>) reared in in-pond raceway culture systems	XIE Suming, XU Gangchun, WANG Yuyu, NIE Zhijuan, SUN Yi, LI Quanjie	(166)
Effects of Cd on reactive oxygen species production, apoptosis rate, and expression of stress genes in hemocytes of <i>Litopenaeus vannamei</i>	LI Ling, WU Fangzhou, LIANG Jinrong, CHEN Lifan, GUO Hui, SHEN Yuchun	(175)
Effects of ammonia and aerial exposure on the hepatic antioxidant capacity of <i>Paramisgurnus dabryanus</i>	ZHANG Yunlong, SHANG Zehao, WANG Guangyi, MI Di, YOU Kun	(185)
Effects of benfotiamine on serum biochemical indicators and glycolipid metabolism of blunt snout bream (<i>Megalobrama amblycephala</i>) fed high-carbohydrate diets	XU Chao, LIU Wenbin, LI Yuanyou, XIE Dizhi, DING Zhirong, LI Xiangfei	(194)
Effect of spring tide and gillnet investigation time on the fishery resources assessment in Qingdao Shique Beach marine ranching	LI Zhongyi, YU Xiaotao, GUAN Lisha, LIN Qun, LI Jiao, SHAN Xiujuan, JIN Xianshi	(204)
Application and evaluation of environmental DNA technology in fish diversity research in Xiangshan Bay	LING Jianzhong, JIANG Yazhou, SUN Peng, YUAN Xingwei, ZHANG Hui, TANG Baojun	(214)
Analysis of habitat influencing factors of <i>Auxis rochei</i> in the South China Sea	FAN Jiangtao, ZHANG Peng, FENG Xue, CHEN Zuozhi	(221)
Biology comparison of bigeye tuna (<i>Thunnus obesus</i>) between the south and north in the eastern Pacific Ocean	HUANG Hongji, XU Liuxiong, ZHOU Cheng, WANG Xuefang, WAN Rong, ZHU Wenbin, ZANG Yingliang, CHEN Xiaojun	(230)
Distribution patterns and interspecific relationships of gastrointestinal helminths in <i>Glyptosternum maculatum</i> from Tibet	PAN Yingzi, FU Peipei, WANG Qielu, ZHOU Jianshe, MU Zhenbo, HU Guangran	(238)
Research progress of egg development and follicle atresia in fish	QIANG Jun, MA Junlei, CAO Zheming, ZHU Haojun, TAO Yifan, XU Pao, HE Jie, BAO Jingwen	(252)

Vol. 28 No. 3 2021

Molecular cloning of <i>cGPDH</i> and <i>mGPDH</i> and their expression analysis under low-temperature stress in <i>Larimichthys crocea</i>	ZHANG Dongling, XU Hao, ZHANG Zhenxi, WANG Zhiyong	(264)
Phylogenetic relationships among different populations and selective breeding of <i>Meretrix meretrix</i> , based on <i>multivariate statistical</i> analysis and simple sequence repeat markers	CAO Yi, CHEN Aihua, WU Yangping, ZHANG Yu, CHEN Suhua, ZHANG Zhidong, TIAN Zhen	(275)
Morphometric characteristics of the embryonic and postembryonic development of belted beard grunts, <i>Hapalogenys mucronatus</i>	PING Hongling, ZHANG Tao, SHI Huilai, LU Bin, HE Jianyu, JIANG Rijin, YU Xuejun	(287)
Shrimp community structure and its relationship with environmental factors in the offshore waters of Zhoushan Islands	YU Nanjing, YU Cungen, XU Yongjiu, ZHENG Ji, JIANG Xinqin, DAI Dongxu, SUN Beibei, LIU Kun, ZHANG Peiyi	(298)
Zooplankton community structure and its relationship with environmental factors in an artificial reef near Furong Island, Laizhou Bay, Bohai Sea	CHEN Chuanxi, ZHANG Jianbo, WANG Xinmeng, FANG Guangjie, WEI Shuangwu, YU Mengjie, TANG Yanli	(313)
Effects of diet on growth, digestive enzymes, antioxidant enzymes, and immune enzymes of juvenile Chinese mitten crabs (<i>Eriocheir sinensis</i>)	HAN Wenfeng, SUN Yunfei, LIU Jian, LU Zhenzhen, XIAO Changlun, ZHANG Yawen, CHENG Fangzhou, CHENG Yongxu	(325)
Effect of ginkgo, <i>Ginkgo biloba</i> , leaf extracts on growth performance, antioxidant function, and immune-related gene expressions of common carp, <i>Cyprinus carpio</i>	HE Qin, JIA Rui, CAO Liping, DU Jinliang, GU Zhengyan, Galina Jeney, XU Pao, YIN Guojun	(336)

