



## 基于环境 DNA 技术的南极欺骗岛海域鱼类物种多样性

俞晔伟<sup>1</sup>, 刘洋<sup>1,2,3,4,5</sup>, 朱国平<sup>1,2,3,4</sup>, 王丛丛<sup>1,2,3,4,5\*</sup>

(1. 上海海洋大学海洋科学学院, 上海 201306;

2. 上海海洋大学, 大洋渔业资源可持续开发教育部重点实验室, 上海 201306;

3. 上海海洋大学, 国家远洋渔业工程技术研究中心, 上海 201306;

4. 上海海洋大学, 农业农村部大洋渔业开发重点实验室, 上海 201306;

5. 上海海洋大学, 农业农村部大洋渔业资源环境科学观测实验站, 上海 201306)

**摘要:** 欺骗岛是位于南极南设得兰群岛西南方向的火山岛, 该岛附近海域受岛上活火山的影响显著, 生物资源丰富。为探究该海域内鱼类物种组成, 本实验通过对欺骗岛海域环境 DNA (eDNA) 样本采集、高通量测序开展鱼类物种多样性研究。结果显示, 从欺骗岛海域 5 个采样站点的环境样本中共检测出南极鱼类 1 目 6 科 23 属 31 种, 调查得到的大部分鱼类物种均在以往南极传统渔业资源调查中出现。eDNA 序列相对丰度最高的鱼类物种为裘氏鳄头冰鱼和花纹南极鱼, 分别占鱼类总丰度的 53.52% 和 28.27%。近岸站点和远岸站点间的  $\alpha$  和  $\beta$  多样性的各项指数差异较大, 但远岸站点间鱼类物种组成相差不大。研究表明, 环境 DNA 技术作为传统渔业调查方法的补充, 对环境干扰小, 可以对欺骗岛海域鱼类物种多样性进行快速检测。本研究结果可为欺骗岛海域的鱼类多样性监测和渔业资源管理与保护提供数据支持。

**关键词:** 鱼类; 环境 DNA (eDNA); 渔业资源; 物种多样性; 欺骗岛

中图分类号: S 932.4

文献标志码: A

南设得兰群岛 (South Shetland Islands) 位于南极半岛西北约 120 km 处, 距离南美洲马尔维纳斯群岛 1 200 km, 为典型的亚南极海洋性气候。群岛长约 550 km, 由 11 个大岛和若干个小岛组成, 最大的岛屿为乔治王岛<sup>[1-3]</sup>。群岛周边海域水团结构复杂, 流场复杂多变, 该海域是南大洋生产力和渔业资源发达的区域之一, 是诸多南极生物活动的主要场所<sup>[4]</sup>。

欺骗岛 (Deception Island) 是南设得兰群岛中众多岛屿之一, 呈马蹄形, 直径约 15 km, 岛上约 57% 的陆地面积为永久性冰川, 是南极地区 (60°S 以南) 极少数活火山之一, 也是在南极地区

有人类亲眼目睹喷发的两座火山之一<sup>[5]</sup>。岛上生态系统自火山喷发过后经历了重建<sup>[6]</sup>, 附近海域受火山影响显著, 鱼类物种组成较南大洋其他海域有所不同。近些年, 已有不少研究报道过欺骗岛附近海域鱼类资源状况, 以往开展的鱼类资源调查中发现, 欺骗岛海域的鱼类大部分隶属于南极鱼亚目 (Notothenioidei), 栖息着数量众多的裘氏鳄头冰鱼 (*Champsocephalus gunnari*) 幼鱼<sup>[7-9]</sup>。但有关欺骗岛海域鱼类资源研究仍不完善, 尤其是对鱼类物种多样性及群落结构特征的研究较少。

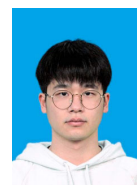
目前对欺骗岛开展的渔业资源调查多采用拖网、垂钓等传统调查方法, 但受南极地区恶劣的

收稿日期: 2022-07-13 修回日期: 2023-03-22

资助项目: 国家自然科学基金 (31702312, 41776185); 国家重点研发计划 (2018YFC1406801); 国家留学基金委员会促进与加澳新及拉美地区科研合作与高层次人才培养项目 (2021-109)

第一作者: 俞晔伟 (照片), 从事环境 DNA 研究, E-mail: 605143867@qq.com

通信作者: 王丛丛, 从事环境 DNA、种群遗传进化研究, E-mail: ccwang@shou.edu.cn



环境、气候影响无法开展长时间、连续的调查, 并且调查方法会对南极脆弱的生态系统造成巨大的破坏。而对环境友好的环境 DNA 技术已越来越多地应用于水生生态系统中的生物多样性调查, 环境 DNA (eDNA) 是指直接从环境样品中提取遗传物质, 即 DNA 片段的总和, 并使用特异性或者通用的引物进行聚合酶链式反应 (PCR), 通过测序、分析来测定环境中存在的目标物种, 取样过程无需直接接触目标物种<sup>[10-11]</sup>。近年来, 国内有关于 eDNA 的报道也越来越多, 李晓玲等<sup>[12]</sup>利用 eDNA 技术完成了对东海夏季鱼类物种多样性的调查, 获得了丰富的鱼类物种信息, 认为环境 DNA 技术可对海洋鱼类物种多样性及空间分布进行快速检测。目前, 也有不少学者将环境 DNA 技术应用于极地环境中, Rodgers 等<sup>[13]</sup>利用 eDNA 技术对阿拉斯加北部地区湖泊中的 5 种重要经济鱼类进行监测, 在所有样品中均检测到了目标物种, 认为 eDNA 技术相较于传统方法能更有效、经济地检测极地水域中的鱼类物种多样性。在南极地区也有相应的研究, Cowart 等<sup>[14]</sup>在西南极半岛区域分别利用传统调查方法和 eDNA 技术开展生物多样性调查, 研究发现鱼类呈现区域性分布, 并提出在使用传统采样方法时, 可将 eDNA 技术作为补充, 能够更好地对南极鱼类物种多样性进行调查。本研究以 eDNA 技术为调查方法, 完成了对南极欺骗岛海域鱼类物种多样性的初步调查, 旨在为欺骗岛海域鱼类物种组成和鱼类资源保护提供基础数据支持和科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 环境样本采集

本实验所使用的环境样本均由南极磷虾专业捕捞加工船“福荣海”于 2020 年 3 月 10—11 日来自南极欺骗岛海域。本次调查共选取 5 个站点 (S1~S5), 具体采样站点见图 1, 每个站点采集水样 1 L, 水样采集完毕立即于 -20 °C 中冷冻保存, 为防止环境 DNA 降解, 水样全程冷冻保存至实验室。在过滤前进行解冻, 过滤所使用的器材均需经过无菌处理, 过滤富集水样的滤膜选取直径为 47 mm, 孔径 0.45 μm 的混合纤维素酯膜 (MCE 膜), 在每次过滤水样前均需过滤等体积的双蒸水 (ddH<sub>2</sub>O) 作为阴性对照, 滤膜置于 2.0 mL 的无菌离心管中并于 -80 °C 冷冻保存至提取 DNA。使用 DNeasy Blood and Tissue Kit 试剂盒 (Qiagen, Hilden, 德国) 进行环境 DNA 提取, 提取方法参照

