

基于 eDNA 技术和形态学鉴定的抚仙湖浮游动物多样性比较*

任艺晨^{1,3**}, 范方威^{2,3,4**}, 席贻龙^{1***}, 陈非洲^{3,5}, 李芸^{3,5}, 丁家宁^{3,4}, 高佳伟^{3,6}, 顾于^{3,4}, 李化炳^{3,5***}

(1: 安徽师范大学生态与环境学院, 芜湖 241002)

(2: 中国科学院大学中丹学院, 北京 100049)

(3: 中国科学院南京地理与湖泊研究所, 湖泊与流域水安全全国重点实验室, 南京 211135)

(4: 中国科学院大学, 北京 100049)

(5: 中国科学院抚仙湖高原深水湖泊研究站, 玉溪 652500)

(6: 河北大学生命科学学院, 保定 071002)

摘要: 浮游动物是水生生态系统的重要组成部分, 对外界干扰和水体环境变化敏感, 监测其物种多样性和群落组成有助于理解生态系统动态变化, 并为水质管理提供科学依据。近年来, 环境 DNA (eDNA) 技术已广泛用于生物调查, 但其与传统形态学鉴定在浮游动物多样性检测中的一致性和互补性仍不明确。为此, 本研究于 2014 年和 2015 年对抚仙湖进行了 2 周年的季节性野外调查, 比较 eDNA 技术和形态学鉴定在检测浮游动物物种多样性和群落组成上的异同。研究结果显示: (1) 在对抚仙湖 2014 年和 2015 年的季节性周年监测中, 基于线粒体细胞色素 c 氧化酶 I (Cytochrome c Oxidase I, *COI*) 基因高通量测序的 eDNA 技术与形态学鉴定检测到的浮游动物 alpha 多样性 (物种丰富度和 Shannon-Wiener 多样性指数) 变化趋势一致, 验证了 eDNA 技术在野外季节性周年监测中的可行性; (2) 与形态学鉴定相比, 基于 *COI* 基因高通量测序的 eDNA 技术能够获得更多的物种数, 但是 eDNA 技术能确定到属的轮虫物种数少于形态学鉴定; (3) 两种方法均发现抚仙湖浮游动物群落结构组成具有时间衰减变化趋势, eDNA 技术比形态学鉴定更能辨别出不同季节浮游动物群落组成间的差异。尽管 eDNA 技术在检测轮虫物种数和浮游动物生物量上存在局限, 但其在检测浮游动物多样性和群落结构的季节性变动方面具有明显的优势。本研究利用野外周年监测样品, 尝试将 eDNA 技术应用于湖泊浮游动物检测, 发现基于 *COI* 基因的 eDNA 技术在浮游动物群落组成辨别中具有更高的分辨率, 但在浮游动物多样性研究和生态监测中推广该技术前需完善基因数据库。

关键词: 环境 DNA; 形态学鉴定; 浮游动物; 多样性; 抚仙湖

Comparative study on the biodiversity of zooplankton in Lake Fuxian based on environmental DNA technology and morphological identification*

Ren Yichen^{1,3**}, Fan Fangwei^{2,3,4**}, Xi Yilong^{1***}, Chen Feizhou^{3,5}, Li Yun^{3,5}, Ding Jianing^{3,4}, Gao Jiawei^{3,6}, Gu Yu^{3,4} & Li Huabing^{3,5***}

(1: School of Ecology and Environment, Anhui Normal University, Wuhu 241002, P.R.China)

(2: Sino-Danish College, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, P.R.China)

(3: State Key Laboratory of Lake and Watershed Science for Water Security, Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 211135, P.R.China)

(4: University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, P.R.China)

(5: The Fuxianhu Station of Plateau Deep Lake Research, Chinese Academy of Sciences, Yuxi 652500, P.R.China)

* 2024-12-31 收稿; 2025-03-07 收修改稿。

国家自然科学基金项目 (32171535, 32471626) 和中国科学院南京地理与湖泊研究所自主部署科研项目 (NIGLAS2022GS02) 联合资助。

** 并列第一作者。

*** 通信作者; E-mail: ylx1965@126.com; hbli@niglas.ac.cn。

(6: School of Life Sciences, Hebei University, Baoding 071002, P.R.China)

Abstract: Zooplankton is an important component of aquatic ecosystems, and is sensitive to external disturbances and changes in the water environment. Monitoring its species diversity and community composition can not only help us better understand the dynamics of lake ecosystems, but also provide a scientific basis for water quality management, which is of great significance for understanding lake ecosystems. In recent years, environmental DNA (eDNA) metabarcoding technology has been increasingly used in biological surveys. However, whether the results based on eDNA technology are in line with those obtained through traditional morphological identification for detecting zooplankton diversity in the field, remains unclear. In this study, we conducted a 2-year seasonal field survey in 2014 and 2015 in Lake Fuxian, aiming to compare the results obtained by eDNA technology and morphological identification in detecting the species diversity and community composition of zooplankton. The results showed that: (1) the eDNA metabarcoding technology based on high-throughput sequencing of mitochondrial Cytochrome *c* Oxidase I gene (*COI*) and morphological identification obtained the same seasonal trend of alpha diversity (species richness and Shannon-Wiener index) changes of zooplankton in Lake Fuxian during our 2-year period of field monitoring; (2) Compared to morphological identification, eDNA technology based on *COI* gene high-throughput sequencing could detect more species; though the number of rotifer species identified at the genus level was lower than that identified by morphological methods; (3) Both methods found that the zooplankton community structure in Lake Fuxian exhibited temporal decay trends, but eDNA technology was more effective than morphological identification in distinguishing seasonal differences in zooplankton community composition. Despite the limitations of eDNA technology in detecting rotifer species and zooplankton biomass, it has a clear advantage in detecting seasonal variations in zooplankton diversity and community structure. This study attempted to apply eDNA technology to zooplankton detection in lakes using field anniversary monitoring samples, and confirmed that *COI* based eDNA technology has higher resolution in the discrimination of zooplankton community composition, but its database needs to be improved before promoting eDNA technology in zooplankton diversity research and water ecology monitoring.

Keywords: Environmental DNA; morphological identification; zooplankton; diversity; Lake Fuxian

浮游动物作为水生生态系统微食物网中的主要消费者,同时也是传统食物网中鱼和虾的主要食物来源,是连接微食物网和传统食物网的重要枢纽^[1],在生物元素的循环、能量流动和水生生态系统的稳定中发挥着至关重要的作用^[2]。与此同时,浮游动物对外界干扰和环境变化反应敏感,经常被用作生物完整性和生态系统对多种环境压力反应的指标^[3]。因此,检测浮游动物的群落组成和多样性可以更好地了解湖泊生态系统的变化,为监测水域的生态健康情况提供重要数据支撑。

日趋完善的环境 DNA(eDNA)技术正逐渐被应用于浮游动物多样性的调查,但关于其与传统形态学鉴定结果的比较研究有待进一步开展。以往关于浮游动物多样性的检测基本使用传统网捕和传统生物个体的形态鉴定,然而这些方法通常需要耗费大量的时间且对鉴定人员的分类学鉴定专业知识要求较高^[4-5]等。eDNA 技术是指从土壤、水等环境中采样提取总 DNA 片段,使用通用引物进行 PCR 扩增并结合高通量测序,得到上百万条序列,再与已有的数据库中的序列信息进行对比,从而一次性对环境样品中的多个物种和类群进行快速、大规模鉴定的分子生物学方法。eDNA 技术为生物多样性调查提供了一种经济、有效且无创的方法,并克服了传统形态分类学的局限性^[6-8]。Xie 等利用 eDNA 技术发现在河流、湿地湖泊和水库生境中,浮游动物群落组成和分布格局各不相同^[9];Zhang 等利用 eDNA 技术监测了南极洲表层浮游动物的多样性,并发现叶绿素 *a* 和温度是影响浮游动物生物多样性的主要环境因子^[10]。除此之外,eDNA 在探索海洋、河流生境中浮游生物和鱼类群落的结构和空间分布,发现隐种、入侵物种和稀有物种,以及构建食物网等方面也发挥了重大作用^[11-14]。尽管 eDNA 技术提供了诸多的便利,但是关于该技术与传统形态学鉴定技术获得的浮游动物多样性结果的比较研究较少^[15-18],eDNA 技术是否能够取代形态学鉴定需要进一步的研究。

因此,本研究对抚仙湖浮游动物进行了 2 周年的季节性监测,比较研究了形态学鉴定和 eDNA 技术检测的多样性结果,以期在浮游动物多样性的野外检测中更好地应用 eDNA 技术提供依据和参考。

