

DOI: 10.12264/JFSC2023-0265

基于环境 DNA 技术的东平湖鱼类多样性研究

仝亚东¹, 匡箴², 刘鹏飞², 梁翼东², 凡迎春², 徐东坡^{1,2}

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, 农业农村部长江下游渔业资源环境科学观测实验站, 江苏 无锡 214081

摘要: 东平湖是黄河下游重要滞洪湖泊, 也是南水北调东线最后一个调蓄湖泊。为探究东平湖鱼类多样性现状及鱼类群落特征, 本研究采用环境 DNA (environmental DNA, eDNA) 技术, 与传统网具捕捞调查进行对比分析, 阐述东平湖鱼类群落多样性特征, 探讨环境 DNA 技术在东平湖鱼类多样性长期监测中的可行性。结果显示, 应用环境 DNA 技术共检测到 5 目 7 科 23 属 23 种鱼类。进一步分析显示, Shannon-Wiener 多样性指数平均值为 1.04, 变幅在 0.21~2.36; Pielou 均匀度指数平均值为 0.54, 变幅在 0.29~0.81; Margalef 丰富度指数平均值为 0.75, 变幅在 0.13~2.09。相似性分析(analysis of similarities, ANOSIM)表明, 多样性指数在湖区与河道之间没有显著差异。非度量多维尺度分析(non-metric multidimensional scaling, NMDS)显示, 东平湖鱼类群落可划分为 4 个群聚结构, 分别位于东平湖沿岸、湖心以及两条河道内, 群聚结构总体差异显著($R < 1$, $P < 0.05$)。传统网具捕捞调查共捕获 4 目 6 科 21 属 24 种鱼类, 其中有 18 种鱼类在两种方法中均检测到。两种方法检测到的鱼类中均以鲤形目(Cypriniforms)最多。研究结果表明, 环境 DNA 技术与传统网具捕捞两种方法调查得到的鱼类种类数相似度较高, 达到 62.06%。东平湖鱼类群落呈现一定空间分布特征, 自柳长河、至小清河, 东平湖鱼类群落总体呈现南北差异性。本研究证明环境 DNA 技术在东平湖渔业资源监测中具有可行性, 可有效补充鱼类资源监测手段, 在禁捕以及开捕时期可根据实际情况采用不同方法对东平湖渔业资源进行监测, 同时也为东平湖渔业资源管理和保护提供资料支持与技术参考。

关键词: 东平湖; 环境 DNA; 鱼类多样性; 黄河

中图分类号: S931

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2023)12-1530-13

东平湖位于山东省泰安市境内, 东经 116°2'~116°20', 北纬 35°43'~35°7'。作为山东省第二大淡水湖泊, 总面积可达 626 km², 常年水面积 208 km², 是黄河下游关键的蓄滞洪区^[1]。同时由于其地理位置的特殊性, 还是南水北调的重要枢纽、京杭大运河的重要节点^[2]。长江、黄河在此汇聚, 肩负着向天津、济南、胶东等地区调水的重要功能, 其水体生态系统的健康程度具有重要的意义。2013 年南水北调东线正式通水以来, 受流域内污染物输入及营养盐短期跨流域流通等影响^[3], 东平湖

的生境发生了较为显著的变化。主要特征表现为, 东平湖湖体营养化水平由轻度富营养状态转为中营养水平, 水体富营养主要驱动指标发生较大转变^[4]; 沉积物重金属含量下降^[5]; 东平湖浮游植物群落密度增加^[6]以及底栖动物功能结构对调水前后生境变化更为敏感^[7]等, 一系列研究揭示了东平湖近年来水生生物群落的变动性。并且这些研究基本针对的是单一的水质、沉积物理化因子或浮游动植物、底栖动物群落等营养层级较低的生物群落, 研究主要包括其本底状况及其对于调

收稿日期: 2023-10-24; 修订日期: 2023-12-02.

基金项目: 农业农村部财政专项“黄河渔业资源与环境调查”(HHDC-2022-05); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助(2023TD65).

作者简介: 仝亚东(1999-), 男, 硕士研究生, 研究方向为渔业资源. E-mail: 1277984686@qq.com

通信作者: 徐东坡, 研究员, 研究方向为渔业资源保护与利用. E-mail: xudp@ffrc.cn

水工程的响应。

鱼类是水生生态系统中的高营养层级消费者,是极为重要的组成部分^[8],鱼类生物多样性是评价水生生态系统是否良好和可持续发展的重要指标。而关于东平湖鱼类的研究寥寥无几,历史上的研究有 1979 年山东省科委调查发现鱼类 55 种^[9],2008 年山东省淡水水产研究所调查到 41 种^[10],比较新的资料仅见于 2020 年候莉等^[11]的东平湖水生生物资源研究,调查得到鱼类 22 种。2008 年与 2020 年的调查结果相比东平湖鱼类种类数急剧下降,东平湖河湖、海淡水洄游性及过河口性鱼类数量锐减,比如鳊鲌、鳊等。上述东平湖鱼类的研究仅将鱼类作为东平湖水生生物调查的一部分,并不能完全反应东平湖鱼类群落特征以及鱼类生物多样性。另外,跨流域调水也可能会给调蓄湖泊带来鱼类外来物种^[12],这对于东平湖鱼类群落结构有着重要影响。前文所述的水质、水文、浮游生物等也是影响鱼类群落特征的重要条件,它们的变化必然也会对鱼类群落造成影响。基于此,笔者于 2022 年 11 月在东平湖设置了 11 个调查点。为了更能说明基于调水造成水文联通变化条件下的情况,关注了整个水系,调查点位当中包含东平湖进出水通道。

鱼类群落结构的变动性与流通性往往使传统渔业资源的调查与监测变得繁重且周期较长,禁捕期的设立又会大大增加传统渔业资源调查的难度。因此需要一种快速且高效的方法对不同时期的湖泊进行常规的渔业资源监测。随着分子技术不断结合各种研究领域,环境 DNA (environmental DNA, eDNA) 技术取得进一步发展。该技术是指收集物种在所调查环境中的 DNA 信息,比如黏液、脱落的皮肤碎片等,经过一系列分子手段和数据处理,进而监测物种是否存在及物种多样性^[13]。有关环境 DNA 技术最新研究有许龙飞等^[14]利用环境 DNA 技术对喀斯特高原水域红枫湖的鱼类多样性研究,Williford 等^[15]利用环境 DNA 技术对德克萨斯州河口鱼类群落进行监测,补充了传统采样方法。作为一种低成本、低破坏性的监测方法,使用环境 DNA 技术来确定水生生物存在和分布已成为调查和监测淡水群落的重要工具^[16]。

本研究在传统资源调查方法的基础上结合环境 DNA 技术对东平湖的鱼类多样性进行研究,以期对东平湖鱼类群落结构及多样性做出更准确的评价,为东平湖渔业资源保护提供基本资料。通过对两种调查方法结果比较,评估环境 DNA 技术在东平湖禁捕时期作为日常渔业资源监测方法的适用性,为东平湖渔业资源管理提供更高效的方式。