<https://www.china-fishery.cn>

试剂盒说明书并做适当调整, 根据裂解情况, 适当增减试剂的用量和水浴加热时间。提取的环境 DNA 混匀后分装, 每管 20 μL, 并立即使用琼脂糖凝胶电泳法和 Nanodrop 分光光度计对其进行质量检测, 记录对应样本环境 DNA 并测定浓度及 OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 值 (即 260 nm 和 280 nm 波长下吸光度的比值), 剩余 DNA 置于 -80 °C 冰箱中保存备用。实验过程中, 实验人员严格遵守实验动物伦理规范, 并按照相应的规章制度执行。

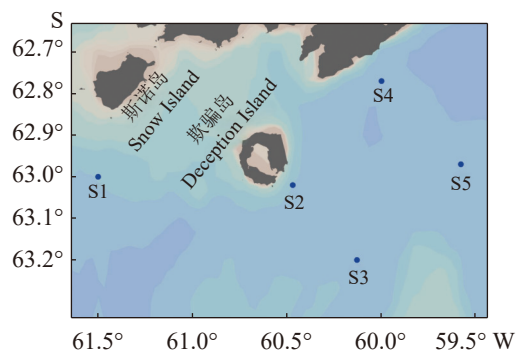


图 1 2020 年 3 月欺骗岛采样站点

S1~S5. 采样点, 下同。

Fig. 1 Deception Island sampling sites in March 2020

S1-S5. sampling sites, the same below.

### 1.2 PCR 扩增及测序

选取已报道的鱼类通用引物 MiFish-U-F: 5'-GTCGGTAAACTCGTGCCAGC-3'和 MiFish-U-R: 5'-CATAGTGGGGTATCTAATCCCAGTTTG-3'对样品 12S *rRNA* 区域进行 PCR 扩增<sup>[15]</sup>。扩增体系为 25 μL, 包含模板 DNA 2 μL, 正反向引物 (10 μmol/L) 各 1 μL, ddH<sub>2</sub>O 8.5 μL, 2×DNA PCR Mix 预混液 12.5 μL。采取两步 PCR 方法制备末端文库, PCR 扩增参数: 95 °C 预变性 5 min; 95 °C 变性 30 s, 56 °C 退火 30 s, 55 个循环。同时建立阴性对照, 排除实验过程或环境中的污染。最后在 Illumina MiSeq 平台 (委托上海派森诺生物科技股份有限公司) 上对文库进行双端测序。

### 1.3 数据分析

**OTU 聚类与注释** 数据下机后经过初步筛选, 去除低质量的序列。再使用 Vsearch 和 cutadapt 软件对序列进行拼接和去嵌合体等步骤, 按照 97% 相似度水平聚类为可操作分类单元 (OTU), 并获得相对应的代表序列和 OTU<sup>[12]</sup>。代表序列 OTU 在数据库 NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> 进行物种比对、分类注释, 并得到相

应的 OTU 丰度表, 剔除未注释到物种的序列。

**统计分析** 本研究以 OTU 聚类为基础开展了物种组成分析、 $\alpha$ 、 $\beta$  多样性分析及样本间鱼类物种差异: ① 物种组成分析, 人工去除非南极鱼类信息, 将比对至同一物种的 OTU 进行合并, 统计调查总共获得的物种分类水平数据, 及各站点分类单元数量, 并对各站点优势物种做进一步分析。②  $\alpha$  多样性分析, 使用 QIIME2 软件进行  $\alpha$  多样性分析, 选取 ACE 指数、Chao1 指数、Shannon 指数、Simpson 指数、Pielou 均匀度, 分别反映群落丰富度、群落多样性及均匀度, 具体计算方法参考网址: <http://scikit-bio.org/docs/latest/generated/skbio.diversity.alpha.html#module-skbio.diversity.alpha>。③  $\beta$  多样性分析, 本研究基于 Bray-Curtis 距离矩阵进行 PCoA 分析, 对不同样本间的群落组成进行分析。④ 样本间鱼类物种差异, 利用 R 语言 pheatmap 包绘制物种组成热图, 并使用 R 语言 ggVennDiagram 包绘制 Venn 图, 分析各站点共有和特有 OTU。

## 2 结果

### 2.1 环境 DNA 测序结果

提取及 PCR 过程中所建立的阴性对照在后续测序过程均为空白。本次共测定 5 个样本, 经过双端原始数据处理后, 共获得原始序列 1 010 628 条, 筛选后得到 891 695 条高质量序列。样本的环境 DNA 高通量测序统计结果如表 1 所示。

表 1 各站点 eDNA 的序列量结果

样本编号 sample ID	输入/条 input	去除嵌合体/条 non-chimeric	去除稀有个体/条 non-singleton
S1	215 113	208 835	191 210
S2	239 657	230 007	204 936
S3	214 703	208 058	187 376
S4	119 154	116 551	111 163
S5	222 001	215 724	197 010

### 2.2 鱼类物种组成

高质量序列最终聚成的 OTU 与数据库 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 进行注释比对, 并手动移除非南极鱼类的 OTU, 总计获得 20 333 个鱼类可操作分类单元。经处理后得到的 OTU 划分和鱼类分类地位统计见图 2。共检测得到南极鱼类 1 目 6 科 23 属 31 种 (表 2)。

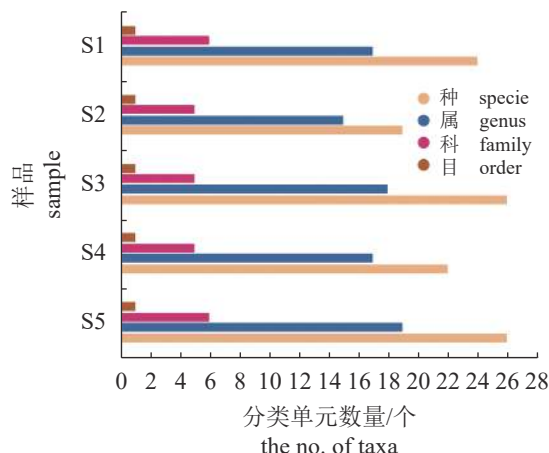


图 2 欺骗岛鱼类 OTU 划分和分类地位鉴定结果

Fig. 2 Result of OTU division and classification taxon identification of fishes in Deception Island

按照科水平的分类单元 OTU 丰度从大到小进行排序, 其中鳄冰鱼科和南极鱼科占比最高, 而牛鱼科、渊龙鳕科、油南极鱼科占比较小。图 3 显示了由环境 DNA 技术检出样品中各属鱼类生物的相对丰度占比, 可以看出鳄头冰鱼属、南极鱼属、拟冰鱼属、牛鱼属相对丰度较高。