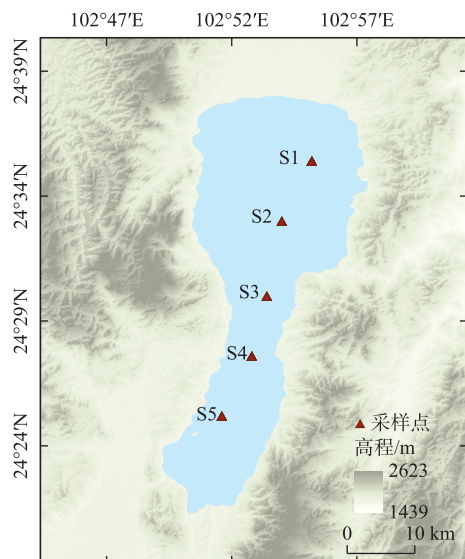


图1 抚仙湖采样位点

Fig.1 Distribution of sampling sites in Lake Fuxian

1 材料与方法

1.1 采样区域概况和样品采集

本研究调查区域位于云南省澄江市抚仙湖(图1)。抚仙湖是一个典型的高原湖泊,是云南省最大的淡水湖之一,也是中国十大深水湖泊之一。湖泊的总面积约为 25.6 km²,湖水最大深度达到 155 m,平均深度约为 89.7 m,具有重要的生态和水文功能^[19]。

2014 年和 2015 年每季度采样一次,共采集 8 次水体样本。以抚仙湖北部湖区 S1 为起点,在抚仙湖纵界面上每隔 5 km 设置 1 个采样点,共设置 5 个采样点(S1~S5,图1),每个采样点均在水下 0.5 m 处采样。使用 3.5 L×6 的多通道水样采集器(SlimLine, HYDRO-BIOS, Germany)采集水样,共采集 40 个水体样本(5 个采样点×8 次采样)。为了保证 eDNA 技术与形态学鉴定的结果具有可比性,两种方法均取 10 L 水样对浮游动物多样性指标进行检测。

1.2 浮游动物形态学分析样品的采集与鉴定

采用定量法采集淡水浮游动物,每个采样点取 20 L 水样,其中 10 L 通过 25[#]浮游生物网过滤浓缩,将滤出物装入标本瓶,并加入 5% 甲醛溶液固定。样品带回实验室,参照《淡水浮游生物研究方法》^[20]利用光学显微镜对浮游动物

进行观察、鉴定。

1.3 浮游动物 eDNA 样品的收集和生物信息分析

在实验室内,取上述剩余水样 10 L,在负压(<0.02 MPa)下通过孔径为 0.2 μm 的聚碳酸酯膜(Durapore™ Millipore, USA)过滤,收集浮游动物的 eDNA 样品^[21]。抽滤后立即将滤膜取下,置于 2 mL 无菌冻存管中,于-80 °C 的低温冰箱内保存直至 DNA 的提取^[22]。

使用 E.Z.N.A.® water DNA Kit (Omega, USA) 试剂盒对上述获得的 eDNA 样品进行 DNA 提取。使用线粒体细胞色素 c 氧化酶 I (Cytochrome c Oxidase I gene, COI) 基因引物 mlCOIintF (5'-GGWACWGGWTGAACWGTWTAYCCYCC-3') 和 jgHCO2198 (5'-TAIACYTCIGGRTGICCRAARAAYCA-3') 基因区域^[23]对获得的 eDNA 进行 PCR 扩增。20 μL 反应体系包括:4 μL 5 × FastPfu Buffer, 2 μL dNTP (2.5 mmol/L), 0.8 μL 正向引物和 0.8 μL 反向引物 (5 μmol/L), 0.4 μL FastPfu Polymerase, 10 ng Template DNA, 4.8 μL ddH₂O。PCR 反应程序如下:95 °C 预变性 2 min;第一次 PCR 循环由 16 个循环组成,其中在 95 °C 下变性 30 s,在 62 °C 下退火 30 s,在 72 °C 下延伸 45 s;在 72 °C 下延长 10 min,并在 10 °C 下保存。第二次 PCR 的条件与上述相同,但经过 25 个循环后,退火温度为 46 °C,延长时间为 60 s。PCR 产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳检测纯化,然后使用 QuantiFluor™-ST 蓝色荧光定量系统(Promega Corporation)进行定量,最后使用 Illumina MiSeq 平台进行测序^[24]。

对于高通量测序所得的原始数据,使用 TrimGalore v0.6.10 软件去除末尾的引物及 adapter 序列^[25],再使用 Fastx v0.014 (http://hannonlab.cshl.edu/fastx_toolkit/commandline.html) 去除末尾质量低于 Q15 的碱基后用 FLASH2 软件对数据进行两端合并,得到有效序列^[26]。然后使用 USEARCH v7.1 软件丢弃引物错配 2 个碱基以上的、长度短于 100 bp、总碱基错误率高于 2 的序列,得到优化后的序列^[27]。经质量控制后,采用 DADA2 算法^[28]从高质量测序序列中生成 ASV (amplicon sequence variant)。获得 ASV 代表序列后,剔除所在样品中仅测得 1 条序列的 ASV,并基于 NCBI 数据库对其代表序列进行物种注释。最终选取注释为枝角类、桡足类和轮虫的 ASV 用于后续分析。

1.4 统计与分析

1.4.1 浮游动物优势度 物种优势度(Y)^[29]表示浮游动物类群中某一物种所占的优势程度,计算公式为:

$$Y = \frac{N_i}{N} f_i \quad (1)$$

式中, N_i 表示第 i 种浮游动物的个体数(序列数), N 表示样品中浮游动物总个体数(总序列数), f_i 为第 i 种浮游动物在各采样点中出现的频率。在优势度的计算中, 形态学鉴定和 eDNA 技术计算的是属水平的优势度, 本文将 $Y > 0.02$ 的浮游动物确定为优势属, $Y > 0.1$ 的浮游动物确定为绝对优势属^[30]。

1.4.2 浮游动物 alpha 多样性指数 利用物种丰富度(Richness)和香农(Shannon-Wiener)多样性指数表征浮游动物 alpha 多样性, 其中物种丰富度用来衡量在一个特定的生态系统、样方或区域内物种的数量; Shannon-Wiener 指数不仅考虑了物种的数量(丰富度), 还考虑了每个物种的相对丰度(均匀度), 因此, 它能够同时反映群落中物种的多样性和分布的均匀性^[31-32], 使用 R 4.2.2 软件(<http://www.r-project.org>)中的 Vegan 2.5-7 包计算两种方法所得的浮游动物属水平 alpha 多样性^[33]。

1.4.3 统计和分析 应用软件 R 中 microeco v0.16.0 包对两种方法获得的数据进行物种组成计算^[34]; 形态学鉴定所得数据, 分别基于浮游动物丰度和生物量进行物种组成分析; 将 eDNA 技术与形态学鉴定获得的物种丰富度和 Shannon-Wiener 指数分别进行线性拟合以探讨两种方法获得的 alpha 多样性的一致性, 分别使用基于 Bray-Curtis 距离的属水平的非度量多维尺度分析(non-metric multidimensional scaling, NMDS)、置换多元方差分析(permutational multivariate analysis of variance, ADONIS)和相似性分析(analysis of similarities, ANOSIM)检验不同年份各季节浮游动物群落组成差异, 将各样品间的浮游动物群落组成 Bray-Curtis 距离与采样时间间隔进行线性拟合以探讨浮游动物群落结构组成差异随采样时间差异的变化规律。应用软件 R 4.2.2 中的 ANOVA 函数对不同年份不同季节浮游动物物种丰富度、Shannon-Wiener 指数的差异显著性进行统计学分析^[33-35]。

2 结果

2.1 浮游动物检测结果概况

基于抚仙湖 2014—2015 年 8 次采样的 40 个浮游动物 eDNA 样品, 通过高通量测序获得 617667 条 COI 序列, 鉴定出 3135 个 ASVs。经过严格的筛选和质量控制, 最终选取了枝角类、桡足类和轮虫的 925 个浮游动物 ASVs(共 484880 条序列, 平均每个样本 12122 个序列), 包括 2 门 4 纲 6 目 17 科 18 属。

通过光学显微镜对 40 个样本中的浮游动物进行鉴定, 浮游动物丰度为 4325 ind./L, 其中轮虫丰度为 3478 ind./L, 枝角类丰度为 149 ind./L, 桡足类丰度为 35 ind./L, 共检测到 2 门 4 纲 6 目 16 科 22 属。在浮游动物生物量方面, 形态学鉴定获得浮游动物总生物量为 28.01 mg/L, 其中轮虫生物量为 18.11 mg/L, 枝角类生物量为 3.91 mg/L, 桡足类生物量为 0.90 mg/L(附表 I)。

