

文章编号: 1674-5566(2024)04-0911-16

DOI: 10.12024/jsou.20230904320

基于环境DNA技术的黑潮-亲潮交汇区夏季鱼类物种多样性分析

梁绪虹¹, 王丛丛^{1,2,3,4}, 刘洋^{1,2,3,4,5}, 俞晔伟^{1,5}, 宋成辉¹

(1. 上海海洋大学海洋生物资源与管理学院, 上海 201306; 2. 大洋渔业资源可持续开发教育部重点实验室, 上海 201306; 3. 国家远洋渔业工程技术研究中心, 上海 201306; 4. 农业农村部大洋渔业可持续利用重点实验室, 上海 201306; 5. 临港新片区海洋生物医药科技创新型平台, 上海 201306)

摘要: 西北太平洋黑潮-亲潮交汇区是世界上最高产的渔区之一, 鱼类资源众多。为了解交汇区鱼类群落的生物多样性, 保护和合理开发利用该海域的渔业资源, 利用环境DNA (Environmental DNA, eDNA) 技术对夏季西北太平洋黑潮与亲潮交汇区进行鱼类多样性分析, 通过22个站点水样的采集、DNA提取及测序, 共检测出22目30科44属51种海水鱼类, 其中灯笼鱼科种类最多, 共17种, 占鱼类物种总数的33.33%。此外, 相对丰度较高的物种为宽尾臂灯鱼、西钻光鱼、日本背灯鱼、远东拟沙丁鱼、斑点多纪鲷、瓦氏角灯鱼、斑头六线鱼、日本鲭、日本海鲱、黑潮眶灯鱼。站点间Alpha多样性差异较大, 总体上呈现高纬度断面生物多样性低, 低纬度断面生物多样性高的特点。冗余分析表明, 影响交汇区鱼类群落结构的主要环境因子为溶解氧。研究证明了eDNA技术用于监测西北太平洋黑潮-亲潮交汇区鱼类多样性及其空间分布的可行性。

关键词: 环境DNA; 黑潮-亲潮交汇区; 鱼类; 生物多样性

中图分类号: Q958.8 **文献标志码:** A

西北太平洋黑潮-亲潮交汇区(The Kuroshio-Oyashio confluence region, KOOCR), 是黑潮延伸体(Kuroshio extension, KE)与亲潮(Oyashio, OY)交汇的海区^[1-2]。交汇区南部水体主要保持着黑潮延伸体高温高盐的特性, 北侧的水体为低温低盐亲潮水, 中部形成温盐特性差异显著的锋区。这种独特的温盐结构, 使该区域的鱼类群落组成与物种多样性特征与周边海域形成较大差异^[3-4]。由于寒暖洋流裹挟的物质和能量在该海域交汇融合, 使得其海底丰富的无机物等营养物质被抬升, 为海洋生物提供了良好的繁殖和生存环境, 促使日本鲭(*Scomber japonicus*)、远东拟沙丁鱼(*Sardinops melanostictus*)、日本乌鲂(*Brama japonica*)等大量经济鱼种聚集于此, 成为最高产的渔区之一。近年来各沿海国持续加大对西北太平洋海域的捕捞力度^[5], 使该海域捕捞压力剧增, 渔业资源变动频繁, 为保证该海域的渔业资

源的可持续利用与开发, 需要对渔区内的渔业资源进行长期有效的监测调查。

大洋性鱼类是海洋生态系统中的关键类群之一, 作为海洋食物网中的重要一环, 在生态系统的能量流动与营养循环中发挥着不可替代的作用, 具有重要的生态价值, 其物种多样性是海洋生态系统健康监测的一个关键指标^[6-8]。传统的大洋性鱼类多样性调查方法多以网具捕捞(如拖网、围网、刺网)为主, 这些方法通常面临生态破坏性大、专业形态学知识要求高、耗时耗力等问题^[9-10], 具有一定的局限性。因此, 鱼类物种多样性调查亟须新的有效的监测技术和方案。环境DNA (Environmental DNA, eDNA) 技术是指从土壤^[11]、沉积物^[12]、水体^[13]等环境样品中直接提取生物体残留的DNA片段后, 利用测序技术对生物进行定性或定量分析, 是一种非侵入性且成本效益高的监测方法^[14-15]。MIYA等^[16]和ZHANG

收稿日期: 2023-09-21 修回日期: 2024-01-16

基金项目: 农业农村部全球渔业资源调查监测评估(公海渔业资源综合科学调查)专项(D-8021-22-0129-01)

作者简介: 梁绪虹(2000—), 女, 硕士研究生, 研究方向为海洋生物学。E-mail: 1557824611@qq.com

通信作者: 王丛丛, E-mail: ccwang@shou.edu.cn

版权所有 ©《上海海洋大学学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)

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

<http://www.shhydx.com>

等^[17]开发的鱼类通用引物,为通过 eDNA 技术进行鱼类物种多样性研究提供了条件^[16-17]。此后, eDNA 方法被广泛应用于鱼类的多样性研究中,多项研究^[18-21]表明, eDNA 方法调查结果较传统方法检测到的鱼种更为丰富,具有效率高、分辨率高、采样无损伤性等特点,是一种可靠的海洋鱼类多样性监测工具。

目前针对西北太平洋鱼类种类组成和生物多样性已有相应研究。KHORUZHIY^[22]在 2004—2009 年夏季使用中上层拖网对西北太平洋千岛群岛(Kuril Islands)附近游泳动物的物种组成与丰度特征进行调查,共捕获鱼类 66 种,分属于 37 科 55 属。王良明^[23]根据 2015—2016 年在西北太平洋进行的两个航次的灯光围网调查资料,研究了西北太平洋公海区域中上层游泳动物的多样性,共捕获鱼类 132 种。马超等^[24]根据 2018 年灯光敷网渔船的调查数据评估了西北太平洋的鱼类物种多样性,结果表明:研究海域种类组成较为单一,多样性水平较低。这些研究大多是基于灯光诱集的捕捞方式,分析结果偏向具有趋光性的鱼类物种,具有较大的选择性。由于独特的海洋环境和地理条件,西北太平洋黑潮-亲潮交汇区拥有丰富的渔业资源,是重要的渔业作业海区,应进行长期监测以促进该海域海洋保护措施的制定和渔业资源的科学管理。然而在传统的西北太平洋的鱼类多样性调查中,针对黑潮-亲潮交汇区进行的专门调查报道较少,尚且缺乏对交汇区内部鱼类多样性分布特征的认识。

本研究利用 eDNA 技术对夏季西北太平洋黑潮与亲潮交汇区的鱼类多样性进行调查,并分析鱼类物种组成及空间分布特征。旨在明确交汇区内部鱼类多样性特征,探讨环境 DNA 技术在交汇区监测鱼类多样性及空间分布的可行性,为西北太平洋海域鱼类资源可持续开发提供基础数据支持和科学依据。

1 材料与方法

1.1 环境 DNA 样品采集

研究样品由上海海洋大学“淞航”号科学调查船 2022 年 6—8 月采集于西北太平洋。共选取位于亲潮-黑潮交汇区的 22 个站点,KE(黑潮延伸体)断面 9 个站点、KOCR(黑潮-亲潮交汇区)断

面 7 个站点、OY(亲潮)断面 6 个站点,各站点编号及分布见图 1。使用带有 SBE 911 Plus CTD 系统(Sea-Bird Scientific, 美国)的 Niskin 瓶(24×20 L)在不同站点采集表层海水样品(深度为 5 m),每个站点各取 5 个平行样。所有水样采集完后均直接利用直径 47 mm,孔径 0.45 μm 的混合纤维素酯(Mixed cellulose ester, MCE)滤膜进行真空抽滤,每张滤膜抽滤体积为 10 L,同时设置灭菌双蒸水(ddH₂O)的阴性对照。抽滤完成后将滤膜放入 1.5 mL 棕色离心管中,冻存至 -80 °C 冰箱备用。水深、浊度、水温、盐度、pH 及溶解氧等相关环境因子数据采用温盐深测量系统(Conductivity-temperature-depth, CTD)与水样同步采集。

1.2 环境 DNA 提取、扩增及测序

采用 DNeasy Blood & Tissue Kit(Qiagen, 德国)试剂盒提取 eDNA,操作流程参照试剂盒说明书。提取完成的 eDNA 经分光光度计测定浓度,使用琼脂糖凝胶电泳法检验其片段大小和质量,于 -20 °C 冰箱保存备用。使用已报道的鱼类 12S rRNA 基因通用引物 MiFish-U-F: 5'-GTCCGTA AAACTCGTGCCAGC-3' 和 MiFish-U-R: 5'-CATAGTGGGGTATCTAATCCCAGTTTG-3' 进行 PCR 扩增^[16]。扩增体系 25 μL,包含 5×反应缓冲液和 5×GC 缓冲液各 5 μL, dNTP 2 μL, 正反向引物各 1 μL, 模板 DNA 2 μL, 双蒸水 8.75 μL, Q5 DNA 聚合酶 0.25 μL。PCR 反应流程为 98 °C 预变性 2 min, 98 °C 变性 15 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 从第二步开始循环 30 次,最后 72 °C 延伸 5 min。同时以 ddH₂O 作为阴性对照进行相同的 PCR 流程以检测有无污染。使用琼脂糖凝胶电泳检验 PCR 产物大小和质量,扩增产物送至上海派森诺生物科技有限公司进行 Illumina MiSeq 平台双端(Paired-end)测序。

