

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20240924001

http://www.yykxjz.cn/

雷俊, 苏园园, 尹连政, 曾若菡, 黎平, 秦永强, 蔡杏伟, 刁晓平. 基于 eDNA 技术与传统渔具调查方法的万泉河鱼类多样性的比较研究. 渔业科学进展, 2025, 46(2): 147–161

LEI J, SU Y Y, YIN L Z, ZENG R H, LI P, QIN Y Q, CAI X W, DIAO X P. Comparative study of fish diversity in Wanquan River based on environmental technology and traditional fishing gear survey methods. Progress in Fishery Sciences, 2025, 46(2): 147–161

# 基于 eDNA 技术与传统渔具调查方法的 万泉河鱼类多样性的比较研究\*

雷俊<sup>1,5</sup> 苏园园<sup>1</sup> 尹连政<sup>1</sup> 曾若菡<sup>1</sup> 黎平<sup>1,5</sup>  
秦永强<sup>2</sup> 蔡杏伟<sup>3</sup> 刁晓平<sup>4①</sup>

(1. 海南大学生态学院 海南 海口 570228; 2. 海南师范大学生态与环境学院 海南 海口 570228;  
3. 海南省海洋与渔业科学院淡水渔业研究所 海南 海口 571924; 4. 海南大学南海海洋资源利用国家  
重点实验室 海南 海口 570228; 5. 海南省热带林业资源监测与应用重点实验室 海南 海口 570228)

**摘要** 万泉河是海南岛重要的河流之一, 拥有丰富的鱼类资源。为探究万泉河流域鱼类多样性及群落结构特征, 本研究采用环境 DNA (environmental DNA, eDNA) 技术, 结合传统渔具调查方法进行对比分析, 探讨 eDNA 技术与传统渔具调查方法在鱼类监测方面的优势。结果显示, 通过 eDNA 技术共检测到 6 目 32 科 65 属 76 种鱼类, 传统渔具调查方法共获得 4 目 14 科 44 属 44 种鱼类。两种方法共同检测到的鱼类有 19 种, 总体上 eDNA 在所有采样点检测出的鱼类物种均比传统调查方法多。两种方法检测的鱼类中均以鲤形目(Cypriniformes)为主, 其次是鲈形目(Perciformes)和鲇形目(Siluriformes)。本研究结果表明, eDNA 技术是对万泉河传统渔具调查方法的重要补充, 可为万泉河鱼类资源保护提供基础数据和技术参考。

**关键词** 环境 DNA; 万泉河; 鱼类多样性

**中图分类号** S931.1 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2025)02-0147-15

万泉河为海南的三大河流之一, 发源于五指山, 全长 156.6 km, 流域面积 3 693 km<sup>2</sup>, 万泉河降水量充足, 流域内生物资源丰富(黄丹等, 2024)。鱼类作为水生生物的主要类群之一, 对维系水生生态系统发挥着重要作用, 直接影响水生生态系统健康与稳定(Xie *et al.*, 2021)。近年来, 万泉河流域的水库水坝、高速公路及河道疏浚等人为活动影响加剧, 流域内鱼类的生态功能受到日益严重的影响(李龙兵等, 2020; 张鹭等, 2017)。因此, 亟需开展鱼类多样性的长期调查与监测, 摸清流域鱼类资源现状, 制定相应的保护措施等(李钊, 2018)。

万泉河的鱼类调查主要通过网具捕捞, 包括但不限于刺网、围网、地笼网等(申志新等, 2018)。然而, 传统渔具调查方法具有一定的局限性, 特别是不同网具对鱼类种类和个体大小具有明显的选择性, 同时对数量少、隐蔽性强的种类难以捕获, 造成无法准确、全面地监测调查区域的鱼类多样性。禁渔期的限制进一步增加了传统调查工作的难度。因此, 亟需一种快速有效的监测方法对不同时期万泉河鱼类资源进行研究。环境 DNA (environmental DNA, eDNA) 技术是一种通过富集生物体留存于环境中的 DNA, 利用高

\* 海南省热带林业资源监测与应用重点实验室开放基金(SZDSYS2024-004)资助。雷俊, Email: jun\_lei@foxmail.com

① 通信作者: 刁晓平, 教授, Email: diaoxip@hainanu.edu.cn

收稿日期: 2024-09-24, 收修改稿日期: 2024-11-14

通量测序技术分析生物群落的方法。该方法对环境扰动小、省时省力,能快速地对鱼类多样性及其空间分布进行监测(舒璐等, 2020),是一种可靠且具有优势的监测技术(Fujii *et al.*, 2019; Doi *et al.*, 2021)。eDNA 技术目前已被广泛应用于生物多样性监测、种群分布、生物量评估、食性分析等方面(Rodríguez-Ezpeleta *et al.*, 2021; 匡晨亿等, 2024; 谷思雨等, 2024)。

关于万泉河鱼类资源调查的相关研究:崔友勇等(2011)调查发现鱼类 27 种;李高俊等(2020)调查到万泉河土著鱼类 71 种;黄丹等(2022)在万泉河河段调查到鱼类 68 种;最新的《万泉河流域鱼类图鉴》记录了淡水鱼共 100 种,河口鱼 98 种(申志新, 2023)。以上调查结果均采用传统渔具调查方法,尚未见有 eDNA 技术的报道。本研究以万泉河流域为研究区域,将 eDNA 技术和传统鱼类调查方法相结合,探究鱼类多样性和群落结构特征,分析两种方法的相关性,以期 eDNA 技术在万泉河流域的应用奠定基础,也为当地渔业资源保护提供基础数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 样本采集

以海南万泉河为研究区域,在 2023 年 3 月(春季)进行采样,参考(HJ710.7-2014)《生物多样性观测技术导则 内陆水域鱼类》。在河流断面上的 5 个采样点分别设置在干流和支流以及支流到干流的交汇处,

包括和平镇(HP)、大乐桥(DLQ)、嘉积(JJ)、坡寮(PL)和大边桥(DBQ)(图 1)。鱼类样品收集:使用多网目复合刺网(长 30 m,高 1.5 m,包括 12 种网目:2a=2 cm=1.0、1.6、2.0、2.5、3.1、4.0、4.8、6.0、7.5、8.5、11.0、12.5 cm,每个网目的网长 2.5 m)、地笼(长 11 m)共由 21 节笼(高 25 cm,宽 35 cm)和 2 个收纳笼(分别位于地笼两端)组成、三层流刺网(长 60 m,高 2 m;网目 2a=5~8 cm 和 2a=12~15 cm 两种规格)对 5 个采样点进行鱼类收集。根据实际情况选择河岸相对垂直、水流较缓的位置采样,每种网具(多网目复合刺网 2 条/次/采样点;地笼 6 条/次/采样点;三层流刺网 3 条/次/采样点) 18:00~19:00 放置,次日 06:00~07:00 收网。将不同渔具采集到的所有鱼类样本进行现场鉴定,并计数和称重(0.1 g)。对于不能当场识别的种类,用 5%~10%的福尔马林溶液固定后,带回实验室鉴定。参考《淡水生物监测 环境 DNA 宏条形码法》(T/CSES 81-2023)进行 eDNA 富集,使用采水器采集水样,尽可能对河流断面进行采样,包括断面上、中、下层水各 5 L,共 15 L,进一步混合后分别装入 5 L 量杯,现场过滤 3 个重复,使用六通道环境 DNA 过滤仪(WD-6,易基诺,南京)和一体化 eDNA 富集器(WF0201012,易基诺,南京)进行过滤,并注入 eDNA 保存液。为防止交叉污染,过滤前后均对仪器设备进行消毒,依次使用次氯酸钠清洗,去离子水和点位水进行润洗,全程佩戴乳胶手套和一次性口罩。以相同的方式过滤 15 L 去离子水作为阴性对照。

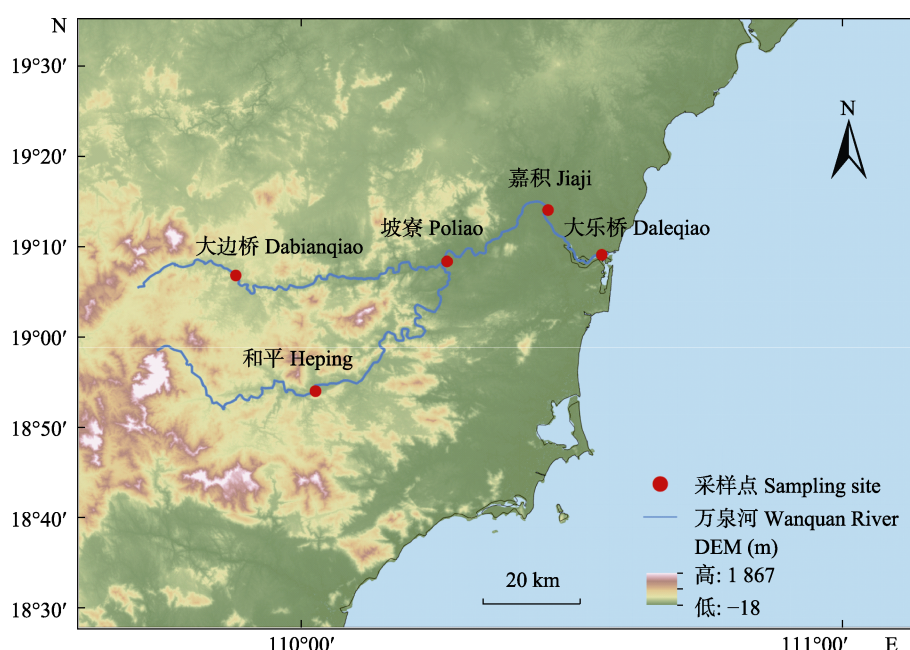


图 1 万泉河采样点分布

Fig.1 Map of sampling sites in the Wanquan River

## 1.2 DNA 提取

使用 eDNA 提取试剂盒(MT059, 易基诺, 中国)提取 DNA。流程为“样品均质-核酸吸附-杂质洗脱-DNA 溶解”, 同一批次 DNA 提取至少设置 1 个 DNA 提取空白对照作为阴性对照(孙晶莹等, 2018), 再通过 Qubit™ 4 Fluorometer (Q33226, 赛默飞, 美国)和超微量分光光度计(ND5000, 百泰克, 中国)对 DNA 的浓度和纯度进行检测。