Temporal and spatial distribution characteristics of stow net fisheries in Jiangsu Province in 2014.....	
.....LIU Yong, CHENG Jiahua, ZHANG Hanye, WU Lei	(347)
Acoustic deterrent of pantropical spotted dolphins (<i>Stenella attenuata</i>) from light-falling net fisheries in the South China Sea	
..... WANG Teng, ZHANG Peng, LI Jie, FU Weijie, XIE Bin, YAN Lei, YANG Bingzhong	(354)
Pathogen identification and histopathological observation of polylabrisosis in mottled spinefoot, <i>Siganus fuscescens</i>	
.....WU Jianshao, YANG Qiuhua, LU Zhen, XU Zhaohui, ZHU Zhihuang, ZHOU Chen, GE Hui	(363)
Supplemental description and phylogeny of <i>Pseudomurraytrema asiaticus</i> from Chinese sucker fish, <i>Myxocyprinus asiaticus</i>	
..... ZHAI Kaixuan, XI Bingwen, CHEN Kai, PAN Liangkun, ZHU Xinpeng	(370)
A review of the acoustic target strength of fishery resources in the North Pacific Ocean	
.....TIAN Siqian, XUE Minghua, TONG Jianfeng, WANG Xuefang	(379)
Diversity and ecology of gregarine, nematode, and ciliate parasites in Euphausiids in the Antarctic-A review	
.....ZHU Guoping, DONG Jiaqi	(388)

Vol. 28 No. 4 2021

Microsatellite-based parentage analysis of offspring conducted in different regions of the black rockfish (<i>Sebastes schlegelii</i>) ovary.....	
.....LUO Zhiqing, DONG Jianyu, ZHANG Zonghang, XU Xiuwen, ZHANG Xiumei	(402)
Technical report for controlled propagation of the critically endangered ship sturgeon (<i>Acipenser nudiventris</i>) in the Ili River.....	
..... HU Guo, JI Feng, ZHENG Peng, JIA Dongsheng, LYU Weihua, WANG Nianmin, ZHANG Ying	(410)
Effects of facilities associated with marine ranching on zooplankton community: A case study in Xiangshan Bay, China	
..... GAO Qian, LING Jianzhong, TANG Baojun, SUN Peng, JIANG Yazhou	(419)
Four major Chinese carps eggs resources and spawning grounds distribution at Hukou section of the Yangtze River	
.....HE Xiaohui, TAN Longfei, PENG Yunxin, FANG Di'an, XU Dongpo	(430)
Distribution of Chilean jack mackerel (<i>Trachurus murphyi</i>) habitats off Chile based on a maximum entropy model	
.....FENG Zhiping, YU Wei, CHEN Xinjun, ZOU Xiaorong	(441)
Spatio-temporal distribution of <i>Larimichthys polyactis</i> in southern waters off the Shandong Peninsula and its relationship with environmental factors	
..... LI Yingdong, ZHANG Chongliang, JI Yupeng, XUE Ying, XU Binduo, REN Yiping	(450)
Variation in the β diversity of fish species in Haizhou Bay.....	
..... LI Xuotong, XU Binduo, XUE Ying, REN Yiping, ZHANG Chongliang	(459)
Community structure and diversity of epiphytic bacteria in healthy and diseased <i>Saccharina japonica</i> seedlings during a temporary rearing period	
.....FENG Lei, ZHONG Chenhui, LIN Qi, TANG Longchen	(469)
Fatty acid contents and composition of marine species from the offshore waters of southern Zhejiang, East China Sea	
..... REN Chonglan, ZHANG Junbo, YIN Fang, ZHU Winbin, LIU Jialin, WAN Rong	(480)
Feeding habits of Bombay ducks (<i>Harpadon nehereus</i>) in the offshore waters of southern Zhejiang, based on predator CPUE weighting.....	
.....LIU Zhihao, HAN Dongyan, GAO Chunxia, YE Shen	(492)
Spatio-temporal distribution and standardization of CPUE for <i>Scomberomorus niphonius</i> pair trawler fishery in the Yellow and Bohai Seas	
.....MA Yachen, XU Binduo, ZHANG Chongliang, YU Huaming, XUE Ying, REN Yiping	(502)
Aetiology characteristics of a pathogenic <i>Aeromonas hydrophila</i> strain isolated from <i>Megalobrama amblycephala</i> and genomic characterization with the epidemic ST251 clones	
..... WANG Chaojie, WANG Zhicheng, KANG Xingyu, LI Jie, LIU Naiyu, WANG Weimin, LUO Yi	(516)
Development trends in facility aquaculture based on patent analysis.....	
..... LIU Huang, LONG Lina, LIN Xiangming	(527)
Resveratrol biological activities and its application in aquatic animals.....	
..... WU Di, WANG Liansheng	(539)