2.2 抚仙湖浮游动物物种组成

两种方法共同检出浮游动物 2 门 3 纲 5 目 12 科 12 属, eDNA 技术检出的物种类别与形态学鉴定检出的物种类别在不同分类水平的重复占比存在差异(附表 II)。总体上, 这两种方法在门、纲、目、科和属水平检测重复占比分别为 100%、75%、83%、75% 和 55%(附表 II); 对于枝角类, 两种方法在门、纲、目和科水平检测重复占比均为 100%, 属水平为 67%; 对于桡足类, 在门、纲、目和科水平检测重复占比均为 100%, 属水平为 67%; 对于轮虫, 在门和纲水平的检测重复占比均为 100%, 在目和科水平均为 67%, 属水平为 50%(图 2、附表 II)。具体地, 在门水平, 两种方法均检测出节肢动物门(Arthropoda)和轮虫门(Rotifera); 在纲水平为鳃足纲(Branchiopoda)、六幼生纲(Hexanauplia)和真轮纲(Eurotatoria); 在目水平包括哲水蚤目(Calanoida)、剑水蚤目(Cyclopoida)和双甲目(Diplostroica); 在科水平包括晶囊轮科(Asplanchnidae)、臂尾轮科(Branchionidae)和聚花轮科(Conochilidae)等 12 科; 在属水平包括晶囊轮属(Asplanchna)、聚花轮属(Conochilus)和腔轮属(Lecane)等 12 属(图 2、附表 III)。

eDNA 检测结果显示, 抚仙湖 2014 年和 2015 年浮游动物主要由龟甲轮属(Keratella)、多肢轮属(Polyarthra)、异尾轮属(Trichocerca)和一种未确定到属的枝角类(unclassified_Cladocera)组成, 其相对丰度之和大于 50%(图 3a)。优势度统计结果表明, 在 2014 年, 轮虫中的龟甲轮属在春、夏和秋季均为优势属; 多肢轮属在春、秋和冬 3 个季节均为优势属; 枝角类中一个未鉴定到属的 ASV 全年保持优势地位, 且在各季节的优势

度均大于 0.1;而桡足类只有叶镖水蚤属 (*Phyllodiaptomus*) 在冬季为优势属 (附表 IV)。除少数优势属存在差异外,抚仙湖浮游动物 2015 年的季节性变化与 2014 年基本一致。比较分析显示:2015 年异尾轮属 (轮虫) 在春、夏、冬三季均为优势属 (优势度 > 0.1);多肢轮属在春、夏、秋三季均为优势属;枝角类中一个未确定到属的 ASV 四季均保持优势;叶镖水蚤属 (桡足类) 在夏、秋季均为优势属 (图 3, 附表 IV)。

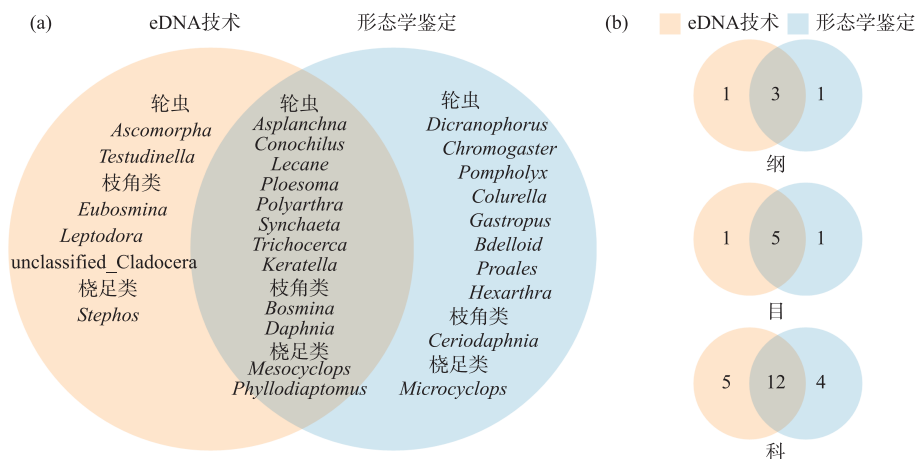


图 2 韦恩图显示 eDNA 技术与形态学鉴定检出的物种及物种数:(a)两种方法在属水平分别检出和共同检出的物种;(b)两种方法在纲、目和科水平检出的物种数

Fig.2 Venn diagram showed species and number of species detected by eDNA metabarcoding technology and morphological identification: (a) species detected separately and jointly by both methods at the genus level; (b) number of species detected by both methods at the class, order and family levels

形态学鉴定结果显示,抚仙湖 2014 年和 2015 年浮游动物主要由疣毛轮属 (*Synchaeta*)、龟甲轮属、多肢轮属、异尾轮属和网纹蚤属 (*Ceriodaphnia*) 组成 (图 3b,c)。优势度统计结果表明,在 2014 年,疣毛轮属和多肢轮属全年均为优势属,其中疣毛轮属为绝对优势属 (优势度均大于 0.1);枝角类在冬季较少,春季和夏季以象鼻蚤属 (*Bosmina*) 为优势属,秋季以网纹蚤属为优势属;桡足类只在秋季较多,以叶镖水蚤属和中剑水蚤属 (*Mesocyclops*) 为优势属 (附表 IV)。抚仙湖浮游动物优势属 2015 年的季节性变化与 2014 年基本一致 (图 3, 附表 IV)。

2.3 抚仙湖浮游动物 alpha 多样性

使用物种丰富度和 Shannon-Wiener 多样性指数评估两种方法在不同季节获得的抚仙湖浮游动物 alpha 多样性的变化趋势。结果表明,eDNA 技术检测的抚仙湖浮游动物 alpha 多样性在 2014—2015 年季节性变化趋势与形态学鉴定结果一致,但是前者得到的物种丰富度和 Shannon-Wiener 指数相对较高,物种丰富度均在 150 以上,Shannon-Wiener 指数也远远大于形态学鉴定的结果 (最大为 6) (图 4)。eDNA 分析结果表明,在 2014 年和 2015 年,抚仙湖浮游动物物种丰富度的变化趋势均表现为秋季较高、夏季和冬季较低。虽然 2014 年抚仙湖 4 个季节之间的浮游动物物种丰富度无显著差异,但也表现出一定的变化趋势:秋季最高,为 422 个 ASVs,春、夏季较低,分别为 254 和 235 个 ASVs (图 4a);2015 年抚仙湖浮游动物夏、秋季的物种丰富度较高,分别为 477 和 468 个 ASVs,冬季最低,为 186 个 ASVs,且夏、秋季的物种丰富度显著高于冬季 (one-way ANOVA, $P < 0.05$; 图 4a)。形态学鉴定检测的 2014 年春、秋季物种丰富度较高,分别为 6.2 和 5.8,夏季最低,为 3.2,2015 年抚仙湖浮游动物的物种丰富度也在春、秋季较高,分别为 5.4 和 5.8,冬季最低,为 4,但两周年的检测中不同季节间的物种丰富度无显著差异 (one-way ANOVA, $P > 0.05$; 图 4b)。此外,将形态学鉴定与 eDNA 技术获得的浮游动物物种丰富度进行线性拟合,结果表明两种方法获得的物种多样性存在明显的正相关关系 ($R^2 = 0.09$, $P = 0.05$; 图 4c)。

基于 eDNA 的抚仙湖浮游动物 Shannon-Wiener 指数的变化趋势为春季最高,秋季和冬季次之,夏季最

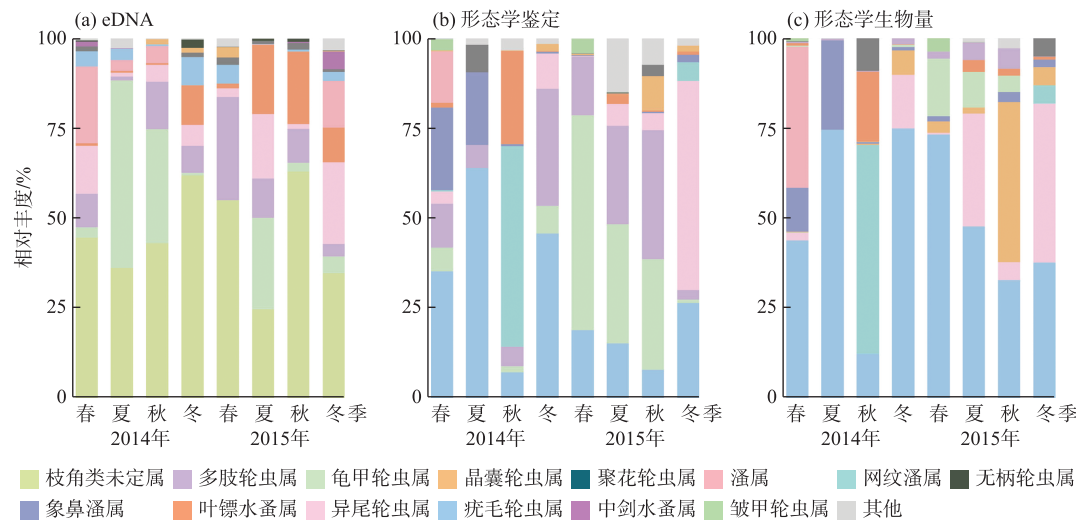


图 3 2014—2015 年两种方法检测的浮游动物优势属比较：
eDNA 检测 (a) 和形态学鉴定 (b) 下浮游动物属水平相对丰度排名前 10 的群落组成；
形态学鉴定下浮游动物属水平相对生物量排名前 10 的群落组成 (c)
Fig.3 The comparison of dominant zooplankton genera detected by two methods during 2014–2015:
Composition of the top 10 communities in terms of relative abundance of zooplankton at genus level
by eDNA metabarcoding technology (a) and morphological identification (b); Composition of the top
10 communities in terms of relative biomass at the genus level of zooplankton
identified under morphological identification (c)