## 1.3 PCR 扩增及测序

选取 12S 通用引物(引物序列 Teleo2 F:AAACTC GTGCCAGCCACC; Teleo2 R: GGGTATCTAATCCCA GTTTG)进行 PCR 扩增(Taberlet *et al.*, 2018), 每个 96 孔板均含 1 个阳性标准品和 3 个阴性参照(ddH<sub>2</sub>O)。配制 PCR 总体系为 20 μL: Premix EX Tag II 10 μL, ROX Reference Dye 0.4 μL, Teleo2F 0.4 μL, Teleo2R 0.4 μL, DNA 1 μL, DEPC 7.8 μL。PCR 扩增程序: 95 °C 预变性 3 min; 95 °C 变性 15 s, 62.4 °C 退火 20 s, 72 °C 延伸 20 s, 35 个循环; 最后 72 °C 延伸 5 min。得到的 PCR 产物用浓度为 2% 的琼脂糖凝胶电泳检测, 电压 10 V/cm, 电泳时间为 35~40 min。高通量测序使用 Ion Proton(赛默飞, 美国)平台进行。

## 1.4 数据处理及分析

高通量测序数据分析使用 ubuntu 14.04 版本下的 EcoView 软件。具体生物信息学分析流程: 首先将测序 fastq 文件转换成 fasta 文件, 同时反向互补, 去除质量值小于 Q20、长度小于 80 bp 和大于 250 bp 的序列, 再去掉重复序列和含有 N 的序列, 只保留同时含上下游引物的序列, 引物错配小于 3 bp; 使用 EcoView 软件中 USEARCH 工具进行 OTUs (operational taxonomic units)聚类; 基于 NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>)数据库进行比对, 若有 OTU 无法比对至种水平, 则在属水平、科水平等进行统计(郭宁宁等, 2023), 匹配鱼类物种信息, 再通过人为筛选并校正, 获得鱼类物种注释结果(杨海乐等, 2023), 将获得结果与同一月进行网具捕获的鱼类进行对比分析。

本研究采用 Spearman 方法分析了共同检出的鱼类物种序列占比和物种重量占比的相关性。采用 PCoA (principal co-ordinates analysis)主坐标分析探究不同采样点鱼类组成的相似性或差异性, 使用 R 软件的“ape”包和“ggplot2”包完成。采用独立样本 *t* 检验分析了 eDNA 技术和传统渔具调查方法所获的鱼类多样性的差异。 $P < 0.05$  表示差异水平显著,

$P < 0.01$  表示差异水平极显著。韦恩图使用 R(4.2.2)软件中的“VennDiagram”(v.1.7.3)包完成, 线性回归图使用 R(4.2.2)软件中的 ggplot2(v.3.4.2)完成, 采样图利用 ArcGIS 10.8 绘制完成。

根据物种的相对序列丰度和渔具捕捞的渔获物相对丰度确定各站点优势鱼类物种组成(仝亚东等, 2023), 计算每个站点鱼类的 Shannon 多样性指数(Shannon, 1948)、Simpson 指数(Simpson, 1949)、Pielou 均匀度指数(Pielou, 1966)。丰富度指数(Richness)表示已确定的鱼类种类的数量, McNaughton 指数表示优势度(Cheng *et al.*, 2023)。计算公式如下:

$$\text{Richness 丰富度指数}(S): S = n \quad (1)$$

$$\text{Shannon 多样性指数}(H'): H' = - \sum_{i=1}^s \frac{n_i}{N} \ln \frac{n_i}{N} \quad (2)$$

$$\text{Simpson 指数}(D): D = \sum_{i=1}^{S_{\text{obs}}} (n_i - 1) n_i / (N(N-1)) \quad (3)$$

$$\text{Pielou 指数}(J): J = \frac{H}{H_{\text{max}}} = \frac{H}{\log_x S} \quad (4)$$

$$\text{McNaughton 指数}(Y): Y = \frac{n_i}{N} \times f_i \quad (5)$$

式中,  $S$  表示群落物种丰富度指数;  $n$  表示个体数(丰度)大于 0 的物种类型总数。 $H_{\text{max}}$  表示在物种丰富度相同的情况下, 能够达到的最大 Shannon 指数值;  $S_{\text{obs}}$  表示实际观测到的 OTU 数;  $n_i$  表示第  $i$  个 OTU 所含的序列数;  $N$  表示所有序列数;  $f_i$  表示第  $i$  个 OTU 在所有站点出现的频率。 $Y > 0.02$  的种类为优势种。

## 2 结果

### 2.1 鱼类的物种组成

采用传统的渔具调查方法和 eDNA 方法在万泉河共监测到 101 种鱼类, 包括淡水鱼和河口鱼, 其中, eDNA 方法检出鱼类 76 种, 隶属于 6 目 32 科 65 属, 优势种 22 种; 传统渔具调查方法检出鱼类 44 种, 隶属于 4 目 14 科 44 属, 优势种 7 种。两种方法共同监测到的鱼类有 19 种, 仅 eDNA 方法监测到的鱼类有 57 种, 占鱼类总数的 56.44%; 仅传统渔具调查方法检测到的鱼类有 25 种, 占鱼类总数的 24.75%(图 2a)。不同采样点两种方法监测到的鱼类物种数有差异(图 2b)。eDNA 监测的物种数由大到小依次为 DBQ(60 种)、PL(58 种)、HP(50 种)、DLQ(38 种)、JJ(37 种), 物种数最多的采样点是 DBQ; 传统的渔具调查方法监测到的物种数由大到小依次为 JJ(28 种)、PL(14 种)、DLQ(12 种)和 HP(12 种)、DBQ(11 种)。

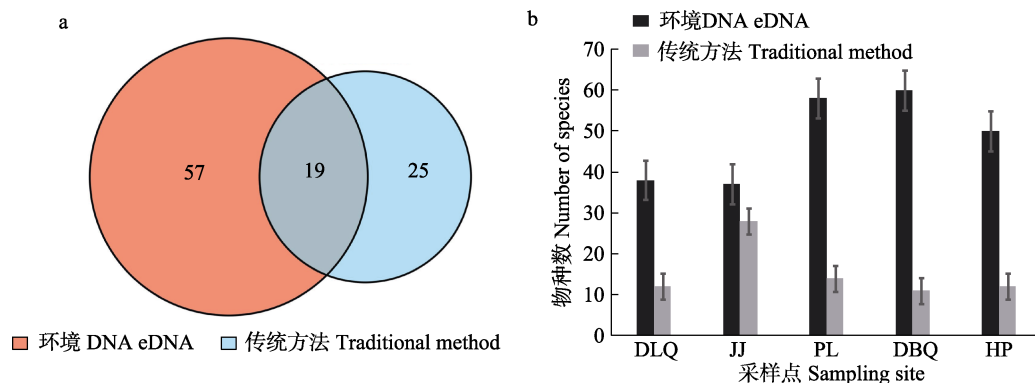


图 2 基于 eDNA 技术的万泉河鱼类物种数与传统调查方法结果的比较

Fig.2 Comparison between the fish composition of the Wanquan River based on eDNA technology and traditional method

总体上 eDNA 方法在万泉河检测到的鱼类物种数要高于传统的渔具调查方法。

12S 扩增测序后注释到鱼类序列数有 322 267 条, 人工筛选后得到有效序列 225 132 条, 按照序列相似性  $\geq 97\%$  进行物种聚类, 最终获得 79 个鱼类 OTUs, 其中注释到种水平的鱼类有 76 种(表 1 和附录 I), 隶属于 6 目 32 科 65 属, 有 3 个 OTUs 只注释到属水平, 为马口鱼(*Opsariichthys* sp.)、片唇鲃(*Platysmacheilus* sp.)和南鳅(*Schistura* sp.)。按照鱼类检出物种数从高到低为鲤形目(Cypriniforme) (34 种)、鲈形目(Perciformes) (33 种)、鲇形目(Siluriformes) (4 种)、鲴形目(Mugiliformes) (3 种)、鲱形目(Clupeiformes) 和 鲢形目(Cyprinodontiformes) (1 种)。注释到鲈形目的序列数最多, 共 113 186 条序列, 占比为 50.28%, 物种数 33 种, 主要为台湾吻虾虎鱼(*Rhinogobius formosanus*)、尼罗口孵非鲫(*Oreochromis niloticus*)等; 注释到鲤形目的序列数共 97 045 条, 占总序列数的 43.11%, 物种数 34 种, 主要为三角鲂(*Megalobrama terminalis*)、暗花纹唇鱼(*Osteochilus salsburyi*)、泥鳅(*Misgurnus anguillicaudatus*)等。鲤形目的物种数量最多, 包含 4 个科, 即鲤科(Cyprinidae)、爬岩鳅科(Gastromyzontidae)、鳅科(Cobitidae)、平鳍鳅科(Balitoridae)。鲈形目含有的科最丰富(21 科), 而鲴形目、鲱形目和鲢形目均只有 1 科, 分别为鲴科(Mugilidae)、鲱科(Clupeidae)和花鲢科(Poeciliidae)。按照科水平的物种数从高到低为鲤科(31 种)、虾虎鱼科(Gobiidae) (6 种)、丽鱼科(Cichlidae) (4 种)、鲴科和鳊科(Channidae) (各 3 种)、双边鱼科(Ambassidae)、蓝子鱼科(Siganidae)和鳅科(各 2 种)及其他科如鲴科(Sparidae)、胡子鲇科(Clariidae)、鮡科(Sisoridae)、鲈科(Carangidae)等各 1 种(图 3)。

使用刺网、地笼网和多网目复合刺网的传统渔具调查方法共获得鱼类 671 条, 共 44 种鱼类(表 1 和附录 II), 隶属于 4 目 14 科 44 属。在目水平上鱼的物

种数排序为鲤形目(23 种)>鲈形目(17 种)>鲇形目(3 种)>鲱形目(1 种)。其中, 鲤科包含的鱼类物种最多, 有 24 种, 其次是丽鱼科 6 种、虾虎鱼科 4 种, 以及塘鳢科和鳅科各 2 种, 巨鲇科(Pangasiidae)、甲鲇科(Loricariidae)、鲮科(Bagridae)、双边鱼科、鲈科、攀鲈科(Anabantidae)、鳊科、鲴科(Leiognathidae)、鳅科和鲱科各 1 种(图 3)。