Vol. 28 No. 5 2021

- Molecular identification and expression pattern analysis of *Dmrt1* in the scallop, *Patinopecten yessoensis* ZHAO Dan, ZHOU Liqing, ZHENG Yanxin, SUN Xiujun, WU Biao, LIU Zhihong, WU Zhou, WU Lei (549)
- Role of the SIRT3 protein in spleen and kidney necrosis virus infections in *Siniperca chuatsi* LI Kejin, FU Xiaozhe, LIN Qiang, LIU Lihui, NIU Yinjie, LIANG Hongru, LUO Xia, LI Ningqiu (560)
- Karyotype characteristics of white trevally (*Pseudocaranx dentex*) MA Qing, JIANG Chen, ZHOU Liqing, SUN Tao, LIU Shufang, ZHUANG Zhimeng (566)
- Artificial spawning and embryonic development of freshwater drum, *Aplodinotus grunniens* ZHANG Liang, WEN Haibo, ZHENG Bingqing, LI Hongxia, SONG Changyou, JIN Wu, MA Xueyan, XU Pao, HUA Dan, GU Ruobo (578)
- Effects of magnolol on antioxidant factors and the anti-inflammatory *TLR-5/MyD88* pathway gene expressions of *Carassius auratus gibelio* infected with *Aeromonas hydrophila* WU Jiayu, CHEN Kai, XI Bingwen, XIE Jun, PAN Liangkun (590)
- Probiotic effect of fish-derived *Lactobacillus plantarum* HS-07 exopolysaccharide in common carp (*Cyprinus carpio* L.) CHEN Yongyan, FENG Junchang, LI Meng, LIU Shasha, CAI Zhongliang, HUANG Mengyuan, CHANG Xulu, ZHANG Jianxin (601)
- Research on toxicity mechanism of inorganic arsenic on *Portunus trituberculatus* gill tissue revealed by metabonomics LIU Ge, LI Huanjun, ZHANG Xiuzhen, CUI Yanmei, JIANG Fang, HE Jinxia, CAO Wei, WANG Minglei, TIAN Xiuhui, XU Yingjiang (613)
- Purification effect of a simulated biofilter augmented with efficient nitrogen-removing bacteria on waste water from mariculture LI Qiufen, KANG Chuanlei, ZHANG Yan, CHEN Bijuan, CHEN Shibao (623)
- Characteristics of the macrobenthic community structure in integrated rice-carp farming terraces at different altitudes XU Yue, FANG Jinghui, XU Gangchun, JIANG Zengjie, NIE Zhijuan, LIANG Bo, LIN Fan (634)
- Effects of sampling design on species richness estimation of ichthyoplankton in the coastal waters MA Yihong, JI Yupeng, ZHANG Chongliang, XUE Ying, REN Yiping, XU Binduo (645)
- Effects of environmental factors on the feeding ecology of small yellow croaker (*Larimichthys polyactis*) in Haizhou Bay based on Hurdle-GAMMs SONG Yehui, XU Congjun, REN Yiping, XU Binduo, JI Yupeng, ZHANG Chongliang, XUE Ying (657)
- Spatio-temporal distribution of the jumbo flying squid *Dosidicus gigas* off Peru and differences in the effects of environmental conditions FANG Xingnan, HE Yan, YU Wei, CHEN Xinjun (672)
- Review on stock assessment methods applicable to data-limited fisheries SHI Yongchuang, FAN Wei, ZHANG Heng, ZHOU Weifeng, TANG Fenghua, WU Zuli, CHENG Tianfei, ZHAO Guoqing, ZHANG Xiaomin (691)

Vol. 28 No. 6 2021

- Fish assemblage structure and age and growth of the primary fish populations in the Three Gorges Reservoir LIAO Chuansong, CHEN Sibao, YE Shaowen, LU Tao, LI Wei, WANG Qidong, GUO Chuanbo, ZHANG Tanglin, LIU Jiashou (702)
- Analysis of the trophic structure of fish populations in Yangcheng Lake based on stable isotope technology YE Xueyao, REN Long, KUANG Zhen, WANG Yuan, XU Dongpo (714)
- Spatio-temporal characteristics of the phytoplankton community and assessment of fish productivity in the Danjiangkou Reservoir, the water source for the South-to-North Water Diversion Project, China XIONG Mantang, WANG Puze, YE Shaowen, YU Gongliang, YUAN Jing, LIU Jiashou, ZHANG Tanglin (727)