表 3 展示了检出相对丰度前 10 位的南极鱼类优势物种 (相对丰度 > 0.1%) 和各采样点物种组成差异, 其总丰度占相对丰度的 99.66%, 从表中可以看出, 前 10 位优势鱼类物种存在于所有的样品中。图 4 展示了检出丰度前 10 位的南极鱼类物种在各站点的相对丰度占比, 裘氏鳄头冰鱼在 S1、S3、S4、S5 站点相对丰度占比最高, 而在 S2 站点花纹南极鱼相对丰度最高。在物种组成上, S1 与 S5 站点物种组成最为相似, S2 站点物种组成与其余站点相差较大。

### 2.3 $\alpha$ 多样性分析

图 5 为本次测序所得的鱼类物种稀疏曲线, 可见所有站点测序深度均达到了平台期, 可进行后续生物多样性分析。

Chao1 指数范围为 7 263.636~18 965.263, ACE 指数为 8 351.239~19 423.484, 两个指数分布趋势相同; Shannon 多样性指数范围为 5.483~7.837, Simpson 生物多样性指数为 0.931~0.994, 二者分布趋势也相近, 而 Pielou 均匀度指数范围为 0.620~0.859。各站点所测得的鱼类群落的  $\alpha$  多样性指数也存在差异, 其中 S4 站点 Chao1 和 ACE 指数较低, S2 站点 Pielou 和 Shannon 指数较高, S3 站点 Chao1 和 ACE 指数较高, 但 Pielou 指数较低,

表 2 eDNA 检出的鱼类物种统计

**Tab. 2 Fish species detected by eDNA**

目 order	科 family	属 genus	种 species		
鲈形目 Perciformes	南极鱼科 Nototheniidae	肩孔南极鱼属 <i>Trematomus</i>	韦尔德肩孔南极鱼 <i>T. loennbergii</i>		
			彭氏拟肩孔南极鱼 <i>T. pennellii</i>		
			伯氏肩孔南极鱼 <i>T. bernacchii</i>		
			托氏肩孔南极鱼 <i>T. tokarevi</i>		
			犬牙南极鱼属 <i>Dissostichus</i>	鳞头犬牙南极鱼 <i>D. mawsoni</i>	
				小鳞犬牙南极鱼 <i>D. eleginoides</i>	
			南极鱼属 <i>Notothenia</i>	花纹南极鱼 <i>N. rossii</i>	
				革首南极鱼 <i>N. coriiceps</i>	
			奇南极鳕属 <i>Aethotaxis</i>	奇南极鳕 <i>A. mitopteryx</i>	
			鲷南极鱼属 <i>Gobionotothen</i>	驼背鲷南极鱼 <i>G. gibberifrons</i>	
			南冰鳕属 <i>Pagothenia</i>	博氏南冰鳕 <i>P. borchgrevinki</i>	
			侧纹南极鱼属 <i>Pleuragramma</i>	侧纹南极鱼 <i>P. antarctica</i>	
		鳕冰鱼科 Channichthyidae		雪冰鱼属 <i>Chionodraco</i>	独角雪冰鱼 <i>C. hamatus</i>
			眼斑雪冰鱼 <i>C. rastrospinosus</i>		
					龙嘴雪冰鱼 <i>C. myersi</i>
				头带冰鱼属 <i>Chaenocephalus</i>	短腹头带冰鱼 <i>C. aceratus</i>
				棘冰鱼属 <i>Chaenodraco</i>	威氏棘冰鱼 <i>C. wilsoni</i>
				鳄头冰鱼属 <i>Champsiceps</i>	裘氏鳄头冰鱼 <i>C. gunnari</i>
				雪冰鳕属 <i>Chionobathyscus</i>	雪冰鳕 <i>C. dewitti</i>
				小带冰鱼属 <i>Cryodraco</i>	南极小带冰鱼 <i>C. antarcticus</i>
	新拟冰鳕属 <i>Neopagetopsis</i>		南极新拟水鳕 <i>N. ionah</i>		
	拟冰鳕属 <i>Pagetopsis</i>		大鳍拟冰鳕 <i>P. macropterus</i>		
	拟冰鱼属 <i>Pseudochaenichthys</i>	南乔治亚拟冰鱼 <i>P. georgianus</i>			
渊龙鳕科 Bathydraconidae	裸龙鳕属 <i>Gymnodraco</i>	尖头裸龙鳕 <i>G. acuticeps</i>			
		扁嘴副带鳕鱼 <i>P. charcoti</i>			
		澳洲姥龙鳕 <i>G. australis</i>			
		裸头龙鳕属 <i>Akarotaxis</i>	裸头龙鳕 <i>A. nudiceps</i>		
				<i>Bovichtus</i> sp.1	
牛鱼科 Bovichtidae	牛鱼属 <i>Bovichtus</i>		<i>Bovichtus</i> sp.2		
阿式龙鳕科 Artedidraconidae	须鳕属 <i>Pogonophryne</i>	白鳍须鳕 <i>P. albipinna</i>			
油南极鱼科 Eleginopsidae	油南极鱼属 <i>Eleginops</i>	智利油南极鱼 <i>E. maclovinus</i>			

S1 站点 Chao1 和 Pielou 指数较低 (表 4)。

### 2.4 β 多样性分析

基于各采样站点的序列丰度, 采用 Bray-Curtis 距离矩阵进行 PCoA 分析, 对比样本间鱼类物种组成的相似性或差异性。采样点 S1、S3、S5 具有相似的鱼类物种多样性, 而 S2、S4 鱼类物种组成不同于其他站点 (图 6)。

### 2.5 样本间鱼类物种差异分析

OTU 利用 R 软件绘制 Venn 图, 各样本间共有和特有 OTU 数目及比例见图 7。由图可知, 5 个采样站点之间共有 OTU 所占比例较低, S2 站点特有 OTU 的比例最高, 而 S4 站点的特有 OTU 比例最低。

利用 R 软件绘制基于种水平的鱼类物种组成热图 (图 8)。依照距离欺骗岛或南设得兰群岛的远近, 将站点划分为近岸站点和远岸站点, S2、S4 为近岸站点, 其余站点为远岸站点, 从图 1 中可以看出, 不同鱼类物种组成的各站点 (样品) 间存在差异, 依据样本聚类分析, 可见位于欺骗岛海域两侧的 S1 和 S5 站点最先被聚为一支, 而与 S1 和 S5 站点物种组成差异最大的为欺骗岛近岸站点 S2; 从物种聚类上看, 侧纹南极鱼和托氏拟肩孔南极鱼最先聚为一支, 仅在 S3 站点具有较高的相对丰度, 其余站点的相对丰度较低。由此可见, 物种组成及各科鱼类相对丰度与“α 多样性分析”一节中所描述的 α 生物多样性指数相似, 其中 S3 站点具有较高的多样性和丰富度。