1 材料与方法

1.1 样本采集

以东平湖湖区及其出入湖河道作为研究区域,共设置 11 个采样点(图 1)。东平湖湖区设 8 个采样点(D1~D8),周边河道大汶河(D9)、柳长河(D10)、小清河(D11)各设一个采样点,具体点位经纬度坐标见表 1。于 2022 年 11 月进行鱼类与环境 DNA 样本的采集。每个采样点放置 3 条多网目复合刺网及 3 条定置串联笼壶,其中多网目复合刺网网目分别为 1.2 cm、2 cm、4 cm、6 cm、8 cm、10 cm、14 cm,长、高分别为 125 m、1.5 m,定置串联笼壶网目为 1.6 cm,长、宽、高分别为 10 m、0.4 m、0.4 m。网具在放置 12 h 后收集所有渔获物,鉴定到种。种类鉴定参照《黄河流域鱼类图志》^[17]《山东鱼类志》^[18],并测定生物学指标(全长、体长及体重)。整个采样和过滤过程所用到的水桶、水样瓶、镊子、玻璃砂芯过滤器等,在实验前需进行消毒处理,浸泡在 10%次氯酸钠溶液中 20 min 左右,并用纯水冲洗。采集及过滤水样过程做好防护,戴好口罩及手套,避免样品的相互污染及外源污染。每个采样点平行采集 3 瓶 1 L 表层水样,采集后现场用放置 0.45 μm 水系微孔滤膜的玻璃砂芯过滤器抽滤,抽滤后的样品保存在有 TE 缓冲液的 2 mL 离心管中,并于 -20 °C 保存。每个采样点每次抽滤 2 L 的超纯水(Milli-Q)作为 1 个采样阴性对照,与环境 DNA 样品处理相同,以监测过滤和后续 DNA 提取过程中的污染情况。

1.2 环境 DNA 提取、PCR 扩增以及高通量测序

冻存的滤膜先进行实验前处理。处理过程为:用灭菌的剪刀剪碎冻存的滤膜放入 2 mL 离心管中,加入适量液氮,然后用细长的研磨棒捣碎。经

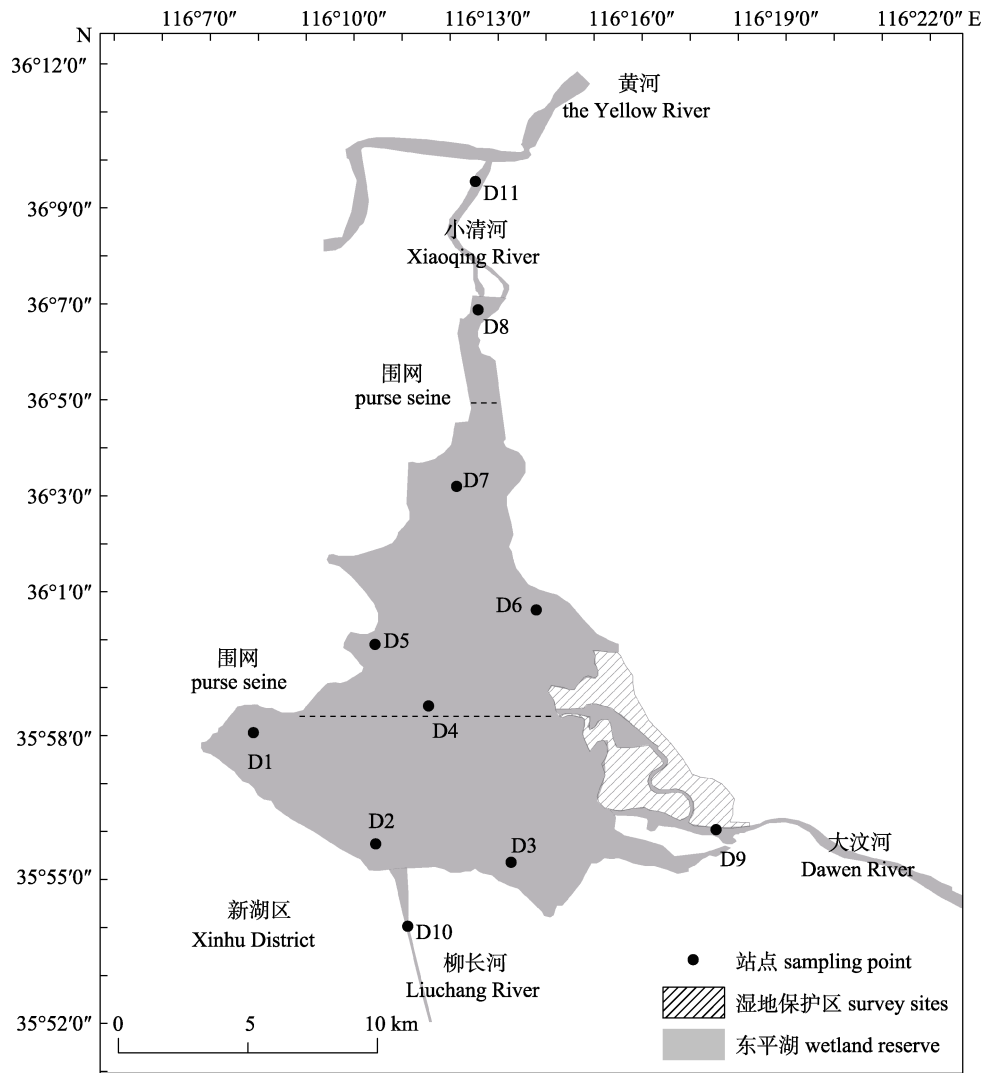


图 1 东平湖采样点位图

Fig. 1 Dongping Lake sampling point bitmap

表 1 采样点经纬度表

Tab. 1 Longitude and latitude table of sampling points

点位 site	经度/° longitude	纬度/° latitude	海拔/m altitude
D1	116.131895	35.967235	39.23
D2	116.174358	35.928675	39.10
D3	116.221376	35.922253	42.31
D4	116.192739	35.976556	42.60
D5	116.174125	35.997879	39.45
D6	116.230150	36.009940	42.76
D7	116.202411	36.052861	36.60
D8	116.209939	36.114178	33.42
D9	116.292539	35.933537	37.10
D10	116.185388	35.899992	38.32
D11	116.208898	36.158819	34.12

前处理后的滤膜, 使用 E.Z.N.A™ Mag-Bind Soil DNA 试剂盒提取滤膜中的 DNA 信息, 具体流程见说明书。DNA 保存条件是 -20 °C 冰箱保存。提取的 DNA 需通过 1% 的琼脂糖凝胶电泳, 并查看电泳条带图。吸取 2 μL 的 DNA 使用 Qubit® 3.0 荧光计测量 DNA 浓度。通过查看 DNA 电泳条带和测量 DNA 浓度检测提取 DNA 的质量。选取日本学者针对 12S rRNA 基因的一个高变区 (163~185 bp) 设计的鱼类通用引物^[19], 该引物有足够的信息可以将鱼类进行科、属、种的分类。引物序列为 MiFish-U-F: 5'-GTCGGTAAACTCGTGCCAGC-3'; MiFish-U-R: 5'-CATAGTGGGGTATCTAATCCCAGTTTG-3'。PCR 进行 2 轮扩增, 扩增体系都为 30 μL。第一个

扩增系统: 15 μ L 2 \times Hieff[®] Robust PCR Master Mix, 正向和反向引物各 1 μ L, 以及 10~20 ng 环境 DNA 提取物。

第二个扩增体系: 环境 DNA 提取物增加到 20~30 ng, 其余部分与第一个扩增体系相同。每一轮 PCR 反应条件不同, 第一轮 PCR: 94 $^{\circ}$ C, 3 min \rightarrow 5 个循环(94 $^{\circ}$ C, 30 s \rightarrow 45 $^{\circ}$ C, 20 s \rightarrow 65 $^{\circ}$ C, 30 s) \rightarrow 20 个循环(94 $^{\circ}$ C, 20 s \rightarrow 55 $^{\circ}$ C, 20 s \rightarrow 72 $^{\circ}$ C, 30 s) \rightarrow 72 $^{\circ}$ C, 5 min。第二轮 PCR: 95 $^{\circ}$ C, 3 min \rightarrow 5 个循环(94 $^{\circ}$ C, 20 s \rightarrow 55 $^{\circ}$ C, 20 s \rightarrow 72 $^{\circ}$ C, 30 s) \rightarrow 72 $^{\circ}$ C, 5 min。PCR 样本包括采集样本和阴性对照样本(纯水)。PCR 扩增结果采用 2%琼脂糖凝胶检测, 将扩增产物送至测序公司(上海生工生物工程股份有限公司), 使用 Illumina Miseq 平台测序。