1.3 生物信息学分析

测序产生的原始序列采用 Vsearch 聚类方案进行处理^[25],使用软件 Cutadapt(v2.3)切除序列的引物片段,并弃去未匹配引物的序列。使用软件 Vsearch(v2.13.4_linux_x86_64)拼接序列,并去除重复序列和嵌合体,从而获得高质量的有效序列,最后在 97% 相似度水平下将高质量的序列聚类为可操作分类单元(Operational taxonomic unit, OTU)。删除所有样本中绝对丰度为 1 的 OTU

(singletons OTUs)及其代表序列,并分别输出代表序列和 OTU 表。将 OTU 代表序列在 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)和 MitoFish(<http://mitofish.aori.u-tokyo.ac.jp/download.html>)两个参考

数据库中与已知序列进行同源性比对从而实现物种注释并在数据库网站上获取相应序列的分类学信息。

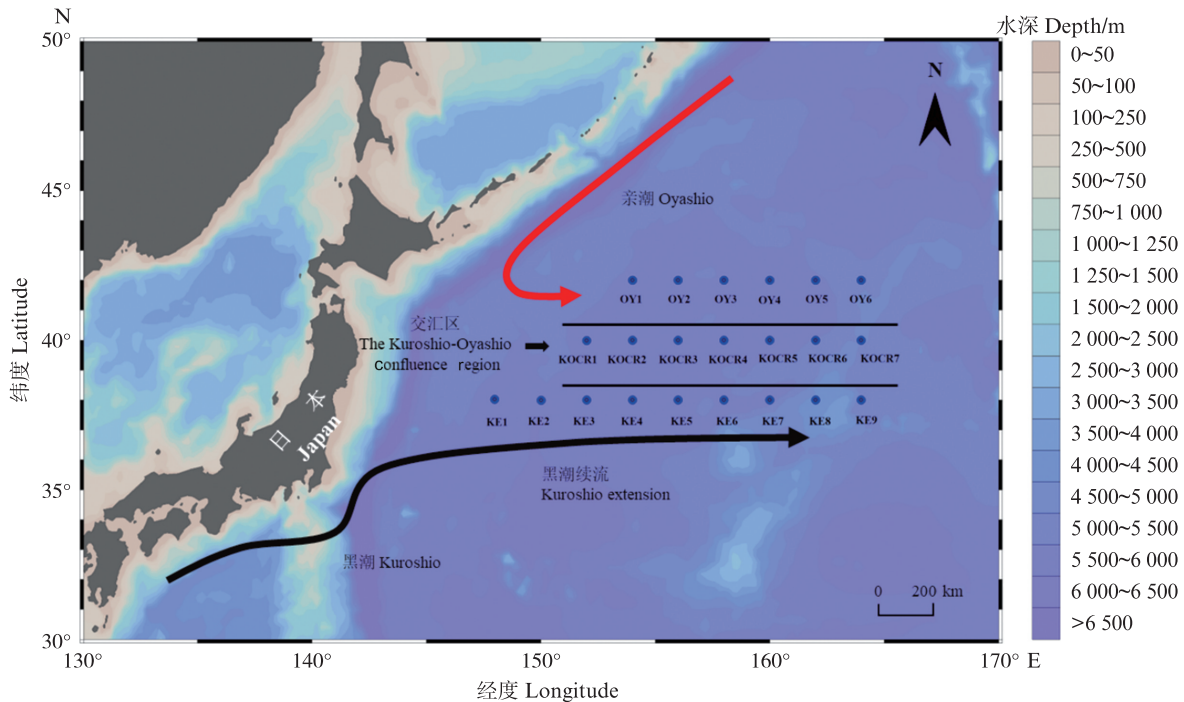


图1 2022年6—8月西北太平洋亲潮-黑潮交汇区eDNA水样采集站点图

Fig. 1 Map of eDNA water sampling sites in the Kuroshio-Oyashio confluence region of the Northwest Pacific Ocean from June to August 2022

通过 Alpha 多样性来反映研究区域的鱼类物种多样性,使用 QIIME2 软件^[26]分别计算了各站点的 Chao1 指数 (S_{Chao1})、Observed species 指数 (S_{obs})、Simpson 指数 (D')、Shannon 指数 (H') 和 Pielou's evenness 指数 (J')。Chao1 指数和 Observed species 指数用于体现群落物种的丰富度^[27],计算方法为

$$S_{\text{Chao1}} = S_{\text{obs}} + \frac{F_1(F_1 - 1)}{2(F_2 + 1)} \quad (1)$$

式中: S_{obs} 为样本 OTU 总数; F_1 、 F_2 分别为仅含 1 条和 2 条序列的 OTU 数量。

Shannon 指数和 Simpson 指数用于反映群落物种的多样性^[28-29],计算方法如下:

$$H' = -\sum_{i=1}^{S_{\text{obs}}} p_i \log_2 p_i \quad (2)$$

$$D' = 1 - \sum_{i=1}^{S_{\text{obs}}} p_i^2 \quad (3)$$

式中: p_i 为样本中第 i 个 OTU 包含的序列数所占样本所有 OTU 包含的总序列数的比值; S_{obs} 为样

本的 OTU 总数。

Pielou's evenness 指数用于反映群落物种的均匀度和生物量差异^[30]。计算方法为

$$J' = \frac{H'}{\ln S_{\text{obs}}} \quad (4)$$

式中: H' 为 Shannon 指数; S_{obs} 指样本 OTU 总数。利用 R 语言的 pheatmap 包与 Venn Diagram 包分别绘制各站点物种组成热图和花瓣图,比较不同站点鱼类物种组成的差异。使用 Vegan 包中的 decorana 函数进行消除趋势对应分析 (Detrended correspondence analysis, DCA),以判断使用基于线性模型的冗余分析 (Redundancy analysis, RDA) 或基于单峰模型的典型相关分析 (Canonical correlation analysis, CCA) 的方法,从而探究影响鱼类群落分布的主要环境因子。DCA 中排序轴梯度长度 (Gradient length) 大于 4.0,选用 CCA,反之选用 RDA^[31]。利用 Canoco 5 软件完成 RDA 图或 CCA 图的绘制。

2 结果

2.1 鱼类物种组成

在DNA提取和PCR操作过程中设置的空白对照组检测结果为阴性,表明试验过程中无污染。22个样本经高通量测序共获得3 676 104条原始序列,经去噪、拼接和去除嵌合体并按97%相似性共聚类形成1 283个OTU。

将所有的OTU在NCBI(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)和MitoFish(<http://mitofish.aori.u-tokyo.ac.jp/download.html>)两个参考数据库中进行物种比对注释,在数据库NCBI中共比对得到14目14科29属34种鱼,在MitoFish中共比对得到18目24科35属41种鱼,综合两个数据库共检测出22目30科44属51种鱼类(图2,表1)。其中灯笼鱼目(Myctophiformes)灯笼鱼科(Myctophidae)的种类

最多,总计17种,占鱼类物种总数的33.33%。从物种数量上看,断面KE与断面KOCR的鱼类种群更为丰富,均检出42种鱼类物种,断面OY检出物种较少,为34种(表1)。

基于各采样点的相对序列丰度检测到的优势鱼种见图3,丰度排名前10的物种分别为宽尾臂灯鱼(*Stenobranchius nannochir*)、西钻光鱼(*Gonostoma atlanticum*)、日本背灯鱼(*Notoscopelus japonicus*)、远东拟沙丁鱼、斑点多纪鲑(*Takifugu poecilonotus*)、瓦氏角灯鱼(*Ceratoscopelus warmingii*)、斑头六线鱼(*Hexagrammos agrammus*)、日本鲭、日本海鲷(*Nematalosa japonica*)、黑潮眶灯鱼(*Diaphus kuroshio*)。10个物种在3个断面均有检出,其中宽尾臂灯鱼、西钻光鱼、远东拟沙丁鱼、斑头六线鱼、日本鲭、日本海鲷在22个站点均被检测到。

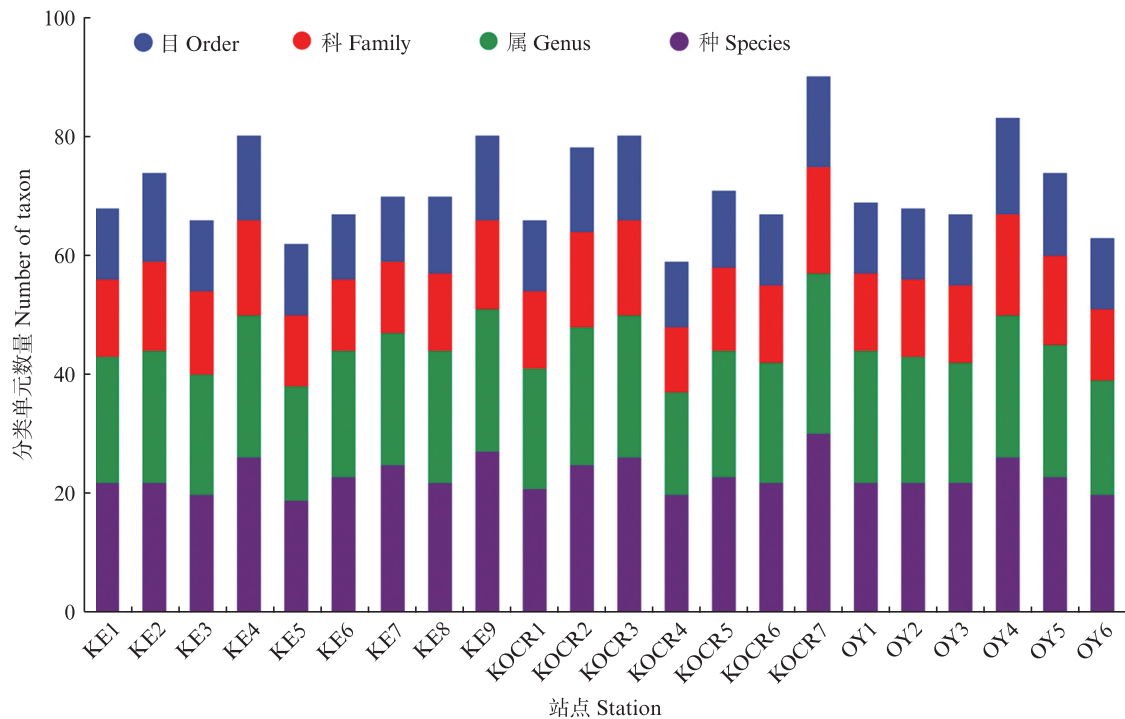


图2 西北太平洋黑潮-亲潮交汇区鱼类OTU划分和分类地位鉴定结果

Fig. 2 Result of OTU division and classification taxon identification of fish in the Kuroshio-Oyashio confluence region of the Northwest Pacific Ocean