## 3 讨论

受火山的影响, 欺骗岛邻近海域水温明显高于南大洋其他水域, 且海水中铁、锰、硅含量明显增加, 造就了欺骗岛独特的生物多样性<sup>[16]</sup>。但截至目前, 有关欺骗岛海域鱼类生物资源研究的相关资料较少, 因此, 开展欺骗岛海域鱼类物种多样性、群落结构调查, 可以为欺骗岛海域鱼类生物多样性的保护提供理论支持。但传统底拖网调查会对南极脆弱的生态系统造成破坏, 本研究采用环境 DNA 技术进行欺骗岛海域鱼类生物多样性调查, 环境 DNA 技术只需从自然介质中提取生物体的 DNA, 这一特点确保在样本收集过程中, 不会对生物个体产生影响。传统方法调查时, 因极地环境和气候因素的影响, 无法开展长时间的

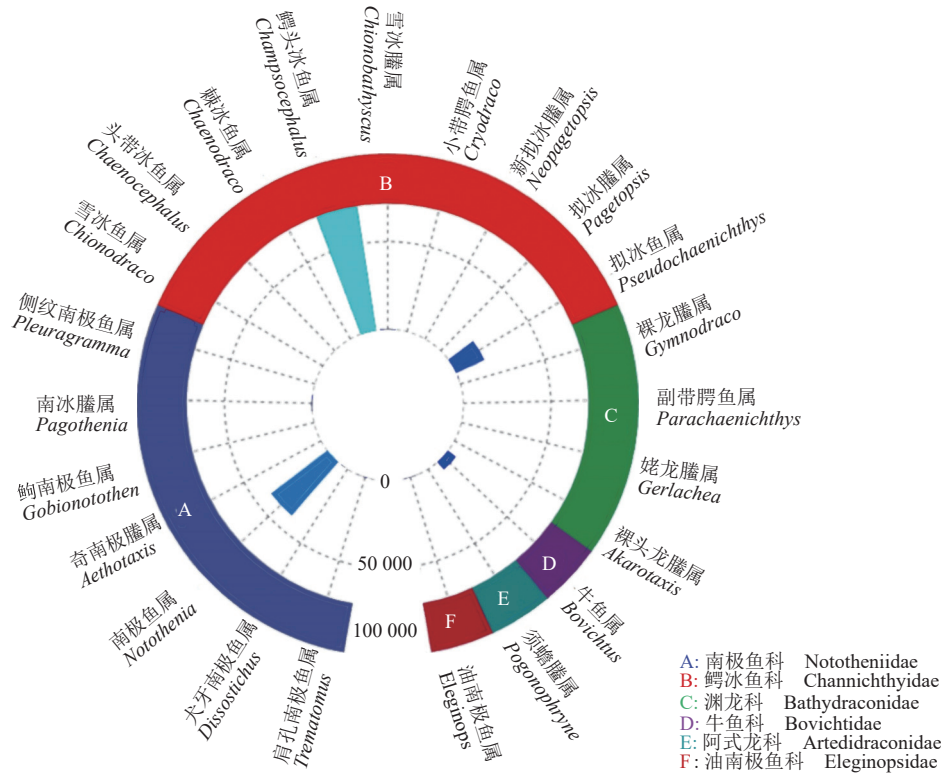


图3 欺骗岛各属鱼类丰度占比

Fig. 3 Abundance ratio of each genus of fish in Deception Island

表3 欺骗岛附近海域优势鱼类物种

Tab. 3 Statistics of dominant fishes species in Deception Island identified from eDNA analysis

编号 no.	检出物种 species identified	科水平分类 order level family	相对丰度/% percentage of abundance	出现频率/% occurrence rate
1	裘氏鳔头冰鱼 <i>C. gunnari</i>	鳔冰鱼科 Channichthyidae	53.65	100
2	花纹南极鱼 <i>N. rossii</i>	南极鱼科 Nototheniidae	28.34	100
3	南乔治亚拟冰鱼 <i>P. georgianus</i>	鳔冰鱼科 Channichthyidae	12.54	100
4	<i>Bovichtus</i> sp.1 <sup>#</sup>	牛鱼科 Bovichtidae	2.82	100
5	<i>Bovichtus</i> sp.2 <sup>#</sup>	牛鱼科 Bovichtidae	1.29	100
6	博氏南冰鳕 <i>P. borchgrevinki</i>	南极鱼科 Nototheniidae	0.41	100
7	雪冰鳕 <i>C. dewitti</i>	鳔冰鱼科 Channichthyidae	0.28	100
8	革首南极鱼 <i>N. coriiceps</i>	南极鱼科 Nototheniidae	0.12	100
9	智利油南极鱼 <i>E. maclovinus</i>	油南极鱼科 Eleginopsidae	0.11	100
10	尖头裸龙鳕 <i>G. acuticeps</i>	渊龙鳕科 Bathydraconidae	0.10	100

注: #. 未鉴定到种的牛鱼属鱼类。  
Notes: #. Fishes of the genus *Bovichtus* did not identify to species.

连续调查, 往往需要多个航次调查才能保证调查结果的准确。而环境 DNA 技术受极地环境影响较小, 在恶劣的环境中也能完成样本的取样, 相较于传统调查方法, 成本节约且取样便捷。

本研究首次使用环境 DNA 技术开展欺骗岛海域鱼类物种多样性调查, 采样站点围绕欺骗岛共设立 5 个站点, 研究海域范围较广。本次研究共计检出 1 纲 1 目 6 科 23 属 31 种南极鱼类, 所得序列中检出的优势鱼类物种为裘氏鳔头冰鱼、花纹南极鱼、南乔治亚拟冰鱼、*Bovichtus* sp.1 和 *Bovichtus* sp.2 等

本研究鉴定得到的大部分鱼类物种在以往开展的传统拖网调查中均有报道, 而根据南极海洋生物资源养护委员会 (Commission for the Conservation of Antarctic Marine Living Resources, CCAMLR) 发布的报道及相关文献<sup>[17-20]</sup>, 目前, 在南极地区主要开展的商业性鱼类捕捞目标和南极磷虾渔业主要兼捕鱼类为鳔冰鱼科、牛鱼科、南极鱼科等, 这与本研究调查结果相符。而对比传统捕捞数据发现, 环境 DNA 鉴定出以往报道较少的南极鱼种例如雪冰鳕、尖头裸龙鳕等, 上述鱼种均不是传统渔业的商业捕捞对象, 且这些鱼类种群密度相对