1.3 数据分析

使用 Usearch 软件将序列聚类在 97%的相似性水平, 选择具有最高丰度的序列作为 OTU 的代表性序列^[20]。从聚类过程中去除嵌合体, 最终得到 OTU 代表性序列列表。Blastn 用于比较 OTU 代表性序列与 NCBI 数据库。为了使分类操作单元尽可能准确地匹配物种, 需要进行人工检查和分类指定的细化: (1) 手工筛选出所有非鱼类的干扰序列; (2) 如果查询序列匹配一致性 \geq 97%的本地物种, 则该序列匹配该物种; 如果查询序列只匹配一致性 \geq 97%的非本地物种, 则该查询序列匹配非本地物种; (3) 如果查询序列匹配多个一致性 \geq 97%的本地物种, 则分类水平降至包括所有匹配的物种; (4) 如果查询序列不匹配 \geq 97%一致性的物种, 但匹配 \geq 95%一致性的本地物种, 则该序列匹配所有一致性 \geq 95%的属。同时, 删除比例小于 0.1%的低频序列, 以消除由标签跳跃或交叉污染引起的潜在结果^[21]。分类匹配结果可在 Fishbase (<https://www.Fish base.org>)最后得到与 OTU 对应的鱼类分类信息。

1.4 统计分析

OTU 鱼类分类信息表及其对应的序列丰度在 Excel 中进行统计, 将对比到同一物种的代表序列合并, 实现各样本在各个分类水平上的组成分布的可视化, 展示不同分类单元的序列丰度及种类数。计算网具捕捞的渔获物相对丰度^[22]确定各

站点优势鱼类物种组成。采用 Shannon-Wiener 指数^[23]、Pielou 指数^[24]、Margalef 指数^[25]综合评价各站点间鱼类丰富度及多样性。通过 Primer 6.0 软件进行非度量多维尺度分析 (non-metric multidimensional scaling, NMDS)来表征鱼类群落结构在时间和空间上的分布格局^[26], 以胁强系数 (Stress)来衡量 NMDS 结果是否可信, 结合单因子相似性分析 (analysis of similarities, ANOSIM)来检验鱼类群落结构的差异性^[26]。相似性百分比分析 (SIMPER)不同聚类鱼类群落差异性及其物种贡献率^[27]。

2 结果和分析

2.1 测序数据分析和鱼类组成

11 个站点样品中共获得 1148874 个原始序列, 经过质量控制和过滤, 获得 1135005 行序列, 最后, 4228 个 OTU 被聚类。对于所有的空白对照, 没有观察到或很少观察到读数, 并且没有观察到任何分类群的丰富读数。这表明在整个实验过程中没有显著的污染, 实验结果可以反映样品的实际扩增情况。根据序列一致性 \geq 97%进行聚类, 聚类后的 OTUs 序列使用数据库进行比对和注释。结果显示共在东平湖 11 个站点当中鉴定出 26 个分类群, 其中种水平 24 个, 科水平与属水平各一个。手动校对筛选出非本地鱼类物种并剔除, 剩余 23 种鱼类(表 2), 隶属于 5 目 8 科 23 属。其中鲤形目较多为 14 种, 占检测鱼类总数的 60.87%, 其次为鲈形目为 4 种, 占检测鱼类的 17.39%, 鲇形目 3 种, 占检测鱼类的 13.04%, 鲱形目与鲢形目各检测到 1 种。在检测到的鲤形目中, 均为鲤科鱼类。通过网具调查方式共捕获 24 种(表 2)鱼类, 隶属于 4 目 6 科 21 属, 其中鲤形目种类最多, 为 18 种, 占总种类数的 75%, 其次鲈形目为 3 种, 占 12.5%, 鲇形目和鲱形目各占 8.33%和 4.17%。

图 2、图 3 分别展示了应用环境 DNA 技术与传统网具捕捞的东平湖相对丰度前 10 位的优势鱼类物种。其中相同的种类有 7 种, 分别为鲫 (*Carassius auratus*)、鲢 (*Hypophthalmichthys molitrix*)、红鳍原鲃 (*Chanodichthys erythropterus*)、子陵吻虾

表 2 基于传统网具捕捞与环境 DNA 技术的东平湖鱼类物种表

Tab. 2 List of fish species based on traditional net fishing and environmental DNA technology in Dongping Lake

种类 species	传统网具捕捞 traditional net fishing	环境 DNA 技术 environmental DNA technology	种类 species	传统网具捕捞 traditional net fishing	环境 DNA 技术 environmental DNA technology
鲱形目 Clupeiformes			中华鲢 <i>R. sinensis</i>		+
鳀科 Engraulidae			蛇鮈属 <i>Saurogobio</i>		
鲚属 <i>Coilia</i>			蛇鮈 <i>S. dabryi</i>	+	
刀鲚 <i>C. nasus</i>	+	+	似鳊属 <i>Pseudobrama</i>		
鲑形目 Salmoniformes			似鳊 <i>P. simoni</i>	+	+
银鱼科 Salangidae			似鲚属 <i>Toxabramis</i>		
大银鱼属 <i>Protosalanx</i>			似鲚 <i>T. swinhonis</i>	+	
大银鱼 <i>P. hyalocranium</i>		+	鲮属 <i>Hypophthalmichthys</i>		
鲤形目 Cypriniformes			鲮 <i>H. nobilis</i>	+	+
鲤科 Cyprinidae			鲮属 <i>Acheilognathus</i>		
棒花鱼属 <i>Abbottina</i>			大鳍鲮 <i>A. macropterus</i>	+	
棒花鱼 <i>A. rivularis</i>	+	+	兴凯鲮 <i>A. chankaensis</i>	+	+
鲃属 <i>Culter</i>			原鲃属 <i>Chanodichthys</i>		
达氏鲃 <i>C. dabryi</i>	+	+	红鳍原鲃 <i>C. erythropterus</i>	+	+
翘嘴鲃 <i>C. alburnus</i>	+		鲈形目 Peciformes		
鲮属 <i>Hemiculter</i>			鲈科 Serranidae		
贝氏鲮 <i>H. bleekeri</i>	+		鳊属 <i>Siniperca</i>		
鲮 <i>H. leucisculus</i>	+	+	鳊 <i>S. chuatsi</i>	+	+
草鱼属 <i>Ctenopharyngodon</i>			虾虎鱼科 Gobiidae		
草鱼 <i>C. idella</i>	+	+	缟虾虎鱼属 <i>Tridentiger</i>		
鲂属 <i>Megalobrama</i>			纹缟虾虎鱼 <i>T. trigonocephalus</i>	+	+
三角鲂 <i>M. terminalis</i>		+	吻虾虎鱼属 <i>Rhinogobius</i>		
鲮属 <i>Hemibarbus</i>			子陵吻虾虎鱼 <i>R. giurinus</i>	+	+
花鲮 <i>H. maculatus</i>	+	+	鲮虾虎鱼属 <i>Mugilogobius</i>		
鲫属 <i>Carassius</i>			粘皮鲮虾虎鱼 <i>M. myxodermus</i>		+
鲫 <i>C. auratus</i>	+	+	鲇形目 Siluriformes		
鲤属 <i>Cyprinus</i>			鲇科 Bagridae		
鲤 <i>C. carpio</i>	+		黄颡鱼属 <i>Pelteobagrus</i>		
鲢属 <i>Hypophthalmichthys</i>			光泽黄颡鱼 <i>P. nitidus</i>	+	+
鲢 <i>H. molitrix</i>	+	+	黄颡鱼 <i>P. fulvideaco</i>	+	+
麦穗鱼属 <i>Pseudorasbora</i>			鲇科 Siluridae		
麦穗鱼 <i>P. parva</i>	+	+	鲇属 <i>Silurus</i>		
鲮属 <i>Rhodeus</i>			鲇 <i>S. asotus</i>		+

注: +表示通过环境 DNA 技术或传统网具捕捞检测到了该鱼种。

Note: The + indicates that the species has been detected by environmental DNA technology or traditional net fishing.