Current status and seasonal variations in fish community structure in the Shijiu Lake, the Yangtze River-connected lake.....	
..... HE Wanlu, LIU Pengfei, ZHAN Zhengjun, XU Dongpo, REN Long, KUANG Zhen, JING Li	(736)
Roles of fish assemblage regulation on ecological restoration in a shallow lake: A case study from the Kuilei Lake, China....	
..... CAI Xingwei, LI Wei, FAN Hourui, FANG Tao, LI Wei, CHANG Fengyi, LIU Jiashou, LIAO Chuansong	(742)
Species identification and resource dynamics of <i>Coilia nasus</i> in the Poyang Lake.....	
..... WU Jinming, LI Lekang, CHENG Peilin, ZHANG Hui, YANG Haile, LIU Zhigang, GAO Xiaoping, WEI Qiwei	(749)
Assessment of the stock status of <i>Hemiculter bleekeri</i> in the Zhushan Lake based on the ELEFAN I and LBB methods.....	
..... YE Xueyao, ZHAO Xuhao, REN Long, REN Kecheng, XU Dongpo	(761)
Nutrient structure and energy flow in the Shihoudian Lake ecosystem based on the Ecopath model	
..... QI Yankai, CHEN Xi, GUO Nannan, QIU Liping, MENG Shunlong, CHEN Jiazhang	(772)
Analysis of ecological system characteristics and ecological capacity of <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> and <i>Aristichthys nobilis</i> in the Weishui Reservoir based on Ecopath model.....	
..... FAN Zeyu, BAI Xuelan, XU Juchen, WANG Xiaoning, LYU Yabing, HOU Jie, HE Xugang	(784)
Assessment of the ecological carrying capacity of silver and bighead carp in the Taihu Lake based on Ecopath model.....	
..... ZHAO Xuhao, XU Dongpo, REN Long, XU Pao	(795)
Environmental DNA metabarcoding utilization efficiency in monitoring large river fish species composition: a case study in the Wuhan transect of the Yangtze River	
..... YANG Haile, WU Jinming, ZHANG Hui, DU Hao, LI Junyi, WANG Chengyou, SHEN Li, LIU Zhigang, WEI Qiwei	(807)
Research progress on technique and effect evaluation of mandarin fish stock enhancement in large water bodies	
..... LI Wei, LIU Jiashou, YE Shaowen, LIN Mingli, YUAN Jing, LI Zhongjie, ZHANG Tanglin	(818)

Vol. 28 No. 7 2021

Review on enhancement and release of aquatic organisms in Southwest China and further policy considerations	
..... YE Zhixiang, ZHANG Hui, WU Jinming, DU Hao, YANG Haile, ZOU Qiaolin, WEI Qiwei	(830)
Molecular phylogenetic relationships of Haemulidae species and related families/genera based on Cyt <i>b</i> and AFLP markers	
..... CHEN Ming, FAN Manhua, ZHANG Guixin, LI Zibo, LI Qingqing, LI Jiangtao, ZHOU Meng, LIANG Rishen, LIN Li	(844)
Multivariate mixed model association analysis for growth trait orthogonalization in turbot (<i>Scophthalmus maximus</i>).....	
..... JIANG Yi, SONG Yuxin, GAO Jin, CHEN Heli, YANG Runqing	(851)
Characteristics and phylogenetic analysis of the mitochondrial genome in Palaemonidae.....	
..... ZHU Longqiang, ZHU Zhihuang, LIN Qi, ZHU Leiyu, WANG Dingquan, WANG Jianxin	(862)
Unknown parental group effects on harvest body weight in the base population of <i>Litopenaeus vannamei</i>	
..... CHEN Meijia, KONG Jie, TAN Jian, LUO Kun, MENG Xianhong, LU Xia, SUI Juan, DAI Ping, CHEN Baolong, CAO Baoxiang, CHEN Guoliang, LUAN Sheng	(870)
Force production during shell clap of scallop <i>Patinopecten yessoensis</i> and its response to predator starfish.....	
..... ZHANG Jihong, XIA Yuying, GAO Zhenkun, LIU Yi, WU Wenguang, ZHANG Zixuan	(877)
Ecological carrying capacity assessment of bottom-culture Yezo scallops, <i>Patinopecten yessoensis</i> , in Zhangzi Island	
..... ZHANG Zixuan, ZHANG Jihong, WU Wenguang, ZHANG Kunyang, HU Jing, ZHANG Fengwei	(887)
Forecasting Pacific saury (<i>Cololabis saira</i>) fisheries based on GAM and weighted analysis in the northwest Pacific.....	
..... LIU Yu, HUA Chuanxiang	(895)