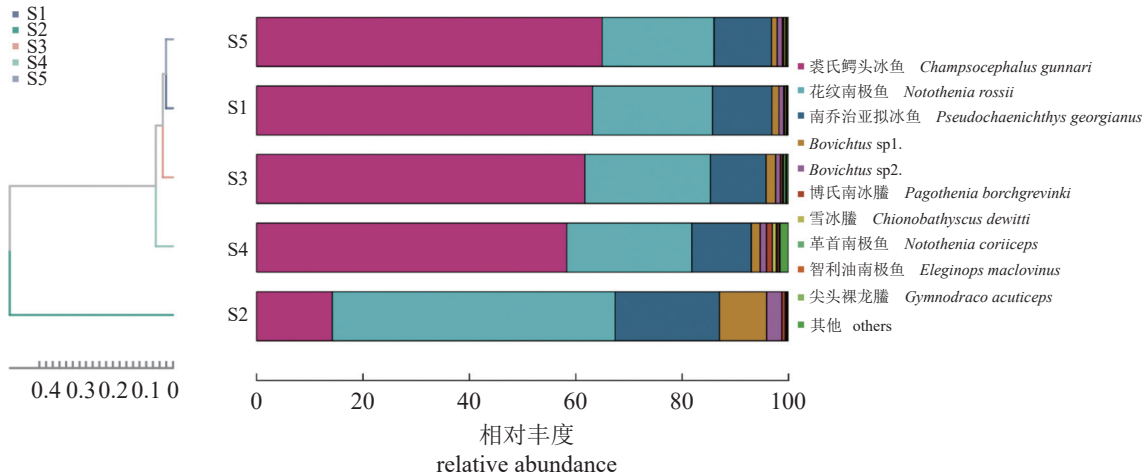


图 4 各采样点优势南极鱼类物种组成

Fig. 4 Composition of dominant Antarctic fish species at each sampling site

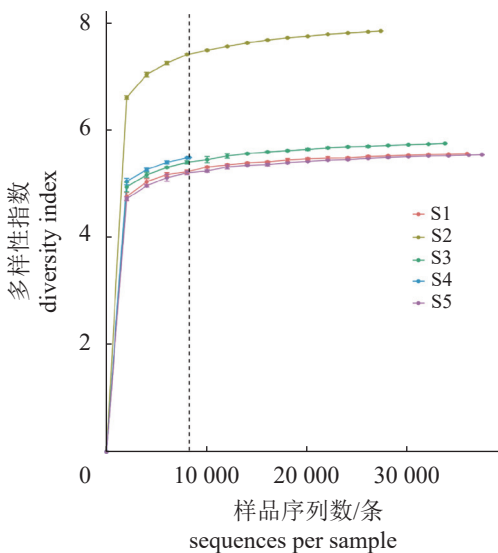


图 5 欺骗岛不同采样站点物种  $\alpha$  多样性指数稀疏曲线

Fig. 5 Species  $\alpha$  diversity index sparsity curves for different sampling sites on Deception Island

较小, 传统捕捞方法难以捕获, 因此相关报道较少。而环境 DNA 技术无需获取个体样本, 仅需通过环境取样就能准确鉴定出目标物种的存在, 不受个体形态特征的影响。近年来, 已有研究人员对南设得兰群岛及近欺骗岛海域开展渔业资源调查。如 Barrera-Oro 等<sup>[7]</sup>对花纹南极鱼、隆头南极鱼、革首南极鱼 3 种鱼类开展长达 33 年的监测, 发现花纹南极鱼生物资源正在逐步增加; 而隆头南极鱼群体中仔稚鱼数量持续减少, 革首南极鱼群体相对丰度在监测期间一直较高。在本研究中, 花纹南极鱼、隆头南极鱼、革首南极鱼均在环境 DNA 中检出, 而花纹南极鱼、革首南极鱼也是本

<https://www.china-fishery.cn>

表 4 欺骗岛鱼类物种相对丰度的  $\alpha$  多样性指数

Tab. 4  $\alpha$  diversity indexes of fish species abundance in Deception Island

编号 no.	$\alpha$ 多样性指数 $\alpha$ diversity indexes				
	Chao1	Pielou	Shannon	Simpson	ACE
S1	14 634.264	0.629	5.554	0.936	14 752.126
S2	18 965.263	0.859	7.837	0.994	19 423.484
S3	18 232.722	0.642	5.745	0.931	18 817.106
S4	7 263.636	0.695	5.483	0.934	83 51.239
S5	16 755.610	0.620	5.537	0.932	17 466.500

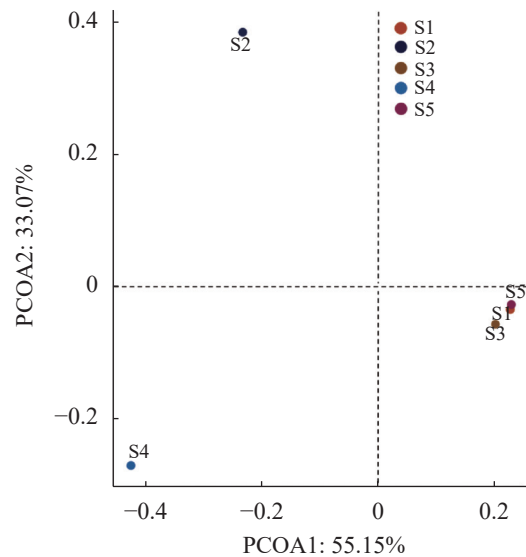


图 6 基于 Bray-Curtis 距离矩阵的欺骗岛鱼类主坐标分析 (PCoA)

Fig. 6 Principal Coordinate analysis (PCoA) of Deception Island fish based on bray-curtis distance matrix