低,这与形态学鉴定检测到的浮游动物 Shannon-Wiener 指数在这 2 周年内的季节性变化趋势一致,并且 eDNA 技术分析获得的 Shannon-Wiener 多样性指数也同样大于形态学鉴定的结果(图 4d、e)。eDNA 技术检测到的 2014 年浮游动物 Shannon-Wiener 指数春季最高,为 4.87,其次是冬季(4.39)、秋季(4.21),夏季最低(3.19),且夏季显著低于其他 3 个季节(one-way ANOVA, $P < 0.05$;图 4d);2015 年趋势与 2014 年一致,且春季(4.84)和秋季(4.72)的 Shannon-Wiener 指数显著高于冬季(3.77)(one-way ANOVA, $P < 0.05$;图 4d)。虽然形态学鉴定检测的浮游动物 Shannon-Wiener 指数的变化趋势与 eDNA 技术一致,但是两周年不同季节间无显著差异(one-way ANOVA, $P > 0.05$;图 4e)。此外,将形态学鉴定与 eDNA 技术获得的浮游动物 Shannon-Wiener 指数进行线性拟合,结果表明两种方法获得的 Shannon-Wiener 指数存在显著正相关关系($R^2 = 0.09$, $P < 0.05$;图 4f)。

2.4 抚仙湖浮游动物 beta 多样性

NMDS 用于研究季节间浮游动物群落之间的群落组成。基于 Bray-Curtis 距离分别对 eDNA 技术和形态学鉴定获得的浮游动物群落组成进行非度量多维尺度分析,基于 Bray-Curtis 距离的置换多元方差分析和相似性分析结果均表明,eDNA 技术能检测出更多不同季节间浮游动物群落结构组成差异:在 28 组比较中,eDNA 技术能检验出 21 组显著性差异($P < 0.05$,附表 V,图 5a),而形态学鉴定仅能检验出 17 组显著性差异($P < 0.05$,附表 V,图 5d)。

抚仙湖各采样点间浮游动物群落结构组成的差异在不同季节也存在差异:eDNA 技术检测结果表明,在 2014 年夏季和秋季低于其余 2 个季节,而在 2015 年冬季显著高于其余 3 个季节($P < 0.05$;图 5b);类似地,形态学鉴定结果也表明,在 2014 年夏、秋两季较低,而在 2015 年春季低于其余 3 个季节(图 5e)。两种方法获得的各采样点浮游动物群落结构组成之间的不相似性均随着采样时间差异的增大而增大,即均存在时间衰减模式(图 5c 和 f)。

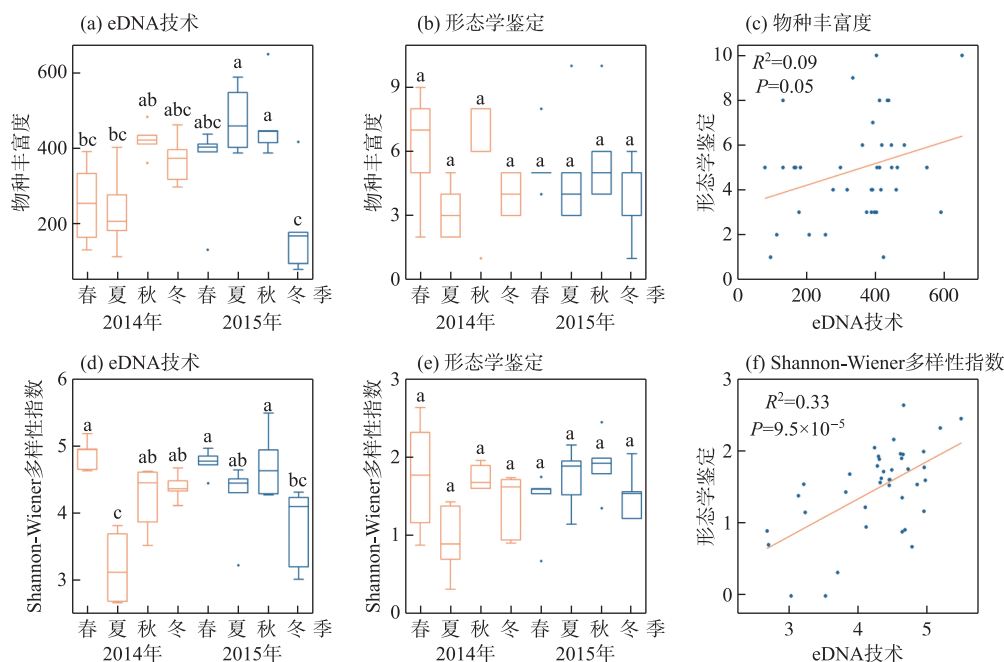


图4 2014年和2015年不同季节两种方法检测到的浮游动物 alpha 多样性;eDNA 技术(a)和形态学鉴定(b)检测到的浮游动物物种丰富度;eDNA 技术与形态学鉴定所得物种丰富度的线性拟合(c);eDNA 技术(d)和形态学鉴定(e)检测到的浮游动物 Shannon-Wiener 多样性指数;eDNA 技术与形态学鉴定所得 Shannon-Wiener 多样性指数的线性拟合(f) (箱线图顶端不同字母表示单因素方差分析具有显著性差异)

Fig.4 Zooplankton alpha diversity in different seasons in 2014 and 2015 detected by two different methods:

Species richness of zooplankton detected by eDNA metabarcoding technology (a) and morphological identification (b); Linear fit of species richness between eDNA metabarcoding technology and morphological identification (c); Shannon-Wiener index of zooplankton detected by eDNA metabarcoding technology (d) and morphological identification (e); Linear fit of Shannon-Wiener index between eDNA metabarcoding technology and morphological identification (f) (Different letters at the top of the box plot indicate significant differences in one-way ANOVA)

3 讨论

3.1 基于 eDNA 技术与形态学鉴定检测出的浮游动物群落组成的比较分析

本研究基于形态学鉴定的抚仙湖浮游动物优势种群结果与以往相关研究基本一致:杜程鹏等在 2012 年 10 月对抚仙湖浮游动物的调查发现,优势种群包括螺胶鞘轮虫、小型腹尾轮虫、形龟甲轮虫、广生多肢轮虫、象鼻溞、舌状叶镖水蚤等^[36]。后 4 种浮游动物在冯钟等于 2015 年对抚仙湖全湖进行月度调查中也是优势种,此外,冯钟等还发现方形网纹溞和盔型溞也为优势种^[37]。尽管这些研究的调查区域与本研究存在差异,但优势种组成高度吻合(表 2、图 3)。

本研究基于 eDNA 技术检测的抚仙湖浮游动物优势属,包括未确定到属的枝角类、龟甲轮属、多肢轮属、异尾轮属以及叶镖水蚤属。这与本研究及其他研究^[36-37]基于形态学鉴定的结果大致相同,均检测出龟甲轮虫、多肢轮虫、象鼻溞、网纹溞、叶镖水蚤和中剑水蚤等。然而,部分类群(如没尾无柄轮属)仅被 eDNA 技术检出。这反映了 eDNA 技术的独特优势:不受个体大小限制,可检测形态学方法难以辨别的微型浮游动物^[15]。

