

基于环境DNA技术的北部湾夏季鲸类多样性初探

裴 赢^{1,2}, 黎明民³, 张 帅^{1,4}, 蒋佩文¹, 庞碧剑³,
蓝文陆³, 李 敏^{1,4}

(1.中国水产科学研究院南海水产研究所, 农业农村部外海渔业可持续利用重点实验室, 广东 广州 510300; 2.上海海洋大学 海洋科学与生态环境学院, 上海 201306; 3.广西壮族自治区海洋环境监测中心站, 北部湾海洋生态环境广西野外科学观测研究站, 广西 北海 536000; 4.广东省珠江口生态系统野外科学观测研究站, 广东 广州 510300)

摘 要: 鲸类是海洋生态系统的顶级捕食者, 是维持海洋食物网稳定和平衡的关键物种。北部湾是我国南海北部的重要渔场, 拥有丰富的渔业资源和生物多样性, 使其成为多种鲸类的重要栖息地。为了解北部湾夏季的鲸类多样性特征, 以及北部湾唯一常见大型鲸类——小布氏鲸 (*Balaenoptera edeni edeni*) 在夏季的分布状况, 本研究于 2023 年 7 月—8 月在北部湾中国海域采集了 12 个站点的水样, 并利用环境 DNA 技术对鲸类物种组成进行检测。结果显示, 夏季北部湾中国海域共检测出 3 种鲸类, 包括印太江豚 (*Neophocaena phocaenoides*)、热带点斑原海豚 (*Stenella attenuata*) 和印太瓶鼻海豚 (*Tursiops aduncus*)。检出站点数 (number of positive detection site, N) 最多的为印太江豚 ($N=5$), 几乎遍布整个北部湾; 其次为热带点斑原海豚 ($N=4$), 分布于北部湾中部及南部海域; 印太瓶鼻海豚检出站点数最少 ($N=1$), 位于北部湾中部。因此, 北部湾中部海域在夏季可能为鲸类热点栖息地。高通量测序和小布氏鲸的特异引物检测均未检出小布氏鲸的存在, 说明涠洲岛小布氏鲸种群在夏季可能已全部离开北部湾中国海域。研究结果丰富了北部湾鲸类的多样性组成及分布等知识, 完善了北部湾鲸类保护的基线信息。

关键词: 环境 DNA; 小布氏鲸; 鲸类; 北部湾; 物种分布

中图分类号: Q178.53

文献标识码: A

文章编号: 1007-6336(2025)04-0509-08

Preliminary investigation of cetacean species diversity in Beibu Gulf in summer based on eDNA

PEI Ying^{1,2}, LI Mingmin³, ZHANG Shuai^{1,4}, JIANG Peiwen¹, PANG Bijian³,
LAN Wenlu³, LI Min^{1,4}

(1.South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Key Laboratory for Sustainable Utilization of Open-Sea Fishery, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangzhou 510300, China; 2.College of Oceanography and Ecological Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3.Marine Environmental of Monitoring Center of Guangxi, Beibu Gulf Marine Ecological Environment Field Observation and Research Station of

收稿日期: 2024-08-15, 修订日期: 2024-12-31

基金项目: 农业农村部渔业发展补助资金项目 (珍贵濒危水生野生动物栖息地调查); 科技基础资源调查专项 (2023FY100800); 北部湾海洋生态环境广西野外科学观测研究站科研能力建设项目 (桂科 23-026-271); 中国水产科学研究院南海水产研究所中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (2021SD18)

作者简介: 裴 赢 (2002—), 男, 江苏泰州人, 硕士, 主要研究方向为鲸类生态学, E-mail: peiying7777@163.com

通信作者: 蓝文陆 (1980—), 男, 广西河池人, 正高级工程师, 主要从事海洋生态监测与研究, E-mail: dr.lan@139.com

李 敏 (1984—), 男, 湖南长沙人, 副研究员, 博士, 主要研究方向为海洋生物多样性和珍稀濒危动物保护,

E-mail: limin@scsfri.ac.cn

Guangxi, Beihai 536000, China; 4. Guangdong Provincial Observation and Research Station for Ecosystem in the Pearl River Estuary, Guangdong Province, Guangzhou 510300, China)