虎鱼(*Rhinogobius giurinus*)、刀鲚(*Coilia nasus*)、草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)、似鳊(*Pseudobrama simoni*)。

2.2 基于环境 DNA 技术的鱼类多样性分析

通过计算 Alpha 多样性指数来评价物种在生境内的多样性, 本研究通过分析 Shannon、

Margalef、Pielou 指数综合评价采样点间鱼类多样性关系。结果显示, Shannon 指数平均值为 1.02, 变幅在 0.21~2.36; Pielou 指数平均值为 0.54, 变幅在 0.29~0.81; Margalef 指数平均值为 0.72, 变幅在 0.13~1.84 之间。如图 4 所示 3 个多样性指数在

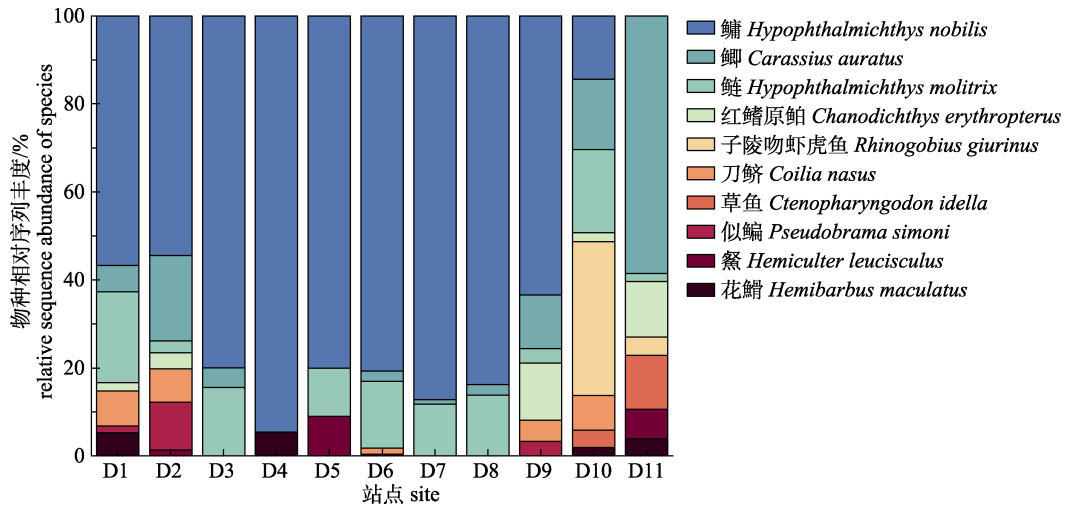


图 2 基于环境 DNA 技术的各站点优势鱼类物种组成

Fig. 2 Composition of dominant fish species at each site based on environmental DNA technology

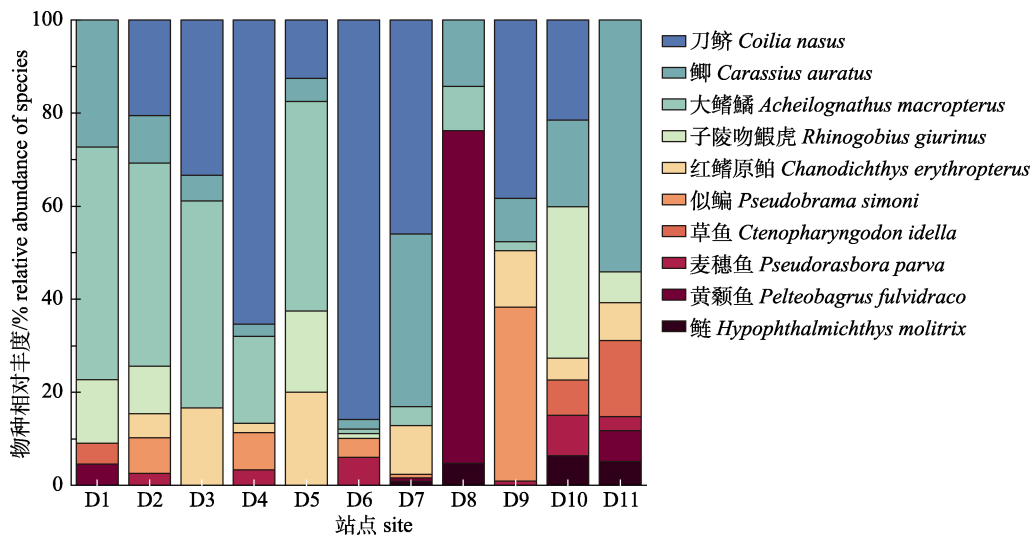


图 3 基于传统网具捕捞的各站点优势鱼类物种组成

Fig. 3 Composition of dominant fish species at each site based on traditional net fishing

D10 采样点均为最高值。Shannon 指数、Margalef 指数均在 D4 采样点发现最低值, Pielou 指数最低值在 D7 采样点出现。湖区与河道之间多样性指数差异不显著($P>0.05$)。

基于 Bray-Curtis 距离指数的非度量多维尺度分析(NMDS)的结果如图 5 所示。NMDS 聚类结果下, 将东平湖鱼类群落分为 4 个类群, D1、D2、D3、D9 采样点一类, 其他湖区内采样点归为一类。D10、D11 分别位于柳长河与小清河内, 各分成两个类群。相似性检验(ANOSIM)结果表明, 4 个组分之间的聚类结果总体差异显著($R<1$,

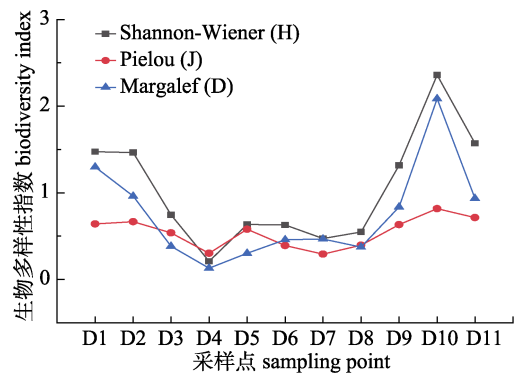


图 4 东平湖各站点鱼类多样性指数的变化

Fig. 4 Changes in the fish diversity index of each site in Dongping Lake

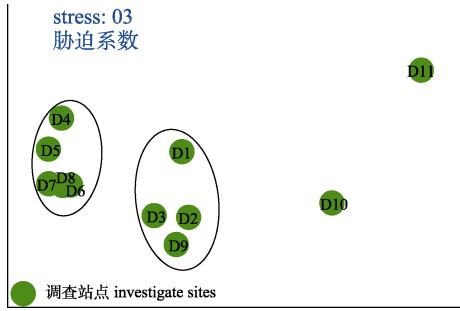


图 5 基于 Bray-Curtis 距离的东平湖鱼类组成 NMDS 分析

Fig. 5 NMDS analysis of fish composition in Dongping Lake based on Bray-Curtis distance

$P < 0.05$)。相似性百分比(SIMPER)分析表明,造成湖区中两个聚类差异的物种有刀鲚、红鳍原鲃,贡献度分别为 15.28%与 14.28%。鳊(*Hypophthalmichthys nobilis*)、子陵吻虾虎鱼在柳长河与湖区造成鱼类种群差异贡献度分别在 38.56%和 20.73%,鲫、鳊在小清河与湖区之间鱼类群落差异上贡献度最大,分别为 43.94%和 27.32%。NMDS 的分析结果中, stress 的值为 0.03, 二维点图对群落结构排序具有很好的代表性。