Subcellular localization of Tilapia Lake Virus ORF10 protein and its tissue expression analysis	CHEN Zhongyuan, WANG Ronghua, LIU Zhixin, YU Naitong	(902)
Anti-vibrio effect of <i>Pseudoalteromonas piscicida</i> 2515 and its application in shrimp culture	WANG Fenglin, WANG Xiuhua, ZHANG Yuzhe, WANG Shumao, ZHU Na	(913)
Analysis of muscle quality variations of <i>Ictalurus punctatus</i> reared in internal-circulation pond aquaculture.....	DONG Lixue, YU Yali, MAO Tao, ZHANG Lang, ZHOU Yuntao, CHEN Tingting, HE Li	(924)
A review of tuna longline catch performance.....	SONG Liming, XU Hui	(937)

Vol. 28 No. 8 2021

Comparison of growth, tyrosinase activity, melanin content, and gene expression between common carps with different pigmentations	FU Jianjun, ZHU Wenbin, LUO Wentao, WANG Lanmei, LUO Mingkun, DONG Zaijie	(947)
Sexual differentiation regulation mechanism in the brain and gonad of <i>Eriocheir sinensis</i> during reproduction.....	WANG Meiyao, GE Jiachun, YU Juhua, TANG Yongkai, SU Shengyan, LI Jianlin, LI Hongxia, LI Hui, FENG Wei	(958)
Molecular characterization of <i>PGC1β</i> from <i>Megalobrama amblycephala</i> and responsiveness to dietary carbohydrate levels and glucose and insulin loadings	XU Chao, LIU Wenbin, XIE Dizhi, DING Zhirong, Jean-Jacques Yao Adjoumani, SHI Quan, LI Xiangfei	(967)
Effects of salinity stress on antioxidase, ATPase, and carbonic anhydrase gene expression in <i>Cyclina sinensis</i>	GE Hongxing, LI Wenqian, LIU Jialing, REN Guoliang, WU Yuchen, XIE Lingli, WEN Lujie, DONG Zhiguo	(977)
Embryonic and post-embryonic development of <i>Selenotoca multifasciata</i>	LIU Jianyi, LI Qi, SUN Yanqiu, ZHUANG Ping, FENG Guangpeng, ZOU Xiong, ZHAO Feng, YU Yanfang, SUN Xuena, YANG Jun, WANG Yu, HUANG Xiaorong	(987)
Karyotype analysis of hybrid <i>Epinephelus awoara</i> (♀) and <i>Epinephelus tukula</i> (♂) progenies and their parents	CHEN Shuai, TIAN Yongsheng, CHENG Meiling, LI Zhentong, LI Ziqi, LI Linlin, WANG Linna, WANG Xiaomei	(1000)
Effect of dietary fructooligosaccharide and <i>Lactobacillus delbrueckii</i> on growth performance, blood index, and antioxidant activity in koi carp (<i>Cyprinus carpio</i>).....	ZHANG Chunnuan, PU Changchang, YUAN Xiaoyu, HUANG Hailong, ZHANG Jie, GUO Mengge, ZHU Yanbin	(1010)
Effects of LED spectra on growth, feeding, and digestive enzyme activities of juvenile <i>Takifugu rubripes</i>	LIU Songtao, LI Yihan, LI Xin, WEI Pingping, MA He, LIU Ying, TIAN Ye	(1019)
Impact of climate change on Chilean jack mackerel catch in the Southeast Pacific.....	XIAO Qihua, HUANG Shuolin	(1029)
Age and growth of oceanic whitetip shark, <i>Carcharhinus longimanus</i> , from the Central and Eastern Pacific.....	SHEN Yongfu, WU Feng, DAI Xiaojie, LI Yunkai	(1040)
Feeding habits of <i>Acanthopagrus schlegeli</i> in the Daya Bay.....	GUO Jiatong, WANG Teng, CHEN Defang, LIU Yong, QUAN Qiumei, WANG Jiujiang, LI Chunhou	(1050)
Spatiotemporal variation and influencing factors of the condition factor of <i>Oratosquilla oratoria</i> in Shandong offshore.....	GENG Yuling, ZHANG Chongliang, ZHANG Yunlei, XU Binduo, XUE Ying, REN Yiping	(1059)
Fish community structure and species diversity during spring and autumn in the Xiamen Bay.....	WEI Guanyuan, HUANG Guifang	(1068)
Fishing ground forecasting models for yellowfin tuna (<i>Thunnus albacares</i>) in the tropical waters of the Atlantic Ocean based on ensemble learning	SONG Liming, REN Shiyu, ZHANG Min, SUI Hengshou	(1078)