## 2.2 鱼类物种的相对丰度及优势物种

基于 eDNA 技术调查出的万泉河鱼类优势物种有 22 种(图 4a), 包括台湾吻虾虎鱼、尼罗口孵非鲫、三角鲂、暗花纹唇鱼、泥鳅、细尾白甲鱼(*Onychostoma lepturum*)、齐氏非鲫(*Coptodon zillii*)等。其中有 11 种优势鱼类出现在所有采样点, 分别为台湾吻虾虎鱼、尼罗口孵非鲫、细尾白甲鱼、齐氏非鲫、波氏吻虾虎鱼(*Rhinogobius cliffordpopei*)、斯氏凡鲃(*Valamugil speigleri*)、长棘银鲈(*Gerres filamentosus*)、鲮(*Hypophthalmichthys nobilis*)、鲤(*Cyprinus carpio*)、鲴(*Mugil cephalus*)、花鲢(*Clupanodon thrissa*)、黄鳍棘鲷(*Acanthopagrus latus*)。传统调查方法调查出的优势种有 7 种(图 4b), 分别为齐氏非鲫、嘉积小鰕鲃(*Microphysogobio kachekensis*)、黄尾鲷(*Xenocypris davidi*)、海南似鲃(*Toxabramis houdemeri*)、海南拟鲃(*Pseudohemiculter hainanensis*)、海南华鲃(*Sinibrama affinis*)、高体鰕鲃(*Rhodeus ocellatus*), 其中 1 种优势鱼类出现在所有采样点, 为齐氏非鲫。两种方法共有的优势种鱼类有 2 种, 分别为齐氏非鲫和海南似鲃。

## 2.3 鱼类的多样性分析

本研究通过 Alpha 多样性指数来综合分析万泉河鱼类群落的多样性特征。如表 3 所示, 基于 eDNA 技术的鱼类 Richness 指数的均值为 48.6, 变幅为 37~



表 1 基于 eDNA 技术与传统调查方法的鱼类物种对比  
Tab.1 Comparison of fish species based on eDNA technology and traditional method

目 Order	科 Family			属 Genus			种 Species		
	环境 DNA eDNA	传统方法 Traditional method	总计 Total	环境 DNA eDNA	传统方法 Traditional method	总计 Total	环境 DNA eDNA	传统方法 Traditional method	总计 Total
鲈形目 Perciformes	21	8	23	26	17	35	33	17	48
鲤形目 Cypriniformes	4	2	6	31	23	40	34	23	41
鲇形目 Siluriformes	4	3	6	4	3	6	4	3	7
鲱形目 Clupeiformes	1	1	1	1	1	1	1	1	1
鲴形目 Mugiliformes	1	0	1	3	0	3	3	0	3
鲿形目 Cyprinodontiformes	1	0	1	1	0	1	1	0	1
总计 Total	32	14	38	66	44	85	76	44	101

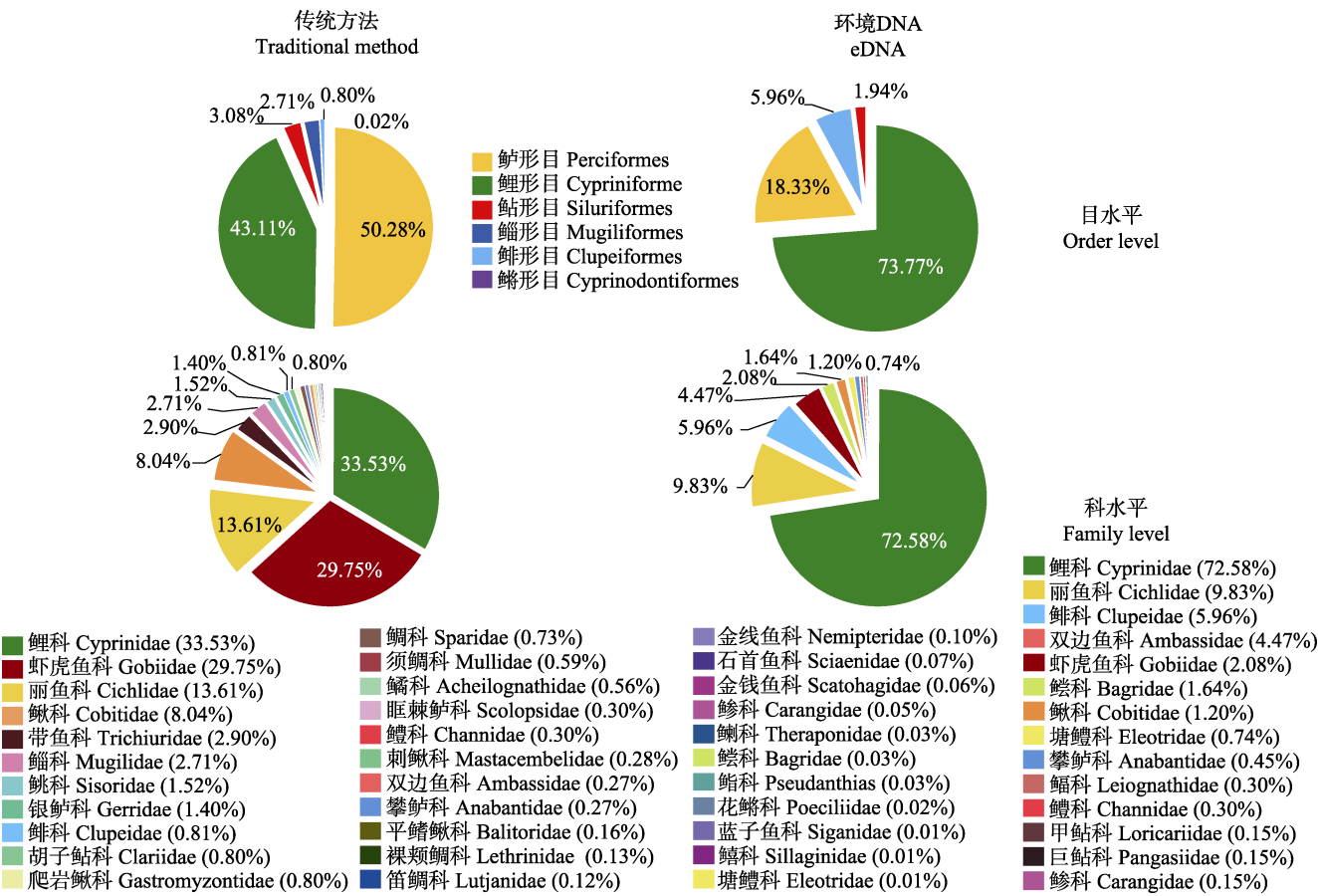


图 3 基于 eDNA 技术与传统调查方法的万泉河鱼类相对丰度  
Fig.3 Relative abundance of fish in the Wanquan River based on eDNA technology and traditional method

60; Shannon 指数的均值为 2.16, 变幅为 1.19~2.32; Simpson 指数的均值为 0.77, 变幅为 0.52~0.92; Pielou 指数的均值为 0.56, 变幅为 0.30~0.70。基于传统调查方法的鱼类 Richness 指数的均值为 15.4, 变幅为 11~28; Shannon 指数的均值为 1.98, 变幅为 1.56~2.76; Simpson 指数的均值为 0.78, 变幅为 0.67~0.91; Pielou 指数的均值为 0.74, 变幅为 0.65~0.83。总体上, 基于 eDNA 技术的鱼类 Richness、Shannon 和 Simpson 指数的均值都高于传统调查方法, 但 Pielou 指数均值要低于传统方法。将两种方法的鱼类多样性指数进行非配对 *t* 检验, 检测是否具有显著性差异。结果显示, eDNA 技术与传统调查方法获得的万泉河流域鱼类的 Shannon 多样性指数和 Simpson 多样性指数均无显著性差异( $P>0.05$ ), 而 Richness 指数和 Pielou 指数有显著性差异( $P<0.05$ ) (图 5), 表明 eDNA 技术检出的鱼类物种丰富度显著高于传统方法, 而均匀度低于传统方法。

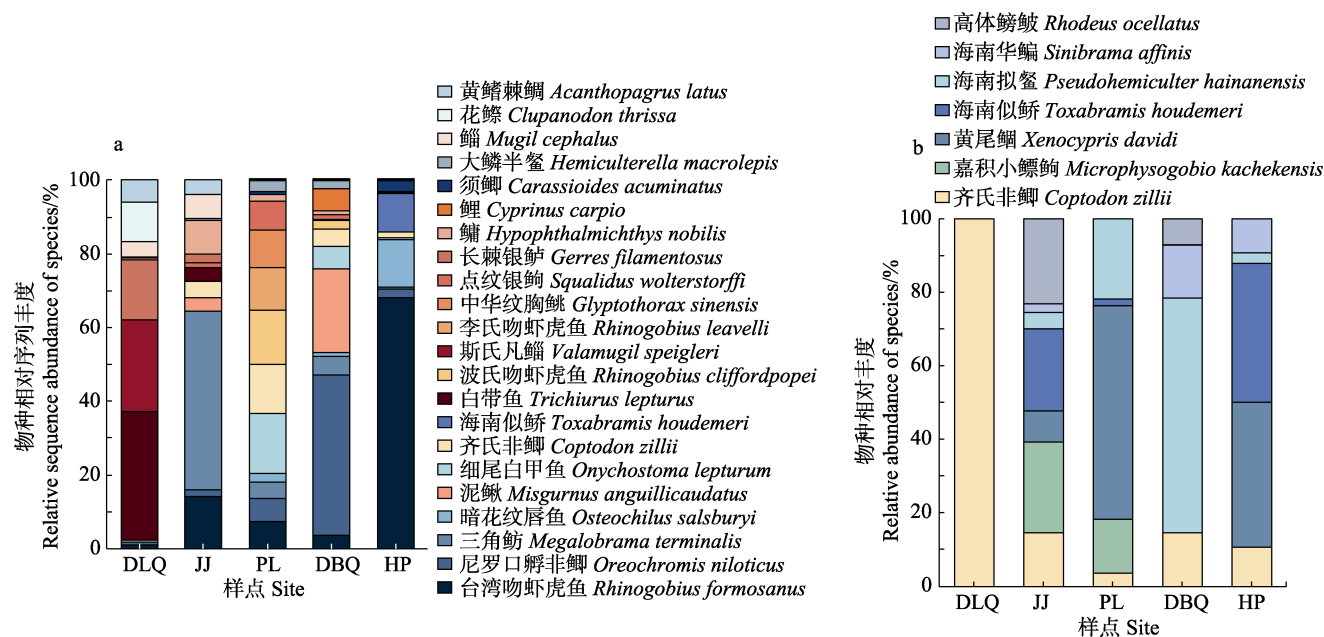


图 4 基于 eDNA 技术(a)和传统调查方法(b)的万泉河优势鱼类物种组成  
Fig.4 Composition of dominant fish species based on eDNA technology (a) and traditional fishing methods (b)

表 3 基于 eDNA 技术和传统调查方法的万泉河鱼类的 α 多样性指数  
Tab.3 Diversity index of fish in the Wanquan River based on eDNA technology and traditional method