表1 基于eDNA宏条形码技术在西北太平洋黑潮-亲潮交汇区各断面及数据库的鱼类检出情况
 Tab. 1 Fish detection in sections and databases in the Kuroshio-Oyashio confluence region of the Northwest Pacific Ocean based on eDNA macro barcode technology

科 Family	物种 Species	相对丰度 Relative abundance/%			数据库 Database	
		KE	KOCR	OY	MotiFish	NCBI
银鲛科 Chimaeridae	黑线银鲛 <i>Chimaera phantasma</i>	-	0.013	0.009		√
真鲨科 Carcharhinidae	大青鲨 <i>Prionace glauca</i>	-	0.003	0.028	√	√
康吉鳗科 Congridae	星康吉鳗 <i>Conger myriaster</i>	0.091	-	-	√	
海鳗科 Muraenesocidae	海鳗 <i>Muraenesox cinereus</i>	0.093	0.123	0.006	√	
深海鲑科 Bathylagidae	太平洋深海鲑 <i>Bathylagus pacificus</i>	0.252	0.616	2.120	√	√
大鳞蜥鱼科 Notosudidae	哈氏弱蜥鱼 <i>Scopelosaurus harryi</i>	0.006	0.131	-	√	
颌针鱼科 Belonidae	横带扁颌针鱼 <i>Ablennes hians</i>	0.023	0.003	0.002	√	√
鱈科 Hemiramphidae	日本下鱈鱼 <i>Hyporhamphus sajori</i>	1.716	0.002	-	√	
马鲛科 Polynemidae	五指马鲛 <i>Polydactylus plebeius</i>	0.010	0.003	-	√	
鲱科 Clupeidae	日本海鲱 <i>Nematalosa japonica</i>	3.863	0.534	0.048		√
	远东拟沙丁鱼 <i>Sardinops melanostictus</i>	3.003	6.785	4.945	√	√
鳀科 Engraulidae	日本鳀 <i>Engraulis japonicus</i>	0.085	0.003	-	√	√
金线鱼科 Nemipteridae	横带副眶棘鲈 <i>Parascopopsis inermis</i>	0.054	1.355	0.002		√
鲭科 Gadidae	狭鳕 <i>Gadus chalcogrammus</i>	0.346	0.230	0.509		√
长尾鲳科 Macrouridae	哈氏腔吻鲳 <i>Coelorinchus hubbsi</i>	0.001	0.001	-		√
天竺鲷科 Apogonidae	细条天竺鲷 <i>Jaydia lineata</i>	0.003	0.110	0.004	√	
鲻科 Mugilidae	鲻 <i>Planiliza haematocheilus</i>	0.002	0.089	-	√	
灯笼鱼科 Myctophidae	后光虹灯鱼 <i>Bolinichthys distofax</i>	2.036	0.018	-	√	√
	瓦氏角灯鱼 <i>Ceratoscopelus warmingii</i>	0.633	6.138	0.246	√	√
	汤氏角灯鱼 <i>Ceratoscopelus townsendi</i>	-	0.002	-	√	√
	粗鳞灯笼鱼 <i>Myctophum asperum</i>	0.412	-	-	√	
	黑潮眶灯鱼 <i>Diaphus kuroshio</i>	1.369	1.903	0.011	√	√
	巨眶灯鱼 <i>Diaphus gigas</i>	0.299	-	-	√	
	细眶灯鱼 <i>Diaphus subtilis</i>	0.008	-	-	√	√
	高体电灯鱼 <i>Electrona risso</i>	0.014	0.001	-	√	
	壮灯鱼属 <i>Hygophum</i> sp.	0.198	0.003	0.246	√	√
	莱氏壮灯鱼 <i>Hygophum reinhardtii</i>	0.026	-	-	√	√
	杨氏炬灯鱼 <i>Lampadena yaquinae</i>	0.125	0.294	0.272		√
	闪光灯笼鱼 <i>Myctophum nitidulum</i>	2.224	0.010	-	√	√
	日本背灯鱼 <i>Notoscopelus japonicus</i>	0.176	15.625	2.397	√	√
	宽尾臂灯鱼 <i>Stenobranchius nannochir</i>	71.313	43.670	73.440		√
	白身臂灯鱼 <i>Stenobranchius leucopsarus</i>	0.008	0.012	0.018	√	
	长体标灯鱼 <i>Symbolophorus californiensis</i>	0.004	0.124	0.370	√	√
	埃氏标灯鱼 <i>Symbolophorus evermanni</i>	0.167	0.031	0.067	√	√
六线鱼科 Hexagrammidae	斑头六线鱼 <i>Hexagrammos agrammus</i>	1.639	2.020	3.933	√	
平鲷科 Sebastidae	巴拉望平鲷 <i>Sebastes baramenuke</i>	0.213	0.189	0.018	√	√
魴鲷科 Triglidae	棘绿魴鱼 <i>Chelidonichthys spinosus</i>	0.112	0.190	0.007	√	
锦鲷科 Pholidae	粗棘云鲷 <i>Pholis crassispina</i>	-	0.001	0.135		√
绵鲷科 Zoarcidae	日本蛇绵鲷 <i>Lycenchelys remissaria</i>	0.003	-	-		√
鲽科 Pleuronectidae	星斑川鲽 <i>Platichthys stellatus</i>	-	0.088	0.020	√	
	黄腹鲽 <i>Pleuronectes quadrituberculatus</i>	0.001	0.214	1.093	√	
鲑科 Salmonidae	大麻哈鱼 <i>Oncorhynchus keta</i>	0.006	0.041	0.031	√	√
乌鲂科 Bramidae	日本乌鲂 <i>Brama japonica</i>	-	-	0.022	√	√
鲭科 Scombridae	扁舵鲹 <i>Auxis thazard</i>	0.003	0.028	2.264	√	√

·续表 1·

科 Family	物种 Species	相对丰度 Relative abundance/%			数据库 Database	
		KE	KOCR	OY	MotiFish	NCBI
带鱼科 Trichiuridae	日本鲭 <i>Scomberja ponicus</i>	1.329	2.185	2.033	√	√
	澳洲鲭 <i>Scomber australasicus</i>	-	0.010	0.004	√	√
	日本带鱼 <i>Trichiurus japonicus</i>	-	0.001	0.290	√	√
钻光鱼科 Gonostomatidae	西钻光鱼 <i>Gonostoma atlanticum</i>	2.256	17.143	0.585	√	
海龙科 Syngnathidae	薛氏海龙 <i>Syngnathus schlegeli</i>	-	-	0.028	√	√
鲷科 Tetraodontidae	棕斑腹刺鲷 <i>Lagocephalus spadiceus</i>	0.323	-	-	√	
	斑点多纪鲷 <i>Takifugu poecilonotus</i>	5.562	0.055	4.797	√	
汇总 Total		100.000	100.000	100.000	41 种	34 种

注: -表示在该断面未监测到该鱼类;√表示该鱼类在数据库中得到匹配。

Notes: - indicates that the fish has not been detected in the section; √ indicates that the fish is matched in the database.