Abstract: Cetaceans are the top predators in marine ecosystems and play a crucial role in maintaining the stability and balance of marine food webs. The Beibu Gulf is an important fishing ground in the northern part of the South China Sea, characterized by rich fishery resources and biodiversity, making it a vital habitat for various cetacean species. To investigate the diversity of cetaceans in the Beibu Gulf during the summer, as well as the distribution of the only commonly observed large cetacean in the region—the Eden’s whale (*Balaenoptera edeni edeni*), this study collected water samples from 12 sites in the Chinese waters of the Beibu Gulf from July to August 2023, and utilized environmental DNA technology to detect the composition of cetacean species. The results indicated that 3 cetacean species were detected in the Beibu Gulf during the summer, including the Indo-Pacific finless porpoise (*Neophocaena phocaenoides*), the pantropical spotted dolphin (*Stenella attenuata*) and the Indo-Pacific bottlenose dolphin (*Tursiops aduncus*). The species with the highest number of positive detection sites (N) was the Indo-Pacific finless porpoise (N = 5), which was found throughout the Beibu Gulf; followed by the pantropical spotted dolphin (N = 4), which was distributed in the central and southern regions of the Beibu Gulf; the Indo-Pacific bottlenose dolphin had the fewest detection sites (N = 1), located in the central part of the Beibu Gulf. Therefore, the central Beibu Gulf during summer may serve as a hotspot habitat for cetaceans. Neither high-throughput sequencing nor specific sequencing for Eden’s whales detected the presence of this species, suggesting that all Eden’s whales around Weizhou Island may have left the Chinese waters of the Beibu Gulf during summer. The research results have enriched the understanding of cetacean diversity and distribution in the Beibu Gulf, enhancing baseline information for the conservation of cetaceans in the region.

Key words: environmental DNA; Eden’s whale; cetacean diversity; Beibu Gulf; species distribution

鲸类作为海洋生态系统的顶级捕食者,在调控海洋食物链和维持生态平衡中具有关键作用,是海洋生态系统健康的指示物种^[1]。由于鲸类活动能力强、分布广泛,部分物种行动隐匿、数量少,难以进行监测和调查,导致多数鲸类的基线信息仍不完善。以往鲸类多样性的研究多采用目视观测、当地生态知识和搁浅记录等方法。目视调查依赖良好海况和观察员的经验,且成本高昂^[2];当地生态知识则在数据收集过程中存在较多主观偏差^[3];搁浅记录多为近岸物种,难以真实反映鲸类多样性现状^[4]。因此,为促进鲸类的科学保护和管理,需采用更加全面和高效的监测方法。

近年来,环境DNA(environmental DNA, eDNA)技术在水生生物多样性监测中得到了广泛应用。环境DNA指环境中生物脱落的组织或者细胞产生的游离DNA^[5]。环境DNA技术是通过采集环境中的DNA来确定物种组成的监测手段,无需直接接触目标动物,具有非入侵性和非破坏性的优势。同时,PCR反应可以将微量的

DNA片段扩增出来,具有极高的灵敏度。基于环境DNA的采样工作量相对较小,鉴定不依赖形态学分类知识,调查成本相对更低^[5]。目前,环境DNA技术已成为鲸类多样性调查和种类鉴定的重要手段。我国已将环境DNA技术应用于小布氏鲸(*Balaenoptera edeni edeni*)^[6]以及中华白海豚(*Sousa chinensis*)^[7]等鲸类的研究。但是,利用环境DNA宏条形码监测鲸类物种多样性的研究仍然较少,仅在地中海^[8]、墨西哥湾^[9]、南海西沙群岛^[10]等海域有研究。

我国北部湾鲸类的研究多集中于近岸海域,主要研究对象为中华白海豚及小布氏鲸。其中,涠洲岛小布氏鲸种群是我国禁止捕鲸后近岸水域发现的首个稳定出现的大型鲸类群体^[11]。该种群于秋季至次年春末在涠洲岛附近海域觅食,一般在5月前离开,其季节性迁移规律和其他栖息地利用情况仍然未知^[12-13]。为保护小布氏鲸,亟需探明其在北部湾的分布情况,尤其是其迁出涠洲岛海域后的分布。此外,孟祥垚等^[14]对北部湾海域的印太江豚(*Neophocaena phocaenoides*)