采样点 Sites	Richness 丰富度		Shannon 指数		Simpson 指数		Pielou 均匀度指数	
	环境 DNA eDNA	传统方法 Traditional method	环境 DNA eDNA	传统方法 Traditional method	环境 DNA eDNA	传统方法 Traditional method	环境 DNA eDNA	传统方法 Traditional method
DLQ	38	12	2.32	1.61	0.85	0.72	0.64	0.65
JJ	37	28	2.10	2.76	0.77	0.91	0.58	0.83
PL	58	14	2.85	1.99	0.92	0.80	0.70	0.75
DBQ	60	11	2.32	1.56	0.81	0.67	0.57	0.65
HP	50	12	1.19	1.99	0.52	0.81	0.30	0.80
Mean	48.6±9.67	15.4±6.38	2.16±0.54	1.98±0.43	0.77±0.14	0.78±0.08	0.56±0.14	0.74±0.08

基于各采样点的序列丰度，采用 Bray-Curtis 距离矩阵的 PCoA 分析来揭示不同采样点的鱼类组成相似性。PC1 解释成分的 36%，PC2 解释了 29%(图 6)。HP 采样点与 DLQ、JJ、PL、DBQ 采样点的鱼类组成相似度较低，共有的物种较少。

2.4 eDNA 技术与传统调查方法之间的相关性

以 OTU 序列丰度为 X 轴，物种渔获重量为 Y 轴，分析 eDNA 技术和传统调查方法共同检出的鱼类物种序列占比和物种重量占比的相关性。对具有一定线性关系的数据进行优化，去除部分偏离较大的值，最后进行回归分析(图 7)。结果表明，eDNA 技术与传统调查方法在物种序列丰度和渔获质量上具有显著正相关( $P<0.05$ )，可以将 eDNA 在一定程度上作为鱼类生物量的补充工具。

3 讨论

3.1 基于 eDNA 技术和传统调查方法的万泉河鱼类物种组成和多样性比较分析

本研究采用 eDNA 技术对万泉河流域的鱼类多样性进行了初步调查，并结合传统调查方法进行了对比研究，探讨 eDNA 技术在万泉河流域鱼类资源调查的适用性。两种方法在万泉河流域共检测出 101 种鱼类，在目水平上，eDNA 技术和传统调查方法检出的鱼类主要均为鲤形目、鲈形目和鲇形目，这与李高俊等(2020)的研究结果一致；在科水平上，两种方法检出的科主要为鲤科，说明 eDNA 方法与传统方法检测结果具有一致性(沈梅, 2022)。通过比较两种方法检测到的鱼类数据(附表 I 和附表 II)，eDNA 方法检出

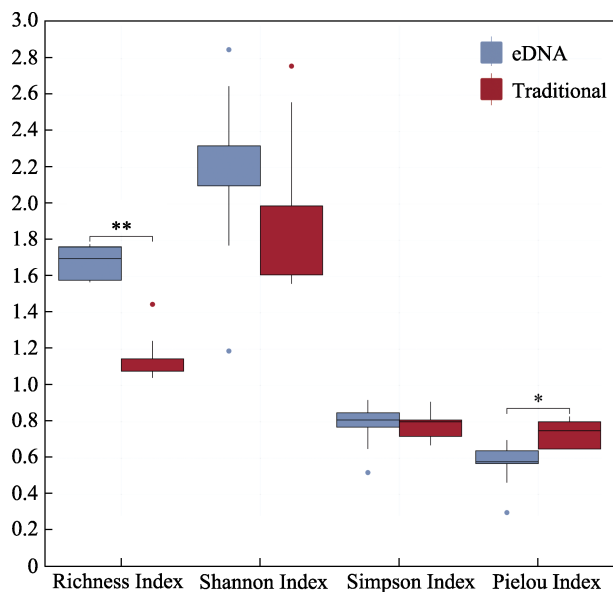


图5 基于 eDNA 技术和传统调查方法的鱼类多样性比较  
Fig.5 Comparison of fish diversity index based on eDNA technology and traditional method

\*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ .

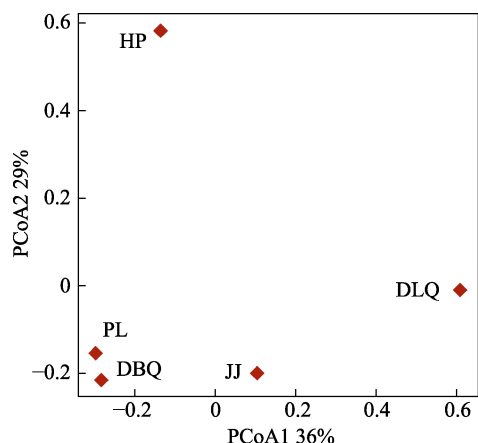


图6 基于 Bray-Curtis 距离矩阵的万泉河鱼类 PCoA  
Fig.6 Principal coordinate analysis (PCoA) of fish in the Wanquan River based on Bray-Curtis distance matrix

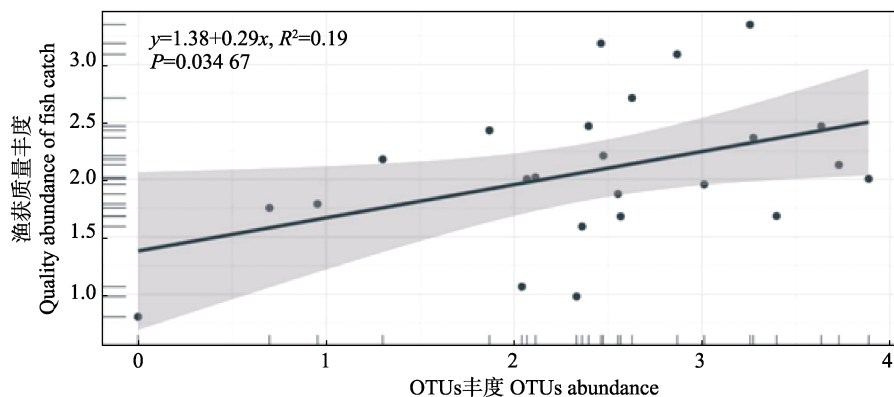


图7 种水平上 eDNA 技术(序列占比)与传统调查方法(质量占比)共同检测结果的相关性  
Fig.7 Correlation between sequence proportion and mass proportion based on eDNA technology and traditional survey method at species level

鱼类物种数高于传统调查方法,表明 eDNA 技术的物种检出效率高于传统调查方法,这与大多数研究结果相似(Afzali *et al*, 2021; Aglieri *et al*, 2021; Zhong *et al*, 2022)。其中,部分鱼类如马口鱼某种(*Opsariichthys* sp.)、片唇鲃某种(*Platysmacheilus* sp.)、南鳅某种(*Schistura* sp.)仅鉴定到属水平,这可能与引物选择和参考数据库等因素有关(舒璐, 2022),需要未来研究人员建立本地参考数据库,提高对本地物种的识别。在本调查中,基于 eDNA 技术检出的 42 种鱼类在《万泉河流域鱼类图鉴》和黄丹等(2024)研究中均有报道,表明 eDNA 方法对于物种的识别具有一定的准确性和可靠性。有 23 种鱼类是以往采用传统调查方法未在该流域记录的,而 eDNA 技术首次检出,表明 eDNA 技术在水生生物的监测中的灵敏度显著高于传统调查方法(Bohmann *et al*, 2014),在一定程度上可以对传统调查方法调查的结果进行补充。本次传统调查方法也同样发现有 5 种鱼类在《万泉河流域鱼类图鉴》及以往的调查研究中未记录,分别为长颌鲮鲃(*Scomberoides lysan*)、雷氏点颊虾虎鱼(*Papillogobius reichei*)、粉红副尼丽鱼(*Paraneetroplus synspilus*)、越南鲮(*Acheilognathus tonkinensis*)、斑纹虾虎鱼(*Valenciennnea longipinnis*)。

通过对比近年来万泉河流域传统调查方式的鱼类数据,本研究使用传统渔具调查方法调查的鱼类物种数相对较低,主要与调查时间、调查方式和采样点数量选择等因素有关。如黄丹等(2024)的调查时间为 5—6 月,在禁渔期末期,经过了禁渔期的休整,鱼类资源相对丰富,适宜于鱼类资源的调查。在后续的 eDNA 研究中也发现禁渔期的鱼类多样性高于非禁渔期。此外,如李高俊等(2020)的调查时间持续数年并且在每年中的 4 个季节都进行了鱼类资源调查。另外,在调查方式上,部分研究人员还采用了雇请渔民

捕捞、走访当地渔民和市场调查等多种方式结合,而本研究只进行了渔具捕获,这也是造成鱼类物种数量有差异的原因之一。此外,采样点设置和采样点数量的不同也可能导致本研究与历史研究结果有差异。而对 eDNA 方法未检测出的鱼类,如海南特有鱼类嘉积小鰾鮡(*Microphysogobio kachekensis*)等,可能由于数据库缺乏以及季节性鱼类活动导致样本采集富集的 DNA 含量少,并且调查时期为非禁渔期,都可能对 eDNA 方法检测鱼类与传统调查方法获得的鱼类有影响。未被传统调查方法检测到的鱼类物种可能由捕捞网目大小等原因造成漏捕,或者部分物种命名不同导致,如广东鲂和三角鲂鉴定为同一种(李高俊等, 2020)。本次传统的渔具调查方法可能受限于捕捞网目的大小、调查时间的长短等因素影响,使得部分鱼类物种,特别是珍稀物种的捕捞概率低,导致遗漏某些难以捕获或丰度较低的物种,而 eDNA 技术可能会更有效地、更灵敏地检测出这些物种(沈梅等, 2022)。

eDNA 方法在所有采样点都有检出的鱼类优势种有 11 种,为台湾吻虾虎鱼、尼罗口孵非鲫、细尾白甲鱼、齐氏非鲫等,而传统方法只检出其中 1 种优势种,为齐氏非鲫。值得注意的是,齐氏非鲫是《重点管理外来入侵物种名录》的鱼类之一(顾党恩等, 2023),由于其生长繁殖快,对溶氧、盐度适应范围广,以及食性杂等特点(郑雄, 2019),可能占据其他鱼类生存空间,从而对万泉河鱼类多样性产生影响,导致鱼类种类下降。通过分析万泉河鱼类的 Alpha 多样性指数发现,除 eDNA 技术监测的物种丰富度显著高于传统方法外( $P<0.05$ ), Shannon 多样性指数和 Simpson 多样性指数均表明两种方法无显著差异。eDNA 方法检测的鱼类均匀度要显著低于传统方法( $P<0.05$ ),可能的原因是 eDNA 技术的 Pielou 指数是基于序列丰度,而传统调查方法是基于鱼类数量,且许多物种是传统调查方法未捕获到的,如何构建序列丰度与鱼类数量之间的联系是未来需要突破的一个难点。基于 eDNA 技术的结果发现, PL 采样点的鱼类多样性指数较高,这可能由于该采样点位于两支流交汇处,水域的复杂性可能使得该处的鱼类群落丰富度较高,从而获得的鱼类分子信息更多。PcoA 分析表明,同其他采样点相比, HP 采样点鱼类组成相似度较低,共有的物种较少。和平镇采样点属于人类活动区,水坝和桥梁修建、捕捞等干扰一定程度上影响鱼类活动,并且采样恰逢枯水期。