研究中检测到的优势鱼类物种。Uzunova<sup>[21]</sup>等以底拖网和垂钓的方式在 2018 年底—2019 年初开

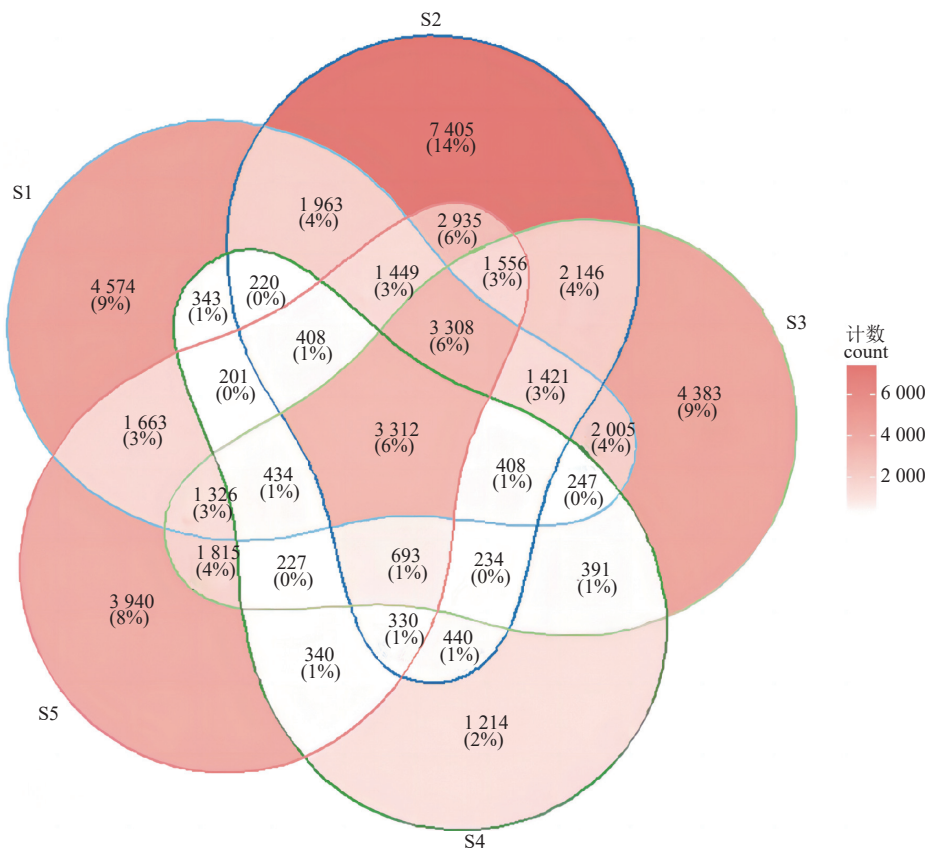


图 7 欺骗岛海域不同站点共有 OTU 的 Venn 图

数字代表 OTU 数目, 百分比代表占 OTU 总数百分比。

Fig. 7 Venn diagram of the common OTU of different stations in the sea of Deception Island

Numbers represent the number of OTU and percentages represent the percentage of the total number of OTU.

展鱼类物种多样性调查, 以形态学方法共鉴定出 5 种南极鱼类, 对比本研究结果发现, 5 种南极鱼类中, 仅尼氏拟肩孔南极鱼未在本研究中检出。由此可见, 本研究所检出的优势鱼类物种与前期开展的传统渔业调查得到的结果基本一致, 验证了环境 DNA 技术在欺骗岛海域进行鱼类物种多样性研究的可能性。

$\alpha$  多样性指数包括一系列统计学分析指数, 可应用于估计环境群落的物种丰度和多样性, 目前已有许多文献将其用于分析鱼类群落的丰度和多样性<sup>[22]</sup>。Chao1 和 Ace 指数用于估计群落中 OTU 数目, 可反映生态系统中的物种总数<sup>[23]</sup>。本研究中 Chao1 和 Ace 指数范围分别为 7 263.636~18 965.263 和 8 351.239~19 423.484, 这两个指数的趋势和范围相近, 样本间差异较大, 主要体现在 S4 与其他站点。可能与采样点设计差异相关, S4 站点靠近南设得兰群岛的乔治王岛处, 离岸较近, 水深相较于其余站点较浅, 叶绿素浓度高于远岸站点, 推测靠近乔治王岛处的 S4 站点的初级

生产力高于 S1、S3、S5 站点, 且其鱼类物种组成较其他站点也略有不同。Shannon 和 Simpson 指数用于估算样品中生物多样性, 常用来定量描述一个区域内的生物多样性<sup>[24-25]</sup>。本研究中, Shannon 和 Simpson 指数分别为 5.483~7.837 和 0.931~0.994, 两种指数分布范围和趋势相近, 研究结果显示各站点物种数目接近, 并无很大的差异。

基于 Bray-Curtis 距离矩阵的  $\beta$  多样性分析显示, S2、S4 站点的鱼类物种组成不同于其余站点, 这可能是受到环境因素的影响。不同于 S1、S3、S5 站点, S2 和 S4 站点距离欺骗岛和南设得兰群岛较近, 海水较深, 盐度也相对较高, 可能造成近岸的鱼类物种组成不同于其余站点。而近岸站点 S2 与 S4 之间的鱼类物种也有所不同, 主要是由于 S2 站点靠近欺骗岛, 受欺骗岛活火山、人为活动的影响较大, 水体温度、营养盐含量与 S4 站点不同, 从而影响两站点间的鱼类物种组成。

比较各站点优势物种(图 4)和各站点 OTU 丰度发现, 所有站点的主要鱼类优势物种为裘氏鳕

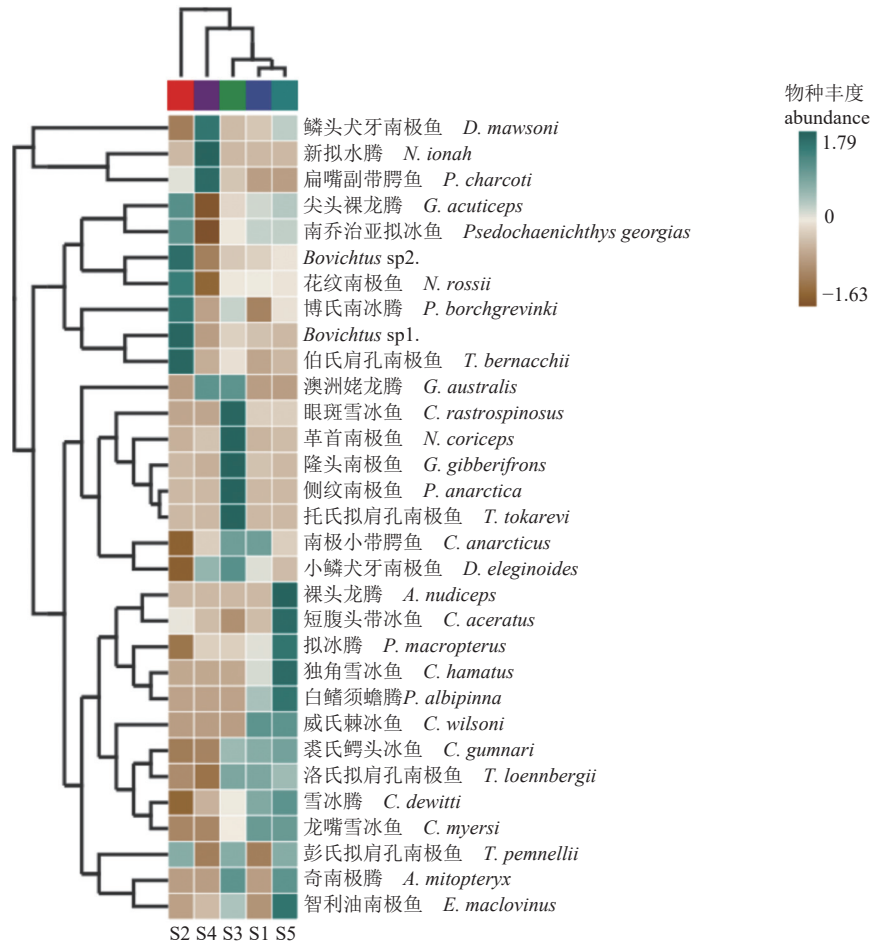


图 8 欺骗岛水域不同鱼类物种水平组成热图

横向所示为样品编号, 纵向所示为分类单元。

Fig. 8 Heat map of species-level fish composition in Deception Island water

Sample numbers are shown horizontally, taxonomic units are shown vertically.

