

文章编号: 1674-5566(2024)05-1238-10

DOI: 10.12024/jsou.20231204369

eDNA技术在深远海鱼类多样性研究中的应用潜力

李渊^{1,2}, 温一琳¹, 李海², 刘世刚², 妙星², 林龙山^{1,2}

(1. 上海海洋大学海洋生物资源与管理学院, 上海 201306; 2. 自然资源部第三海洋研究所海洋生物多样性研究室, 福建 厦门 361005)

摘要: 深远海作为海洋生态系统的重要组成部分, 具有独特的生物多样性特征, 蕴含了丰富的渔业资源。因此, 对深远海鱼类多样性实施高效、准确的检测是开展渔业资源利用和管理的重要前提。然而, 基于网具捕捞的传统调查方法具有一定的局限性, eDNA技术因其具有更广泛的应用场景、更突出的成本效益、更高的检测灵敏度和更精细的物种分辨率以及更低的分类阶元偏向性等特点和优势, 可作为传统调查方法的重要补充, 并且在深远海鱼类多样性监测和渔业资源调查中具有广阔的应用前景。归纳总结了eDNA在鱼类多样性的研究现状及其在深远海鱼类多样性研究中的应用优势, 同时结合深远海水域的环境特点, 探讨了eDNA技术在深远海鱼类多样性研究中的应用潜力以及可能面临的相关挑战, 并为未来进一步的研究工作提供系统的科学参考。

关键词: eDNA; 深远海; 鱼类多样性; 渔业资源; 生态系统

中图分类号: S 932.2 **文献标志码:** A

深远海是指水深大于200 m、远离大陆架公海以外的开放水域, 同时也是地球上最大、探索最少的生态系统之一^[1-2]。深远海作为海洋系统的重要组成部分, 具有一系列不同于其他海洋生态系统的环境特征。总体而言, 深远海因为覆盖面积大、环境异质性以及不同时空尺度干扰下产生的斑块群落, 被认为具有独特的生物多样性且蕴含着丰富的渔业资源^[3-4]。

鱼类作为深远海生态系统的重要类群之一, 在生态网络中居于重要位置, 绝大多数深远海鱼类是连接底层营养层级生物和顶层捕食者之间的重要联系^[5]。典型的深远海鱼类包含中上层、中层和深渊层鱼类群落。其中, 典型的中上层鱼类群落包含金枪鱼科(Thunnidae)、旗鱼科(Istiophoridae)、鲭科(Scombridae)等类群^[6]; 典型的中层鱼类群落包括灯笼鱼科(Myctophidae)、钻光鱼科(Gonostomatidae)、星光鱼科(Sternoptychidae)等类群^[7-8]; 典型的深渊层鱼类包括绵鲷科(Zoarcidae)、平鲈科(Sebastidae)、狮

子鱼科(Liparidae)、长尾鲳科(Macrouroidae)等类群^[5,8]。深远海的鱼类群落种类组成多样、资源丰富, 了解和掌握该海域鱼类多样性及其时空分布格局变动规律, 不但有利于深远海生态系统的保护与管理, 更能为远洋渔业资源的可持续利用提供重要参考^[1]。

然而, 相较于近岸海域, 深远海因面积较大、调查频次不足、数据欠缺等原因, 迄今为止对深远海生物多样性调查和监测相对有限, 对于深远海的鱼类区系和多样性格局的了解仍较为欠缺^[4]。目前, 有关海洋鱼类多样性调查一般采用中上层双拖网、灯光围网、灯光罩网、灯光敷网、延绳钓等传统作业方式获取生物样本, 但这些方法耗时耗力、规模受限, 对栖息地和物种都具有显著的选择性, 底拖网等网具还可能对生物多样性和栖息地造成破坏, 无法完全满足调查有捕捞限制的水体和濒危物种的现实需求^[9], 因此传统调查方法在深远海鱼类多样性调查中仍然存在一定的局限性。

收稿日期: 2023-12-14

修回日期: 2024-04-10

基金项目: 国家重点研发计划(2023YFF0611803); 全球变化与海气相互作用(二期)专项(GASI-01-EIND-YD01/02aut/spr)

作者简介: 李渊(1985—), 男, 研究员, 研究方向为渔业资源。E-mail: liyuan@tio.org.cn

通信作者: 林龙山, E-mail: linlsh@tio.org.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>

此外,这些调查方法需要调查人员具备专业的形态鉴定基础知识,在鉴定鱼类的早期发育阶段(鱼类浮游生物)的样品时尤其具有挑战性,因为鱼类浮游生物的个体小、区分困难,能用于鉴别的可识别特征较少,用传统方法识别和鉴定具有较大的难度^[10-11]。此外,基于传统的网具捕捞方法在面积广阔的深远海水域环境下开展鱼类多样性和渔业资源调查及监测,涉及的人力、物力等成本都十分高昂。所以,需要补充其他更加经济、准确且高效的鱼类调查方式,以完善当前深远海鱼类多样性调查和监测方面存在的薄弱环节。近年来出现的环境 DNA (Environment DNA, eDNA) 技术,因其具有更广泛的应用场景、更突出的成本效益、更高的检测灵敏度、更精细的物种分辨率以及更低的分类阶元偏向性等特点和优势,有望为上述问题提供新的思路和解决方案。

eDNA 的概念最早提出于 20 世纪 80 年代末,最初是应用于微生物多样性研究领域^[12],后来进一步拓展应用于宏生物领域^[13]。广义地说,eDNA 包括存在于环境样品(如水、冰、土壤、沉积物、生物膜、空气)中的任何形式的 DNA。对于鱼类等大型生物而言,eDNA 特指无须事先分离任何特定目标生物,可从水、悬浮颗粒物、沉积物和冰雪等各类环境中直接获得的遗传物质的总和^[14],既包括生物排泄物、生殖细胞、脱落的皮肤及尸体等来源的细胞内 DNA,也包括细胞自然死亡及细胞内 DNA 解体等过程产生的细胞外 DNA^[15]。eDNA 与第 2 代测序技术(Next-generation sequencing, NGS)结合产生的 eDNA 宏条形码技术(eDNA metabarcoding),可以同时监测水生生态系统的多个物种,进而对群落水平的物种多样性进行研究,成为了生物多样性研究的有力工具^[16]。另外,eDNA 结合实时荧光定量 PCR (Quantitative real-time PCR, qPCR) 或数字 PCR (Digital PCR, dPCR),可以定量检测目标物种的 eDNA 浓度,进而分析物种的时空分布特征^[17]、估算物种丰度和生物量^[18]以及监测物种的行为等^[19-20]。