对鱼类群落的研究中,定量评估是研究的重点,

有利于鱼类监测和管理的快速推进。因此, eDNA 分析应从定量物种检测发展为物种数量的生物量估计(Li *et al*, 2022)。本研究结果发现, eDNA 方法检测的物种序列丰度与传统调查方法的鱼类物种质量之间具有显著正相关,这和以往的研究结果有相似之处(刘燕山等, 2023)。鱼类序列丰度的高低通常由鱼类脱落到环境中的遗传物质决定,如皮肤、唾液、粪便等,研究发现 eDNA 脱落率随鱼类生物量的增加而增加,进而说明 eDNA 序列丰度与生物量呈正相关(Klymus *et al*, 2015)。同时,有研究还指出物种生物量比个体数量更能预测读取丰度(Evans *et al*, 2016)。可以将 eDNA 在一定程度上作为鱼类生物量的补充工具。

### 3.2 eDNA 技术在生物多样性监测的应用前景

随着生物多样性监测要求的普遍提升以及传统调查方法存在的局限性, eDNA 技术将受到越来越多的关注,特别是对于传统调查方法难以捕获的鱼类,以及濒危物种、外来物种的监测方面(Lacoursière-Roussel, 2019)。eDNA 技术相较于传统调查方法,对环境扰动更小,监测效率更高,更能有效且灵敏地实现物种监测。然而目前 eDNA 技术还处在发展阶段,国内外研究者也在共同努力探索该技术。eDNA 技术还未能实现鱼类物种完整的定量研究,与传统调查方法有所区别,可以说各有优势。虽然 eDNA 技术识别的鱼类物种数要高于传统调查方法,但 eDNA 技术目前尚不能完全代替传统调查方法。因为 eDNA 技术是以传统调查方法为前提, eDNA 所依赖的数据库需要通过传统调查方法确定,且 eDNA 的序列丰度目前不能直接反映物种在环境中的真实数量(郝雅宾等, 2018; 仝亚东等, 2023)。尽管 eDNA 技术有优势,但 eDNA 技术仍面临着样本采集、处理和生物信息学分析过程的挑战,而且环境中 DNA 的质量也会影响 eDNA 分析结果的准确性和可靠性(Bruce *et al*, 2021; Deiner *et al*, 2015)。另外, DNA 在环境中可能受多种因素影响,包括水的流速、环境温度、DNA 在水中的持久性等(Lamb *et al*, 2022; 谷思雨等, 2024)。因此,根据环境样本的类型,必须优化采样策略,且要解释 eDNA 的归宿和迁移过程(Wang *et al*, 2024)。此外, eDNA 技术需以传统调查方法为基础,只有先确定目标物种存在,并且建立了属于该物种的条形码才能让 eDNA 技术得到发展,这也是该方法作为辅助监测的不可缺少的一环。而在 eDNA 方法的标准化上,



为了获得一致可比的结果,必须坚持使用标准化方法进行质量控制和数据分析(Zhong *et al*, 2022)。目前,已经成功研究了利用 eDNA 采样作为传统监测技术的补充方法(Przybyla-Kelly *et al*, 2023; Penalun *et al*, 2021)。在本次调查中,对 eDNA 技术的结果与物种名册进行了比较分析,研究结果证明了 eDNA 技术在识别目标物种方面的有效性。尽管如此,eDNA 结果和万泉河历史鱼种记录仍然有差异,一些物种仍未被检出,这一结果可能归因于相对有限的样本量、采样点的选择,采样季节的选择等。总的来说,具体需要采用什么方法进行环境中生物的监测,还需根据研究目的选择适当的调查方法。

#### 4 结论

本研究采用 eDNA 技术和传统调查方法相结合,对海南万泉河流域的鱼类进行了初步调查,并对两种方法进行了比较。本研究共得到 101 种鱼类,其中,eDNA 方法检出鱼类 76 种,传统调查方法检出鱼类 44 种,共同检出鱼类 19 种。在鱼类区系结构上,物种组成以鲤形目为主,其次为鲈形目和鲇形目。与传统调查方法相比,eDNA 技术检测出更多的鱼类,这拓宽了对该流域生物多样性的了解。本研究将 eDNA 方法与传统调查方法结合对万泉河鱼类做了初步探究,未来可以从采样季节等方面进一步研究,进而更有效地揭示万泉河鱼类多样性及群落结构特征,为万泉河鱼类管理保护提供参考依据,并为其他水生生物研究提供参考。

#### 参 考 文 献

- AFZALI S F, BOURDAGES H, LAPORTE M, *et al*. Comparing environmental metabarcoding and trawling survey of demersal fish communities in the Gulf of St. Lawrence, Canada. *Environmental DNA*, 2021, 3: 22–42
- AGLIERI G, BAILLIE C, MARIAN S, *et al*. Environmental DNA effectively captures functional diversity of coastal fish communities. *Molecular Ecology*, 2021, 30: 3127–3139
- BOHMANN K, EVANS A, GILBERT M T, *et al*. Environmental DNA for wildlife biology and biodiversity monitoring. *Trends in Ecology and Evolution*, 2014, 29(6): 358–367
- BRUCE K, BLACKMAN R, BOURLAT S J, *et al*. A practical guide to DNA-based methods for biodiversity assessment. Pensoft Advanced Books: Sofia, Bulgaria, 2021, Volume 1, p90
- CHENG R, LUO Y, LI Q. *et al*. Application of eDNA metabarcoding for monitoring the fish diversity of the Jiangjin to Fuling section of the upper reaches of the Yangtze River. *Hydrobiologia*, 2023, 850: 4067–4088
- CUI Y Y, LI H J, CHU Z J. Preliminary study on the stream fish community in mountain forest of Hainan Province. *Journal of Jilin Agricultural University*, 2011, 33(6): 677–681 [崔友勇, 李红敬, 储张杰. 海南山地森林溪流鱼类群落的初步研究. *吉林农业大学学报*, 2011, 33(6): 677–681]
- DEINER K, WALSER J C, MÄCHLER E, *et al*. Choice of capture and extraction methods affect detection of freshwater biodiversity from environmental DNA. *Biological Conservation*, 2015, 183: 53–63
- DOI H, INUI R, MATSUOKA S, *et al*. Estimation of biodiversity metrics by environmental DNA metabarcoding compared with visual and capture surveys of river fish communities. *Freshwater Biology*, 2021, 66(7): 1257–1266
- EVANS N T, OLDS B P, RENSHAW M A, *et al*. Quantification of mesocosm fish and amphibian species diversity via environmental DNA metabarcoding. *Molecular Ecology Resources*, 2016, 16(1): 29–41
- FUJII K, DOI H, MATSUOKA S, *et al*. Environmental DNA metabarcoding for fish community analysis in backwater lakes: A comparison of capture methods. *PLoS One*, 2019, 14(1): e0210357
- GU D E, LUO G, HUANG H K, *et al*. The Ministry of Agriculture and Rural Affairs and other six departments issued the List of Alien Invasive Species under Key Management. *China Fisheries*, 2023(1): 8–11 [顾党恩, 罗刚, 黄宏坤, 等. 农业农村部等六部门发布《重点管理外来入侵物种名录》. *中国水产*, 2023(1): 8–11]
- GU S Y, CHEN K, JIN X W, *et al*. Development, application and standardization of environmental DNA monitoring technology for aquatic organisms. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2024, 48(8): 1443–1458 [谷思雨, 陈凯, 金小伟, 等. 水生生物环境 DNA 监测技术的发展、应用与标准化. *水生生物学报*, 2024, 48(8): 1443–1458]
- GUO N N, SHEN M, XIAO N W, *et al*. Distribution characteristics of autumn fish diversity in Chishui River based on environmental DNA metabarcoding technology. *Acta Ecologica Sinica*, 2023, 43(4): 1676–1690 [郭宁宁, 沈梅, 肖能文, 等. 基于环境 DNA 技术的赤水河秋季鱼类多样性分布特征. *生态学报*, 2023, 43(4): 1676–1690]
- HAO Y B, ZHANG A J, LIU J D, *et al*. Application of environmental DNA technology in the study of fish resources. *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. *生物技术通报*, 2018, 34(12): 56–62]
- HUANG D. Investigation and evaluation of aquatic biological resources and water ecological environment in Yazhai section of Wanquan River. Master's Thesis of Hainan University, 2022 [黄丹. 万泉河雅寨段水生生物资源和水域生态环境调查与评价研究. 海南大学硕士研究生学位论文, 2022]