头冰鱼和花纹南极鱼。但不同于其他站点, S2 站点处花纹南极鱼相对丰度高于裘氏鳄头冰鱼。比较各站点共有 OTU 的 Venn 图 (图 7), 相较于其余站点, S2 站点处特有 OTU 较多, 推测可能为 S2 采样站点处于欺骗岛近岸处, 该站点水深浅于其余站点, 岛内水体会与邻近海域水体交流, 欺骗岛为活火山岛, 附近海域水表面温度、营养盐和初级生产力均高于其余站点<sup>[16, 26]</sup>; 且花纹南极鱼主要栖息在岩礁附近水温-1~5 °C 的环境中<sup>[27]</sup>, 综合上述环境条件, 在所有站点中, S2 站点附近海域最适宜花纹南极鱼生存, 因此该站点花纹南极鱼的相对丰度最高。以往传统调查发现, 南极电灯鱼 (*Electrona antarctica*) 和卡氏电灯鱼 (*E. carlsbergi*) 等灯笼鱼科 (Myctophidae) 是南极海域中层丰度最高的鱼种<sup>[28]</sup>, 但本次研究中并未检测到相应物种, 其原因可能与物种习性及其采样设计时间

和深度等相关。本研究采样时间为 2020 年 3 月, 以往调查发现, 在该季节灯笼鱼科物种一般生活于水深 200~400 m 处, 而本研究采集水样为表层水, 含灯笼鱼科的环境 DNA 样本较少。因此在后续研究中, 应增加在不同时间段、不同水深及季节的水样采集, 从而进一步完善实验结果。

本研究首次利用环境 DNA 技术分析南极欺骗岛海域的鱼类物种多样性, 获得了丰富的鱼类物种信息, 共鉴定得到 31 种南极鱼类, 分别隶属于 1 目 6 科 23 属, 站点间物种组成差异较大。环境 DNA 技术的高灵敏度、操作便捷、对环境友好等特性在生态系统较为脆弱的南极海域有很大的应用前景。但本研究仍存在一些不足, 如调查取样水层单一, 采样时间不固定, 缺少同一站点不同水层及昼夜活动不同的鱼类物种信息。因此在后续开展调查研究中, 应在本次调查研究的基础



上增加取样站点数量和范围, 增加同一站点的采样深度, 设置不同时间开展采样, 增加不同季度间的鱼类物种多样性调查。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

### 参考文献 (References):

- [ 1 ] 霍城, 李盼盼, 葛林科, 等. 南极南设得兰群岛附近海域表层沉积物中有色溶解有机物的分布特征及来源分析 [J]. 极地研究, 2016, 28(4): 484-490.  
Huo C, Li P P, Ge L K, *et al.* Distribution and source of chromophoric dissolved organic matter in the surface sediment from the sea area surrounding the South Shetland Islands, Antarctica[J]. Chinese Journal of Polar Research, 2016, 28(4): 484-490 (in Chinese).
- [ 2 ] 张晔, 李超伦, 刘梦坛, 等. 南极夏季南设得兰群岛周边海域浮游动物优势种群的分布、丰度及种群结构分析 [J]. 海洋与湖沼, 2016, 47(5): 945-953.  
Zhang Y, Li C L, Liu M T, *et al.* Abundance and structure of dominant zooplankton species in austral summer near South Shetland Islands, Antarctica[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2016, 47(5): 945-953 (in Chinese).
- [ 3 ] 韦利杰, 陈虹, 赵越, 等. 西南极南设得兰群岛地层对比与划分 [J]. 地质通报, 2022, 41(2-3): 347-360.  
Wei L J, Chen H, Zhao Y, *et al.* Stratigraphic correlation and division of the South Shetland Islands, West Antarctica[J]. Geological Bulletin of China, 2022, 41(2-3): 347-360 (in Chinese).
- [ 4 ] 周梦潇. 夏季南极南设得兰群岛周边海域透光层温盐及叶绿素浓度年际变化特征 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2020.  
Zhou M X. Interannual variations in thermohaline structure and chlorophyll concentration in the euphotic zone around the South Shetland Islands, Antarctic during austral summer[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2020 (in Chinese).
- [ 5 ] Câmara P E A S, Carvalho-Silva M, Pinto O H B, *et al.* Diversity and ecology of Chlorophyta (Viridiplantae) assemblages in protected and non-protected sites in Deception Island (Antarctica, South Shetland Islands) assessed using an NGS approach[J]. Microbial Ecology, 2021, 81(2): 323-334.
- [ 6 ] 王健, 孙云峰, 李晨曦, 等. 南极欺骗岛土壤细菌群落结构和多样性分析 [J]. 极地研究, 2017, 29(4): 486-495.  
Wang J, Sun Y F, Li C X, *et al.* Bacterial community composition and diversity in soils of Deception Island, Antarctic[J]. Chinese Journal of Polar Research, 2017, 29(4): 486-495 (in Chinese).
- [ 7 ] Barrera-Oro E, Marschoff E, Ainley D. Changing status of three notothenioid fish at the South Shetland Islands (1983-2016) after impacts of the 1970-80s commercial fishery[J]. Polar Biology, 2017, 40(10): 2047-2054.
- [ 8 ] Barrera-Oro E R, Marschoff E R, Casaux R J C. Trends in relative abundance of fjord *Notothenia rossii*, *Gobionotothen gibberifrons* and *Notothenia coriiceps* at Potter Cove, South Shetland Islands, after commercial fishing in the area[J]. CCAMLR Science, 2000, 7: 43-52.
- [ 9 ] Ruhl H A, Hastings P A, Zarubick L A, *et al.* Fish populations of Port Foster, Deception Island, Antarctica and vicinity[J]. Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography, 2003, 50(10-11): 1843-1858.
- [10] Barnes M A, Turner C R. The ecology of environmental DNA and implications for conservation genetics[J]. Conservation Genetics, 2016, 17(1): 1-17.
- [11] Yang J H, Zhang X W. eDNA metabarcoding in zooplankton improves the ecological status assessment of aquatic ecosystems[J]. Environment International, 2020, 134: 105230.
- [12] 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 (in Chinese).
- [13] Rodgers T W, Olson J R, Klobucar S L, *et al.* Quantitative PCR assays for detection of five arctic fish species: *Lota lota*, *Cottus cognatus*, *Salvelinus alpinus*, *Salvelinus malma*, and *Thymallus arcticus* from environmental DNA[J]. Conservation Genetics Resources, 2018, 10(4): 859-865.
- [14] Cowart D A, Murphy K R, Cheng C H C. Metagenomic sequencing of environmental DNA reveals marine faunal assemblages from the West Antarctic Peninsula[J]. Marine Genomics, 2018, 37: 148-160.
- [15] 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 subtrop-