Study on fixing modes of netting for the fully submerged cage based on OpenFOAM	
.....ZHU Chuanzhi, YANG Yongchun, HUANG Liuyi, WANG Gang	(1090)

Vol. 28 No. 9 2021

Tracking surveys of released <i>Fenneropenaeus chinensis</i> in the subtidal zone to the southwest of the Yellow River estuary	
.....ZUO Tao, ZUO Ming, WANG Jun, ZHANG Jiaxu, CHEN Ruisheng, SUN Jianqiang	(1099)
Application of microsatellite markers for evaluating the effect of restocking enhancement in <i>Larimichthys crocea</i>	
.....WU Lina, ZHANG Ningjun, SUN Song, YUAN Jigui, CHEN Jia, LI Miaomiao, LIN Nan, YOU Yu, WANG Weiji, DING Shaoxiong	(1107)
Effects of 17 α -methyltestosterone on growth and sex differentiation in largemouth bass (<i>Micropterus salmoides</i>)	
.....ZHOU Jiahui, DU Jinxing, JIANG Peng, SHAO Jiaqi, BAI Juejie, LI Shengjie	(1117)
The effect of learning pathway genes on acquiring novel feeding behaviors in Chinese perch, <i>Siniperca chuatsi</i>	
.....LIANG Hui, HE Shan, LIANG Xufang	(1128)
Cloning and expression of the calcium-sensing receptor gene in Genetically Improved Farmed Tilapia and its mechanism of regulating apoptosis	
.....LI Liange, CAO Zheming, TAO Yifan, ZHANG Li, MA Junlei, LI Mingxiao, BAO Jingwen, ZHU Haojun, XU Pao, QIANG Jun	(1140)
Comparative analysis of breeding characteristics of different strains of <i>Litopenaeus vannamei</i>	
.....FAN Yunpeng, TAN Jian, LUAN Sheng, MENG Xianhong, LUO Kun, SUI Juan, CHEN Baolong, CAO Jiawang, KONG Jie	(1151)
Temporal and spatial distribution of <i>Coilia mystus</i> larvae and juveniles in the Yangtze Estuary during primary breeding season	
.....HU Lijuan, SONG Chao, GENG Zhi, ZHAO Feng, JIANG Jun, LIU Ruohui, ZHUANG Ping	(1161)
Morphological differentiation of small yellow croaker populations in the south Yellow Sea and the south-central East China Sea	
.....XUE Yanhui, LIU Zunlei, LI Shengfa, WU Lei, LU zhanhui, CHENG Jiahua	(1174)
Quantitative distribution of juvenile <i>Engraulis japonicus</i> and the relationship with environmental factors along the Zhejiang coast	
.....ZHU Wenbin, ZHU Haichen, ZHANG Yazhou, WANG Jing, JIANG Rijin, LU Zhanhui, CUI Guochen, DAI Qian	(1183)
Spatial distribution of spring <i>Oratosquilla oratoria</i> in Shandong offshore and the relationships with environmental factors and biological characteristics	
.....LI Pengcheng, ZHANG Chongliang, REN Yiping, XU Binduo, XUE Ying	(1194)
Differences in habitat pattern response to various ENSO events in <i>Trachurus murphyi</i> and <i>Dosidicus gigas</i> located outside the exclusive economic zones of Chile	
.....FENG Zhiping, ZHANG Yanjing, YU Wei, CHEN Xinjun	(1207)
Accumulation specificity and corresponding control of cadmium in <i>Portunus trituberculatus</i>	
.....ZHANG Yan, HAN Yaquan, HUANG Cuiling, CHEN Bijuan, LI Shanxin	(1219)
Spatial Distribution of <i>Dactylogyrus simplex</i> in <i>Diptychus maculatus</i> in the Yarkand River Basin, China	
.....RONG Mengjie, HAO Cuilan, ZHANG Wenrun, ARKEN Kadirdin, KADIR Munire, TIAN Shengli, FENG Longji, YUE Cheng	(1226)
Review on chemokines research in teleost fish	
.....DING Zhujin, CUI Hujun, GU Zhaotian	(1237)
Stomach content analysis and feeding habit of the Antarctic krill <i>Euphausia superba</i> : A review	
.....XUE Mei, ZHU Guoping	(1250)