3.2 基于 eDNA 技术与形态学鉴定检测出的浮游动物 alpha 多样性的比较分析

比较形态学与 eDNA 技术的浮游动物多样性检测结果,是优化 eDNA 技术应用的关键基础。在中宇宙

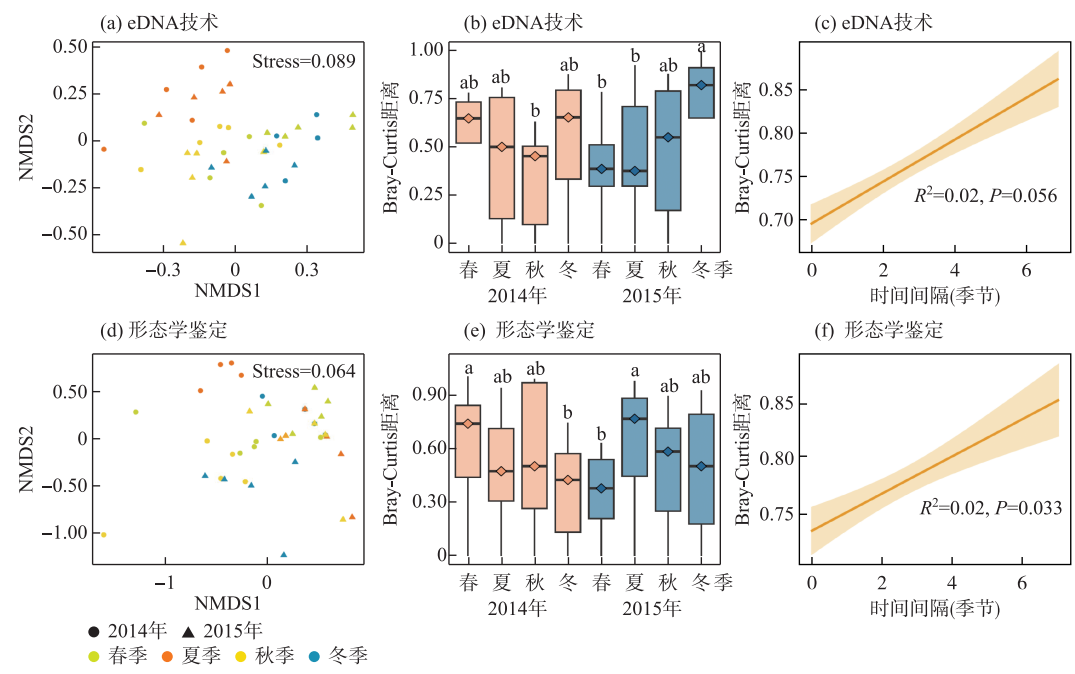


图 5 2014 年和 2015 年不同季节两种方法检测到的浮游动物群落组成差异比较：
eDNA 技术获得的浮游动物群落组成 NMDS 分析 (a) ;eDNA 技术获得的浮游动物群落
Bray-Curtis 距离箱线图 (b) ;eDNA 技术获得的浮游动物群落差异和采样时间间隔的线性拟合 (c) ;
形态学鉴定获得的浮游动物群落组成 NMDS 分析 (d) ;形态学鉴定获得的浮游动物群落
Bray-Curtis 距离 (e) ;形态学鉴定获得的浮游动物群落差异和采样时间间隔的线性拟合 (f)
(顶端不同字母表示单因素方差分析具有显著性差异)

Fig.5 NMDS analysis of zooplankton community composition detected in different seasons in
2014 and 2015 by both methods: NMDS analysis of zooplankton community composition obtained
by eDNA metabarcoding technology (a) ; Bray-Curtis distance of zooplankton community obtained
by eDNA metabarcoding technology (b) ; Linear fit of zooplankton community differences and sampling
time intervals obtained by eDNA metabarcoding technology (c) ; NMDS analysis of zooplankton
community composition obtained by morphological identification (d) ; Bray-Curtis distance of
zooplankton community obtained by morphological identification (e) ; Linear fit of zooplankton
community differences and sampling time intervals obtained by morphological identification (f)
(Different letters at the top of the box plot indicate significant differences in one-way ANOVA)

实验系统、海洋、河流及公园水体的比较研究中均发现,相较于形态学鉴定,eDNA 技术能够获得更高的浮游动物物种多样性指数^[15-17,38-39]。类似地,本研究对高原深水湖泊的季节性监测中也发现 eDNA 技术能够检测出更高的浮游动物物种多样性。然而尽管在门和纲水平上,两种方法检测到的物种数相同,但是在更低的分类水平上,如目、科和属水平上,eDNA 检测到的物种数少于形态学鉴定,尤其是在轮虫的数量上(附表 II,附表 III)。这一结果与在河流、水库以及海洋系统中的研究不同^[15-17,38-39],但与 Feng 等的研究结果一致^[13]。在较低的分类水平,eDNA 技术检测出的浮游动物(尤其是轮虫)物种数少于形态学鉴定的主要原因可能是,浮游动物种内多样性高但其 eDNA 数据不全,导致 NCBI 数据库中浮游动物信息较少^[40],尤其缺少轮虫的基因序列^[41],导致 eDNA 测序获得的许多浮游动物序列只能注释到较高的分类单元。尽管两种方法获得的物种多样性指数存在差异,但 eDNA 与形态学方法检测的抚仙湖浮游动物 alpha 多样性在两年间呈现一致的季节性变化趋势,且两者呈显著正相关(图 4c、f),这与海洋、河流和水库生态系统中的研究结果

一致^[38-39]。

3.3 基于 eDNA 技术与形态学鉴定检测出的浮游动物 beta 多样性的比较分析

依据对抚仙湖不同采样点的 2014—2015 年季节性监测发现, eDNA 技术和形态学鉴定获得的不同样品间浮游动物群落组成差异 (Bray-Curtis 距离) 与采样时间差异均呈线性正相关 (图 5c、f), 即均具有时间衰减模式。然而, 基于 Bray-Curtis 度量的置换多元方差分析 (ADONIS) 结果表明, eDNA 技术检测到的浮游动物群落不同季节间的组成差异更为显著 (附表 V、图 5a、d), 这也证实了 eDNA 技术相比于传统形态学鉴定更为灵活, 能够更为敏感地反映出物种群落组成的差异^[42-45]。此外, 相较于形态学鉴定, eDNA 技术的人为操作误差更小^[6-8], 值得注意的是, eDNA 技术可检测所有生命阶段的生物体, 而形态学方法通常仅能识别成虫阶段^[43-47], 这一优势使 eDNA 能更全面地反映浮游动物群落特征。同时, Kaartvedt 等发现一些桡足类浮游动物能够积极灵活地躲避网捕^[48], 而 eDNA 技术在桡足类物种鉴定中表现出更广泛的物种覆盖和更强的分辨能力, 能够更深入地揭示潜在的生物多样性^[49]。这些因素共同导致了形态学鉴定在准确获得浮游动物群落的组成上存在局限性。

虽然 eDNA 技术有诸多优点, 但在实际应用中该技术仍存在一些局限性。首先, eDNA 技术无法直接观察到物种本身, 也不能获得浮游动物生物量等重要生态指标^[50]。此外, 由于当前浮游动物数据库的不完善, 特别是轮虫等种类信息的缺失, eDNA 技术的检测结果不能全面收集所有目标物种的信息^[39-41]。因此, 在进行浮游动物多样性和群落结构组成研究时, 建议将 eDNA 技术与形态学鉴定相结合, 以期获得到更完整和准确的结果。

4 结论

1) 在 2014 年和 2015 年对抚仙湖季节性周年监测中, 基于 *COI* 基因高通量测序的 eDNA 技术与形态学鉴定检测到的浮游动物 alpha 多样性变化趋势一致。

2) 与形态学鉴定相比, 基于 *COI* 基因高通量测序的 eDNA 技术能够获得更多的物种数, 但是其确定到属的轮虫物种数少于形态学鉴定。

3) 两种方法均发现抚仙湖浮游动物群落结构组成具有时间衰减变化趋势, 但 eDNA 技术比形态学鉴定更能反映出不同季节浮游动物群落组成间的差异。

5 附录

附表 I ~ V 见电子版 (DOI: 10.18307/2025.0407)。

6 参考文献

- [1] Caron DA, Worden AZ, Countway PD *et al.* Protists are microbes too: A perspective. *The ISME Journal*, 2008, **3**(1): 4-12. DOI: 10.1038/ismej.2008.101.
- [2] Khaksar F, Manavi PN, Ardalan AA *et al.* Concentration of polycyclic aromatic hydrocarbons in zooplanktons of Bushehr coastal waters (north of the Persian Gulf). *Marine Pollution Bulletin*, 2019, **140**: 35-39. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2019.01.029.
- [3] Li W, Xu XG, Yao JM *et al.* Combined effects of elevated carbon dioxide and temperature on phytoplankton-zooplankton link: A multi-influence of climate change on freshwater planktonic communities. *Science of the Total Environment*, 2019, **658**: 1175-1185. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.12.180.
- [4] Rees HC, Maddison BC, Middleditch DJ *et al.* REVIEW: The detection of aquatic animal species using environmental DNA—A review of eDNA as a survey tool in ecology. *Journal of Applied Ecology*, 2014, **51**(5): 1450-1459. DOI: 10.1111/1365-2664.12306.
- [5] Chen JY, Wang SP, Yan ZG *et al.* eDNA of zooplankton reveals the ecological community thresholds for key environmental factors in the Baiyangdian Lake aquatic ecosystem. *Environmental Sciences Europe*, 2023, **35**(1): 56. DOI: 10.1186/s12302-023-00761-0.
- [6] Pedersen MW, Overballe-Petersen S, Ermini L *et al.* Ancient and modern environmental DNA. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2015, **370**(1660): 20130383. DOI: 10.1098/rstb.2013.0383.
- [7] Fan JT, Wang SP, Li H *et al.* Modeling the ecological status response of rivers to multiple stressors using machine learning: A comparison of environmental DNA metabarcoding and morphological data. *Water Research*, 2020, **183**: 116004. DOI: 10.1016/j.watres.2020.116004.
- [8] Deiner K, Bik HM, Mächler E *et al.* Environmental DNA metabarcoding: Transforming how we survey animal and plant communities. *Molecular Ecology*, 2017, **26**(21): 5872-5895. DOI: 10.1111/mec.14350.