本文围绕 eDNA 技术在鱼类多样性的研究现状、eDNA 技术在深远海鱼类多样性研究中的应用优势及其面临的挑战等方面展开论述。同时,结合深远海的环境特点和鱼类多样性调查监测的具体要求,展望了 eDNA 技术在深远海鱼类多样性研究中的应用前景,旨在为深远海鱼类多样

性的研究提供更多的科学参考,并推动 eDNA 技术更高效地应用于深远海的鱼类多样性研究中,从而服务于深远海环境下的生物多样性的保护与渔业资源养护管理。

1 eDNA 在鱼类多样性研究中的应用现状

1.1 单一物种分析

基于 eDNA 技术检测珍稀物种、濒危物种或有商业价值的经济物种的有无以及对外来入侵物种的早期预警监测是单物种分析中最常见的应用方向。珍稀和濒危物种在生态系统中的密度较低,用传统方法监测存在较大的遗漏可能,而通过 eDNA 技术的单物种分析可精准检测低密度目标物种的存在。例如,在日本有一种迄今只收集到 6 尾标本的极为罕见的黑头鱼(*Narcetes shonanmaruae*),FUJIWARA 等^[21]利用 eDNA 技术对该物种进行检测,结果在已知地点 400 km 以外的海山上发现了该物种的存在。此外,eDNA 技术因检测灵敏度高、操作简单、成本低廉的特点,使其成为了对外来入侵物种进行预警监测的理想技术手段。例如,WANG 等^[17]设计了一套眼斑拟石首鱼(*Sciaenops ocellatus*)的引物和探针,对该入侵物种在东海的分布进行研究,该研究方法也为今后入侵物种的监测和评估提供技术参考。

基于 eDNA 技术的单物种分析在特定条件下还能实现对目标生物的丰度和资源量的定量评估。最早是 FICETOLA 等^[22]发现美国牛蛙(*Rana catesbeiana*)密度高的池塘提取的 eDNA 丰度要高于低密度池塘,为利用 eDNA 技术评估生物的丰度和资源提供了重要启示。有学者利用 eDNA 技术进行渔业资源研究时发现,物种丰度或生物量与 eDNA 浓度存在正相关,认为可以通过样品 eDNA 丰度估算其对应的物种在自然水域中的丰度或生物量^[1,18]。WOOD 等^[18]利用 eDNA 技术对大西洋鲑(*Salmo salar*)进行检测和量化,通过室内实验和野外实验的对比,构建了基于 eDNA 检出率推断生物量的数据模型,表明该技术在自然环境下具有监测、定量稀有物种的应用潜力。但需要注意的是,此种关系仍然存在较大的不确定性。例如,JO 等^[23]发现鱼类的资源量、集群和洄游均会对其 eDNA 释放效率产生影响,对 eDNA 的监测结果产生干扰。近期在对不同水域中的 eDNA 水样与捕捞的生物量进行研究时,发现 3 种

目标种鱼类的eDNA的总拷贝数和捕获的总生物量存在正相关关系,但是不同自然条件下eDNA的衰减率以及eDNA丰度与目标种密度之间的关系都可能造成对目标物种生物量的误判^[24]。因此,利用eDNA技术开展鱼类丰度和生物量评估的适用条件还需进一步研究,但eDNA技术也确有在特定条件下推断鱼类种群丰度和生物量的巨大应用潜力。

eDNA技术还能通过检测其丰度在空间和时间上的变化来监测鱼类的行为^[25]。例如,TAKEUCHI等^[26]应用qPCR检测实验室人工饲养的鳗鲡(*Anguilla japonica*)各生活史阶段释放的eDNA浓度,研究发现产卵后eDNA浓度是产卵前的10~200倍,以此辅助检测鳗鲡在近海的产卵活动。研究人员还应用该方法调查鱼类栖息地的分布、季节性迁徙和洄游路径^[27-28]。例如,BYLEMANS等^[19]和WU等^[20]均发现通过监测目标物种的细胞核和线粒体eDNA相对丰度变化可以监测其产卵活动,这可能是由于大量的生殖细胞被释放到水中,在短时间内显著改变了水体中核基因和线粒体基因的相对比例,这一变化也为监测鱼类繁殖活动提供了新的方向^[14,19-20]。THALINGER等^[29]通过整个河段的eDNA丰度变化构建基于eDNA的时间序列丰度模型来监测鱼类的生殖洄游路线,发现eDNA技术能有效监测水生生物的动态变化过程。XU等^[30]对长江中下游中华鲟(*Acipenser sinensis*)的洄游路线进行监测,发现了其季节性迁徙规律,证明了利用eDNA技术可以监测中华鲟的分布,从而制定更好的保护方案。

上述研究表明eDNA技术可为调查鱼类行为提供重要信息,从而为鱼类保护措施的实施和渔业政策的制定提供科学参考^[31-32]。

1.2 多物种群落分析

与传统调查方式相比,从生态系统中捕获的eDNA,可以不考虑物种的形态特征、运动模式或栖息地偏好^[33]。基于eDNA技术研究和监测群落水平的生物多样性一直是该技术最广泛的应用之一^[34-35]。