分布情况进行了调查,并进行了适宜栖息地预测。

北部湾海域的鲸类物种多样性记录较少。1999 年及 2000 年,越南在北部湾西侧海域开展了两次鲸类调查,共记录到 4 种鲸类^[15]。据笔者对历史资料及搁浅数据统计,北部湾(含越南水域)已确认有 18 种鲸类(表 1),包括 3 种须鲸,15 种齿鲸。但是多样性组成现状和物种分布

模式仍然未知,大多数的数据局限于偶然搁浅事件。

为探明北部湾夏季鲸类多样性特征及涠洲岛小布氏鲸种群的夏季迁移和分布,本研究利用环境 DNA 技术,分析北部湾中国海域夏季鲸类物种组成和分布,并利用特异性引物检测小布氏鲸的存在,为北部湾鲸类保护提供基础数据。

表 1 北部湾已确认鲸类物种
Tab.1 Cetacean species confirmed in the Beibu Gulf

中文名	学名	中文名	学名
小须鲸	<i>Balaenoptera acutorostrata</i>	中华白海豚	<i>Sousa chinensis</i>
小布氏鲸	<i>Balaenoptera edeni edeni</i>	真海豚	<i>Delphinus delphis</i>
大村鲸	<i>Balaenoptera omurai</i>	热带点斑原海豚	<i>Stenella attenuata</i>
小抹香鲸	<i>Kogia breviceps</i>	长吻飞旋原海豚	<i>Stenella longirostris</i>
短肢领航鲸	<i>Globicephala macrorhynchus</i>	条纹原海豚	<i>Stenella coeruleoalba</i>
瓜头鲸	<i>Peponocephala electra</i>	印太瓶鼻海豚	<i>Tursiops aduncus</i>
伪虎鲸	<i>Pseudorca crassidens</i>	瓶鼻海豚	<i>Tursiops truncatus</i>
里氏海豚	<i>Grampus griseus</i>	太平洋斑纹海豚	<i>Lagenorhynchus obliquidens</i>
印太江豚	<i>Neophocaena phocaenoides</i>	糙齿海豚	<i>Steno bredanensis</i>

1 材料与方法

1.1 研究海域

北部湾位于中国南海西北部,是一个半封闭型浅水海湾。其海岸线曲折、岛屿众多,气候属亚热带季风气候^[16]。北部湾水域面积达 12.93×10⁴ km²,水下地形平坦,平均水深 38 m,最大水深 106 m。入海河流 200 多条,拥有丰富的径流输入。琼州海峡海流、北部湾中部及南部海流 3 个支流构成逆时针的北部湾环流,但夏季有时形成不闭合的顺时针环流^[17]。

1.2 环境 DNA 的采集

采用“海顺六号”科考船于 2023 年 7 月—8 月采集北部湾水样,共 12 个站点(表 2)。使用格雷斯普采水器(CG-00)和 CTD 采集水样,采样水深为距表层 1 m。水样现场过滤,抽滤装置为津腾真空泵(GM-0.5A),滤膜选用直径 47 mm、孔径 0.45 μm 的混合纤维素滤膜(Pall, 美国)。每张滤膜过滤 1 L 水样,每个站点至少过滤 3 个平行重复样品。使用超纯水作为阴性过滤对照。滤膜装入 2 mL 冻存管中,置于液氮保存。

为避免样品交叉污染,采样前采水装置和过滤装置均使用 10% 次氯酸钠溶液清洗,然后用纯水冲洗 3 次,最后用所在站点海水进行润洗。

表 2 采样站点信息
Tab.2 Information of sampling sites

站点	经度/°E	纬度/°N	水深/m	站点	经度/°E	纬度/°N	水深/m
1	109.3540	21.2650	18	7	107.2225	19.1672	60
2	108.1967	21.3592	21	8	107.2500	18.7500	68
3	108.5000	20.6666	43	9	107.5111	18.3536	71
4	108.5000	20.0000	62	10	107.9706	17.9208	92
5	108.0000	19.5000	58	11	108.3334	18.5836	43
6	107.5900	19.6161	62	12	108.3332	19.2000	34