- [9] Xie RL, Zhao GF, Yang JH *et al.* eDNA metabarcoding revealed differential structures of aquatic communities in a dynamic freshwater ecosystem shaped by habitat heterogeneity. *Environmental Research*, 2021, **201**: 111602. DOI: 10.1016/j.envres.2021.111602.
- [10] Zhang ZS, Bao YC, Fang XY *et al.* A circumpolar study of surface zooplankton biodiversity of the Southern Ocean based on eDNA metabarcoding. *Environmental Research*, 2024, **255**: 119183. DOI: 10.1016/j.envres.2024.119183.
- [11] Lindeque PK, Parry HE, Harmer RA *et al.* Next generation sequencing reveals the hidden diversity of zooplankton assemblages. *PLoS One*, 2013, **8**(11): e81327. DOI: 10.1371/journal.pone.0081327.
- [12] Yang JH, Zhang XW. eDNA metabarcoding in zooplankton improves the ecological status assessment of aquatic ecosystems. *Environment International*, 2020, **134**: 105230. DOI: 10.1016/j.envint.2019.105230.
- [13] Feng YZ, Sun D, Shao QW *et al.* Mesozooplankton biodiversity, vertical assemblages, and diel migration in the western tropical Pacific Ocean revealed by eDNA metabarcoding and morphological methods. *Frontiers in Marine Science*, 2022, **9**: 1004410. DOI: 10.3389/fmars.2022.1004410.
- [14] Choi JH, Kim S, Kim CG. Evaluating zooplankton species diversity using environmental DNA and bulk-DNA metabarcoding in the Ulleung Basin of the Southeastern Korean Peninsula in the summer. *Frontiers in Marine Science*, 2024, **11**: 1351148. DOI: 10.3389/fmars.2024.1351148.
- [15] Gao YC, Li HT, Wang XC *et al.* Research on zooplankton diversity using DNA-based metabarcoding technique: A case study in the Yalvjiang Estuary. *Acta Ecologica Sinica*, 2020, **40**(11): 3822-3832. DOI: 10.5846/stxb201903100451. [高养春, 李海涛, 王孝程等. 利用宏 DNA 条形码研究浮游动物多样性——以鸭绿江口为例. 生态学报, 2020, **40**(11): 3822-3832.]
- [16] Tang SQ, Wang Q, Liu L *et al.* Biodiversity of aquatic invertebrates based on environmental DNA metabarcoding technology: A case study of Lake Haizhu in Guangzhou. *J Lake Sci*, 2023, **35**(4): 1443-1461. DOI: 10.18307/2023.0437. [唐诗琴, 王庆, 刘璐等. 基于 eDNA 宏条形码技术的水体无脊椎动物多样性研究: 以广州海珠湖为例. 湖泊科学, 2023, **35**(4): 1443-1461.]
- [17] Song JX, Liang D. Community structure of zooplankton and its response to aquatic environmental changes based on eDNA metabarcoding. *Journal of Hydrology*, 2023, **622**: 129692. DOI: 10.1016/j.jhydrol.2023.129692.
- [18] Arreguín-Rebolledo U, Pérez-Osuna F, Betancourt-Lozano M *et al.* Multi-and transgenerational synergistic effects of glyphosate and chlorpyrifos at environmentally relevant concentrations in the estuarine rotifer *Proales similis*. *Environmental Pollution*, 2023, **318**: 120708. DOI: 10.1016/j.envpol.2022.120708.
- [19] 中国科学院南京地理与湖泊研究所. 抚仙湖. 北京: 海洋出版社, 1990.
- [20] 章宗涉, 黄祥飞. 淡水浮游生物研究方法. 北京: 科学出版社, 1995: 333-344.
- [21] Zhou TX, Luo WL, Da J *et al.* Spatial distribution of bacterioplankton community composition and their diversity in Lake Fuxian during the thermal stratification period. *J Lake Sci*, 2022, **34**(5): 1642-1655. DOI: 10.18307/2022.0518. [周天旭, 罗文磊, 宣俊等. 抚仙湖垂向分层期间水体细菌群落结构组成及多样性的空间分布. 湖泊科学, 2022, **34**(5): 1642-1655.]
- [22] Da J, Xi YL, Cheng YS *et al.* The effects of intraguild predation on phytoplankton assemblage composition and diversity: A mesocosm experiment. *Biology*, 2023, **12**(4): 578. DOI: 10.3390/biology12040578.
- [23] Leray M, Yang JY, Meyer CP *et al.* A new versatile primer set targeting a short fragment of the mitochondrial COI region for metabarcoding metazoan diversity: Application for characterizing coral reef fish gut contents. *Frontiers in Zoology*, 2013, **10**: 34. DOI: 10.1186/1742-9994-10-34.
- [24] Tourlousse DM, Yoshiike S, Ohashi A *et al.* Synthetic spike-in standards for high-throughput 16S rRNA gene amplicon sequencing. *Nucleic Acids Research*, 2017, **45**(4): e23. DOI: 10.1093/nar/gkw984.
- [25] Krueger F, James F, Ewels P *et al.* TrimGalore: v0.6.10 - add default decompression path (0.6.10). DOI:10.5281/zenodo.7598955.
- [26] Magoč T, Salzberg SL. FLASH: Fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. *Bioinformatics*, 2011, **27**(21): 2957-2963. DOI: 10.1093/bioinformatics/btr507.
- [27] Edgar RC. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics*, 2010, **26**(19): 2460-2461. DOI: 10.1093/bioinformatics/btq461.
- [28] Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ *et al.* DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 2016, **13**(7): 581-583. DOI: 10.1038/nmeth.3869.
- [29] McNaughton SJ. Relationships among functional properties of Californian grassland. *Nature*, 1967, **216**(5111): 168-169. DOI: 10.1038/216168b0.
- [30] Tan HC, Wang YY, Cheng YL *et al.* Dynamic analysis of niche and interspecific association of dominant phytoplankton species in Xiashan Reservoir. *J Lake Sci*, 2023, **35**(3): 844-853. DOI: 10.18307/2023.0308. [谭好臣, 王媛媛, 陈阳亮等. 多水源水库浮游植物优势种生态位及种间联结性动态分析: 以山东峡山水库为例. 湖泊科学, 2023, **35**(3): 844-853.]
- [31] Ma KP. Measurement of biotic community diversity I α diversity (Pat 1). *Biodiversity Science*, 1994, **2**(3): 162-168. DOI: 10.17520/biods.1994027. [马克平. 生物群落多样性的测度方法 I: α 多样性的测度方法(上). 生物多样性, 1994, **2**(3): 162-168.]
- [32] Liu CR, Ma KP. Measurement of biotic community diversity: Methods for estimating the number of species in a community. *Acta Hydrobio-*