CHEANG等^[36]基于eDNA技术对珠江外海口口的鱼类多样性进行调查,并将结果与半咸水的珠江河口内部的eDNA结果进行对比,发现了不同水体对鱼类分布的影响,也为整个珠江河口的鱼类群落分布提供数据参考;YUKI等^[37]利用

eDNA技术对东京湾水域开展为期3年的生物多样性调查,共计检测出鱼类177种,eDNA技术以极低的成本提供了大时空尺度的整体生物多样性信息;WEST等^[38]利用eDNA技术和水下视觉普查对澳大利亚科科斯群岛鱼类生物多样性进行调查,发现了该水域46个新纪录种,eDNA技术在珊瑚礁生态系统下表现出较高的检测灵敏度;OKA等^[39]基于eDNA技术对日本近海的珊瑚礁边缘和海草床生境中的鱼类多样性进行调查,共计检测出鱼类291种,表明eDNA技术能有效辅助渔业资源的监测;MIRIMIN等^[40]结合eDNA技术和水下视频数据对东北大西洋鱼类多样性进行监测,在物种水平上确定了更多鱼类(22种),研究表明了eDNA技术在海洋环境下物种检测率高,使用多种手段可以识别和交叉验证更多的生物类群的存在。eDNA技术在海洋生态环境下能检测出较高的物种丰富度,且与传统方法相比较,它在调查效率、投入成本和成本效益等方面的表现更为优秀^[41-42]。

1.3 群体遗传分析

用传统方式揭示鱼类自然种群的遗传多样性存在一定的挑战,这主要体现在采样困难方面,因为需要捕获来自不同地理群体的一定数量的个体以保证可靠的遗传分析。相较而言,使用eDNA技术开展遗传多样性研究只需要采集研究区域不同地点的水样,给采样环节带来了极大的便利性,具体原理是检测样品中的同一种群不同个体的DNA序列,通过个体间的序列变异进行分析,这为鱼类群体遗传分析提供了非侵入性、经济和高效的替代方法^[12,43]。

在最早的开创性研究中,SIGSGAARD等^[44-45]基于eDNA技术对鲸鲨(*Rhincodont ypus*)种群的遗传多样性进行了分析,结果表明通过eDNA获取的单倍型频率与基于肌肉样获得的单倍型频率类似,从而证实了eDNA技术具有评估种群遗传多样性的潜力。此后,TSUJI等^[46]证实通过eDNA技术获得香鱼(*Plecoglossus altivelis*)种群的遗传多样性参数(如核苷酸多样性)和单倍型,为eDNA技术应用于大尺度范围内的种群遗传多样性分析奠定了基础。

此外,多项研究进一步表明基于qMiSeq平台等的eDNA技术不但具有分析定量评估鱼类群落组成的重要应用潜力,也能够揭示不同鱼类的系

统地理格局^[46-47]。上述研究的尝试,证实了将 eDNA 技术应用于群体遗传分析不同方向上的重要前景,但这种方法是否适用于不同类群和不同种类的自然群体可能还需要更多的应用实践来评估。

2 eDNA 在深远海鱼类多样性研究中的应用优势

2.1 更广泛的应用场景

近十余年里,eDNA 作为生物多样性监测推断物种存在的间接遗传标记在国内外的研究中发展迅速。目前,基于 eDNA 技术对鱼类群落的研究已经遍布世界各地,这些研究地理覆盖范围广泛,基于 eDNA 技术研究海洋鱼类群落的文章也不少见,其中包括河口^[36]、海湾^[37]、近海^[48]、珊瑚礁^[38,49]、海草床^[39]、深远海^[50]、极地^[51]等。SHELTON 等^[52]运用 eDNA 技术对太平洋开阔水域的大头鳕(*Gadus macrocephalus*)进行定量检测,通过与渔业声学数据、拖网数据的对比,证明了 eDNA 技术在估算丰度和分布的能力及有效性;SALTER 等^[53]应用 eDNA 技术对法罗群岛的大西洋鳕(*Gadus morhua*)进行定量调查,大西洋鳕的 eDNA 检测结果与拖网渔获物的物种组成高度一致,扩大了 eDNA 技术在重要商业鱼类种群的区域生物量评估中的应用范围。LAROCHE 等^[54]基于 eDNA 技术在深海平原和海山水域进行物种检测,发现 eDNA 技术可以成为评估海底采矿背景下的生物多样性的有力调查工具。

此外,有研究证实 eDNA 技术能够应用于深达 3 000 m 的深海海底和中上层鱼类群落进行鱼类多样性检测^[50]。以上研究表明 eDNA 技术不但适用范围广泛,且可应用于深远海水域中,对海域内鱼类群落组成和物种分布进行调查和评估。

2.2 更突出的成本效益

基于传统的网具捕捞方法针对深远海水域开展鱼类多样性和渔业资源调查和监测,其人力和经济成本都十分高昂。eDNA 技术水样收集容易且能够减少劳动密集型的常规分类鉴定,在监测成本和效率上均有较为明显的优势^[15,55-56]。VERON 等^[57]对大西洋的鱼类多样性进行研究,通过比较 eDNA 技术和拖网两种调查方式,研究发现 eDNA 技术操作虽简单,却能捕获更多的生物类群和系统发育丰富度。DIAO 等^[58]通过搭载

“科学”号科考船获取了福尔摩沙海脊冷泉的 eDNA 海水样品,对不同水深的鱼类多样性进行评估后发现该海域鱼类的多样性水平随深度变化不大。

深远海的鱼类调查若仅依靠租用专业渔业船只的方式开展,经济、时间和人力成本将十分高昂,而这些研究从侧面证明,eDNA 技术通过搭载其他航次获取海水等环境样品的方式进行调查可以快速、全面获取同水域内不同深度的鱼类分布数据,成本效益将十分凸显^[46,59]。

2.3 更高的检测灵敏度和更精细的物种分辨率

eDNA 技术能够通过分析单个水样来识别广泛的生物类群,可以检测到传统调查方法较难发现的隐存种、低密度种群以及珍稀物种,实现生物物种的高效鉴别以及多生物群落监测^[60]。例如,YOSHITAKE 等^[61]设计特有引物探针检测太平洋海域的珍稀物种蓝鳍金枪鱼(*Thunnus orientalis*)的分布并对其丰度进行估算,表明 eDNA 技术的检测灵敏度高,能对珍稀物种进行有效监测。WESTFALL 等^[62]利用 eDNA 技术研究了西北太平洋海域的生物群落组成,识别到 12 种已知的外来物种以及 7 种无记录的外来物种,为外来物种的早期预警监测和防控及降低外来生物入侵的发生风险提供了基础数据。其他的相关研究也证实这一观点^[40,54]。FRAIJA-FERNÁNDEZ 等^[63]同步使用拖网和 eDNA 技术对比斯开湾的鱼类多样性进行调查,相比拖网调查结果,eDNA 技术能在更广泛的地理和水深尺度上检测到更广泛的多样性;还能通过 eDNA 技术对发光器小、很难通过形态学进行鉴定的灯笼鱼实现更精准的物种鉴定。RATCLIFFE 等^[27]基于 eDNA 技术监测产卵区的鱼类群落,相比形态学鉴定,eDNA 技术在个体小、可识别特征少的鱼类早期阶段中识别到种的比例更高,对物种的分辨率更精细。MATHON 等^[49]基于 eDNA 技术对不同海域的珊瑚礁鱼类进行研究时指出目前对珊瑚礁鱼类了解较为有限,对一些珊瑚礁鱼类不同阶段形态特征变化尚不明晰,相较于形态学鉴定,eDNA 技术能够更精准鉴别珊瑚礁鱼类的种类。