2.3 环境 DNA 技术与传统网具捕捞调查结果比较

网具调查方法与环境 DNA 技术在本次研究当中共调查得到的鱼类物种数比较见表 3。两种方式共得到鱼类 5 目 8 科 24 属 29 种。在调查的 29 种鱼类当中,有 18 种鱼类是两种方法都监测到的,占鱼类总数的 62.06% (图 6),剩余的分别占鱼类总数的 17.24%和 20.68%。两种方法均检测到的鱼类有鲢、鳊、鲫、草鱼、红鳍原鲃、鳊、麦穗鱼(*Pseudorasbora parva*)、花鲢(*Hemibarbus*

maculatus)、似鳊、达氏鲃(*Culter dabryi*)、兴凯鳊(*Acheilognathus chankaensis*)、棒花鱼(*Abbottina rivularis*)、子陵吻虾虎鱼、纹缟虾虎鱼(*Tridentiger trionocephalus*)、鳊(*Siniperca chuatsi*)、黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvideaco*)、光泽黄颡鱼(*Pelteobagrus nitidus*)、刀鲚。传统网具调查结果当中,有 6 种鱼类是环境 DNA 技术未检测到的,分别为翘嘴鲌(*Culter alburnus*)、贝氏鲌(*Hemiculter bleekeri*)、鲤(*Cyprinus carpio*)、蛇鲡(*Saurogobio dabryi*)、似鳊(*Toxabramis swinhonis*)、大鳍鳊(*Acheilognathus macropterus*)。在应用环境 DNA 技术调查结果当中,有 5 种鱼类是网具调查未检测到的,分别为大银鱼(*Protosalanx hyalocranius*)、三角鲂(*Megalobrama terminalis*)、中华鲮(*Rhodeus sinensis*)、粘皮鲮虾虎鱼(*Mugilogobius myxodermus*)、鲃(*Silurus asotus*)。

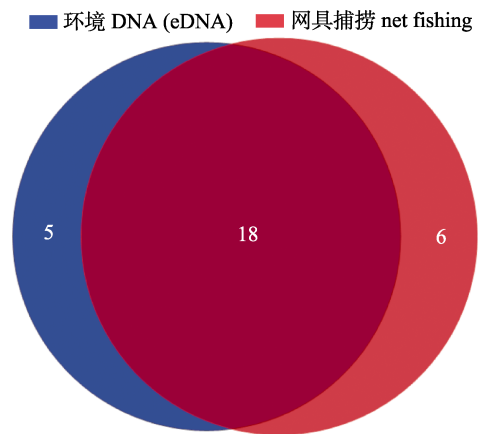


图 6 环境 DNA 技术与传统网具捕捞获得鱼类总数比较
Fig. 6 Comparison of total fish number obtained by environmental DNA technology and traditional net fishing

表 3 基于环境 DNA 技术与传统网具捕捞的鱼类物种数比较表

Tab. 3 Comparison of fish species based on environmental DNA technology and traditional net fishing

目 order	科 family			属 genus			种 species		
	环境 DNA eDNA	传统网具捕捞 traditional net fishing	总计 total	环境 DNA eDNA	传统网具捕捞 traditional net fishing	总计 total	环境 DNA eDNA	传统网具捕捞 traditional net fishing	总计 total
鲤形目 Cypriniforms	1	1	2	14	15	29	14	18	32
鲈形目 Perciformes	2	2	4	4	3	7	4	3	7
鲇形目 Siluriformes	2	1	3	2	1	3	3	2	5
鲱形目 Clupeiformes	1	1	2	1	1	2	1	1	2
鲑形目 Salmoniformes	1	0	1	1	0	1	1	0	1

3 讨论

3.1 基于环境 DNA 的东平湖鱼类物种组成及多样性

通过对东平湖及周边河道 11 个站点水样环境 DNA 的提取、扩增和高通量测序,共检测到 26 个分类群。手动筛选并删除非本地物种后,剩余 23 种鱼类,非本地物种仅镰鳍鲴(*Trachinotus falcatus*)一种。出现这种结果可能是因为部分采样地点靠近航道附近,过往船只排出的水体中或鸟类迁移排出的粪便中可能携带该鱼类 DNA。

东平湖湖区鱼类群落划分成了两个聚类。沿岸型,采样站点包括 D1、D2、D3、D9;湖心型,采样站点包括 D4~D8。刀鲚与红鳍原鲌两种鱼类在南部沿岸分布较多,在湖心以北检测到的相对丰度较少甚至有些点位未能检测到。可能有以下几种原因:一是东平湖湖区内围网的设立,采样地图显示东平湖围网设立于湖心至北区域,湖泊围网的设立,可能会对刀鲚种群分布产生影响^[28];二是刀鲚物种可能自东平湖南部沿岸河道大汶河以及柳长河进入东平湖。东平湖历史资料显示,自黄河水位下降,小清河两端水利设施清河门以及陈山口水闸的建立导致黄河刀鲚失去洄游通道,所以刀鲚自东平湖南部沿岸河道进入湖区可能性较大。查阅东平湖历史资料中发现,东平湖内刀鲚分不同种群,后续研究可重点关注不同刀鲚种群的来源以及其在东平湖内的扩散模式;三是生境以及水体理化环境的影响,东平湖南部沿岸属于重要蓄洪区,也被称为“新湖区”,周边分布大量居民。该区域水体受人为影响因素较大,水体呈现轻度富营养化状态^[29-30],夏季沿岸盛长菹草、芦苇等水生植物。根据红鳍原鲌生态习性,该区域较适合其种群的分布。在整个湖区所检测到的鱼类物种当中,鳊的相对序列丰度最高,其次是鲢、鲫等。可能是东平湖开展生态增殖,鲢、鳊等鱼类的种群密度也会随之增加^[31],被检测到的概率也大幅度增加。

D10、D11 站点分别处柳长河与小清河中,其与东平湖湖区的鱼类群落组成有一定差异性。纹缟虾虎鱼、兴凯鲮等都只在柳长河中检测到。可

能是湖区中该两种鱼类 DNA 浓度偏低,未能检测出来,或者一些鱼类物种通过南水北调东线输水河道自上级湖泊迁移至柳长河。小清河内鲫、草鱼、红鳍原鲌相对丰度较东平湖湖区高。小清河北接黄河南接东平湖,南北两端分别设有陈山口与清河门水闸,近十几年黄河水位普遍偏低,从而形成东平湖至小清河湖水的单向流通,可能会对小清河一些优势鱼类物种密度具有补充作用。水利设施的建设会对鱼类群落的分布产生一定影响^[32-34],小清河上下游建设的水利设施可能与湖区、河道鱼类群落的分布现状密切相关。

通过 Shannon、Pielou、Margalef 3 个多样性指数分别反应鱼类群落的多样性、均匀度以及丰富度,在本研究中 3 个指数所呈现的趋势基本一致。D10 站点的 3 个多样性指数均显示最高,表明在该点位的鱼类多样性、鱼类丰富度以及均匀度最高。这可能与其处于柳长河,属南水北调东线输水河道有关^[35]。柳长河河道两边全程设立栅栏,人为干扰因素较少。河道设立的两个水闸分别通水与通船,河道中间为浅滩,可作为水生生物良好的栖息地^[36],许多鱼类物种经由上级湖泊调水而来于柳长河汇聚^[37-38]。并且航道整改和八里湾船闸定期关闭,导致许多鱼类物种不能形成双向流通。诸多因素导致该地区鱼类丰富度以及多样性处于高水平。D4 站点鱼类多样性与丰富度指数处于最低水平。该站点处于东平湖湖心岛附近,未被划入禁捕区域,人为捕捞较频繁。并且实验采样时间在 2022 年 11 月份,正值东平湖一年当中开捕时期,船只航道往返等都会导致鱼类聚群较少^[39-40]。本研究中,柳长河作为东平湖通湖河道,又属于南水北调东线输水河道,其 3 种多样性指数相比之下均处于较高水平。李峰等^[41]对南四湖的鱼类群落研究发现南水北调调水期间对鱼类群落影响较大,但鱼类年产量不会有太大波动。建议后续研究留意东平湖每年调水工程启动时间,具体探讨各种调水时期对东平湖鱼类群落的影响。