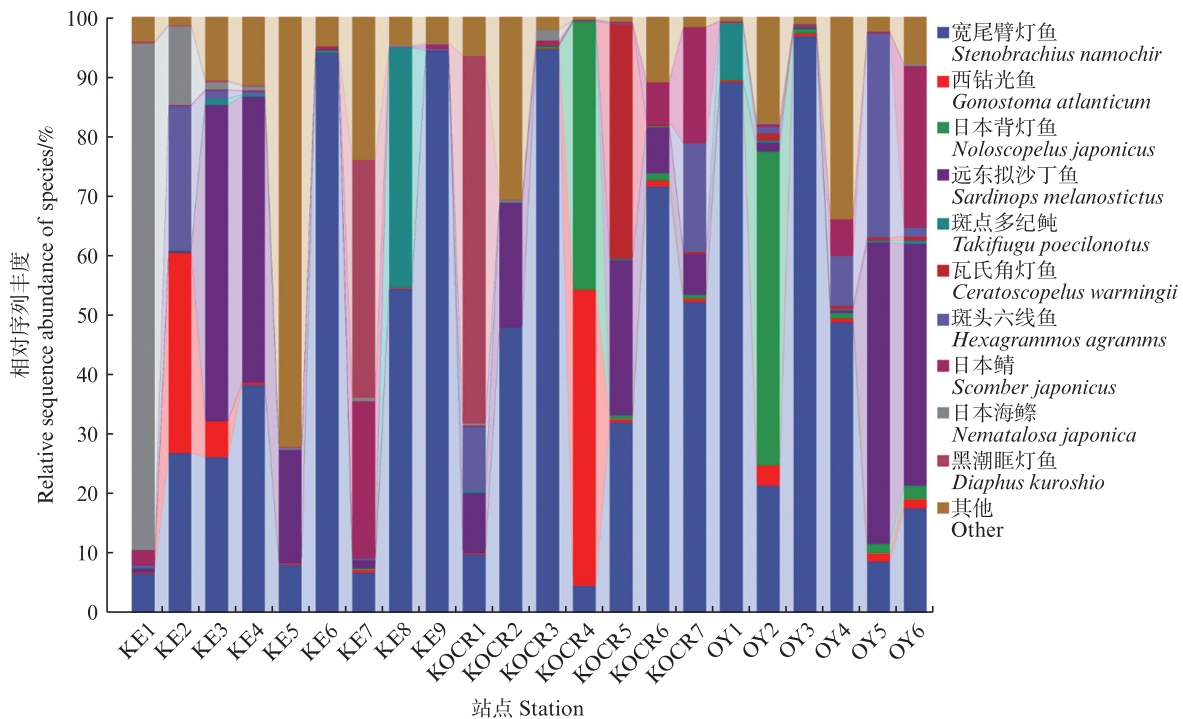


图 3 各采样站点优势鱼类物种组成

Fig. 3 Composition of dominant fish species at each sampling station

2.2 鱼类物种多样性

由物种稀疏曲线可知,所有站点测序深度均达到平台期,表明每个样本的数据量足够进行鱼类物种多样性的分析(图4)。各样本的鱼类群落 Alpha 多样性如表 2 所示,丰富度方面,Chao1 指数为 30.20~76.50, Observed species 指数为 25.00~49.00, 两者的变化趋势一致;多样性方面,Shannon 指数为 0.36~2.93, Simpson 指数为 0.066 9~0.786 3,

两者的分布趋势也基本对应;代表群落物种均匀度的 Pielou's evenness 指数为 0.101 7~0.899 2。各站点之间的 Alpha 多样性存在差异,站点 KOCR7 与 KE5 具有较高的 Chao1 指数和 Observed species 指数,站点 OY4 丰富度较低;Shannon 指数和 Simpson 指数最高的两个站点为 KE3 和 KE5,最低的站点为 OY3;Pielou's evenness 指数结果表明站点 KE3 均匀度最高,站点 OY3 最低。

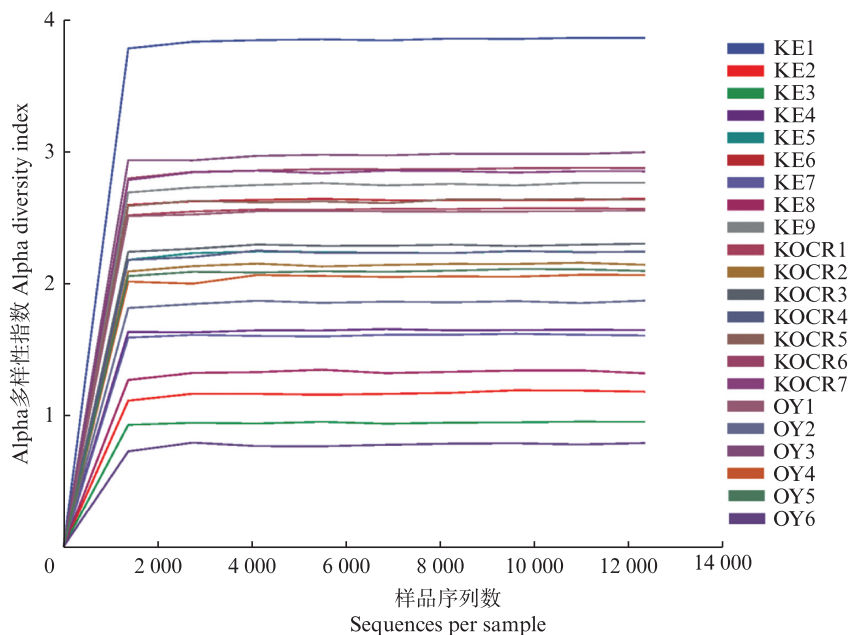


图4 西北太平洋黑潮-亲潮交汇区不同采样站点物种 Alpha 多样性指数稀疏曲线

Fig. 4 Sparse curve of species alpha diversity index at different sampling stations in the Kuroshio-Oyashio confluence region of the Northwest Pacific Ocean

表2 西北太平洋黑潮-亲潮交汇区鱼类物种相对丰度的 Alpha 多样性指数

Tab. 2 Alpha diversity index of relative abundance of fish species in the Kuroshio-Oyashio confluence region of the Northwest Pacific Ocean

样本编号 Sample ID	物种数量指数 Observed species index	Chao1 指数 Chao1 index	香农-威纳多样性 指数 Shannon index	辛普森指数 Simpson index	皮卢均匀度指数 Pielou's evenness index
KE1	30.00	36.00	1.08	0.266 8	0.317 2
KE2	32.00	45.20	2.16	0.741 8	0.623 2
KE3	26.00	35.00	2.93	0.760 4	0.899 2
KE4	33.00	38.63	2.00	0.508 4	0.571 3
KE5	49.00	56.33	2.91	0.786 3	0.748 7
KE6	34.00	49.00	0.66	0.182 9	0.186 5
KE7	33.00	37.20	2.49	0.724 8	0.712 1
KE8	32.00	34.00	1.39	0.542 6	0.401 7
KE9	32.00	36.00	1.29	0.444 0	0.372 3
KO CR1	26.00	30.20	1.65	0.502 2	0.506 5
KO CR2	31.00	76.50	1.82	0.593 1	0.530 5
KO CR3	42.00	53.00	0.51	0.109 2	0.135 6
KO CR4	37.00	46.17	1.32	0.550 9	0.366 0
KO CR5	43.00	50.86	1.53	0.557 9	0.406 3
KO CR6	34.00	47.75	1.50	0.394 3	0.424 7
KO CR7	46.00	57.38	1.77	0.609 6	0.461 7
OY1	34.00	38.67	0.62	0.199 1	0.176 0
OY2	27.00	34.00	2.23	0.657 0	0.675 3
OY3	34.00	40.00	0.36	0.069 9	0.101 7
OY4	25.00	32.00	1.59	0.589 8	0.493 6
OY5	31.00	37.00	1.73	0.492 9	0.504 8
OY6	30.00	37.00	2.55	0.714 0	0.750 2

2.3 样本间鱼类物种差异分析

利用R软件绘制了22个站点共有OTU花瓣图(图5a),所有样本共有OTU数量为5,所占比例较低;具有独有OTU的站点有14个,每个站点含独有OTU的数量较低,均低于5个。比较3个断面海域鱼类物种的组成情况(图5b),黑潮延伸体流经海域的特有OTU数量最多,交汇区次之,亲潮流经海域最少。基于种水平的鱼类物种组成热图显示(图6),不同站点的鱼类物种组成存在差异,从站点聚类来看,站点KE3与OY3具有最大的相似性。从物种聚类上看,物种扁舵鲳(*Auxis thazard*)与日本带鱼(*Trichiurus japonicus*)在不同站点的分布最相似。观察不同站点的物种丰度表达量,站点KOCR7和KE5的鱼类物种丰富度和多样性较高,站点OY3多样性较低,这与2.2节Alpha多样性指数结果一致。

2.4 鱼类多样性与环境因子的相关性

DCA去趋势分析结果显示:排序轴梯度长度(Gradient length)的值为2.28,小于4.0,因此对西北太平洋黑潮-亲潮交汇区鱼类多样性与环境因子进行RDA分析。本研究所用的环境数据如表3,结果显示:溶解氧($P=0.004$)对西北太平洋黑潮-亲潮交汇区鱼类分布有显著影响,多数鱼类物种分布与溶解氧呈正相关(表4,图7)。各物种分布较散,无聚集趋势。

3 讨论

3.1 西北太平洋黑潮-亲潮交汇区鱼类群落物种组成

在西北太平洋海域,由北向南的亲潮与北上的黑潮交汇,带来了大量的浮游动植物,形成了众多小型中上层鱼类产卵洄游索饵的重要场所,鱼类资源十分丰富。本研究在夏季通过eDNA技术对西北太平洋黑潮与亲潮交汇区进行了鱼类多样性分析,通过采集少量的海水样本实现了对研究海域鱼种多样性的快速调查。在22个站点的海水样本中共检测出22目30科44属51种海水鱼类,经与全球生物多样性信息网络(Global biodiversity information facility, GBIF, <https://www.gbif.org/>)进行对比,发现这些鱼类在西北太平洋海域黑潮-亲潮交汇区的历史捕捞数据中均有出现。在51种检测出的海水鱼类中,以灯笼鱼科种类最多,同历史调查结果一致^[22-23,32],符合西北太平洋灯笼鱼科种类众多且分布广泛的特点^[33]。本研究分别使用NCBI与MitoFish两个数据库进行物种注释,结果显示两个数据库中均能注释的物种数量有24个,10个物种仅由NCBI注释出,MitoFish单独注释物种17个,表明MitoFish数据库对西北太平洋鱼类具有更高的覆盖率,且结合两个数据库能够提高检测效率。