- HUANG D, WANG X, LU M H. Survey of fish resources in Yazhai waters of Wanquan River, Hainan. Agricultural Technology Service, 2024, 41(4): 74–80 [黄丹, 王霞, 陆美环. 海南万泉河雅寨水域鱼类资源调查. 农技服务, 2024, 41(4): 74–80]
- KLYMUS K E, RICHTER C A, CHAPMAN D C, *et al.* Quantification of eDNA shedding rates from invasive bighead carp *Hypophthalmichthys nobilis* and silver carp *Hypophthalmichthys molitrix*. Biological Conservation, 2015, 183: 77–84
- KUANG C Y, LIANG Z C, WEN F, *et al.* Application and prospect of non-capture method in freshwater fish resources investigation. Journal of Hydroecology, 2024, DOI: 10.15928/j.1674-3075.202302160046 [匡晨亿, 梁智策, 文峰, 等. 非捕获式方法在淡水鱼类资源调查中的应用及展望. 水生态学杂志, 2024, DOI: 10.15928/j.1674-3075.202302160046]
- LACOURSIÈRE-ROUSSEL A, DEINER K. Environmental DNA is not the tool by itself. Journal of Fish Biology, 2019, 98: 383–386
- LAMB P D, FONSECA V G, MAXWELL D L, *et al.* Systematic review and meta-analysis: Water type and temperature affect environmental DNA decay. Molecular Ecology. Resources, 2022, 22, 2494–2505
- LI G J, GU D E, CAI X W, *et al.* The species composition and distribution of indigenous freshwater fishes of three main rivers in Hainan Island. Freshwater Fisheries, 2020, 50(6): 15–22 [李高俊, 顾党恩, 蔡杏伟, 等. 海南岛“两江一河”淡水土著鱼类的种类组成与分布现状. 淡水渔业, 2020, 50(6): 15–22]
- LI H, YANG F, ZHANG R, *et al.* Environmental DNA metabarcoding of fish communities in a small hydropower dam reservoir: A comparison between the eDNA approach and established fishing methods. Journal of Freshwater Ecology, 2022, 37(1): 341–362
- LI L B, WANG X T, LIN Y W, *et al.* Water ecological health assessment of Wanquan River Basin, Hainan Province. Beijing: China Water and Power Press, 2009, 188 [李龙兵, 王旭涛, 林尤文, 等. 海南省万泉河流域水生态健康评估. 北京: 中国水利水电出版社, 2009, 188]
- LI Z. Study on strengthening ecological environment in Wanquan River Basin. The New Orient, 2018(2): 53–56 [李钊. 加强万泉河流域生态环境问题研究. 新东方, 2018(2): 53–56]
- LIU Y S, SUN J Y, ZHU M S, *et al.* Survey of fish diversity in Taihu Lake based on eDNA technology. Asian Journal of Ecotoxicology, 2023, 18(6): 16–26 [刘燕山, 孙晶莹, 朱明胜, 等. 基于 eDNA 技术的太湖鱼类多样性调查. 生态毒理学报, 2023, 18(6): 16–26]
- PENALUN B E, ALLEN J M, ARISMENDI I, *et al.* Walter Better boundaries: Identifying the upper extent of fish distributions in forested streams using eDNA and electrofishing. Ecosphere, 2021, 12: e03332
- PIELOU E C. Species-diversity and pattern-diversity in the study of ecological succession. Journal of Theoretical Biology, 1966, 10(2): 370–383
- PRZYBYLA-KELLY K J, SPOLJARIC A M, NEVERS M B. Round goby detection in lakes Huron and Michigan—An evaluation of eDNA and fish catches. Fishes, 2023, 8(1): 41
- RODRÍGUEZ-EZPELETA N, ZINGER L, KINZIGER A, *et al.* Biodiversity monitoring using environmental DNA. Molecular Ecology Resources, 2021, 21: 1405–1409
- SHANNON C E. A mathematical theory of communication. The Bell System Technical Journal, 1948, 27(3): 379–423
- SHEN M. Explore the distribution of fish of major rivers in Beijing with DNA metabarcoding. Master's Thesis of Chinese Research Academy of Environmental Sciences, 2022 [沈梅. eDNA 宏条形码技术探究北京市主要河流鱼类分布特点. 中国环境科学研究院硕士研究生学位论文, 2022]
- SHEN Z X, LI G J, CAI X W, *et al.* The evolution and protection of freshwater fish species in Hainan Province. China Fisheries, 2018(11): 56–60 [申志新, 李高俊, 蔡杏伟, 等. 海南省淡水野生鱼类多样性演变及保护建议. 中国水产, 2018(11): 56–60]
- SHEN Z X. Fish map in Wanquan River Basin. Beijing: China Agriculture Press, 2023 [申志新. 万泉河流域鱼类图鉴. 北京: 中国农业出版社, 2023]
- SHU L. Assessment of fish diversity based on environmental DNA technology: Embryonic development dynamics, primers evaluation, and fish diversity monitoring in Erhai Lake. Doctoral Dissertation of Southwest University, 2022 [舒璐. 基于环境 DNA 技术的鱼类多样性评估: 胚胎发育动力学、引物评价及洱海鱼类多样性监测. 西南大学博士研究生学位论文, 2022]
- SHU L, LIN J Y, XU Y, *et al.* Investigating the fish diversity in Erhai Lake based on environmental DNA metabarcoding. Acta Hydrobiologica Sinica, 2020, 44(5): 1080–1086 [舒璐, 林佳艳, 徐源, 等. 基于环境 DNA 宏条形码的洱海鱼类多样性研究. 水生生物学报, 2020, 44(5): 1080–1086]
- SIMPSON E H. Measurement of diversity. Nature, 1949, 163(4148): 688–688
- SUN J Y, YANG J H, ZHANG X W. Identification and biomass monitoring of zooplankton Cladocera species with eDNA metabarcoding technology. Asian Journal of Ecotoxicology, 2018, 13(5): 76–86 [孙晶莹, 杨江华, 张效伟. 环境 DNA(eDNA)宏条形码技术对枝角类浮游动物物种鉴定及其生物量监测研究. 生态毒理学报, 2018, 13(5): 76–86]
- TABERLET P, BONIN A, ZINGER L, *et al.* Environmental DNA: For biodiversity research and monitoring. New York: Oxford University Press, 2018

- TONG Y D, KUANG Z, LIU P F, *et al.* Fish diversity in the Dongping Lake based on environmental DNA techniques. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2023, 30(12): 1530–1542 [仝亚东, 匡箴, 刘鹏飞, 等. 基于环境 DNA 技术的东平湖鱼类多样性研究. *中国水产科学*, 2023, 30(12): 1530–1542]
- WANG B, JIAO L, NI L, *et al.* Bridging the gap: The integration of eDNA techniques and traditional sampling in fish diversity analysis. *Frontiers in Marine Science*, 2024, 11: 1289589
- XIE R, ZHAO G, YANG J, *et al.* eDNA metabarcoding revealed differential structures of aquatic communities in a dynamic freshwater ecosystem shaped by habitat heterogeneity. *Environmental Research*, 2021, 201: 111602
- YANG H L, ZHANG H, DU H. A framework for standardizing the processes of eDNA monitoring and an accessible vision of future. *Journal of Lake Sciences*, 2023, 35(1): 12–31 [杨海乐, 张辉, 杜浩. eDNA 监测方法标准化框架及未来图景. *湖泊科学*, 2023, 35(1): 12–31]
- ZHANG L, LIN Y W, WANG X T. Investigation and analysis of Wanquan River water ecology. *Proceedings of the 5th China Water Ecology Conference*, 2017, 9 [张鹭, 林尤文, 王旭涛. 万泉河水生态调查分析. 2017(第五届)中国水生态大会论文集, 2017, 9]
- ZHENG X. Research on DNA molecular identification for heterozygosity of tilapia populations from six major rivers in South Guangxi. Master's Thesis of Guilin university of technology, 2019. [郑雄. 广西南部六条主要河流罗非鱼种群及杂合性的 DNA 分子鉴定. 桂林理工大学硕士研究生学位论文, 2019]
- ZHONG W, ZHANG J, WANG Z, *et al.* Holistic impact evaluation of human activities on the coastal fish biodiversity in the Chinese coastal environment. *Environmental Science Technology*, 2022, 56: 6574–6583

(编辑 冯小花)

## Comparative Study of Fish Diversity in Wanquan River Based on Environmental Technology and Traditional Fishing Gear Survey Methods

LEI Jun<sup>1,5</sup>, SU Yuanyuan<sup>1</sup>, YIN Lianzheng<sup>1</sup>, ZENG Ruohan<sup>1</sup>, LI Ping<sup>1,5</sup>,  
QIN Yongqiang<sup>2</sup>, CAI Xingwei<sup>3</sup>, DIAO Xiaoping<sup>4①</sup>

(1. College of Ecology, Hainan University, Haikou 570228, China; 2. College of Ecology and Environment, Hainan Normal University, Haikou 570228, China; 3. Institute of Freshwater Fisheries, Hainan Academy of Oceanography and Fisheries, Haikou 571924, China; 4. State Key Laboratory of South China Sea Marine Resources Utilization, Hainan University, Haikou 570228, China; 5. Hainan Key Laboratory of Tropical Forestry Resources Monitoring and Application, Haikou 570228, China)

**Abstract** Fish play an important role in maintaining aquatic ecosystems and directly affect the health and stability of aquatic ecosystems. The rapid economic development of the Wanquan River basin has seriously affected the ecological function of fish in the basin owing to human activities such as dam dredging and highways. Therefore, long-term surveys and monitoring of fish diversity are urgently required to determine the current status of fish resources in the basin and formulate corresponding conservation measures. Traditional fish surveys primarily use gear fishing methods, such as gillnets, purse seines, and ground cage nets. However, traditional fishing gear survey methods have limitations, particularly because different gears are selective for fish species and individual sizes. Catching fish species that are small in number and elusive is challenging, making it difficult to accurately and comprehensively monitor the fish diversity in the survey area. In addition, the restriction of the fishing moratorium further increases the difficulty of traditional operational surveys. Therefore, a rapid and effective monitoring method is urgently needed to study the fish resources of the Wanquan River. Environmental DNA (eDNA) technology involves analyzing biological communities by enriching DNA retained in the environment and using high-throughput sequencing technology. This method offers several

① Corresponding author: DIAO Xiaoping, Email: diaoxip@hainanu.edu.cn

advantages, including minimal environmental disturbance, time and effort efficiency, and allowing rapid monitoring of fish diversity and spatial distribution. eDNA technology has been widely used in biodiversity monitoring, population distribution, biomass assessment, and feeding analysis. To investigate the fish diversity and community structure in the Wanquan River Basin, this study used eDNA technology in combination with the traditional fishing gear survey method for comparative analysis and explored the advantages of the two methods in fish monitoring. The results showed that 76 species of fish in six orders, 32 families, and 65 genera were detected by eDNA technology, whereas 44 species in four orders, 14 families, and 44 genera were detected by the traditional fishing gear survey method. Overall, the eDNA method detected more fish species than the traditional survey method at all sampling sites. The dominant fish species detected by both methods were Carpiiformes, followed by Perchiformes and Siluriformes. In terms of the composition of dominant species, 22 dominant species of fishes in Wanquan River were detected by eDNA technology, seven dominant species were detected by the traditional survey method and two dominant species were detected by the two methods, which were *Coptodon zillii* and *Toxabramis houdemeri*. Alpha-diversity analyses indicated that the fish species richness detected by the eDNA method was significantly higher than that of the traditional method, whereas the evenness was higher than that of the traditional method. The principal coordinate analysis (PCoA) results revealed that the fish composition at the HP sampling site was less similar to that of the DLQ, JJ, PL, and DBQ sampling sites, with fewer common species. Spearman's correlation analysis showed that eDNA technology and traditional survey methods had a significant positive correlation ( $P < 0.05$ ) between species sequence abundance and fish quality. This preliminary exploration of the fish diversity of Wanquan River using both the eDNA and traditional survey methods establishes a particular foundation for the application of eDNA in monitoring the fish diversity of Wanquan River and also serves as a reference for the protection of the fish management of Wanquan River.