在调查过程中,由 2 人组成观测小组目视观测鲸类,具体方法参考 Li 等^[18]对中华白海豚的目视调查。

1.3 环境 DNA 提取、扩增及测序

环境 DNA 提取参照李红婷等^[19]的方法,使用海洋动物组织基因组 DNA 提取试剂盒(天根,北京),按照说明书进行提取。

鲸类多样性扩增的目的片段是线粒体的 12 S

基因片段,采用针对中国南海鲸类设计的通用引物 Cet-12S(表 3),在 5'端添加 12 个碱基的 barcode 序列。扩增体系及反应程序参考麦俊晓等^[10]的方法。使用 50 μ L 总体积的 PCR 扩增体系: 2 $\times$ Pro Taq Master Mix 25 μ L, 3 μ L DNA 模板, 18 μ L ddH₂O, 正向引物及反向引物各 2 μ L。每个样品进行 3 次 PCR 扩增,阴性对照使用 ddH₂O 作为模板。使用降落 PCR 程序如下: 94 $^{\circ}$ C 预变

性 4 min; 95 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 56 $^{\circ}$ C 复性 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 s, 18 个循环; 95 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 55 $^{\circ}$ C 复性 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 s, 10 个循环; 95 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 54 $^{\circ}$ C 复性 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 s, 10 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。产物经 2% 的 TBE 琼脂糖凝胶电泳检测后,选取合格且阴性对照无条带的样品将 3 次 PCR 产物混合,进行高通量测序,测序平台为 Nova6000。

表 3 引物信息
Tab.3 Primer Information

引物	序列	产物长度/bp	基因标记	目标物种	参考文献
Cet-12S	F:5'-CCAGCCACCGCGGTCATACGAT-3' R:5'-GGGTATCTAATCCAGTTTGG-3'	196	线粒体12S rDNA	鲸类	[10]
eBed-COI	F:5'-CTGACTATTCTCAACCAACCACAAA-3' R:5'-GGGGGACTAGTCAGTTTCCGAAT-3'	222	线粒体COI	小布氏鲸	[6]
eBed-CR	F:5'-CATGCTATGTATAACTGTGCATTC-3' R:5'-CATGGTGATTAAGCTCGTGATCTA-3'	193	线粒体D-loop	小布氏鲸	[6]

小布氏鲸的特异性检测的目的片段是线粒体 COI 和控制区基因片段,扩增使用引物 eBed-COI 及 eBed-CR(表 3)。扩增体系及反应程序参考郑若丹等^[6]的方法。PCR 扩增体系总体积 50 μ L: 2 $\times$ Pro Taq Master Mix 25 μ L, DNA 模板 1 μ L, ddH₂O 20 μ L, 正向引物及反向引物各 1 μ L。每个样品平行扩增 3 次,阴性对照使用 ddH₂O 作为模板。反应程序为: 98 $^{\circ}$ C 预变性 2 min, 98 $^{\circ}$ C 变性 10 s, 60 $^{\circ}$ C 复性 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 20 s; 25 个循环, 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。产物同样经过 2% 的 TBE 琼脂糖凝胶电泳检测后,选取长度符合目的片段长度的、条带清晰的产物进行 Sanger 测序。

1.4 生物信息学分析

高通量测序数据下机后,利用 Fastp(V 0.14.1)^[20](<https://github.com/OpenGene/fastp>)对原始数据进行质控。接头处理后,进行滑窗质量剪裁(window size = 4, Quality = 20)和质量过滤($q = 20, u = 40$),去除短于 200 bp 的序列后获得高质量数据。高质量数据利用 Usearch(V 10.0.240)^[21]进行拼接(序列不匹配数>5 bp, 比对相似度<90%, 序列重叠数<16 bp),拼接后使用 DADA2^[22](<https://benjjneb.github.io/dada2/tutorial.html>)去噪并以 100% 阈值生成扩增子序列变体