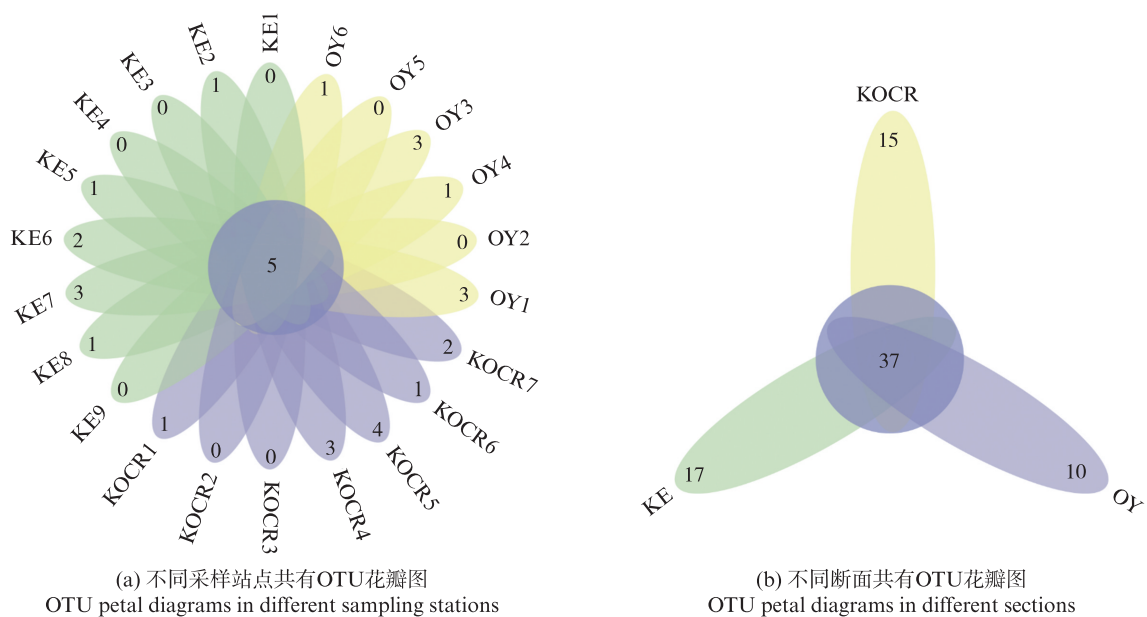
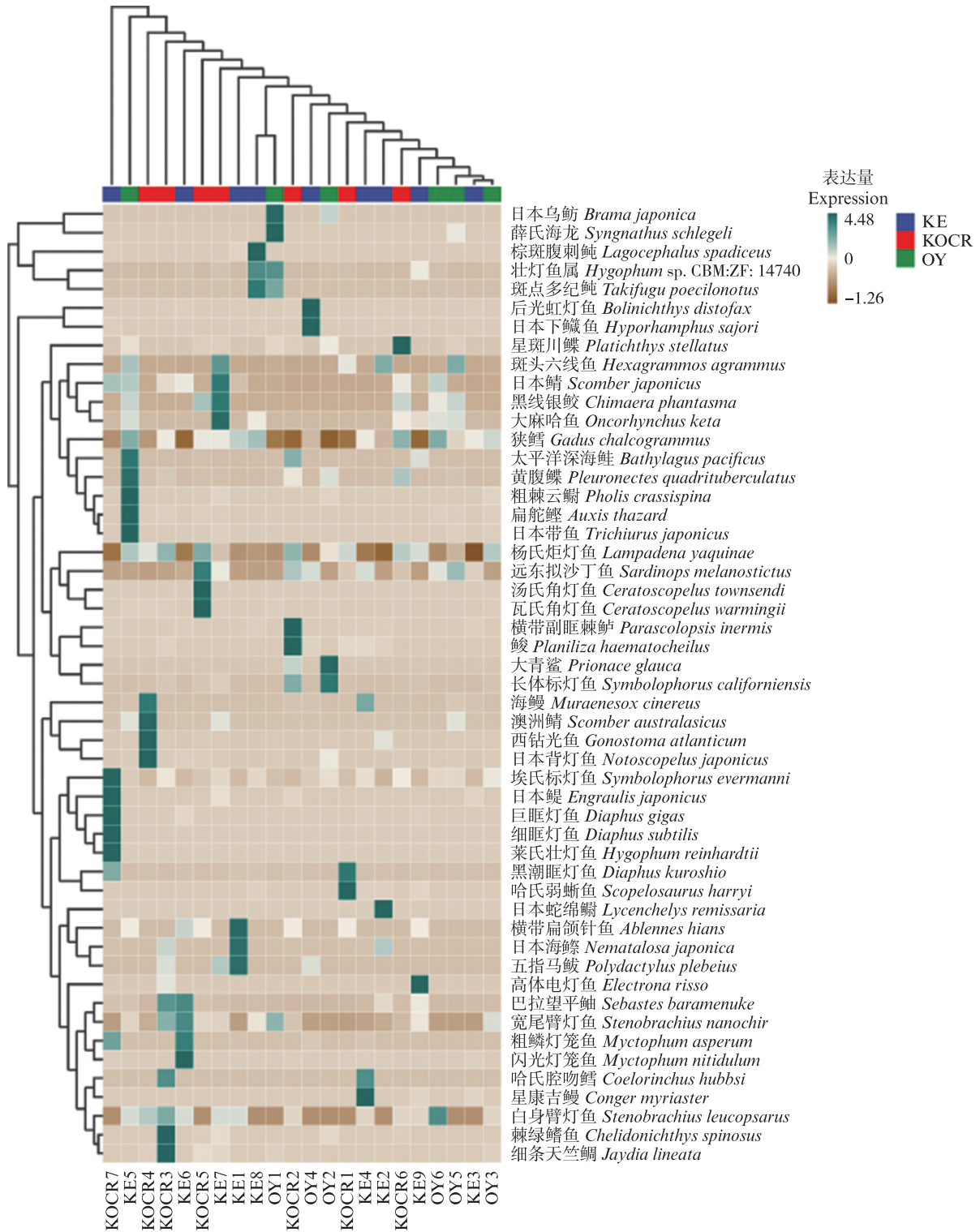


图5 西北太平洋黑潮-亲潮交汇区各采样站点和断面的共有OTU花瓣图

Fig. 5 Petal map of OTU shared by different sampling stations and sections in the Kuroshio-Oyashio confluence region of the Northwest Pacific Ocean



颜色代表站点的对应物种的丰度表达量,由绿到棕表示对应样本中该种丰度逐渐降低。

Different color codes represent the expression of different species in different samples, and from green to brown, the abundance in corresponding samples gradually decreases.

图6 西北太平洋黑潮-亲潮交汇区鱼类物种组成热图

Fig. 6 Heat map of fish species composition in the Kuroshio-Oyashio confluence region of the Northwest Pacific Ocean detected by eDNA

表3 RDA分析中各站点的环境因子参数
Tab. 3 Environmental factor parameters of each site in RDA analysis

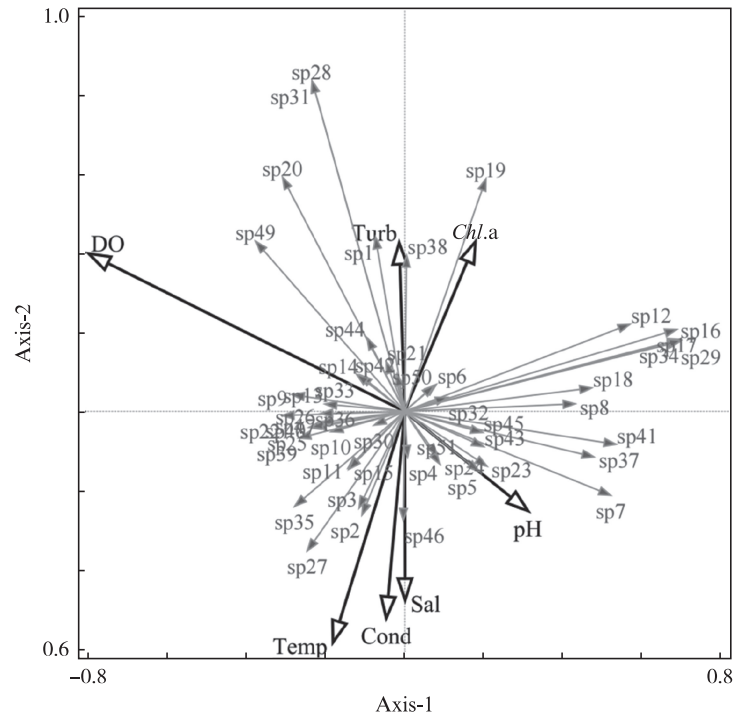
站点 Station	温度 Temperature/°C	电导率 Conductivity/ (S/cm)	溶解氧 Dissolved oxygen/(mg/L)	pH	浊度 Turbidity/NTU	盐度 Salinity	叶绿素 a Chlorophyll-a/ (mg/L)
KE1	18.49	4.56	79.90	7.93	0.47	34.29	0.68
KE2	27.15	5.31	70.72	7.53	0.35	33.39	0.26
KE3	15.94	4.02	77.79	7.79	0.48	31.82	1.23
KE4	26.59	4.35	77.30	7.92	0.35	27.20	0.57
KE5	16.36	4.27	79.28	8.44	0.51	33.61	1.81
KE6	14.98	4.18	83.28	7.97	0.50	34.00	1.73
KE7	20.43	4.64	80.53	8.08	0.42	33.41	0.32
KE8	15.58	2.65	79.49	10.04	0.52	21.01	3.16
KE9	20.13	1.69	81.18	7.61	0.35	11.08	0.35
KOCR1	17.41	1.47	72.86	6.50	0.49	10.43	0.90
KOCR2	16.17	4.33	79.21	6.94	0.46	34.27	1.03
KOCR3	9.11	0.85	88.46	6.94	0.62	7.36	2.78
KOCR4	18.88	4.60	73.81	8.66	0.48	34.31	0.34
KOCR5	22.57	4.80	72.18	6.47	0.37	32.99	0.24
KOCR6	20.98	4.75	74.34	7.81	0.38	33.90	0.29
KOCR7	15.47	4.20	68.45	7.98	0.49	33.77	1.98
OY1	15.74	4.14	69.46	8.06	0.47	32.99	0.75
OY2	20.71	2.04	80.04	7.91	0.34	13.69	0.30
OY3	15.08	2.02	72.86	7.39	0.48	16.14	1.19
OY4	13.54	2.87	63.18	9.19	0.48	23.02	1.55
OY5	21.05	2.39	71.31	6.90	0.40	16.92	0.43
OY6	18.56	4.19	77.05	10.00	0.40	31.24	0.45