- ical marine species[J]. *Royal Society Open Science*, 2015, 2(7): 150088.
- [16] Lenn Y D, Chereskin T K, Glatts R C. Seasonal to tidal variability in currents, stratification and acoustic backscatter in an Antarctic ecosystem at Deception Island[J]. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 2003, 50(10-11): 1665-1683.
- [17] Park H J, Yeon I, Han E, *et al.* Diet study of Antarctic toothfish caught in the east Antarctic based on stomach content, fatty acid and stable isotope analyses[J]. *CCAMLR Science*, 2015, 22: 29-44.
- [18] Pinkerton M H, Maolagain C Ó, Forman J, *et al.* Discrimination of *Macrourus whitsoni* and *M. caml* (Gadiformes, Macrouridae) using otolith morphometrics[J]. *CCAMLR Science*, 2015, 22: 15-28.
- [19] 王忠秋, 许柳雄, 唐浩. 南设得兰群岛海域南极磷虾拖网兼捕组成分析 [C]//中国水产学会. 2017年中国水产学会学术年会论文摘要集. 南昌: 中国水产学会, 2017. Wang Z Q, Xu L X, Tang H. Analysis on the bycatch composition of Antarctic krill trawl in waters of the southern Shetland Islands[C]//China Society of Fisheries. Abstracts of the 2017 Annual Academic Conference of the Chinese Aquatic Society. Nanchang: China Society of Fisheries, 2017 (in Chinese).
- [20] Payne A G, Agnew D J, Brandão A. Preliminary assessment of the Falklands Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides*) population: use of recruitment indices and the estimation of unreported catches[J]. *Fisheries Research*, 2005, 76(3): 344-358.
- [21] Uzunova E P, Kenderov L A, Stefanov T R. Fish species recorded in the coastal area of the South Bay, Livingston Island, South Shetlands[J]. *Acta Zoologica Bulgarica*, 2021, 73(1): 71-76.
- [22] Whittaker R H. Evolution and measurement of species diversity[J]. *Taxon*, 1972, 21(2-3): 213-251.
- [23] Chao A. Nonparametric estimation of the number of classes in a population[J]. *Scandinavian Journal of Statistics*, 1984, 11(4): 265-270.
- [24] Shannon C E. A mathematical theory of communications[J]. *Bell System Technical Journal*, 1948, 27(3): 379-423.
- [25] Simpson E H. Measurement of diversity[J]. *Nature*, 1949, 163(4148): 688-688.
- [26] 阮超, 张衡, 崔雪森, 等. 南设得兰群岛附近海域南极磷虾渔场时空分布及其与表温的关系 [J]. *生态学杂志*, 2016, 35(9): 2435-2441. Ruan C, Zhang H, Cui X S, *et al.* Spatial-temporal distribution of Antarctic krill fishing ground and their relationship with sea surface temperature in waters around the South Shetland Islands[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2016, 35(9): 2435-2441 (in Chinese).
- [27] Chekunova V I, Naumov A G. Energy metabolism and food requirements of the marbled notothenia, *Notothenia rossi marmorata* (Nototheniidae)[J]. *Journal of Ichthyology*, 1982, 22(2): 112-121.
- [28] Saunders R A, Collins M A, Foster E, *et al.* The trophodynamics of southern Ocean *Electrona* (Myctophidae) in the Scotia Sea[J]. *Polar Biology*, 2014, 37(6): 789-807.

## Species diversity of fish in Deception Island waters based on environmental DNA technology

YÜ Yewei<sup>1</sup>, LIU Yang<sup>1,2,3,4,5</sup>, ZHU Guoping<sup>1,2,3,4</sup>, WANG Congcong<sup>1,2,3,4,5\*</sup>

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

2. Key Laboratory of Sustainable Exploitation of Oceanic Fisheries Resources, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

3. National Distant-water Fisheries Engineering Research Center, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

4. Key Laboratory of Ocean Fisheries Exploitation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

5. Scientific Observing and Experimental Station of Oceanic Fishery Resources, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

**Abstract:** Deception Island is a volcanic island located southwest of the South Shetland Islands in Antarctica with more than 20 eruptions over the last two centuries. Under the significantly influence of the island's active volcanoes, the adjacent water temperature is high, and the concentrations of iron, manganese, silicon, and other elements are significantly greater, with rich biological resources. Environmental DNA (eDNA) analysis constitutes a promising tool to study the distribution and diversity of fishes. This technique is based on organisms leaving DNA in the environment, which can be extracted and sequenced to identify the species from which it originates. This study explored the potential use of eDNA metabarcoding from seawater samples to detect fish species diversity in Deception Island. The fish species composition and diversity characteristics in the waters of Deception Island were detected by high-throughput sequencing of eDNA in this study. Overall, a total of 31 species (1 order 6 families 23 genera) of Antarctic fishes were detected in the environmental samples from five sampling stations around Deception Island, and most of them were identified in previous surveys of Antarctic fishes using traditional methods. Some rare fish which were considered difficult to be caught by traditional fishing methods were detected by eDNA, such as *Chionobathyscus dewitti*, *Akarotaxis nudiceps*. OTU abundance was ranked from the largest to the smallest in taxa at the family level, with Channichthyidae and Nototheniidae accounting for the highest proportions. The dominant fish species were *Champsocephalus gunnari*, *Notothenia rossii*, *Pseudochaenichthys georgianus*, *Bovichtus* sp1., *Bovichtus* sp2., *Pagothenia borchgrevinki*, *C. dewitti*, *Notothenia coriiceps*, *Eleginops maclovinus*. Among the identified fish species from eDNA analysis, *C. gunnari* and *N. rossii* had the highest abundance (53.52% and 28.27%). The sampling stations were divided into nearshore and distant stations according to the distance from Deception Island or South Shetland to evaluate the diversity of fish communities in different habitats. The alpha diversity index of fish communities was calculated using Chao1, ACE index to characterize richness, Shannon and Simpson diversity index, and Pielou's evenness. Moreover, the overall composition pattern of the data was analyzed by PCoA. The  $\alpha$  and  $\beta$  diversity significantly differed between nearshore and distant sites, but the fish species composition was similar between distant sites. This research demonstrated the utility of eDNA for species diversity in fish communities, knowledge of which was essential for standardized monitoring of Southern Ocean's biodiversity. The eDNA technology was less intrusive to the environment and could provide rapid detection of fish species in the water of Deception Island, complementing to traditional survey methods. In addition, our findings can provide data support for fish diversity monitoring and fisheries resource management and conservation in Deception Island.

**Key words:** fishes; environmental DNA (eDNA); fishery resources; species diversity; Deception Island

**Corresponding author:** WANG Congcong. E-mail: [ccwang@shou.edu.cn](mailto:ccwang@shou.edu.cn)

**Funding projects:** National Natural Science Foundation of China (31702312, 41776185); National Key Research and Development Program of China (2018YFC1406801); China Scholarship Council Promote Scientific Research Cooperation and High-level Training Projects with CANZ and Latin America (2021-109)