总的来说,eDNA 技术可以为低密度、濒危物种提供分布与否的数据信息,甚至估计种群大小,为这些物种的保护和管理提供必不可少的基础资料^[64]。

2.4 更低的分类阶元偏向性

基于捕捞的传统取样方法在鱼类种类和大小选择上存在较大差异,需要根据特定生境条件对整个鱼类群落综合选取全面有效的取样方法^[33]。与更具选择性的各类网具相比,基于eDNA的检测可能是一种更为全面的方法,无论目标生物的形态特征、运动模式和栖息地偏好,eDNA技术均可从一个生物群落中的所有物种来源中无差别地捕获目标生物类群的eDNA^[64]。例如,VALDIVIA-CARRILLO等^[65]运用eDNA技术对加利福尼亚湾开阔水域的鱼类种群进行检测,与传统调查手段相比,eDNA技术对应用水体的限制更少、对物种的选择性更低,能检测到更高的鱼类多样性。AGLIERI等^[66]研究表明,在所有方法中,与传统方法相比,eDNA对鱼类特征(如体型和摄食行为模式)没有选择性,因此eDNA检测到的鱼类多样性最高。

一般认为,eDNA技术与传统调查方法相结合,可以实现更多生物类群的识别和交叉验证,以降低物种的分类阶元偏向性^[67]。

3 eDNA在深远海鱼类多样性研究中面临的挑战

3.1 通用引物的扩增偏倚性和种属特异性不足

eDNA分析的操作流程为eDNA的获取、提取分析和鉴定等步骤,其中最影响实验结果的环节是DNA所包含的物种信息的鉴定^[68]。eDNA宏条形码技术通常是使用通用引物进行PCR扩增并构建文库,再上机对其进行高通量测序。目前,常用到的PCR技术被认为具有扩增偏倚性,即PCR往往会优先扩增丰度较高的种类,丰度比例稀少的种类在扩增的过程中会被忽略,因此PCR结果的DNA比例并不直接等同于目标生物群体DNA序列数目的比例,从而可能造成误差^[14]。

另一方面,eDNA的鉴定过程中可能出现因扩增引物的种属特异性不足导致无法区隔近缘种^[69]。例如,MIN等^[70]在北太平洋沿岸进行常规的eDNA监测时,发现常规的MiFish引物无法区分平鲷属(*Sebastes*)下的各个种类,需要根据现有参考序列重新设计特异性引物。而根据不同基因设计的引物标记甚至同一基因设计的不同引物的特异性存在差异,导致检测到的生物类群出

现变化。例如,LIAO等^[71]采用线粒体12S rRNA和16S rRNA基因的两种分子标记对南极宇航员海的eDNA样品进行检测,发现选择的两种标记引物在鱼类分类结果上存在显著差异,结果表明,两个或多个标记可能比单个标记在鱼类eDNA检测中具有更好的性能。POLANCO等^[72]选取了线粒体12S rRNA基因区域的2对引物,比较它们对地中海eDNA样品的鱼类检测结果,研究发现即使是基于同一基因片段设计的引物对eDNA样品的鱼类检测结果存在较大差异,而将两对引物结合使用能增强对物种的检测能力。

3.2 假阳性和假阴性

检测结果的假阳性和假阴性主要是基于研究目标区域的实际物种DNA是否被检验出来。假阳性结果可能是在eDNA收集和分析的过程中受到污染,出现了该区域不可能出现的物种。研究人员需要规范实验操作、对分析结果加以区分和消除以及对测序数据进行生物信息学过滤^[68]。此外,将分析结果与历史物种记录数据加以对照,可以帮助排除假阳性结果;对于缺乏物种历史信息的生态系统还可以通过同时空的重复样本和重复实验以增加实验结果的可靠性^[12]。

假阴性结果可能由许多因素引起,比如eDNA被稀释而导致无法检测、样品中的eDNA降解、采样工作和数据库不足、DNA条形码的错误识别、引物的标记选择不当、过滤次数和PCR次数不足等^[59]。在深远海,需要尤其注意的是,鱼类eDNA浓度往往不如近岸海域高,需要加大取样量和过滤次数以便得到更为可信的检测结果^[73],例如,KAWAKAMI等^[74]认为在深远海环境下需要多次重复采样或过滤大量的水才能最大限度地检测到物种。此外,深远海调查还应考虑在深层水体中的垂直分层可能会导致不同水层之间的eDNA存在差异^[75]。例如,JEUNEN等^[76]使用eDNA技术在高度层化的海洋站点的不同深度中会检测到不同的鱼类生物多样性组成,结果表明采样深度对海洋群落组成的检测有很大的影响。另一方面,还可从eDNA的高效获取和高质量保存等环节入手提高eDNA的产量以避免假阴性结果。例如,KAWATO等^[77]通过改进eDNA提取办法(将过滤eDNA滤膜切碎放入离心管中裂解),提高了深海鱼类eDNA的获取量。WU等^[78]通过比较不同的海水保存方式(RNA later或