表4 RDA分析中各环境因子的重要程度
Tab. 4 Importance of each environmental factor in RDA analysis

环境因子名称 Name	解释度 Explains/%	贡献度 Contribution/%	伪F统计量 Pseudo-F	显著性水平 P
溶解氧 Dissolved oxygen	8.1	22.1	1.8	0.004**
叶绿素 a Chlorophyll-a	5.2	14.4	1.1	0.276
pH	4.8	13.1	1.1	0.368
浊度 Turbidity	4.7	12.9	1.0	0.380
温度 Temperature	4.9	13.3	1.1	0.332
盐度 Salinity	3.8	10.5	0.8	0.742
电导率 Conductivity	5.0	13.6	1.1	0.386

注:** $P < 0.01$, 差异极显著。

Notes: ** $P < 0.01$, the difference is extremely significant.



Temp. 温度; Cond. 电导率; Sal. 盐度; DO. 溶解氧; Turb. 浊度; Chl. a. 叶绿素 a; sp1. 宽尾臂灯鱼; sp2. 西钻光鱼; sp3. 日本背灯鱼; sp4. 远东拟沙丁鱼; sp5. 斑点多纪鲷; sp6. 瓦氏角灯鱼; sp7. 斑头六线鱼; sp8. 日本鲭; sp9. 日本海鲈; sp10. 黑潮眶灯鱼; sp11. 后光虹灯鱼; sp12. 太平洋深海鲑; sp13. 闪光灯笼鱼; sp14. 横带副眶棘鲈; sp15. 日本下鲷鱼; sp16. 扁舵鲹; sp17. 黄腹鲷; sp18. 狭鳕; sp19. 杨氏炬灯鱼; sp20. 巴拉望平鲷; sp21. 长体标灯鱼; sp22. 粗鳞灯笼鱼; sp23. 壮灯鱼属; sp24. 棕斑腹刺鲷; sp25. 巨眶灯鱼; sp26. 埃氏标灯鱼; sp27. 海鳗; sp28. 棘绿鳍鱼; sp29. 日本带鱼; sp30. 哈氏弱蜥鱼; sp31. 细条天竺鲷; sp32. 星斑川鲷; sp33. 鲛; sp34. 粗棘云鲷; sp35. 星康吉鳗; sp36. 日本鳀; sp37. 大麻哈鱼; sp38. 白身臂灯鱼; sp39. 横带扁颌针鱼; sp40. 莱氏壮灯鱼; sp41. 黑线银鲛; sp42. 大青鲨; sp43. 薛氏海龙; sp44. 高体电灯鱼; sp45. 日本乌鲂; sp46. 澳洲鲭; sp47. 五指马鲛; sp48. 细眶灯鱼; sp49. 哈氏腔吻鲱; sp50. 汤氏角灯鱼; sp51. 日本蛇绵鳎。

Temp. Temperature; Cond. Conductivity; Sal. Salinity; DO. Dissolved oxygen; Turb. Turbidity; Chl. a Chlorophyll-a; sp1. *Stenobranchius nannochir*; sp2. *Gonostoma atlanticum*; sp3. *Notoscopelus japonicus*; sp4. *Sardinops melanostictus*; sp5. *Takifugu poecilnotus*; sp6. *Ceratoscopelus warmingii*; sp7. *Hexagrammos agrammus*; sp8. *Scomber japonicus*; sp9. *Nematalosa japonica*; sp10. *Diaphus kuroshio*; sp11. *Bolinichthys distofax*; sp12. *Bathylagus pacificus*; sp13. *Myctophum nitidulum*; sp14. *Parascolopsis inermis*; sp15. *Hyporhamphus sajori*; sp16. *Auxis thazard*; sp17. *Pleuronectes quadrituberculatus*; sp18. *Gadus chalcogrammus*; sp19. *Lampadena yaquinae*; sp20. *Sebastes baramenuke*; sp21. *Symbolophorus californiensis*; sp22. *Myctophum asperum*; sp23. *Hygophum sp. CBM/ZF/14740*; sp24. *Lagocephalus spadiceus*; sp25. *Diaphus gigas*; sp26. *Symbolophorus evermanni*; sp27. *Muraenesox cinereus*; sp28. *Chelidonichthys spinosus*; sp29. *Trichiurus japonicus*; sp30. *Scopelosaurus harryi*; sp31. *Jaydia lineata*; sp32. *Platichthys stellatus*; sp33. *Planiliza haematocheilus*; sp34. *Pholis crassispina*; sp35. *Conger myriaster*; sp36. *Engraulis japonicus*; sp37. *Oncorhynchus keta*; sp38. *Stenobranchius leucopsarus*; sp39. *Ablennes hians*; sp40. *Hygophum reinhardtii*; sp41. *Chimaera phantasma*; sp42. *Prionace glauca*; sp43. *Syngnathus schlegeli*; sp44. *Electrona risso*; sp45. *Brama japonica*; sp46. *Scomber australasicus*; sp47. *Polydactylus plebeius*; sp48. *Diaphus subtilis*; sp49. *Coelorinchus hubbsi*; sp50. *Ceratoscopelus townsendi*; sp51. *Lycenchelys remissaria*.

图7 西北太平洋黑潮-亲潮交汇区鱼类群落结构与环境因子之间的冗余分析

Fig. 7 Redundancy analysis of fish community structure and environmental factors in the Kuroshio-Oyashio confluence region of the Northwest Pacific Ocean

基于灯光围网与灯光敷网传统渔业调查表明,西北太平洋海域为高产渔区,种类组成较少,种间竞争低,优势种组成较为稳定,夏季以日本鲭和远东拟沙丁鱼占绝对优势。按 OTU 相对丰度产生的优势物种中两种鱼类均有出现,且两者在 22 个站点中的均有出现,但其优势度并未排在前列。推测是由于采样方式带来的偏差,灯光围网与灯光敷网都是通过集鱼灯把趋光性鱼类诱集成群后进行捕捞,对于趋光性强的日本鲭和远

东拟沙丁鱼,能够捕捞到较大的生物量,而 eDNA 方法是基于水样的采集,对于鱼类是否趋光并没有选择性,因此可能导致两种鱼类在不同调查方法中优势种排序存在差异。

3.2 西北太平洋黑潮-亲潮交汇区鱼类多样性及空间分布

本研究采用 Alpha 多样性指数(表 2)来表征西北太平洋的鱼类物种多样性。Shannon 指数为 0.36~2.93,依据 Shannon-Wiener 指数的评价标

准,表明物种较丰富^[34-35]。而基于灯光围网的西北太鱼类多样性调查表明^[23],Shannon 指数为 0~1.74,略低于本研究的结果,主要原因可能是传统采样方法具有一定的选择性,采集物种多为中上层种类,同时在西北太平洋这样的高产渔区,生态环境有利于优势种的繁殖生长,使这些物种形成较高的生物量,而生物量较高会导致多样性指数整体较低^[36]。

站点 KOCR7 与 KE5 具有较高的 Chao1 指数和 Observed species 指数,站点 OY4 丰富度较低;Shannon 指数和 Simpson 指数最高的两个站点为 KE3 和 KE5,最低的站点为 OY3。丰富度和多样性较高的站点位于纬度较低的 KE 断面与 KOCR 断面,多样性低的站点均位于纬度较高的 OY 断面。同时 3 个断面共有 OTU 的花瓣图显示(图 5b),各断面独有 OTU 的数量排序为 KE 断面>KOCR 断面>OY 断面。多样性水平总体上表现为南高北低的特点,与王良明^[23]、王雪华等^[37]开展的两项基于灯光围网捕捞的调查研究中鱼类多样性分布特征一致。大量研究^[38-40]表明,从极地到热带,开阔海域的生物多样性随着纬度的降低而增加,被称为纬度多样性梯度(Latitudinal diversity gradient, LDG),是一种重要的生物多样性格局,本研究的多样性分布特征也符合这种分布格局。同时,基于声学对于交汇区浮游动物分布特征的研究^[41]表明,黑潮流经海域的浮游动物的散射强度明显高于亲潮流经区域,浮游动物丰度的增加为鱼类提供了更为丰富的饵料,进一步促进了鱼类的聚集,使多样性水平升高。

3.3 西北太平洋黑潮-亲潮交汇区鱼类多样性分布与环境因子的关系

生物群落分布受环境因素的综合影响,不同水体中环境因素对群落结构的影响也存在差异。RUTTERFORD 等^[42]对 2005—2018 年期间 23 次调查收集的东北大西洋 198 种海洋鱼类丰度数据与环境数据进行分析,发现温度是研究海域内驱动鱼类群落结构变化的关键因素,其次是盐度和深度。RODRIGUEZ 等^[43]探讨了欧洲伊比利亚上升流系统中非生物和生物因素对鱼类水平分布的影响,结果表明:深度、海表面温度、地转速度和中型浮游植物的生物量是主要的影响因素。邹沁东等^[44]分析了浙江大陈岛礁海域鱼类群落的时空格局,发现深度、表层温度、底层盐度和底