Vol. 28 No. 10 2021

Effects of temperature on the motion behavior of <i>Perinereis aibuhitensis</i> of different sizes	
.....FANG Jinghui, MENG Shan, YUAN Wei, JIANG Zengjie, FANG Jianguang, MAO Yuze, LIANG Bo	(1262)

- Sex differences in the preference for monochromatic light and the associated physiological mechanisms in a stream-dwelling fish, *Acrossocheilus fasciatus* XIE Zhigang, YANG Fanli (1271)
- Feeding response of *Acipenser baerii* to a metal rod evoked by a corrosion electric field ZHANG Xuguang, CHEN Jia, LIU Xin, JI Yao (1280)
- Effect of angling stress on the collective behavior of juvenile Qingbo (*Spinibarbus sinensis*) ZENG Lingqing, LIU Xiaoling, HE Yan, CHEN Huan (1290)
- Effects of salinity on the energy metabolism and locomotive ability of *Macrobrachium rosenbergii* LI Jiangtao, QIU Xiaolong, QIU Xiaotong, FANG Junchao, HUANG Feifei, LIANG Rishen, LI Qingqing, LIN Li, LYU Xiaojing (1302)
- Chemical alarm communication and its environmental dependency in *Rhodeus ocellatus* during different life history stages ZHANG Ning, XIA Jigang (1310)
- Effect of dissolved oxygen on agonistic behavior and energy metabolism of the swimming crab (*Portunus trituberculatus*) LI Yesen, LIU Jingjing, SU Xianpeng, WANG Fang (1318)
- Behavioral characteristics and physiological responses to hypoxic stress in *Patinopecten yessoensis* XIA Yuying, ZHANG Jihong, LIU Yi (1328)
- Shell valve opening behavior and metabolism of *Mytilus coruscus* under different oxygen concentrations JIANG Tianqi, ZHANG Yang, JIANG Yazhou, LI Lei, SUN Peng, TANG Baojun (1336)
- Global prediction of spatial distribution and migratory corridors of green turtles based on species distribution modeling XING Yankuo, WANG Linlong, LIU Min, ZHAO Linlin, KANG Bin (1345)
- Fish personality: Implications for ecology, aquaculture and fisheries ZHANG Dong, WANG Liping (1358)
- A review of baited remote underwater video (BRUV) technology OU Zheyang, WU Zhongxin, ZHANG Zepeng, TWEEDLEY James, DONG Shiqi, WANG Zhaoguo, GAO Dongkui, LIU Min, XING Binbin, TIAN Tao (1372)

Vol. 28 No. 11 2021

- Functional analysis and SNP screening of lysophosphatidyl choline acyltransferase 1 *HcLPCAT1* gene and its association analysis with shell color traits in *Hyriopsis cumingii* ZHANG Jinpan, BAI Zhiyi, ZHANG Mengying, YAN Ling, LU Fenghui, WANG He (1384)
- Molecular characterization and functional analyses of *Dmrt1* in the Bay scallop *Argopecten irradians irradians* CAO Wei'an, NING Junhao, LU Xia, CHEN Min, LIU Bo, WANG Chunde (1395)
- DNA barcoding and molecular systematics of *Notothenioidei* JIANG Lixuan, ZHANG Jichang, FAN Gangzhou, LI Ang, LIU Shufang, ZHUANG Zhimeng (1405)
- Genomic organization and phylogenetic and temporal-spatial expression analysis of *Msdmrt3* in largemouth bass (*Micropterus salmoides*) SHENG Xihui, DONG Junjian, SUN Chengfei, LI Wuhui, TIAN Yuanyuan, GAO Fengying, YAN Ningning, YANG Chao, LU Maixin, CHEN Gang, YE Xing (1416)
- Relationship of *Schizothorax* Heckel in Tarim River basin based on COI gene HAYSA Ayselhan, ZHANG Renming, NIU Jiangong, HU Jiangwei, LIU Hong, ZHANG Yu, TURSUN Tiliwaerdi, FENG Yonghui (1425)
- Tissue tropism and dynamic distribution of *Flavobacterium psychrophilum* in infected rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after intramuscular injection CHAI Jingru, WANG Di, CHEN Fuguang, CAO Yongsheng, LU Tongyan, LI Shaowu (1435)
- Effects of Cd stress on cadmium accumulation and related physiological metabolism of *Tegillarca granosa* LI Zongfang, TENG Shuangshuang, ZHANG Jiongming, FANG Jun, XIAO Guoqiang, XIE Shangshu (1446)