ATL),研究其 eDNA 产量提取的效果,研究发现与常用的 RNAlater 保存方式相比,ATL 溶液在不改变物种组成的情况下能提高 DNA 获得。

3.3 参考数据库的有效性

eDNA 技术在深远海鱼类多样性研究成功运用的关键基础之一在于物种信息的准确鉴定,而这高度依赖于参考数据库的完整性和准确性。然而,目前常用的 GenBank 公共参考数据库存在许多未经校正、种类信息错误的序列,同时还存在部分分子标记对应的 DNA 片段匮乏甚至缺失等情况,如 12S rRNA 基因的序列片段。例如, FRAIJA-FERNÁNDEZ 等^[63]在较浅的站点中通过 eDNA 技术检测到了常见于 50~200 m 深的大西洋水珍鱼(*Argentina silus*),作者认为其原因可能是大西洋水珍鱼的某种近缘种栖息于浅水层,而参考数据库中缺少该近缘种的 12S rRNA 基因序列,因此将其误鉴为大西洋水珍鱼。LIAO 等^[71]在南大洋宇航员海的 eDNA 结果未能覆盖全部拖网的调查结果,这可能与南大洋缺乏全面的调查导致公共参考数据库不够完整有关。

因此,对种类信息不足的深远海开展鱼类 eDNA 调查前,推荐事先构建种类覆盖全面的本地参考库^[65]。

3.4 自然因素的影响

eDNA 样本并不是一个独立的个体,它与所处的生态环境有着不可分割的联系,而海洋环境可能是应用 eDNA 技术最困难且最具挑战性的水域,这是因为水体积和生物量的悬殊比例、洋流和波浪等作用对 eDNA 分散和稀释的影响,环境中的温度、pH、紫外线等因素对 eDNA 保存和提取的影响等^[67,75]。因此,若想更加全面和准确地研究深远海的鱼类多样性,一些生态学方面的问题是必须要考虑的。在深远海应用 eDNA 技术研究鱼类生物多样性时应着重注意:(1)了解调查海域的生态特征以及其所在区域的生物群落结构等,以便于更合理地利用 eDNA 技术研究所在海域的鱼类多样性^[73];(2)了解 DNA 与环境之间的交互效应,因为 eDNA 样本直接与海水接触,了解 DNA 与环境之间的交互效应能减少结果和分析的误差^[12,67]。

4 总结和展望

深远海作为海洋生态系统的重要组成部分,

具有独特的生物多样性,且蕴含了丰富的渔业资源,因此对深远海鱼类多样性开展高效、准确的检测是开展渔业资源利用和管理的重要前提。传统的捕捞调查方式应用于深远海环境中有一定的局限性,需补充其他更经济、准确且高效的调查方式,以完善当前深远海鱼类多样性调查和监测方面存在的薄弱环节。eDNA 应用于单物种分析中,可精准检测珍稀物种、濒危物种、外来物种或有商业价值的经济物种的分布,在特定条件下还可实现对目标生物的丰度和生物量的定量评估,并通过推断鱼类栖息地的分布、季节性迁徙和洄游路径等方式来监测鱼类行为;eDNA 应用于多物种群落分析中,可揭示目标类群的生物多样性格局,在此基础上开展渔业资源调查、外来入侵物种的早期预警监测等工作内容;除此以外,eDNA 既可实现定量评估鱼类群落组成,也具有开展群体遗传分析的重要应用潜力。基于 eDNA 在不同场景下的应用案例,本文认为 eDNA 在深远海鱼类多样性研究中,具有更广泛的应用场景、更突出的成本效益、更高的监测灵敏度和更精细的物种分辨率以及更低的分类阶元偏向性等关键应用优势。但需指出,eDNA 技术在通用引物的扩增偏倚性和种属特异性、假阳性和假阴性、参考数据库的有效性和自然因素影响等问题上仍不乏各类实际挑战,需要综合考虑实际运用场景,提前做好规划和准备,并科学选取研究策略。

未来,eDNA 技术可以作为传统调查方法的重要补充手段,有助于揭示鱼类群落在深远海的分布格局、变化趋势及其对全球气候变化下的响应,从而进一步支撑深远海环境下的生物多样性的保护与渔业资源养护管理。在未来应用中,如何与传统调查方法有效结合以及在充分考虑深远海独特的生态环境特征的前提下将结果合理转化是值得进一步深入探究的问题。

参考文献:

- [1] LI C W, LONG H, YANG S L, et al. eDNA assessment of pelagic fish diversity, distribution, and abundance in the central Pacific Ocean [J]. *Regional Studies in Marine Science*, 2022, 56: 102661.
- [2] SUTER L, POLANOWSKI A M, CLARKE L J, et al. Capturing open ocean biodiversity: comparing environmental DNA metabarcoding to the continuous