层温度为影响该海域鱼类群落结构的首要环境因子。王晨等^[45]对秦淮河 eDNA 的研究表明,鱼类群落分布主要受溶解氧、总有机碳、总氮、总磷和化学需氧量的影响。本研究结果表明,夏季西北太平洋黑潮与亲潮交汇区鱼类丰富度与溶解氧呈显著正相关($P<0.05$)。同时,数据显示 3 个断面的平均溶解氧浓度的大小为 KE(78.83 mg/L)>KOCR(75.61 mg/L)>OY(72.32 mg/L),与鱼类物种多样性水平的变化趋势相一致(表 3)。海水中溶解氧含量会影响鱼类的呼吸,从而影响鱼类的游泳速度和代谢速率,同时低氧环境容易造成鱼卵和幼鱼的死亡,影响鱼类的繁殖^[46-47]。多项研究表明,溶解氧是影响西北太平洋海域中上层鱼类分布与丰度的重要环境因子之一。HAN 等^[48]应用 3D 卷积神经网络(3D convolutional neural networks, 3DCNN)模型分析了西北太平洋海域日本鲭渔获量和渔场的时空变化特征,结果显示:预测西北太平洋鲈鱼中心渔场最重要的变量依次为溶解氧、叶绿素和海表面温度。刘思源等^[49]总结发现西北太平洋远东拟沙丁鱼的需氧量要高于日本鲭,远东拟沙丁鱼更容易向溶解氧高、流速快的水层聚集。YAMAMOTO 等^[50]认为溶解氧是影响西北太平洋日本鳀生长的限制性环境因子。HONG 等^[51]研究表明大马哈鱼的渔获量与海水中溶解氧含量呈显著的正相关关系。黑潮延伸体处的海水受到中尺度涡流诱导的上升流影响,富含溶解氧和营养物质的深层海水被带到海表,从而增加了表层水体中的溶解氧含量,因此造成了该区域鱼类物种多样性的分布更容易受到溶解氧的影响^[3,52-54]。

本研究利用 eDNA 技术分析了西北太平洋黑潮-亲潮交汇区海域夏季鱼类物种多样性,通过野外采集研究区域表层海水 22 个站点的水样,进行高通量测序及数据分析,获得了丰富的鱼类物种信息并获取了鱼类的空间分布特征,表明该技术在西北太平洋海域鱼类物种多样性研究中有较好的应用前景。但本研究仍有不足,由于 eDNA 分析中的分类鉴定完全依赖于参考数据库,因此需要对更多的鱼类资源,特别是研究区域本地物种的参考序列进行补充。同时本研究缺乏不同季节的鱼类多样性数据,在未来的研究中,应完善不同季节的鱼类数据,实现鱼类多样性在时间和空间上的全面对比,从而全面了解西

北太平洋黑潮-亲潮交汇区海域鱼类的种群动态信息,进一步为鱼类资源的合理利用和开发提供参考。

参考文献:

- [1] INOUE R, YOSHIDA J, HIROE Y, et al. Modification of North Pacific intermediate water around mixed water region [J]. *Journal of Oceanography*, 2003, 59(2): 211-224.
- [2] HARLAY J, CHOU L, DE BODT C, et al. Biogeochemistry and carbon mass balance of a coccolithophore bloom in the northern Bay of Biscay (June 2006) [J]. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 2011, 58(2): 111-127.
- [3] SUGIMOTO S, HANAWA K. Roles of SST anomalies on the wintertime turbulent heat fluxes in the Kuroshio - Oyashio confluence region: influences of warm eddies detached from the Kuroshio extension [J]. *Journal of Climate*, 2011, 24(24): 6551-6561.
- [4] 王雅萌, 陈新军, 陈芄, 等. 黑潮和亲潮生态系统中上层渔获量变动趋势及影响因素分析[J]. *海洋渔业*, 2022, 44(2): 164-177.
WANG Y M, CHEN X J, CHEN P, et al. Variation trend and influencing factors of catch in mid-pelagic species of Kuroshio and Oyashio ecosystems [J]. *Marine Fisheries*, 2022, 44(2): 164-177.
- [5] 丁琪, 陈新军, 方舟, 等. 西北太平洋沿海国海洋渔业资源可持续利用评价[J]. *中国海洋大学学报*, 2015, 45(3): 54-66.
DING Q, CHEN X J, FANG Z, et al. Evaluate sustainable utilization of marine fishery resources in coastal states of the northwest Pacific Ocean [J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2015, 45(3): 54-66.
- [6] NOOR N M, DAS S K. Effects of elevated carbon dioxide on marine ecosystem and associated fishes [J]. *Thalassas: An International Journal of Marine Sciences*, 2019, 35(2): 421-429.
- [7] HOLMLUND C M, HAMMER M. Ecosystem services generated by fish populations [J]. *Ecological Economics*, 1999, 29(2): 253-268.
- [8] ZOU K S, CHEN J W, RUAN H T, et al. eDNA metabarcoding as a promising conservation tool for monitoring fish diversity in a coastal wetland of the Pearl River Estuary compared to bottom trawling [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 702: 134704.
- [9] YAMAMOTO S, MINAMI K, FUKAYA K, et al. Environmental DNA as a 'Snapshot' of fish distribution: a case study of Japanese jack mackerel in Maizuru bay, sea of Japan [J]. *PLoS One*, 2016, 11(3): e0149786.
- [10] EVANS N T, LAMBERTI G A. Freshwater fisheries assessment using environmental DNA: A primer on the method, its potential, and shortcomings as a conservation tool [J]. *Fisheries Research*, 2018, 197: 60-66.
- [11] CALATA FIC, CARANGUIAN CZ, MENDOZA JEM, et al. Analysis of environmental DNA and edaphic factors for the detection of the snail intermediate host *Oncomelania hupensis quadrasi* [J]. *Pathogens*, 2019, 8(4): 160.
- [12] FONSECA VG, CARVALHO GR, SUNG W, et al. Second-generation environmental sequencing unmasks marine metazoan biodiversity [J]. *Nature Communications*, 2010, 1(1): 98.
- [13] MÄCHLER E, OSATHANUNKUL M, ALTERMATT F. Shedding light on eDNA: neither natural levels of UV radiation nor the presence of a filter feeder affect eDNA-based detection of aquatic organisms [J]. *PLoS One*, 2018, 13(4): e0195529.
- [14] SAHU A, KUMAR N, SINGH C P, et al. Environmental DNA (eDNA): Powerful technique for biodiversity conservation [J]. *Journal for Nature Conservation*, 2023, 71: 126325.
- [15] CIVADE R, DEJEAN T, VALENTINI A, et al. Spatial representativeness of environmental DNA metabarcoding signal for fish biodiversity assessment in a natural freshwater system [J]. *PLoS One*, 2016, 11(6): e0157366.
- [16] 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.
- [17] ZHANG S, ZHAO J D, YAO M. A comprehensive and comparative evaluation of primers for metabarcoding eDNA from fish [J]. *Methods in Ecology and Evolution*, 2020, 11(12): 1609-1625.
- [18] YAMAMOTO S, MASUDA R, SATO Y, et al. Environmental DNA metabarcoding reveals local fish communities in a species-rich coastal sea [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 40368.
- [19] SIGSGAARD EE, NIELSEN IB, CARL H, et al. Seawater environmental DNA reflects seasonality of a coastal fish community [J]. *Marine Biology*, 2017, 164(6): 128.
- [20] 李晓玲, 刘洋, 王丛丛, 等. 基于环境DNA技术的夏季东海鱼类物种多样性研究 [J]. *海洋学报*, 2022, 44(4): 74-84.
LI X L, LIU Y, WANG C C, et al. Study on fish species diversity in the East China Sea in summer based on environmental DNA technology [J]. *Haiyang Xuebao*, 2022, 44(4): 74-84.
- [21] 凌建忠, 姜亚洲, 孙鹏, 等. 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 [J]. *中国水产科学*, 2021, 28(2): 205-214.