**Key words** Environmental DNA; Wanquan River; Fish diversity

## 附录

附表 I 基于环境 DNA 技术的万泉河鱼类物种

Appendix Tab. I List of fish species in Wanquan River based on environmental DNA technology

目 Order	科 Family	属 Genus	种 Species	检出频数 Frequency
鲮形目 Mugiliformes	鲮科 Mugilidae	凡鲮属 <i>Valamugil</i>	斯氏凡鲮 <i>V. speigleri</i> (Bleeker, 1858)*	5
		鲮属 <i>Planiliza</i>	大鳞鲮 <i>P. macrolepis</i> (Smith, 1846)	4
		鲮属 <i>Mugil</i>	鲮 <i>M. cephalus</i> (Linnaeus, 1758)*	5
鲇形目 Siluriformes	鮡科 Sisoridae	纹胸鮡属 <i>Glyptothorax</i>	中华纹胸鮡 <i>G. sinensis</i> (Regan, 1908)*	3
	鲿科 Bagridae	疯鲿属 <i>Tachysurus</i>	黄颡鱼 <i>T. fulvidraco</i> (Richardson, 1846)	4
	鲴科 Sparidae	棘鲴属 <i>Acanthopagrus</i>	黄鳍棘鲴 <i>A. latus</i> (Houttuyn, 1782)*	5
	胡子鲇科 Clariidae	胡子鲇属 <i>Clarias</i>	胡子鲇 <i>C. fuscus</i> (Lacépède, 1803)	1



续附表 I

目 Order	科 Family	属 Genus	种 Species	检出频数 Frequency
鲈形目 Perciformes	双边鱼科 Ambassidae	双边鱼属 <i>Ambassis</i>	布鲁双边鱼 <i>A. buruensis</i> (Bleeker, 1856)	4
			眶棘双边鱼 <i>A. gymnocephalus</i> (Lacépède, 1802) <sup>▲</sup>	3
	攀鲈科 Anabantidae	攀鲈属 <i>Anabas</i>	攀鲈 <i>A. testudineus</i> (Bloch, 1792) <sup>▲</sup>	2
	鲙科 Carangidae	副叶鲙属 <i>Alepes</i>	吉打鲙 <i>A. djedaba</i> (Forsskål, 1775)	3
	鳢科 Channidae	鳢属 <i>Channa</i>	南鳢 <i>C. gachua</i> (Hamilton, 1822) <sup>▲</sup>	2
			月鳢 <i>C. asiatica</i> (Linnaeus, 1758)	1
			乌鳢 <i>C. argus</i> (Cantor, 1842) <sup>●</sup>	1
	丽鱼科 Cichlidae	口孵非鲫属 <i>Oreochromis</i>	尼罗口孵非鲫 <i>O. niloticus</i> (Linnaeus, 1758) <sup>●**</sup>	5
		非鲫属 <i>Coptodon</i>	齐氏非鲫 <i>C. zillii</i> (Gervais, 1848) <sup>●**</sup>	5
		副丽鱼属 <i>Parachromis</i>	花身副丽鱼 <i>P. managuensis</i> (Günther, 1867) <sup>●▲</sup>	2
		英丽鱼属 <i>Heros</i>	英丽鱼 <i>H. severus</i> (Heckel, 1840)	2
	塘鳢科 Eleotridae	尖塘鳢属 <i>Oxyeleotris</i>	云斑尖塘鳢 <i>O. marmorata</i> (Bleeker, 1852) <sup>●▲</sup>	2
	银鲈科 Gerridae	银鲈属 <i>Gerres</i>	长棘银鲈 <i>G. filamentosus</i> (Cuvier, 1892) <sup>*□</sup>	5
	虾虎鱼科 Gobiidae	吻虾虎鱼属 <i>Rhinogobius</i>	李氏吻虾虎鱼 <i>R. leavelli</i> (Herre, 1935) <sup>*</sup>	2
			波氏吻虾虎鱼 <i>R. cliffordpopei</i> (Nichols, 1925) <sup>*</sup>	5
			溪吻虾虎鱼 <i>R. duospilus</i> (Herre, 1935)	3
			台湾吻虾虎鱼 <i>R. formosanus</i> (Herre, 1935) <sup>*</sup>	5
		寡鳞虾虎鱼属 <i>Oligolepis</i>	尖鳍寡鳞虾虎鱼 <i>O. acutipennis</i> (Cuvier et Valenciennes, 1837)	5
		舌虾虎鱼属 <i>Glossogobius</i>	金黄舌虾虎鱼 <i>G. aureus</i> (Akihito et Meguro, 1975) <sup>▲</sup>	1
	裸颊鲷科 Lethrinidae	裸颊鲷属 <i>Lethrinus</i>	星斑裸颊鲷 <i>L. nebulosus</i> (Forsskål, 1775)	2
	笛鲷科 Lutjanidae	笛鲷属 <i>Lutjanus</i>	紫红笛鲷 <i>L. argentimaculatus</i> (Forsskål, 1775)	3
	刺鲀科 Mastacembelidae	刺鲀属 <i>Mastacembelus</i>	大刺鲀 <i>M. armatus</i> (Lacépède, 1800)	3
	须鲷科 Mullidae	副绯鲤属 <i>Parupeneus</i>	条斑副绯鲤 <i>P. barberinus</i> (Lacépède, 1800)	2
	金线鱼科 Nemipteridae	眶棘鲈属 <i>Scolopsis</i>	双线眶棘鲈 <i>S. bilineata</i> (Bloch, 1793)	1
	鲷科 Pseudanthias	九棘鲈属 <i>Cephalopholis</i>	斑点九棘鲈 <i>C. argus</i> (Schneider, 1801)	1
	金钱鱼科 Scatophagidae	金钱鱼属 <i>Scatophagus</i>	金钱鱼 <i>S. argus</i> (Linnaeus, 1766)	3
	石首鱼科 Sciaenidae	彭纳石首鱼属 <i>Pennahia</i>	斑鳍白姑鱼 <i>P. pawak</i> (Lin, 1940)	1
	眶棘鲈科 Scolopsidae	眶棘鲈属 <i>Scolopsis</i>	伏氏眶棘鲈 <i>S. vosmeri</i> (Bloch, 1792)	1
	蓝子鱼科 Siganidae	蓝子鱼属 <i>Siganus</i>	褐蓝子鱼 <i>S. fuscescens</i> (Houttuyn, 1782)	2
			点斑篮子鱼 <i>S. guttatus</i> (Bloch, 1787)	4
	鳉科 Sillaginidae	鳉属 <i>Sillago</i>	多鳞鳉 <i>S. sihama</i> (Forsskål, 1775)	4
	鲷科 Theraponidae	鲷属 <i>Terapon</i>	花身鲷 <i>T. jarbua</i> (Forsskål, 1775)	3
	带鱼科 Trichiuridae	带鱼属 <i>Trichiurus</i>	白带鱼 <i>T. lepturus</i> (Linnaeus, 1758) <sup>*</sup>	3
鲤形目 Cypriniformes	爬岩鲉科	爬岩鲉属 <i>Beaufortia</i>	爬岩鲉 <i>B. leveretti</i> (Nichols & Pope, 1927)	3
	Gastromyzontidae			
	鲤科 Cyprinidae	鱮属 <i>Zacco</i>	平颌鱮 <i>Z. platypus</i> (Temminck et Schlegel, 1846)	5
		似鲃属 <i>Toxabramis</i>	海南似鲃 <i>T. houdemeri</i> (Pellegrin, 1932) <sup>*▲</sup>	3
			似鲃 <i>T. swinhonis</i> (Günther, 1873)	2
		赤眼鲮属 <i>Squaliobarbus</i>	赤眼鲮 <i>S. curriculus</i> (Richardson, 1846)	1
		银鲃属 <i>Squalidus</i>	点纹银鲃 <i>S. wolterstorffi</i> (Regan, 1908) <sup>*▲</sup>	3
		倒刺鲃属 <i>Spinibarbus</i>	锯齿倒刺鲃 <i>S. denticulatus</i> (Oshima, 1926)	3
			光倒刺鲃 <i>S. caldwelli</i> (Bleeker, 1871)	2
		华鳊属 <i>Sinibrama</i>	四川华鳊 <i>S. taeniatus</i> (Nichols, 1941)	5
		鳊属 <i>Rhodeus</i>	高体鳊 <i>R. ocellatus</i> (Kner, 1866) <sup>▲</sup>	5