- plankton recorder[J]. *Molecular Ecology*, 2021, 30(13): 3140-3157.
- [3] IRIGOIEN X, KLEVJER T A, RØSTAD A, et al. Large mesopelagic fishes biomass and trophic efficiency in the open ocean [J]. *Nature Communications*, 2014, 5(1): 3271.
- [4] 徐奎栋. 印太交汇区海洋生物多样性中心形成演化机制研究进展与展望[J]. *海洋与湖沼*, 2021, 52(2): 262-273.
- XU K D. Formation and evolution mechanisms of marine biodiversity center in the Indo-Pacific convergence region: progress and prospects [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2021, 52(2): 262-273.
- [5] PEARCY W G, STEIN D L, CARNEY R S. The deep-sea benthic fish fauna of the northeastern Pacific ocean on Cascadia and tufts abyssal plains and adjoining continental slopes [J]. *Biological Oceanography*, 1982, 1(4): 375-428.
- [6] CANALS O, MENDIBIL I, SANTOS M, et al. Vertical stratification of environmental DNA in the open ocean captures ecological patterns and behavior of deep-sea fishes [J]. *Limnology and Oceanography Letters*, 2021, 6(6): 339-347.
- [7] 唐小曼. 印度洋与太平洋大洋中层鱼类的调查[J]. *国外水产*, 1986, 2: 25-27.
- TANG X M. A survey of mesopelagic fish in the Indian and Pacific Oceans [J]. *Foreign Journal of Aquaculture*, 1986, 2: 25-27.
- [8] COUSINS N J, PRIEDE I G. Abyssal demersal fish fauna composition in two contrasting productivity regions of the Crozet Plateau, southern Indian Ocean [J]. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 2012, 64: 71-77.
- [9] 王梦, 杨鑫, 王维, 等. 基于 eDNA 技术的长江上游珍稀特有鱼类国家级自然保护区重庆段鱼类多样性研究 [J]. *水生生物学报*, 2022, 46(1): 2-16.
- WANG M, YANG X, WANG W, et al. Fish diversity in Chongqing section of the national nature reserve for rare and endemic fish in the Upper Yangtze River based on eDNA technology [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2022, 46(1): 2-16.
- [10] 卢芷程, 李敏, 张俊, 等. 基于 DNA 条形码的南海美济礁潟湖鱼卵种类鉴定与组成初探 [J]. *南方水产科学*, 2021, 17(6): 12-21.
- LU Z C, LI M, ZHANG J, et al. Preliminary study on species composition of fish eggs of Meiji Reef Lagoon in South China Sea based on DNA barcoding [J]. *South China Fisheries Science*, 2021, 17(6): 12-21.
- [11] 陈世静. 基于 eDNA 技术的西南大学崇德湖鱼类与浮游生物多样性研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2020.
- CHEN S J. Analysis of the Fish and Plankton Diversity in Chongde Lake at Southwest University Using Environmental DNA Technology [D]. Chongqing: Southwest University, 2020.
- [12] YAO M, ZHANG S, LU Q, et al. Fishing for fish environmental DNA: ecological applications, methodological considerations, surveying designs, and ways forward [J]. *Molecular Ecology*, 2022, 31(20): 5132-5164.
- [13] XIONG F, SHU L, ZENG HH, et al. Methodology for fish biodiversity monitoring with environmental DNA metabarcoding: the primers, databases and bioinformatic pipelines [J]. *Water Biology and Security*, 2022, 1(1): 100007.
- [14] TABERLET P, COISSAC E, HAJIBABAEI M, et al. Environmental DNA [J]. *Molecular Ecology*, 2012, 21(8): 1789-1793.
- [15] LI J L. Development of an environmental DNA method for monitoring freshwater fish communities using metabarcoding [D]. Hull: University of Hull, 2019.
- [16] 单秀娟, 李苗, 王伟继. 环境 DNA (eDNA) 技术在水生生态系统中的应用研究进展 [J]. *渔业科学进展*, 2018, 39(3): 23-29.
- SHAN X J, LI M, WANG W J. Application of environmental DNA technology in aquatic ecosystem [J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2018, 39(3): 23-29.
- [17] WANG X Y, ZHANG H B, LU G Q, et al. Detection of an invasive species through an environmental DNA approach: the example of the red drum *Sciaenops ocellatus* in the East China Sea [J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 815: 152865.
- [18] WOOD Z T, ERDMAN B F, YORK G, et al. Experimental assessment of optimal lotic eDNA sampling and assay multiplexing for a critically endangered fish [J]. *Environmental DNA*, 2020, 2(4): 407-417.
- [19] BYLEMANS J, FURLAN E M, HARDY C M, et al. An environmental DNA-based method for monitoring spawning activity: a case study, using the endangered Macquarie perch (*Macquaria australasica*) [J]. *Methods in Ecology and Evolution*, 2017, 8(5): 646-655.
- [20] WU L H, WU Q Q, INAGAWA T, et al. Estimating the spawning activity of fish species using nuclear and mitochondrial environmental DNA concentrations and their ratios [J]. *Freshwater Biology*, 2023, 68(1): 103-114.
- [21] FUJIWARA Y, TSUCHIDA S, KAWATO M, et al. Detection of the largest deep-sea-endemic teleost fish at depths of over 2,000 m through a combination of eDNA metabarcoding and baited camera observations [J]. *Frontiers in Marine Science*, 2022, 9: 945758.
- [22] FICETOLA G F, MIAUD C, POMPANON F, et al. Species detection using environmental DNA from water samples [J]. *Biology Letters*, 2008, 4(4): 423-425.