- logica Sinica*, 1997, **17**(6): 39-48. [刘灿然, 马克平. 生物群落多样性的测度方法: 生物群落物种数目的估计方法. 生态学报, 1997, **17**(6): 39-48.]
- [33] Oksanen J, Blanchet FG, Friendly M *et al.* Vegan community ecology package version 2.5-7 November 2020, 2020.
- [34] Liu C, Cui YM, Li XZ *et al.* Microeco: An R package for data mining in microbial community ecology. *FEMS Microbiology Ecology*, 2021, **97**(2): fiae255. DOI: 10.1093/femsec/fiae255.
- [35] Wen T, Niu GQ, Chen T *et al.* The best practice for microbiome analysis using R. *Protein & Cell*, 2023, **14**(10): 713-725. DOI: 10.1093/procel/pwad024.
- [36] Du CP, Li YH, Zhao PP *et al.* The species composition of metazoan zooplankton and water quality evaluation of Lake Fuxian. *Environmental Science Survey*, 2013, **32**(4): 46-50. [杜程鹏, 李艳华, 赵萍萍等. 抚仙湖后生浮游动物种类组成及水质评价. 环境科学导刊, 2013, **32**(4): 46-50.]
- [37] Feng Z, Zhao SY, Chen L *et al.* Identification of zooplankton community distribution and its influencing factors in Fuxian Lake. *J Yunnan Norm Univ*, 2018, **38**(5): 56-65. DOI:10.7699/j.ynnu.ns-2018-065. [冯钟, 赵帅营, 陈丽等. 抚仙湖浮游动物群落分布特征及其影响因子分析. 云南师范大学学报:自然科学版, 2018, **38**(5): 56-65.]
- [38] Chen Y, Wang H, Gong YC *et al.* Benefits of combined environmental DNA and microscopy for diversity monitoring in rotifer community: A mesocosm experiment. *Ecological Indicators*, 2023, **155**: 110930. DOI: 10.1016/j.ecolind.2023.110930.
- [39] Ji CW, Oh HJ, Chang KH *et al.* A comparative analyzing of zooplankton community diversity in surface layer water of reservoir via eDNA metabarcoding and microscopy. *Diversity*, 2022, **14**(10): 797. DOI: 10.3390/d14100797.
- [40] Bucklin A, Lindeque PK, Rodriguez-Ezpeleta N *et al.* Metabarcoding of marine zooplankton: Prospects, progress and pitfalls. *Journal of Plankton Research*, 2016, **38**(3): 393-400. DOI: 10.1093/plankt/flw023.
- [41] Cantera I, Giachello S, Münkemüller T *et al.* Describing functional diversity of communities from environmental DNA. *Trends in Ecology & Evolution*, 2025, **40**(2): 170-179. DOI: 10.1016/j.tree.2024.10.007.
- [42] Li XD, Wang XY, Xu MG *et al.* Progress on the usage of the rotifer *Brachionus plicatilis* in marine ecotoxicology: A review. *Aquatic Toxicology*, 2020, **229**: 105678. DOI: 10.1016/j.aquatox.2020.105678.
- [43] Davy CM, Kidd AG, Wilson CC. Development and validation of environmental DNA (eDNA) markers for detection of freshwater turtles. *PLoS One*, 2015, **10**(7): e0130965. DOI: 10.1371/journal.pone.0130965.
- [44] Flynn JM, Brown EA, Chain FJJ *et al.* Toward accurate molecular identification of species in complex environmental samples: Testing the performance of sequence filtering and clustering methods. *Ecology and Evolution*, 2015, **5**(11): 2252-2266. DOI: 10.1002/ece3.1497.
- [45] Harvey JBJ, Johnson SB, Fisher JL *et al.* Comparison of morphological and next generation DNA sequencing methods for assessing zooplankton assemblages. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2017, **487**: 113-126. DOI: 10.1016/j.jembe.2016.12.002.
- [46] Djurhuus A, Pitz K, Sawaya NA *et al.* Evaluation of marine zooplankton community structure through environmental DNA metabarcoding. *Limnology and Oceanography: Methods*, 2018, **16**(4): 209-221. DOI: 10.1002/lom3.10237.
- [47] 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. *PLoS One*, 2016, **11**(3): e0149786. DOI: 10.1371/journal.pone.0149786.
- [48] Kaartvedt S, Staby A, Aksnes DL. Efficient trawl avoidance by mesopelagic fishes causes large underestimation of their biomass. *Marine Ecology Progress Series*, 2012, **456**: 1-6. DOI: 10.3354/meps09785.
- [49] Wang M, Jin XW, Lin XL *et al.* Advances in the macrozoobenthos biodiversity monitoring and ecosystem assessment using environmental DNA metabarcoding. *Acta Ecologica Sinica*, 2021, **41**(18): 7440-7453. DOI: 10.5846/stxb202009162441. [王萌, 金小伟, 林晓龙等. 基于 eDNA-宏条形码技术的底栖动物监测及水质评价研究进展. 生态学报, 2021, **41**(18): 7440-7453.]
- [50] Qin CX, Zuo T, Yu G *et al.* Advances in research of environmental DNA (eDNA) in biomass assessment of aquatic ecosystems. *South China Fisheries Science*, 2020, **16**(5): 123-128. [秦传新, 左涛, 于刚等. eDNA 在水生生态系统生物量评估中的研究进展. 南方水产科学, 2020, **16**(5): 123-128.]

附表 I 两种方法检测结果统计			
Attached Tab. I Two methods for result detection and statistics			
检测方法	浮游动物	数量	
eDNA 技术	总体	序列数	484880
	枝角类	序列数	226652
	桡足类	序列数	45106
	轮虫	序列数	213083
形态学鉴定	总体	丰度/(ind./L)	4325
		生物量/(mg/L)	28.00617
	枝角类	丰度/(ind./L)	149
		生物量/(mg/L)	3.910313
	桡足类	丰度/(ind./L)	35
		生物量/(mg/L)	0.900129
	轮虫	丰度/(ind./L)	3478
		生物量/(mg/L)	18.11395

附表 II 两种方法共同检出浮游动物物种数及其占形态学鉴定检出的比例						
Attached Tab. II Number of zooplankton species detected by the two methods and its proportion of detections by morphological identification						
分类单元	共同检出	门	纲	目	科	属
总体	物种数	2	3	5	12	12
	占比*	100%	75%	83%	75%	55%
枝角类	物种数	1	1	1	2	2
	占比*	100%	100%	100%	100%	67%
桡足类	物种数	1	1	2	2	2
	占比*	100%	100%	100%	100%	67%
轮虫	物种数	1	1	2	8	8
	占比*	100%	100%	67%	67%	50%

*共同检出物种数占形态学浮游动物检出物种数百分比。

附表III 两种方法检出浮游动物物种比较			
Attached Tab.III Comparison of zooplankton detected by two methods			
分类水平	eDNA 技术	共同检出	形态学鉴定
门		节肢动物门(Arthropoda)	
		轮虫门(Rotifera)	
纲	软甲纲(Malacostraca)	鳃足纲(Branchiopoda)	甲壳纲(Crustaceans)
		六幼生纲(Hexanauplia)	
		真轮纲(Eurotatoria)	
目	磷虾目(Euphausiacea)	哲水蚤目(Calanoida)	单巢目(Monogononta)
		剑水蚤目(Cyclopoida)	

双甲目(Diplostraca)			
簇轮虫目(Flosculariaceae)			
游泳目(Ploima)			
科	冠轮科(Stephidae)	晶囊轮科(Asplanchnidae)	镜轮科(Proalidae)
	宏毛科(Macrotrichidae)	腹尾轮科(Gastropodidae)	蛭科(Bdelloidae)
	薄皮蚤科(Leptodoridae)	臂尾轮科(Brachionidae)	鳞壳科(Lepadellidae)
	狭蚌虫科(Leptestheriidae)	聚花轮科(Conochilidae)	六鞭毛科(Hexarthridae)
	磷虾科(Euphausiidae)	腔轮科(Lecanidae)	
		疣毛轮科(Synchaetidae)	
		镜轮科(Testudinellidae)	
		鼠轮科(Trichocercidae)	
		象鼻蚤科(Bosminidae)	
		水蚤科(Daphniidae)	
		剑水蚤科(Cyclopidae)	
		镖水蚤科(Diaptomidae)	
	没尾无柄轮属(Ascomorpha)	晶囊轮属(Asplanchna)	猪吻轮属(Dicranophorus)
	镜轮属(Testudinella)	聚花轮属(Conochilus)	彩胃轮属(Chromogaster)
属	真象鼻蚤属(Eubosmina)	腔轮属(Lecane)	泡轮属(Pompholyx)
	薄皮蚤属(Leptodora)	皱甲轮属(Ploesoma)	狭甲轮属(Colurella)
	未确定到属的枝角类 (unclassified_Cladocera)	多肢轮属(Polyarthra)	腹尾轮属(Gastropus)
	冠水蚤属(Stephos)	疣毛轮属(Synchaeta)	蛭态轮属(Bdelloid)
		异尾轮属(Trichocerca)	前翼轮属(Proales)
		龟甲轮属(Keratella)	六腕轮属(Hexarthra)
		象鼻蚤属(Bosmina)	网纹蚤属(Ceriodaphnia)
		蚤属(Daphnia)	小剑水蚤属(Microcyclops)
		中剑水蚤属(Mesocyclops)	
		叶镖水蚤属(Phyllodiaptomus)	

附表IV 两种方法检测得到的浮游动物优势属对比

Attached Tab.IV Comparison of dominant genera of phytoplankton detected by two methods

季节	eDNA 技术		形态学鉴定	
	优势属	优势度	优势属	优势度
2014 年 春季	轮虫		轮虫	
	多肢轮属 (Polyarthra)	0.08	疣毛轮属 (Synchaeta)	0.47
	龟甲轮属 (Keratella)	0.02	多肢轮属 (Polyarthra)	0.14
			龟甲轮属 (Keratella)	0.04
	枝角类		枝角类	
	未确定到属的枝角类 (unclassified_Cladocera)	0.33	蚤属 (Daphnia)	0.17
	透明蚤属 (Daphnia)	0.25	象鼻蚤属 (Bosmina)	0.12
2014 年	轮虫		轮虫	