续附表 I

目 Order	科 Family	属 Genus	种 Species	检出频数 Frequency
鲤形目 Cypriniformes	鲤科 Cyprinidae	波鱼属 <i>Rasbora</i>	南方波鱼 <i>R. steineri</i> (Nichols et Pope, 1927) <sup>▲</sup>	3
		无须鲃属 <i>Puntius</i>	沙氏无须鲃 <i>P. sachsii</i> (F. Hamilton, 1822)	3
		片唇鲃属 <i>Platysmacheilus</i>	<i>Platysmacheilus</i> sp.	3
		纹唇鱼属 <i>Osteochilus</i>	暗花纹唇鱼 <i>O. salsburyi</i> (Nichols & Pope, 1927) <sup>★▲</sup>	4
		马口鱼属 <i>Opsariichthys</i>	<i>Opsariichthys</i> sp.	5
			南方马口鱼 <i>O. uncirostris</i> (Gunther, 1873)	3
		白甲鱼属 <i>Onychostoma</i>	细尾白甲鱼 <i>O. lepturum</i> (Boulenger, 1899) <sup>★▲</sup>	5
		鲃属 <i>Megalobrama</i>	三角鲃 <i>M. terminalis</i> (Richardson, 1846) <sup>*</sup>	4
		鲢属 <i>Hypophthalmichthys</i>	鲢 <i>H. nobilis</i> (Richardson, 1845) <sup>*</sup>	5
		无须鲃属 <i>Puntius</i>	鲢 <i>H. molitrix</i> (Valenciennes, 1844) <sup>●</sup>	3
		半鳍鲃属 <i>Hemiculterella</i>	大鳞半鲃 <i>H. macrolepis</i> (Y. R. Chen, 1989) <sup>*</sup>	4
		鲮属 <i>Hemiculter</i>	鲮 <i>H. leucisculus</i> (Basilewsky, 1855) <sup>▲</sup>	3
		墨头鱼属 <i>Garra</i>	东方墨头鱼 <i>G. orientalis</i> (Nichols, 1925) <sup>▲</sup>	2
		鲤属 <i>Cyprinus</i>	鲤 <i>C. carpio</i> (Linnaeus, 1758) <sup>*</sup>	5
		草鱼属 <i>Ctenopharyngodon</i>	草鱼 <i>C. idella</i> (Cuvier et Valenciennes, 1844) <sup>●</sup>	3
		鲮属 <i>Cirrhinus molitorella</i>	鲮 <i>C. molitorella</i> (Valeciennes, 1844) <sup>▲</sup>	4
		鲫属 <i>Carassius</i>	鲫 <i>C. auratus</i> (Linnaeus, 1758) <sup>▲</sup>	5
		须鲫属 <i>Carassioides</i>	须鲫 <i>C. acuminatus</i> (Heincke, 1892) <sup>*</sup>	4
		细鲫属 <i>Aphyocypris</i>	拟细鲫 <i>A. normalis</i> (Nichols & Pope, 1927)	3
		光唇鱼属 <i>Acrossocheilus</i>	长鳍光唇鱼 <i>A. longipinnis</i> (Wu, 1939)	2
		鲮属 <i>Acheilognathus</i>	大鳍鲮 <i>A. macropterus</i> (Bleeker)	5
			巨口鲮 <i>A. tabira</i> (Jordan & Thompson, 1914)	1
			寡鳞鲮 <i>Acheilognathus hypselonotus</i> (Bleeker, 1871)	2
		棒花鱼属 <i>Abbottina</i>	钝吻棒花鱼 <i>A. obtusirostris</i> (Wu et Wang, 1931)	5
	鳅科 Cobitidae	南鳅属 <i>Schistura</i>	<i>Schistura</i> sp.	4
		泥鳅属 <i>Misgurnus</i>	泥鳅 <i>M. anguillicaudatus</i> (Cantor, 1842) <sup>*</sup>	4
		平鳍鳅科 Balitoridae	拟平鳅属	2
			琼中拟平鳅 <i>L. disparis qiongzhongensis</i> (Zheng et Chen, 1980) <sup>□</sup>	
			<i>Liniparhomaloptera</i>	
鲮形目 Cyprinodontiformes	花鲮科 Poeciliidae	食蚊鱼属 <i>Gambusia</i>	食蚊鱼 <i>G. affinis</i> (Baird & Girard, 1853) <sup>●</sup>	5
鲮形目 Clupeiformes	鲮科 Clupeidae	鲮属 <i>Clupanodon</i>	花鲮 <i>C. thrissa</i> (Linnaeus, 1758) <sup>★▲</sup>	4

附表 II 基于渔具捕获的万泉河鱼类物种

Appendix Tab. II List of fish species in Wanquan River based on fishing gear

目 Order	科 Family	属 Genus	种 Species	检出频数 Frequency
鲮形目 Siluriformes	巨鲮科 Pangasiidae	无齿鲮属 <i>Pangasianodon</i>	低眼巨无齿鲮 <i>P. hypophthalmus</i> (Sauvage, 1878) <sup>●</sup>	1
	甲鲮科 Loricariidae	翼甲鲮属 <i>Pterygoplichthys</i>	豹纹翼甲鲮 <i>P. pardalis</i> (Castelnau, 1855) <sup>●</sup>	1
	鲮科 Bagridae	疯鲮属 <i>Tachysurus</i>	纵纹疯鲮 <i>T. virgatus</i> (Oshima, 1926)	1
鲮形目 Perciformes	虾虎鱼科 Gobiidae	点颊虾虎鱼属 <i>Papillogobius</i>	雷氏点颊虾虎鱼 <i>P. reichei</i> (Bleeker, 1853)	1
		舌虾虎鱼属 <i>Glossogobius</i>	金黄舌虾虎鱼 <i>G. aureus</i> (Akihito et Meguro, 1975) <sup>▲</sup>	2
		吻虾虎鱼属 <i>Rhinogobius</i>	子陵吻虾虎鱼 <i>R. giurinus</i> (Rutter, 1897)	1
		凡塘鳢属 <i>Valenciennae</i>	斑纹虾虎鱼 <i>V. longipinnis</i> (Lay et E. T. Bennett, 1839)	1

续附表 II

目	科	属	种	检出频数	
Order	Family	Genus	Species	Frequency	
鲈形目 Perciformes	塘鳢科 Eleotridae	尖塘鳢属 <i>Oxyeleotris</i>	云斑尖塘鳢 <i>O. marmorata</i> (Bleeker, 1852) <sup>▲●</sup>	3	
		塘鳢属 <i>Eleotris</i>	黑体塘鳢 <i>E. melanosome</i> (Bleeker, 1853)	1	
	双边鱼科	双边鱼属 <i>Ambassis</i>	眶棘双边鱼 <i>A. gymnocephalus</i> (Lacepède, 1802) <sup>▲</sup>	1	
	Ambassidae				
	鲙科 Carangidae	鲙属 <i>Scomberoides</i>	长颌鲙 <i>S. lysan</i> (Forsskål, 1775)	1	
	攀鲈科 Anabantidae	攀鲈属 <i>Anabas</i>	攀鲈 <i>A. testudineus</i> (Bloch, 1792) <sup>▲</sup>	1	
	丽鱼科 Cichlidae	非鲫属 <i>Coptodon</i>	齐氏非鲫 <i>C. zillii</i> (Gervais, 1848) <sup>▲●●</sup>	5	
		口孵非鲫属 <i>Oreochromis</i>	尼罗口孵非鲫 <i>O. niloticus</i> (Linnaeus, 1758) <sup>▲●</sup>	3	
		副丽鱼属 <i>Parachromis</i>	花身副丽鱼 <i>P. managuensis</i> (Günther, 1867) <sup>▲●</sup>	2	
		副尼丽鱼属	粉红副尼丽鱼 <i>P. synspilus</i> (Hubbs, 1935) <sup>●</sup>	1	
		<i>Paraneetroplus</i>			
		奇非鲫属 <i>Heterotilapia</i>	布氏奇非鲫 <i>H. buttikoferi</i> (Hubrecht, 1881) <sup>●</sup>	1	
		双冠丽鱼属 <i>Amphilophus</i>	鸚鵡鱼 <i>Amphilophus</i> (无拉丁名) <sup>●</sup>	2	
		鳢科 Channidae	鳢属 <i>Channa</i>	南鳢 <i>C. gachua</i> (Hamilton, 1822) <sup>▲●</sup>	1
		鲮科 Leiognathidae	鲮属 <i>Leiognathus</i>	短棘鲮 <i>L. equulus</i> (Forsskål, 1775)	1
	鲤形目 Cypriniforme	鲤科 Cyprinidae	白甲鱼属 <i>Onychostoma</i>	细尾白甲鱼 <i>O. lepturum</i> (Boulenger, 1900) <sup>▲</sup>	3
			波鱼属 <i>Rasbora</i>	南方波鱼 <i>R. steineri</i> (Nichols et Pope, 1927) <sup>▲</sup>	1
		鲮属 <i>Xenocypris</i>	黄尾鲮 <i>X. davidi</i> (Bleeker, 1871) <sup>*</sup>	3	
		似鲮属 <i>Toxabramis</i>	海南似鲮 <i>T. houdemeri</i> (Pellegrin, 1932) <sup>▲*</sup>	3	
		拟鲮属 <i>Pseudohemiculter</i>	海南拟鲮 <i>P. hainanensis</i> (Boulenger, 1900) <sup>●*</sup>	3	
		马口鱼属 <i>Opsariichthys</i>	海南马口鱼 <i>O. hainanensis</i> (Nichols & Popeye, 1927)	3	
		华鳊属 <i>Sinibrama</i>	海南华鳊 <i>S. affinis</i> (Vaillant, 1892) <sup>*</sup>	4	
		墨头鱼属 <i>Garra</i>	东方墨头鱼 <i>G. orientalis</i> (Nichols, 1925) <sup>▲</sup>	1	
		纹唇鱼属 <i>Osteochilus</i>	暗花纹唇鱼 <i>O salsburyi</i> (Nichols & Pope, 1927) <sup>▲</sup>	2	
		鲫属 <i>Carassius</i>	鲫 <i>C. auratus</i> (Linnaeus, 1758) <sup>▲</sup>	1	
		倒刺鲃属 <i>Spinibarbus</i>	光倒刺鲃 <i>S. hollandi</i> (Oshima, 1919) <sup>●</sup>	1	
		鲮属 <i>Rhodeus</i>	高体鲮 <i>R. ocellatus</i> (Kner, 1866) <sup>▲●●</sup>	2	
		道森鲃属 <i>Dawkinsia</i>	黑点道森鲃 <i>D. filamentosa</i> (Valenciennes, 1844)	2	
		花鳅属 <i>Cobitis</i>	中华花鳅 <i>C. sinensis</i>	1	
			(Sauvage & Dabry de Thiersant, 1874)		
		鲮属 <i>Acheilognathus</i>	越南鲮 <i>A. tonkinensis</i> (Vaillant, 1892)	1	
		鲮属 <i>Cirrhinus</i>	鲮 <i>C. molitorella</i> (Valeciennes, 1844) <sup>▲</sup>	2	
		鲮属 <i>Hemibarbus</i>	间鲮 <i>H. medius</i> (Yue, 1995) <sup>●</sup>	1	
		小鰾属 <i>Microphysogobio</i>	嘉积小鰾 <i>M. kachekensis</i> (Oshima, 1926) <sup>□*</sup>	2	
		鲮属 <i>Culter</i>	海南鲮 <i>C. recurviceps</i> (Richardson, 1846)	2	
		鲮属 <i>Megalobrama</i>	广东鲮 <i>M. hoffmanni</i> Herre et Mvers	2	
		银鲮属 <i>Squalidus</i>	点纹银鲮 <i>S. wolterstorffi</i> (Regan, 1908) <sup>▲</sup>	2	
		鲮属 <i>Hemiculter</i>	鲮 <i>H. leucisculus</i> (Basilewsky, 1855) <sup>▲●</sup>	2	
		鳅科 Cobitidae	副泥鳅属 <i>Paramisgurnus</i>	大鳞副泥鳅 <i>P. dabryanus</i> (Dabry de Thiersant, 1872)	1
鲱形目 Clupeiformes		鲱科 Clupeidae	鲱属 <i>Clupanodon</i>	花鲱 <i>C. thrissa</i> (Linnaeus, 1758) <sup>▲</sup>	1

注: ▲表示两种方法共同检测的属种; ●表示外来鱼类; □表示海南特有鱼类; \*表示优势种鱼类。

Note: ▲: Fish species detected by both methods; ●: Exotic fish; □: Endemic fish to Hainan; \*: Dominant species of fish.