3.2 基于两种不同采样方法的结果分析

本研究采用环境 DNA 技术在东平湖共检测出 5 目 8 科 23 属 23 种,网具调查共检测出 4 目 6

科 21 属 24 种。结果显示,本次环境 DNA 技术检测的鱼类种类数略少于网具调查,可能有以下几种原因:一是东平湖水体内鱼类 DNA 浓度较低导致检测出结果种类较少,可以在以后实验当中增加采样点以及增加采平行样^[42];二是东平湖地处山体之间,周边分布昆仑山、洪顶山等,常年大风和水体运动也会导致水体当中鱼类环境 DNA 分布不规律^[43]。就会出现某些点位鱼类环境 DNA 浓度极低,导致测序失败的现象;三是有些通过引物扩增获得的序列缺乏分类学变异的信息,比如鱼类序列当中鱈属的代表性序列的 NCBI 比较显示,兴凯鱈和大鳍鱈的序列一致性 $\geq 97\%$,不能注释到物种水平,最终导致鱼类多样性的假性丧失,从而影响了最终检测得到的鱼类物种数。湖底表层沉积物涵盖许多鱼类脱落的皮肤细胞、鱼鳞、粪便等^[44],之后的研究当中,可增加采取东平湖底表层沉积物来更准确地检测出东平湖的鱼类组成。

网具调查得到的优势目与环境 DNA 技术调查得到的结果相同,环境 DNA 技术调查到的鲑形目在网具调查方式当中并未出现,但根据市场调查结果,鲑形目的大银鱼在东平湖确有一定产量。网具调查结果当中,有 6 种鱼类并没有被环境 DNA 技术检测到,分别为鲤、贝氏鲮、翘嘴鲌、大鳍鱈、似鱈、蛇鮈。Miya 等^[19]提出全球水生环境中已知的鱼类有 32000 多种,目前数据库的完整性和准确性还需进一步提高,这种因素会导致环境 DNA 技术在物种检测上的差异及不足。同时,环境 DNA 技术检测结果有可能与水体中鱼类生物量有关,Takahara 等^[45]研究发现环境 DNA 浓度与鲤生物量之间呈正相关,Evans 等^[46]发现序列拷贝数与生物的丰度存在正相关关系,Tillotson 等^[47]证明了环境 DNA 浓度与鲑鱼之间存在密切定量关系。根据传统网具捕捞的结果显示,在相对丰度前 10 位的优势鱼类物种当中,有 7 种是被环境 DNA 技术检测到的,进一步说明了水体中鱼类生物信息量与环境 DNA 技术检测的结果密切相关。传统网具捕捞调查结果中上述 6 种鱼类物种相对丰度都偏低,可能导致了环境 DNA 技术未检测到这些鱼类。

东平湖有关鱼类的历史研究中,2008 年调查到的 41 种鱼类^[10]至 2020 年调查到的 22 种鱼类^[11],东平湖鱼类种数发生大幅度下降。本次环境 DNA 技术与传统网具捕捞共调查得到 29 种鱼类,较 2020 年调查结果相比鱼类种数有所增加。对比发现较 2020 年增加的 8 种鱼类中,比如三角鲂、粘皮鲮、虎鱼、鲇等 5 种鱼类都是通过环境 DNA 技术调查得到。环境 DNA 技术相比传统网具调查方式对水体鱼类信息更具敏感性,可以监测识别水体中个体小、难捕获以及数量稀少的鱼类^[48],补充了传统网具在资源调查中的不足。在此次调查得到的 29 种鱼类中,有 18 种鱼类是两种方法共同监测到的。表明两种技术调查结果相似性较高,也进一步说明环境 DNA 技术在东平湖鱼类生物多样性调查上的可靠性。与目标物种无接触,充分展现了对目标物种及其生境友好的优势,相比网具调查方式,降低了对生态系统的影响。

环境 DNA 技术在未来生物量评估方面有着巨大发展潜力,同时也面临着一定的挑战性。环境 DNA 技术只能从环境样本的遗传信息来识别物种的存在,而不能对目标物种的生理状态、年龄结构以及种群大小等做出判断^[49]。同时,环境 DNA 在水体环境中存留时间有限,影响其降解的因素也有很多^[50-51],各种复杂的影响因子,加大了监测结果的不稳定性,需要进一步探究环境 DNA 与各种影响因子之间的关系。此外,高通量测序技术还存在一些限制,比如它无法直观地揭示水环境中具体的生物量信息等^[52-53]。因此环境 DNA 技术目前并不能完全取代传统渔业资源调查方式,但可以作为传统渔业资源调查有力的补充手段,减少人为因素对生态系统的干扰,缩短调查周期,降低调查成本。

4 总结

本次调查通过环境 DNA 技术与传统网具捕捞方式对东平湖鱼类多样性进行了调查,两种方法在本次调查当中共获得 29 种鱼类。环境 DNA 技术与传统网具调查得到的鱼类种数相似性较高,并且东平湖鱼类群落分布具有自柳长河至小清河的南北差异性。尽管环境 DNA 技术目前尚不能

完全替代传统的渔业资源调查方法, 然而作为一项快速且有效、环境友好的调查方法, 它在传统渔业资源调查中具备显著的补充作用。两种调查方式的结合, 可以更快速准确地揭示东平湖鱼类多样性及鱼类群落特征。东平湖当地可在禁捕以及开捕时期根据实际情况采用不同方法对渔业资源进行监测, 未来监测也应该更多地关注调水工程对湖区鱼类的补充作用。

参考文献:

- [1] Chen J P, Sun D, Wang Z Z, et al. Analysis and assessment of fisheries water environment in Dongping Lake from 2006 to 2007[J]. *Shandong Fisheries*, 2010, 27(7): 12-15. [陈金萍, 孙栋, 王志忠, 等. 2006~2007 年东平湖渔业水环境分析与评价[J]. *齐鲁渔业*, 2010, 27(7): 12-15.]
- [2] Liu H C. The research of water environment condition and the influencing factor of Dongping Lake[D]. Jinan: Shandong University, 2012. [刘红彩. 东平湖水环境状况与影响因素研究[D]. 济南: 山东大学, 2012.]
- [3] Guo P, Wu P R, Ren J, et al. Analysis of annual variation of main pollutants discharge into the river along the eastern route of South-to-North Water Diversion Project[J]. *South-to-North Water Transfers and Water Science & Technology*, 2013, 11(6): 62-66. [郭鹏, 吴培任, 任静, 等. 南水北调东线主要污染物入河量历年变化分析[J]. *南水北调与水利科技*, 2013, 11(6): 62-66.]
- [4] Liu X L, Yao X, Dong J, et al. Water environment of Dongping Lake[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2016, 32(11): 82-87. [刘学利, 姚昕, 董杰, 等. 东平湖水环境研究进展与展望[J]. *中国农学通报*, 2016, 32(11): 82-87.]
- [5] Chen L. Pollution characteristics, sources and ecological risks of Polychlorinated Biphenyls (PCBs) in surface sediment of Dongping Lake[D]. Liaocheng: Liaocheng University, 2020. [陈丽. 东平湖表层沉积物中多氯联苯(PCBs)的污染特征、来源及生态风险研究[D]. 聊城: 聊城大学, 2020.]
- [6] Gao W Q, Xin W, Xia W T, et al. Spatio-temporal responses of zooplankton to the operation of the eastern route of the South-to-North Water Diversion Project in Dongping Lake[J]. *Environmental Monitoring in China*, 2022, 38(1): 114-123. [高雯琪, 辛未, 夏文彤, 等. 东平湖浮游动物对南水北调东线运行的时空响应[J]. *中国环境监测*, 2022, 38(1): 114-123.]
- [7] Meng J. The variations of plankton and zoobenthos communities on different time scales in Nansi Lake and Dongping Lake[D]. Jinan: Shandong University, 2017. [孟姣. 南四湖和东平湖浮游生物和底栖动物群落不同时间尺度的变化[D]. 济南: 山东大学, 2017.]
- [8] Cheng X Y, Tao J, Wu R D, et al. Functional ecology of freshwater fish: Research progress and prospects[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2019, 39(3): 810-822. [程馨雨, 陶捐, 武瑞东, 等. 淡水鱼类功能生态学研究进展[J]. *生态学报*, 2019, 39(3): 810-822.]
- [9] Cao Z J, Li X, Tong C, et al. Survey on fresh water fishery resources in Shandong Province[J]. *Journal of Agriculture*, 2013, 3(7): 44-51. [曹振杰, 李娴, 童春, 等. 山东省淡水鱼类资源现状研究[J]. *农学学报*, 2013, 3(7): 44-51.]
- [10] Liu H C, Guo J F, Wang J P, et al. Dongping Lake fish survey report[J]. *Shandong Journal of Animal Science and Veterinary Medicine*, 2008, 29(9): 38-39. [刘红彩, 郭金峰, 王俊鹏, 等. 东平湖鱼类调查报告[J]. *山东畜牧兽医*, 2008, 29(9): 38-39.]
- [11] Hou L, Zhang L L, Zhang Q. Survey and assessment of aquatic living resources in Dongping Lake[J]. *Journal of Green Science and Technology*, 2022, 24(2): 52-55. [侯莉, 张玲玲, 张倩. 东平湖水生生物资源调查与评估[J]. *绿色科技*, 2022, 24(2): 52-55.]
- [12] Chen L, Xie G D, Lu C X, et al. Impacts of hydropower projects on fishes: A case study of Baiyangdian Lake over the recent 50 years[J]. *Resources Science*, 2011, 33(8): 1475-1480. [陈龙, 谢高地, 鲁春霞, 等. 水利工程对鱼类生存环境的影响——以近 50 年白洋淀鱼类变化为例[J]. *资源科学*, 2011, 33(8): 1475-1480.]
- [13] Rees H C, Maddison B C, Middleditch D J, et al. The detection of aquatic animal species using environmental DNA—a review of eDNA as a survey tool in ecology[J]. *Journal of Applied Ecology*, 2014, 51(5): 1450-1459.
- [14] Xu L F, Yao D D, Guo X C, et al. Fish diversity in Hongfeng Lake based on environmental DNA metabarcoding[J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2023, 36(4): 1-7. [许龙飞, 姚邓雕, 郭星辰, 等. 基于环境 DNA 宏条形码的红枫湖鱼类多样性研究[J]. *水产学杂志*, 2023, 36(4): 1-7.]
- [15] Williford D, Hajovsky P, Anderson J. Environmental DNA compliments traditional sampling for monitoring fish communities in a Texas estuary[J]. *North American Journal of Fisheries Management*, 2023, 43(5): 1372-1394.
- [16] Murakami H, Yoon S, Kasai A, et al. Correction to: Dispersion and degradation of environmental DNA from caged fish in a marine environment[J]. *Fisheries Science*, 2019, 85(6): 327-337.
- [17] Cheng Q T, Zhou C W. *Shandong Fishes*[M]. Jinan: Shandong Science and Technology Press, 1997. [成庆泰, 周才武. 山

- 东鱼类志[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 1997.]
- [18] Cai W X, Zhang J J, Wang S W. Map of fishes in the Yellow River basin[M]. Xian: Northwest A&F University Press, 2013. [蔡文仙, 张建军, 王守文. 黄河流域鱼类图志[M]. 西安: 西北农林科技大学出版社, 2013.]
- [19] Miya M, Sato Y, Fukunaga T, et al. MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: Detection of more than 230 subtropical marine species[J]. Royal Society Open Science, 2015, 2(7): 150088.
- [20] Westcott S L, Schloss P D. De novo clustering methods outperform reference-based methods for assigning 16S rRNA gene sequences to operational taxonomic units[J]. PeerJ, 2015, 3: e1487.
- [21] He W L, Xu D P, Liang Y D, et al. Using eDNA to assess the fish diversity and spatial characteristics in the Changjiang River-Shijiu Lake connected system[J]. Ecological Indicators, 2022, 139(2): 108968.
- [22] Margalef R. Information theory in ecology[J]. General System, 1958, 3(1): 36-71.
- [23] McCulloch C E. Statistical ecology: A primer on Methods and Computing[J]. Mathematical Biosciences, 1989, 95(2): 237-239.
- [24] Abrams P A. Perspectives in ecological theory[J]. Trends in Ecology & Evolution, 1989, 4(7): 220-221.
- [25] Pielou E C. Species-diversity and pattern-diversity in the study of ecological succession[J]. Journal of Theoretical Biology, 1966, 10(2): 370-383.
- [26] Clarke K R, Gorley R N, Somerfield P J, et al. Change in marine communities: An approach to statistical analysis and interpretation[M]. The 3rd editon. Plymouth: PRIMER-E, 2014.
- [27] Clarke K R. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure[J]. Australian Journal of Ecology, 1993, 18(1): 117-143.
- [28] Xie H, Jiang Z G, Xia Z J, et al. The impacts of enclosure aquaculture on fish community in the Huayanghe Lake[J]. Journal of Fisheries of China, 2018, 42(9): 1399-1407. [谢涵, 蒋忠冠, 夏治俊, 等. 围网养殖对华阳河湖鱼类群落结构的影响[J]. 水产学报, 2018, 42(9): 1399-1407.]
- [29] Yu S P. Research on water resources management of Dongping Lake[D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2018. [禹世鹏. 东平湖水资源管理问题研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2018.]
- [30] He D J, Xing Y H, Jiang R X, et al. Distribution of nitrogen and phosphorus in water and eutrophication assessment of Dongping Lake[J]. Environmental Science & Technology, 2010, 33(8): 45-48, 61. [何德进, 邢友华, 姜瑞雪, 等. 东平湖水体中氮磷的分布特征及其富营养化评价[J]. 环境科学与技术, 2010, 33(8): 45-48, 61.]
- [31] Rehabilitation of fisheries resources and improvement of water environment-implementation of Dongping Lake's proliferation and release activities[J]. Scientific Fish Farming, 2021(5): 85. [修复渔业资源, 改善水域环境——东平湖增殖放流活动实施[J]. 科学养鱼, 2021(5): 85.]
- [32] Chen A, Wu M, Chen K Q, et al. Main issues in research and practice of environmental protection for water conservancy and hydropower projects in China[J]. Water Science and Engineering, 2016, 9(4): 312-323.
- [33] Canonico G C, Arthington A, McCrary J K, et al. The effects of introduced tilapias on native biodiversity[J]. Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems, 2005, 15(5): 463-483.
- [34] Abbas K. Genetic diversity and population structure of Chinese *Misgurnus anguillicaudatus* and *Elopichthys bambusa* in the Yangtze River basin as revealed by molecular markers[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2009.
- [35] Dao F. General South-North Water Transfer Project of the three water diversion routes[J]. Journal of Yellow River Conservancy Technical Institute, 2007, 19(4): 35. [道富. 南水北调工程三条调水线路概况[J]. 黄河水利职业技术学院学报, 2007, 19(4): 35.]
- [36] Jin C D, Liu S L. Discussion on implementing Liuchang River expansion project to solve the problem of mutual allocation of water resources between Dongping Lake and Nansi Lake[J]. Shandong Water Resources, 2001(12): 41-42. [金成德, 刘思兰. 实施柳长河扩挖工程以解决东平湖与南四湖水资源相互调配问题的探讨[J]. 山东水利, 2001(12): 41-42.]
- [37] Bao H F. Influence analysis on biological diversity of Danjiangkou Reservoir at the Middle Route South-to-North Water Transfer Project[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2013. [包洪福. 南水北调中线工程对丹江口库区生物多样性的影响分析[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2013.]
- [38] Li F. Impact of the South-North Water Transfer Project Eastern Route Project on the ecological environment of Nansi Lake[D]. Changsha: Hunan University, 2007. [李峰. 南水北调东线工程对南四湖生态环境的影响[D]. 长沙: 湖南大学, 2007.]
- [39] Zhu J Z, Guo W T, Huang A Y, et al. Characteristics of spatial distributions of fish community in upper and lower approach channels of the Three Gorges ship lock, Yangtze River[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2022, 31(1):