夏季	龟甲轮属 (<i>Keratella</i>)	0.54	疣毛轮属 (<i>Synchaeta</i>)	0.75
	疣毛轮属 (<i>Synchaeta</i>)	0.02	聚花轮属 (<i>Conochilus</i>)	0.08
			多肢轮属 (<i>Polyarthra</i>)	0.04
	枝角类		枝角类	
	未确定到属的枝角类 (unclassified_Cladocera)	0.25	象鼻溞属 (<i>Bosmina</i>)	0.11
2014 年 秋季	轮虫		轮虫	
	龟甲轮属 (<i>Keratella</i>)	0.28	疣毛轮属 (<i>Synchaeta</i>)	0.10
	多肢轮属 (<i>Polyarthra</i>)	0.10	多肢轮属 (<i>Polyarthra</i>)	0.05
	异尾轮属 (<i>Trichocerca</i>)	0.03		
	枝角类		枝角类	
	未确定到属的枝角类 (unclassified_Cladocera)	0.30	网纹溞属 (<i>Ceriodaphnia</i>)	0.48
	溞属 (<i>Daphnia</i>)	0.03		
			桡足类	
			叶镖水蚤属 (<i>Phyllodiaptomus</i>)	0.31
			中剑水蚤属 (<i>Mesocyclops</i>)	0.03
2014 年 冬季	轮虫		轮虫	
	疣毛轮属 (<i>Synchaeta</i>)	0.07	疣毛轮属 (<i>Synchaeta</i>)	0.51
	异尾轮属 (<i>Trichocerca</i>)	0.06	多肢轮属 (<i>Polyarthra</i>)	0.31
	多肢轮属 (<i>Polyarthra</i>)	0.04	龟甲轮属 (<i>Keratella</i>)	0.07
	没尾无柄轮属 (<i>Ascomorpha</i>)	0.02	异尾轮属 (<i>Trichocerca</i>)	0.07
	枝角类			
	未确定到属的枝角类 (unclassified_Cladocera)	0.44		
	桡足类			
	叶镖水蚤属 (<i>Phyllodiaptomus</i>)	0.07		
2015 年 春季	轮虫		轮虫	
	多肢轮属 (<i>Polyarthra</i>)	0.18	龟甲轮属 (<i>Keratella</i>)	0.61
	异尾轮属 (<i>Trichocerca</i>)	0.02	疣毛轮属 (<i>Synchaeta</i>)	0.18
	疣毛轮属 (<i>Synchaeta</i>)	0.02	多肢轮属 (<i>Polyarthra</i>)	0.17
			皱甲轮属 (<i>Ploesoma</i>)	0.02
	枝角类			
	未确定到属的枝角类 (unclassified_Cladocera)	0.46		
2015 年 夏季	轮虫		轮虫	
	龟甲轮属 (<i>Keratella</i>)	0.24	多肢轮属 (<i>Polyarthra</i>)	0.54
	异尾轮属 (<i>Trichocerca</i>)	0.18	龟甲轮属 (<i>Keratella</i>)	0.23
	多肢轮属 (<i>Polyarthra</i>)	0.09	疣毛轮属 (<i>Synchaeta</i>)	0.08
			异尾轮属 (<i>Trichocerca</i>)	0.04
			腹尾轮属 (<i>Gastropus</i>)	0.03
			猪吻轮属 (<i>Dicranophorus</i>)	0.03

2015 年 秋季	枝角类			
	未确定到属的枝角类 (unclassified_Cladocera)	0.16		
	桡足类			
	叶镖水蚤属 (<i>Phyllodiaptomus</i>)	0.11		
	轮虫		轮虫	
	多肢轮属 (<i>Polyarthra</i>)	0.07	多肢轮属 (<i>Polyarthra</i>)	0.44
			龟甲轮属 (<i>Keratella</i>)	0.26
			晶囊轮属 (<i>Asplanchna</i>)	0.08
			聚花轮属 (<i>Conochilus</i>)	0.08
			疣毛轮属 (<i>Synchaeta</i>)	0.05
			异尾轮属 (<i>Trichocerca</i>)	0.02
2015 年 冬季	枝角类			
	未确定到属的枝角类 (unclassified_Cladocera)	0.45		
	桡足类			
	叶镖水蚤属 (<i>Phyllodiaptomus</i>)	0.15		
	轮虫		轮虫	
	异尾轮属 (<i>Trichocerca</i>)	0.12	异尾轮属 (<i>Trichocerca</i>)	0.45
			疣毛轮属 (<i>Synchaeta</i>)	0.45
			多肢轮属 (<i>Polyarthra</i>)	0.03
	枝角类		枝角类	
	未确定到属的枝角类 (unclassified_Cladocera)	0.46	网纹溞属 (<i>Ceriodaphnia</i>)	0.06
	溞属 (<i>Daphnia</i>)	0.08	象鼻溞属 (<i>Bosmina</i>)	0.02
	桡足类		桡足类	
	中剑水蚤属 (<i>Mesocyclops</i>)	0.04	中剑水蚤属 (<i>Mesocyclops</i>)	0.02

附表 V 浮游动物群落组成的 ADONIS 和 ANOSIM 检验*

Attached Tab. V ADONIS and ANOSIM test for zooplankton community structure

方法	分组	ADONIS		ANOSIM	
		r^2	P	r	P
eDNA 技术	14_Spring vs 14_Summer	0.312	0.028	0.490	0.023
	14_Spring vs 14_Autumn	0.147	0.315	0.118	0.259
	14_Spring vs 14_Winter	0.313	0.019	0.400	0.023
	14_Spring vs 15_Spring	0.331	0.019	0.380	0.024
	14_Spring vs 15_Summer	0.239	0.052	0.280	0.065
	14_Spring vs 15_Autumn	0.118	0.361	0.010	0.375
	14_Spring vs 15_Winter	0.260	0.025	0.278	0.045
	14_Summer vs 14_Autumn	0.276	0.031	0.458	0.023

形态学鉴定	14_Summer vs 14_Winter	0.504	0.020	0.876	0.023
	14_Summer vs 15_Spring	0.496	0.019	0.832	0.023
	14_Summer vs 15_Summer	0.191	0.115	0.114	0.177
	14_Summer vs 15_Autumn	0.341	0.019	0.464	0.023
	14_Summer vs 15_Winter	0.491	0.019	0.786	0.023
	14_Autumn vs 14_Winter	0.392	0.019	0.466	0.025
	14_Autumn vs 15_Spring	0.408	0.019	0.520	0.023
	14_Autumn vs 15_Summer	0.314	0.019	0.530	0.023
	14_Autumn vs 15_Autumn	0.332	0.019	0.458	0.023
	14_Autumn vs 15_Winter	0.369	0.019	0.544	0.023
	14_Winter vs 15_Spring	0.187	0.171	0.098	0.230
	14_Winter vs 15_Summer	0.397	0.019	0.710	0.023
	14_Winter vs 15_Autumn	0.380	0.019	-0.564	0.023
	14_Winter vs 15_Winter	0.370	0.019	0.548	0.023
	15_Spring vs 15_Summer	0.432	0.019	0.722	0.023
	15_Spring vs 15_Autumn	0.477	0.019	0.724	0.023
	15_Spring vs 15_Winter	0.423	0.019	0.742	0.024
	15_Summer vs 15_Autumn	0.243	0.055	0.214	0.069
	15_Summer vs 15_Winter	0.411	0.025	0.646	0.023
	15_Autumn vs 15_Winter	0.228	0.081	0.214	0.105
	14_Spring vs 14_Summer	0.350	0.024	0.658	0.032
	14_Spring vs 14_Autumn	0.275	0.023	0.318	0.041
	14_Spring vs 14_Winter	0.273	0.039	0.264	0.070
	14_Spring vs 15_Spring	0.272	0.054	0.302	0.062
	14_Spring vs 15_Summer	0.203	0.058	0.128	0.141
	14_Spring vs 15_Autumn	0.207	0.055	0.140	0.124
	14_Spring vs 15_Winter	0.236	0.032	0.264	0.061
	14_Summer vs 14_Autumn	0.431	0.023	0.694	0.031
	14_Summer vs 14_Winter	0.437	0.023	0.794	0.032
	14_Summer vs 15_Spring	0.456	0.023	0.750	0.031
	14_Summer vs 15_Summer	0.388	0.028	0.792	0.031
	14_Summer vs 15_Autumn	0.387	0.023	0.716	0.031
	14_Summer vs 15_Winter	0.385	0.023	0.694	0.031
	14_Autumn vs 14_Winter	0.387	0.023	0.602	0.031
	14_Autumn vs 15_Spring	0.448	0.023	0.662	0.031
	14_Autumn vs 15_Summer	0.309	0.023	0.530	0.031
	14_Autumn vs 15_Autumn	0.315	0.023	0.484	0.041
	14_Autumn vs 15_Winter	0.264	0.028	0.286	0.038
	14_Winter vs 15_Spring	0.202	0.082	0.210	0.090
	14_Winter vs 15_Summer	0.153	0.207	0.100	0.179
	14_Winter vs 15_Autumn	0.111	0.484	-0.050	0.699
	14_Winter vs 15_Winter	0.352	0.023	0.522	0.031
	15_Spring vs 15_Summer	0.187	0.083	0.208	0.089

	15_Spring vs 15_Autumn	0.193	0.060	0.156	0.120
	15_Spring vs 15_Winter	0.415	0.023	0.688	0.030
	15_Summer vs 15_Autumn	0.101	0.553	0.034	0.373
	15_Summer vs 15_Winter	0.230	0.029	0.434	0.031
	15_Autumn vs 15_Winter	0.274	0.032	0.464	0.041

*14_Spring vs 14_Summer 表示 14_Spring 与 14_Summer 两组比较，其余同； $P < 0.05$ 以粗体显示。