cDNA cloning and expression profile analysis of <i>ISG15</i> in spotted sea bass (<i>Lateolabrax maculatus</i>) following infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV) infection	LIU Yong, YAN Lulu, WEN Guoliang, FAN Sigang, ZHANG Yaqing, ZHAO Chao, WANG Pengfei, QIU Lihua, QIAO Xiuting	(1456)
Effect of prometryn on the antioxidant enzyme activities and histopathology of <i>Mactra veneriformis</i>	HUANG Hui, WANG Gongming, REN Lihua, GONG Xianghong, PENG Zhongxiao, XU Yingjiang, LIU Huihui, WANG Weiyun, ZHANG Xiuzhen	(1465)
Long-term variation in dominant species and biodiversity of fish in the lagoon of Meiji Reef in the South China Sea based on hand fishing and gill net	ZHANG Jun, CHEN Zuozhi, CAI Yancong, LI Yuanjie, LIN Zhaojin	(1476)
Diversity and cluster analysis of fish larvae and juvenile on the northern of Hangzhou Bay	GUO Zhibin, ZHONG Junsheng, HONG Bo, ZHOU Xuan, WANG Miao	(1488)
Research progress of biofouling prevention techniques for marine fishery equipment	ZHANG Junbo, SUN Mingshan, WAN Rong	(1503)

Vol. 28 No. 12 2021

Genetic diversity analysis and SNP loci screening of four generations of <i>Fenneropenaeus chinensis</i> and one wild population	GAI Chaowei, LI Xupeng, CAO Baoxiang, CHEN Baolong, ZHANG Yawen, LIU Mianyu, LUAN Sheng, KONG Jie, MENG Xianhong	(1514)
Isolation, identification, and activity detection of neutrophils from the grass carp kidney	CHANG Ouqin, HUO Lixia, LUO Manlin, SHI Cunbin, ZHANG Defeng, PAN Houjun, REN Yan	(1522)
DNA barcode analysis: species identification and phylogenetic relationships of the Carangidae family	YANG Long, LI Ang, LI Busu, WANG Huan, LIU Shufang, ZHUANG Zhimeng	(1535)
Assessment of fish community structure and redundancy analysis of dominant species in the Oujiang River estuary	CHEN Weifeng, YE Shen, QIN Song, FAN Qingsong, CHEN Shaobo, NI Yong, PENG Xin	(1547)
Genetic diversity of <i>Macrobrachium nipponense</i> in Henan Province assessed using mitochondrial COI gene	FENG Mengxia, TANG Yongtao, LIU Ruyao, YAN Xueming, HU Bo, NIE Guoxing, ZHOU Chuanjiang	(1558)
Research on the downstream migration and distribution characteristics of Chinese sturgeon in the Yangtze Estuary based on tagging and releasing information	WU Jianhui, CHEN Jinhui, GAO Chunxia	(1567)
Environmental adaptability of fish eggs in Bohai Bay assessed using habitat suitability index method	ZHANG Yuchen, GU Dexian, XU Hailong, XUE Wei, YU Xiaohan	(1575)
Growth of <i>Oryzias melastigma</i> with different fishing strategies	SU Chengcheng, SHAN Xiujuan, SHAO Changwei	(1587)
Potential geographic distribution of <i>Costaria costata</i> in China based on the MaxEnt Model and ArcGIS	LI Guoliang, WANG Wenjun, LI Baoxian, YAO Haiqin, SUN Xin, LIANG Zhourui, LU Xiaoping, LIU Fuli, ZHANG Pengyan	(1601)
Diversity and spatial distribution of periphytic algae in the lower reaches of the Yalong River and its main tributary, the Anning River	MA Baoshan, WEI Kaijin, XU Jin, LU Jianchao, XU Bin, ZHU Xiangyun	(1611)
Transovarial transmission of <i>Myxobolus honghuensis</i> in gibel carp, <i>Carassius auratus gibelio</i> (Bloch)	YANG Kun, ZHAI Kaixuan, XI Bingwen, CHEN Kai, XIE Jun, PAN Liangkun	(1620)
Research progress on evaluation methods of fish habitat quality in estuaries	DU Nan, ZHANG Tingting, ZHAO Feng, ZHANG Tao, ZHUANG Ping	(1631)