- 242-251. [朱佳志, 郭文韬, 黄安阳, 等. 长江三峡船闸上下引航道鱼类空间分布特征[J]. 上海海洋大学学报, 2022, 31(1): 242-251.]
- [40] Liu D, Li W J, Du H B, et al. Preliminary analysis on influence of channel noise on fish[J]. *Yangtze River*, 2021, 52(9): 58-64. [刘丹, 李文杰, 杜洪波, 等. 航道噪声对鱼类影响初步分析[J]. 人民长江, 2021, 52(9): 58-64.]
- [41] Li F, Zeng G M, Song J J, et al. The responses of fish community of Nansi Lake to the east route of the South-North Water Transfer Project[J]. *Henan Science*, 2008, 26(4): 467-471. [李峰, 曾光明, 宋建军, 等. 南四湖鱼类群落对南水北调东线工程的响应[J]. 河南科学, 2008, 26(4): 467-471.]
- [42] Yang H L, Wu J M, Zhang H, et al. Environmental DNA metabarcoding utilization efficiency in monitoring large river fish species composition: A case study in the Wuhan transect of the Yangtze River[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2021, 28(6): 796-807. [杨海乐, 吴金明, 张辉, 等. 大型河流中鱼类组成的 eDNA 监测效率: 以长江武汉江段为例[J]. 中国水产科学, 2021, 28(6): 796-807.]
- [43] Harper L R, Handley L L, Carpenter A I, et al. Environmental DNA (eDNA) metabarcoding of pond water as a tool to survey conservation and management priority mammals[J]. *Biological Conservation*, 2019, 238: 108225.
- [44] Rourke M L, Fowler A M, Hughes J M, et al. Environmental DNA (eDNA) as a tool for assessing fish biomass: A review of approaches and future considerations for resource surveys[J]. *Environmental DNA*, 2022, 4(1): 9-33.
- [45] Takahara T, Minamoto T, Yamanaka H, et al. Estimation of fish biomass using environmental DNA[J]. *PLoS One*, 2012, 7(4): e35868.
- [46] Evans N T, Olds B P, Renshaw M A, et al. Quantification of mesocosm fish and amphibian species diversity via environmental DNA metabarcoding[J]. *Molecular Ecology Resources*, 2016, 16(1): 29-41.
- [47] Tillotson M D, Kelly R P, Duda J J, et al. Concentrations of environmental DNA (eDNA) reflect spawning salmon abundance at fine spatial and temporal scales[J]. *Biological Conservation*, 2018, 220: 1-11.
- [48] Smart A S, Tingley R, Weeks A R, et al. Environmental DNA sampling is more sensitive than a traditional survey technique for detecting an aquatic invader[J]. *Ecological Applications*, 2015, 25(7): 1944-1952.
- [49] Hao Y B, Zhang A J, Liu J D, et al. Application of environmental DNA technology in the study of fish resources[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2018, 34(12): 56-62. [郝雅宾, 张爱菊, 刘金殿, 等. 环境 DNA 技术在鱼类资源研究中的应用[J]. 生物技术通报, 2018, 34(12): 56-62.]
- [50] Barnes M A, Turner C R, Jerde C L, et al. Environmental conditions influence eDNA persistence in aquatic systems[J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(3): 1819-1827.
- [51] Joseph C, Faiq M E, Li Z Y, et al. Persistence and degradation dynamics of eDNA affected by environmental factors in aquatic ecosystems[J]. *Hydrobiologia*, 2022, 849(19): 4119-4133.
- [52] Dowle E J, Pochon X, Banks J C, et al. Targeted gene enrichment and high-throughput sequencing for environmental biomonitoring: A case study using freshwater macroinvertebrates [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2016, 16(5): 1240-1254.
- [53] Shelton A O, O'Donnell J L, Samhoury J F, et al. A framework for inferring biological communities from environmental DNA[J]. *Ecological Applications*, 2016, 26(6): 1645-1659.

Fish diversity in the Dongping Lake based on environmental DNA techniques

TONG Yadong¹, KUANG Zhen², LIU Pengfei², LIANG Yidong², FAN Yingchun², XU Dongpo^{1,2}

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

2. Scientific Observation and Experimental Station of Fishery Resources and Environment in the Lower Reaches of the Changjiang River, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China

Abstract: Dongping Lake, located downstream of the Yellow River, serves as a crucial flood storage reservoir and is the final reservoir of the Eastern Route of the South-to-North Water Transfer Project. To explore the current status of fish diversity and community characteristics in Dongping Lake, this study employed environmental DNA (eDNA) technology and compared the results with traditional net fishing surveys. This study elucidates the diversity of the fish community in Dongping Lake and discusses the feasibility of long-term monitoring using eDNA technology. The results revealed that the eDNA technology detected 23 species belonging to 23 genera, 7 families, and 5 orders. Further analysis indicated that the Shannon-Wiener diversity index had an average value of 1.04, ranging from 0.21 to 2.36. The average Pielou evenness index was 0.54, with values ranging from 0.29 to 0.81. The average Margalef richness index was 0.75, varying from 0.13 to 2.09. Analysis of similarities (ANOSIM) tests suggested no significant differences in diversity indices between the lake area and river channels. Non-metric multidimensional scaling (NMDS) analysis revealed four distinct cluster structures in the fish community of Dongping Lake, categorized as coastal, lake center, and two riverine types, with significant overall differences ($R < 1$, $P < 0.05$). The traditional net fishing survey captured 24 fish species belonging to 21 genera, 6 families, and 4 orders, with 18 species detected using both methods. Cypriniforms were the most abundant among the fish species detected using both methods. This study demonstrated a high similarity (62.06%) in species composition between eDNA technology and traditional net fishing surveys. Geographically, the fish community in Dongping Lake exhibited distinct distribution patterns from the Liuchang River along the coastline of Dongping Lake, north of the lake center, to the Xiaoqing River, indicating a north-south difference in the overall fish community. The results of this study confirm the feasibility of using eDNA technology for monitoring fishery resources in Dongping Lake, effectively supplement fish resources monitoring means. This study provides valuable data and technical references for the management and conservation of fishery resources in the Dongping Lake.

Key words: the Dongping Lake; environmental DNA; fish diversity; the Yellow River

Corresponding author: XU Dongpo. E-mail: xudp@ffrc.cn