- LING J Z, JIANG Y Z, SUN P, et al. Application and evaluation of environmental DNA technology in fish diversity research in Xiangshan Bay[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2021, 28(2): 205-214.
- [22] KHORUZHIIY A A. Features of species composition and abundance of the nekton community in the upper epipelagic layer of the Northwest Pacific in early summer[J]. *Russian Journal of Marine Biology*, 2011, 37(7): 533-548.
- [23] 王良明. 西北太平洋游泳动物种类组成及主要优势种的生物学特征[D]. 厦门: 国家海洋局第三海洋研究所, 2017.
- WANG L M. The composition of nekton and biological characteristic of main dominant species in Northwestern Pacific Ocean [D]. Xiamen: Third Institute of Oceanography, State Oceanic Administration, 2017.
- [24] 马超, 庄之栋, 刘勇, 等. 西北太平洋公海灯光敷网渔获组成及主要种类渔业生物学特性研究[J]. *渔业研究*, 2018, 40(2): 141-147.
- MA C, ZHUANG Z D, LIU Y, et al. Preliminary study on catch composition and biological characteristics of main species of light-liftnet in the Northwest Pacific Ocean [J]. *Journal of Fisheries Research*, 2018, 40(2): 141-147.
- [25] ROGNES T, FLOURI T, NICHOLS B, et al. VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics [J]. *PeerJ*, 2016, 4: e2584.
- [26] BOLYEN E, RIDEOUT J R, DILLON M R, et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2 [J]. *Nature Biotechnology*, 2019, 37(8): 852-857.
- [27] CHAO A. Nonparametric estimation of the number of classes in a population [J]. *Scandinavian Journal of Statistics*, 1984, 11(4): 265-270.
- [28] SHANNON C E. A mathematical theory of communication [J]. *ACM SIGMOBILE Mobile Computing and Communications Review*, 2001, 5(1): 3-55.
- [29] SIMPSON E H. Measurement of diversity [J]. *Nature*, 1949, 163(4148): 688.
- [30] PIELOU E C. The measurement of diversity in different types of biological collections [J]. *Journal of Theoretical Biology*, 1966, 13: 131-144.
- [31] OKSANEN J, MINCHIN P R. Instability of ordination results under changes in input data order: explanations and remedies [J]. *Journal of Vegetation Science*, 1997, 8(3): 447-454.
- [32] BEAMISH R J, LEASK K D, IVANOV O A, et al. The ecology, distribution, and abundance of midwater fishes of the Subarctic Pacific gyres [J]. *Progress in Oceanography*, 1999, 43(2/4): 399-442.
- [33] CATUL V, GAUNS M, KARUPPASAMY P K. A review on mesopelagic fishes belonging to family Myctophidae [J]. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 2011, 21(3): 339-354.
- [34] 李娣, 李旭文, 牛志春, 等. 江苏省不同营养状况湖泊底栖动物群落结构与多样性比较 [J]. *生态毒理学报*, 2017, 12(1): 163-172.
- LI D, LI X W, NIU Z C, et al. A comparative study on macrobenthic community structure and diversity in different trophic status lakes of Jiangsu Province [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2017, 12(1): 163-172.
- [35] SPELLERBERG I F, FEDOR P J. A tribute to Claude Shannon (1916 - 2001) and a plea for more rigorous use of species richness, species diversity and the 'Shannon - Wiener' Index [J]. *Global Ecology and Biogeography*, 2003, 12(3): 177-179.
- [36] 张浩博, 王晓艳, 陈治, 等. 基于环境 DNA metabarcoding 的舟山及其邻近海域鱼类空间分布格局的初步研究 [J/OL]. *水产学报*, 2022: 1-13. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1283.S.20221226.1142.003.html>.
- ZHANG H B, WANG X Y, CHEN Z, et al. Preliminary study on spatial distribution pattern of fish in Zhoushan and its adjacent waters based on environmental DNA metabarcoding [J/OL]. *Journal of Fisheries of China*, 2022: 1-13. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1283.S.20221226.1142.003.html>.
- [37] 王雪华, 李海, 李渊, 等. 西北太平洋公海海域秋季灯光敷网渔获率及物种多样性 [J]. *渔业研究*, 2021, 43(5): 443-450.
- WANG X H, LI H, LI Y, et al. Nekton species composition and biodiversity in high seas of the Northwestern Pacific Ocean in autumn [J]. *Journal of Fisheries Research*, 2021, 43(5): 443-450.
- [38] ZHANG Y, SONG Y G, ZHANG C Y, et al. Latitudinal diversity gradient in the changing world: retrospectives and perspectives [J]. *Diversity*, 2022, 14(5): 334.
- [39] HILLEBRAND H. On the generality of the latitudinal diversity gradient [J]. *The American Naturalist*, 2004, 163(2): 192-211.
- [40] MITTELBACH G G, SCHEMSKE D W, CORNELL H V, et al. Evolution and the latitudinal diversity gradient: speciation, extinction and biogeography [J]. *Ecology Letters*, 2007, 10(4): 315-331.
- [41] XUE M H, TONG J F, TIAN S Q, et al. Broadband characteristics of zooplankton sound scattering layer in the Kuroshio-Oyashio confluence region of the northwest Pacific Ocean in summer of 2019 [J]. *Journal of Marine Science and Engineering*, 2021, 9(9): 938.
- [42] RUTTERFORD L A, SIMPSON S D, BOGSTAD B, et al. Sea temperature is the primary driver of recent and predicted fish community structure across Northeast Atlantic shelf seas [J]. *Global Change Biology*, 2023, 29(9): 2510-2521.

- [43] RODRIGUEZ J M, CABRERO A, GAGO J, et al. Composition and structure of the larval fish community in the NW Iberian upwelling system during the winter mixing period [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2015, 533: 245-260.
- [44] 邹沁东,汪振华,章守宇,等. 大陈岛礁海域鱼类群落结构特征[J/OL]. *生态学杂志*, 2023: 1-12. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1148.Q.20230414.1653.008.html>.
- ZOU Q D, WANG Z H, ZHANG S Y, et al. Characteristics of fish community structure in the sea area of Dachen Island [J/OL]. *Chinese Journal of Ecology*, 2023: 1-12. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1148.Q.20230414.1653.008.html>.
- [45] 王晨,陶孟,李爱民,等. 基于环境DNA宏条形码技术的秦淮河生物多样性研究[J]. *生态学报*, 2022, 42(2): 611-624.
- WANG C, TAO M, LI A M, et al. Research on the biodiversity of Qinhuai River based on environmental DNA metabarcoding [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2022, 42(2): 611-624.
- [46] VAQUER-SUNYER R, DUARTE C M. Temperature effects on oxygen thresholds for hypoxia in marine benthic organisms [J]. *Global Change Biology*, 2011, 17(5): 1788-1797.
- [47] CLARK TD, SANDBLOM E, JUTFELT F. Aerobic scope measurements of fishes in an era of climate change: respirometry, relevance and recommendations [J]. *Journal of Experimental Biology*, 2013, 216(15): 2771-2782.
- [48] HAN H B, YANG C, JIANG B H, et al. Construction of chub mackerel (*Scomber japonicus*) fishing ground prediction model in the northwestern Pacific Ocean based on deep learning and marine environmental variables [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2023, 193: 115158.
- [49] 刘思源,张衡,杨超,等. 西北太平洋远东拟沙丁鱼与日本鲭种群动态特征及其与环境因子关系研究进展 [J]. *大连海洋大学学报*, 2023, 38(2): 357-368.
- LIU S Y, ZHANG H, YANG C, et al. Relationship between stock dynamics and environmental variability for Japanese sardine (*Sardinops sagax*) and chub mackerel (*Scomber japonicus*) in the Northwest Pacific Ocean: a review [J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2023, 38(2): 357-368.
- [50] YAMAMOTO K, SAITO M, YAMASHITA Y. Relationships between the daily growth rate of Japanese anchovy *Engraulis japonicus* larvae and environmental factors in Osaka Bay, Seto Inland Sea, Japan [J]. *Fisheries Science*, 2018, 84(2): 373-383.
- [51] HONG D, JOO G J, JUNG E, et al. The spatial distribution and morphological characteristics of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) in South Korea [J]. *Fishes*, 2022, 7(1): 27.
- [52] ZHANG Y C, CHEN X, DONG C M. Anatomy of a cyclonic eddy in the Kuroshio extension based on high-resolution observations [J]. *Atmosphere*, 2019, 10(9): 553.
- [53] CHEN C T A, LIU C T, PAI S C. Transport of oxygen, nutrients and carbonates by the Kuroshio Current [J]. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 1994, 12(3): 220-227.
- [54] BUSHINSKY SM, EMERSON SR. Biological and physical controls on the oxygen cycle in the Kuroshio Extension from an array of profiling floats [J]. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 2018, 141: 51-70.

Fish diversity analysis of the Kuroshio–Oyashio confluence region in summer based on environmental DNA technology

LIANG Xuhong¹, WANG Congcong^{1,2,3,4}, LIU Yang^{1,2,3,4,5}, YU Yewei^{1,5}, SONG Chenghui¹

(1. College of Marine Living Resource Sciences and Management, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Key Laboratory of Sustainable Exploitation of Oceanic Fisheries Resources, Ministry of Education, Shanghai 201306, China; 3. National Distant-water Fisheries Engineering Research Center, Shanghai 201306, China; 4. Key Laboratory of Sustainable Utilization of Oceanic Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai 201306, China; 5. Marine Biomedical Science and Technology Innovation Platform of Lin-gang Special Area, Shanghai 201306, China)

Abstract: The Kuroshio-Oyashio confluence region of the Northwest Pacific Ocean is one of the most productive fishing areas, which is rich of fish resources. In order to understand the biodiversity of fish communities in the confluence region and to protect and exploit fishery resources properly, we used environmental DNA (eDNA) to analyze the fish diversity in the Kurishio-Oyashio confluence region during the summer. A total of 51 species of marine fishes (22 orders, 30 families and 44 genera) were detected among 22 water sampling stations using high-throughput sequencing analysis. The Myctophidae family was the richest in species, comprising 33.33% of the detected fish species. In addition, the primary species with higher relative abundance were *Stenobranchius nannochir*, *Gonostoma atlanticum*, *Notoscopelus japonicus*, *Sardinops melanostictus*, *Takifugu poecilonotus*, *Ceratoscopelus warmingii*, *Hexagrammos agrammus*, *Scomber japonicus*, *Nematalosa japonica* and *Diaphus kuroshio*. The alpha diversity among stations was obviously different, and there were higher biodiversity in low-latitude sections than that of high-latitude sections. Redundancy analysis showed that the content of dissolved oxygen was the main environment factor impacting the fish species composition. The results indicated that eDNA can be a useful method for monitoring fish diversity and spatial distribution in the Kuroshio-Oyashio confluence region.

Key words: environmental DNA; Kuroshio-Oyashio confluence region; fish; biodiversity