- [23] JO T, MURAKAMI H, YAMAMOTO S, et al. Effect of water temperature and fish biomass on environmental DNA shedding, degradation, and size distribution[J]. *Ecology and Evolution*, 2019, 9(3): 1135-1146.
- [24] SOUMA R, KATANO I, DOI H, et al. Comparing environmental DNA with whole pond survey to estimate the total biomass of fish species in ponds [J]. *Freshwater Biology*, 2023, 68(5): 727-736.
- [25] DOI H, TAKAHARA T, MINAMOTO T, et al. Droplet digital polymerase chain reaction (PCR) outperforms real-time PCR in the detection of environmental DNA from an invasive fish species [J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(9): 5601-5608.
- [26] TAKEUCHI A, IJIMA T, KAKUZEN W, et al. Release of eDNA by different life history stages and during spawning activities of laboratory-reared *Japanese eels* for interpretation of oceanic survey data [J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 6074.
- [27] RATCLIFFE F C, UREN WEBSTER T M, GARCIA DE LEANIZ C, et al. A drop in the ocean: monitoring fish communities in spawning areas using environmental DNA [J]. *Environmental DNA*, 2021, 3(1): 43-54.
- [28] BRACKEN F S A, ROONEY S M, KELLY-QUINN M, et al. Identifying spawning sites and other critical habitat in lotic systems using eDNA "snapshots": a case study using the sea lamprey *Petromyzon marinus* L. [J]. *Ecology and Evolution*, 2019, 9(1): 553-567.
- [29] THALINGER B, WOLF E, TRAUOGOTT M, et al. Monitoring spawning migrations of potamodromous fish species via eDNA [J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 15388.
- [30] XU N, ZHU B, SHI F, et al. Monitoring seasonal distribution of an endangered anadromous sturgeon in a large river using environmental DNA [J]. *The Science of Nature*, 2018, 105(11): 62.
- [31] 徐念,熊美华,邵科,等. 长江中下游环境DNA宏条形码生物多样性检测技术初步研究[J]. *环境科学研究*, 2020, 33(5): 1187-1196.
- XU N, XIONG M H, SHAO K, et al. Preliminary study on environmental DNA metabarcoding for detecting biodiversity in the middle and lower reaches of the Yangtze River[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2020, 33(5): 1187-1196.
- [32] 李萌,尉婷婷,史博洋,等. 环境DNA技术在淡水底栖大型无脊椎动物多样性监测中的应用[J]. *生物多样性*, 2019, 27(5): 480-490.
- LI M, WEI T T, SHI B Y, et al. Biodiversity monitoring of freshwater benthic macroinvertebrates using environmental DNA[J]. *Biodiversity Science*, 2019, 27(5): 480-490.
- [33] MUELLER M, PANDER J, KNOTT J, et al. Comparison of nine different methods to assess fish communities in lentic flood-plain habitats [J]. *Journal of Fish Biology*, 2017, 91(1): 144-174.
- [34] DEINER K, BIK H M, MÄCHLER E, et al. Environmental DNA metabarcoding: transforming how we survey animal and plant communities [J]. *Molecular Ecology*, 2017, 26(21): 5872-5895.
- [35] LAMY T, PITZ K J, CHAVEZ F P, et al. Environmental DNA reveals the fine-grained and hierarchical spatial structure of kelp forest fish communities [J]. *Scientific Reports*, 2021, 11(1): 14439.
- [36] CHEANG CC, LEE B Y, IP B H Y, et al. Fish and crustacean biodiversity in an outer maritime estuary of the Pearl River Delta revealed by environmental DNA [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2020, 161: 111707.
- [37] YUKI H, SHOTA N, YUKI K, et al. Fish environmental DNA in Tokyo Bay: a feasibility study on the availability of environmental DNA for fisheries [J]. *Regional Studies in Marine Science*, 2021, 47: 101950.
- [38] WEST K M, STAT M, HARVEY E S, et al. eDNA metabarcoding survey reveals fine-scale coral reef community variation across a remote, tropical island ecosystem [J]. *Molecular Ecology*, 2020, 29(6): 1069-1086.
- [39] OKA S I, DOI H, MIYAMOTO K, et al. Environmental DNA metabarcoding for biodiversity monitoring of a highly diverse tropical fish community in a coral reef lagoon: Estimation of species richness and detection of habitat segregation [J]. *Environmental DNA*, 2021, 3(1): 55-69.
- [40] MIRIMIN L, DESMET S, ROMERO D L, et al. Don't catch me if you can - using cabled observatories as multidisciplinary platforms for marine fish community monitoring: an insitu case study combining underwater video and environmental DNA data [J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 773: 145351.
- [41] TSUJI S, MIYA M, USHIO M, et al. Evaluating intraspecific genetic diversity using environmental DNA and denoising approach: a case study using tank water [J]. *Environmental DNA*, 2020, 2(1): 42-52.
- [42] GOOD E, HOLMAN L E, PUSCEDDU A, et al. Detection of community-wide impacts of bottom trawl fishing on deep-sea assemblages using environmental DNA metabarcoding [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2022, 183: 114062.
- [43] TURON M, ANGULO-PRECKLER C, ANTICH A, et al. More than expected from old sponge samples: a natural sampler DNA metabarcoding assessment of marine fish diversity in NhaTrang Bay (Vietnam) [J]. *Frontiers in Marine Science*, 2020, 7: 605148.
- [44] SIGSGAARD E E, JENSEN M R, WINKELMANN I E, et al. Population-level inferences from environmental DNA- Current status and future perspectives [J]. *Evolutionary Applications*, 2020, 13(2): 245-262.

- [45] SIGSGAARD E E, NIELSEN I B, CARL H, et al. Seawater environmental DNA reflects seasonality of a coastal fish community [J]. *Marine Biology*, 2017, 164(6): 128.
- [46] TSUJI S, MARUYAMA A, MIYA M, et al. Environmental DNA analysis shows high potential as a tool for estimating intraspecific genetic diversity in a wild fish population [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2020, 20(5): 1248-1258.
- [47] TSUJI S, SHIBATA N, INUI R, et al. Environmental DNA phylogeography: successful reconstruction of phylogeographic patterns of multiple fish species from cups of water [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2023, 23(5): 1050-1065.
- [48] DJURHUUS A, CLOSEK C J, KELLY R P, et al. Environmental DNA reveals seasonal shifts and potential interactions in a marine community [J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 254.
- [49] MATHON L, MARQUES V, MOUILLOT D, et al. Cross-ocean patterns and processes in fish biodiversity on coral reefs through the lens of eDNA metabarcoding [J]. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2022, 289(1973): 20220162.
- [50] MCCLENAGHAN B, FAHNER N, COTE D, et al. Harnessing the power of eDNA metabarcoding for the detection of deep-sea fishes [J]. *PLoS One*, 2020, 15(11): e0236540.
- [51] LACOURSIÈRE-ROUSSEL A, HOWLAND K, NORMANDEAU E, et al. eDNA metabarcoding as a new surveillance approach for coastal Arctic biodiversity [J]. *Ecology and Evolution*, 2018, 8(16): 7763-7777.
- [52] SHELTON A O, RAMÓN-LACA A, WELLS A, et al. Environmental DNA provides quantitative estimates of Pacific hake abundance and distribution in the open ocean [J]. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2022, 289(1971): 20212613.
- [53] SALTER I, JOENSEN M, KRISTIANSEN R, et al. Environmental DNA concentrations are correlated with regional biomass of Atlantic cod in oceanic waters [J]. *Communications Biology*, 2019, 2(1): 461.
- [54] LAROCHE O, KERSTEN O, SMITH C R, et al. Environmental DNA surveys detect distinct metazoan communities across abyssal plains and seamounts in the western Clarion Clipperton Zone [J]. *Molecular Ecology*, 2020, 29(23): 4588-4604.
- [55] TORRES M Á, COLL M, HEYMANS J J, et al. Food-web structure of and fishing impacts on the Gulf of Cadiz ecosystem (South-western Spain) [J]. *Ecological Modelling*, 2013, 265: 26-44.
- [56] THOMSEN P F, KIELGAST J, IVERSEN L L, et al. Detection of a diverse marine fish fauna using environmental DNA from seawater samples [J]. *PLoS One*, 2012, 7(8): e41732.
- [57] VERON P, ROZANSKI R, MARQUES V, et al. Environmental DNA complements scientific trawling in surveys of marine fish biodiversity [J]. *ICES Journal of Marine Science*, 2023, 80(8): 2150-2165.
- [58] DIAO C Y, WANG M X, ZHONG Z S, et al. Biodiversity exploration of formosa ridge cold seep in the South China Sea using an eDNA metabarcoding approach [J]. *Marine Environmental Research*, 2023, 190: 106109.
- [59] DOI H, FUKAYA K, OKA S I, et al. Evaluation of detection probabilities at the water-filtering and initial PCR steps in environmental DNA metabarcoding using a multispecies site occupancy model [J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 3581.
- [60] 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.
- [61] YOSHITAKE K, FUJIWARA A, MATSUURA A, et al. Estimation of tuna population by the improved analytical pipeline of unique molecular identifier-assisted HaCeD-Seq (haplotype count from eDNA) [J]. *Scientific Reports*, 2021, 11(1): 7031.
- [62] WESTFALL K M, THERRIAULT T W, ABBOTT C L. A new approach to molecular biosurveillance of invasive species using DNA metabarcoding [J]. *Global Change Biology*, 2020, 26(2): 1012-1022.
- [63] FRAIJA-FERNÁNDEZ N, BOUQUIEAUX M C, REY A, et al. Marine water environmental DNA metabarcoding provides a comprehensive fish diversity assessment and reveals spatial patterns in a large oceanic area [J]. *Ecology and Evolution*, 2020, 10(14): 7560-7584.
- [64] RAMÍREZ-AMARO S, BASSITTA M, PICORNELL A, et al. Environmental DNA: state-of-the-art of its application for fisheries assessment in marine environments [J]. *Frontiers in Marine Science*, 2022, 9: 1004674.
- [65] VALDIVIA - CARRILLO T, ROCHA - OLIVARES A, REYES - BONILLA H, et al. Integrating eDNA metabarcoding and simultaneous underwater visual surveys to describe complex fish communities in a marine biodiversity hotspot [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2021, 21(5): 1558-1574.
- [66] AGLIERI G, BAILLIE C, MARIANI S, et al. Environmental DNA effectively captures functional diversity of coastal fish communities [J]. *Molecular Ecology*, 2021, 30(13): 3127-3139.
- [67] MIYA M. Environmental DNA metabarcoding: a novel method for biodiversity monitoring of marine fish communities [J]. *Annual Review of Marine Science*, 2022, 14: 161-185.
- [68] MIYA M, GOTOH R O, SADO T. MiFishmetabarcoding:

- a high-throughput approach for simultaneous detection of multiple fish species from environmental DNA and other samples[J]. *Fisheries Science*, 2020, 86(6): 939-970.
- [69] MORITA K, SAHASHI G, MIYA M, et al. Ongoing localized extinctions of stream-dwelling white-spotted charr populations in small dammed-off habitats of Hokkaido Island, Japan [J]. *Hydrobiologia*, 2019, 840(1): 207-213.
- [70] MIN M A, BARBER P H, GOLD Z. MiSebastes: an eDNA metabarcoding primer set for rockfishes (genus *Sebastes*) [J]. *Conservation Genetics Resources*, 2021, 13(4): 447-456.
- [71] LIAO Y Z, MIAO X, WANG R, et al. First pelagic fish biodiversity assessment of Cosmonaut Sea based on environmental DNA [J]. *Marine Environmental Research*, 2023, 192: 106225.
- [72] POLANCO F. A, RICHARDS E, FLÜCK B, et al. Comparing the performance of 12S mitochondrial primers for fish environmental DNA across ecosystems [J]. *Environmental DNA*, 2021, 3(6): 1113-1127.
- [73] MERTEN V, PUEBLA O, BAYER T, et al. Arctic nekton uncovered by eDNA metabarcoding: diversity, potential range expansions, and pelagic - benthic coupling [J]. *Environmental DNA*, 2023, 5(3): 503-518.
- [74] KAWAKAMI T, YAMAZAKI A, ASAMI M, et al. Evaluating the sampling effort for the metabarcoding-based detection of fish environmental DNA in the open ocean [J]. *Ecology and Evolution*, 2023, 13(3): e9921.
- [75] HANSEN B K, BEKKEVOLD D, CLAUSEN L W, et al. The sceptical optimist: challenges and perspectives for the application of environmental DNA in marine fisheries [J]. *Fish and Fisheries*, 2018, 19(5): 751-768.
- [76] JEUNEN G J, LAMARE M D, KNAPP M, et al. Water stratification in the marine biome restricts vertical environmental DNA (eDNA) signal dispersal [J]. *Environmental DNA*, 2020, 2(1): 99-111.
- [77] KAWATO M, YOSHIDA T, MIYA M, et al. Optimization of environmental DNA extraction and amplification methods for metabarcoding of deep-sea fish [J]. *MethodsX*, 2021, 8: 101238.
- [78] WU Q Q, MINAMOTO T. Improvement of recovery yield of macro-organismal environmental DNA from seawater samples [J]. *Analytical Sciences*, 2023, 39(5): 713-720.

Potential use of environmental DNA technology in oceanic fish diversity study

LI Yuan^{1,2}, WEN Yilin¹, LI Hai², LIU Shigang², MIAO Xing², LIN Longshan^{1,2}

(1. College of Marine Biological Resources and Management, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Laboratory of Marine Biodiversity, Third Institute of Oceanography, Ministry of Natural Resources, Xiamen 361005, Fujian, China)

Abstract: As an important part of the marine ecosystem, the oceanic waters have unique biodiversity and rich fishery resources. Therefore, efficient and accurate detection of the oceanic fish diversity is an important prerequisite for the utilization and management of fishery resources. However, traditional capture-based survey methods have certain limitations. eDNA technology can be used as an important supplement to traditional survey methods due to its characteristics and advantages such as wider application scenarios, more prominent cost effectiveness, higher detection sensitivity, finer species resolution, and lower taxonomic order bias. It has a broad application prospect in the far-reaching oceanic fish diversity monitoring and fishery resource survey. This paper summarizes the current status of eDNA in the study of fish diversity and its application advantages and challenges in the study of oceanic marine fish diversity. Meanwhile, combined with the environmental characteristics of oceanic waters, we further discuss the application potential of eDNA in the study of fish diversity in the oceanic waters and possible challenges. The relevant content can provide a systematic scientific reference for further research in the future.

Key words: environmental DNA; oceanic waters; fishbiodiversity; fishery resources; ecosystem