(amplicon sequence variant, ASV)。所得序列经美国国家生物技术信息中心(NCBI)在线 BLAST(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)进行物种注释。对于鲸类序列,若一致性 $\geq 98\%$ 则确定为该物种;当同一序列可匹配多个种时,且均属于同一属,根据生物地理分布进行排除;若无法排除,则将其注释到属水平。

Sanger 测序结果利用 SeqMan^[23]对序列进行校对和拼接后再进行比对,比对原则与高通量测序一致。

2 结果与讨论

2.1 北部湾鲸类种类组成

鲸类 Cet-12S 高通量测序共获得 1280585 条序列,经聚类后获得 ASV 共 117 个。比对结果显示,人类序列最多,共 1255880 条,占总序列数的 98.07%; ASV 共 65 个,占总 ASV 数的 55.55%。鲸类序列 4424 条,占总序列数的 0.34%; ASV 共 6 个,占总 ASV 个数的 5.12%。除无匹配结果的序列外,还检测到了鸟类、其他哺乳类及鱼类的序列。剔除陆生动物及鸟类后,鲸类序列数占比达到 71.71%, ASV 占 18.75%。

经比对,共检测到 3 种鲸类(表 4),即印太江豚、热带点斑原海豚和印太瓶鼻海豚。其中,印

太江豚与窄脊江豚(*Neophocaena asiaeorientalis*)的线粒体 12S 目的片段序列相同,但窄脊江豚在

我国仅分布于黄渤海和东海,因此鉴定为印太江豚。高通量测序结果未检测到小布氏鲸的序列。

表 4 鲸类线粒体 12S 序列的比对结果

Tab.4 BLAST results of cetaceans mitochondrial 12S rDNA sequences

序列	序列数	登记号	物种	序列一致性/(%)
24	994	KX650870.1	印太江豚	100
68	74	KX650870.1		98.68
78	54	KX650870.1		99.34
22	3114	KX857350.1	热带点斑原海豚	100
107	4	KX857350.1		99.35
51	184	MG762993.1	印太瓶鼻海豚	100

在本次调查过程中,目视观测未发现鲸类。在多项研究中,目视调查的鲸类物种多样性结果少于 eDNA 检测结果,特别是深潜鲸类^[8, 10]。尽管 eDNA 的丰度与生物量存在一定正相关关系,但目视调查能更直观地提供个体数等重要基线信息,两者的结合仍然必要。

本研究并未检出中华白海豚这一北部湾常见鲸类。广西沿海种群分布于三娘湾至大风江口及沙田近岸,海南西岸种群分布于昌化江口至三亚近岸 20 km 以内^[24]。由于北部湾中华白海豚的分布范围已经较为明确,本次调查并未针对性设计站点,仅近岸站点 1、站点 2 以及站点 11、站点 12(离岸约 35 km)较为靠近其栖息地。

历史记录中的多数鲸类的信息较少、基线信息缺失,因此难以进行比较。本研究仅一次调查,虽然不能全面描述北部湾海域的鲸类物种多样性,但仍具有一定参考价值。据调查,2018 年北部湾北部沿岸渔业资源量为 328 kg/km²,资源量已不足 50 年前的十分之一^[16],北部湾海域鲸类食物资源的减少可能是现存鲸类多样性较低原因之一。此外,多起船舶活动以及网具使用直接对鲸类造成伤害甚至死亡的报道也值得关注^[11, 14]。

2.2 北部湾鲸类分布

12 个站点中,共 8 个站点检测到鲸类(图 1)。其中有 4 个站点未检出鲸类,6 个站点检出 1 种鲸类,位于北部湾中部至海南西岸中部的站点 5 和站点 12 检测到两种鲸类。根据 Liu 等^[4]对搁浅记录的统计,海南西岸中部的鲸类搁浅案例较多,本研究与其一致。该处附近夏季存在潮致混

合锋面形成的上升流^[25],鱼类多样性较高,主要经济鱼类以及头足类资源相对丰富^[26]。目前全球已发现多处上升流区为鲸类热点分布海域,上升流系统的高生产力可能是北部湾中部至海南西岸成为鲸类热点分布海域的原因。

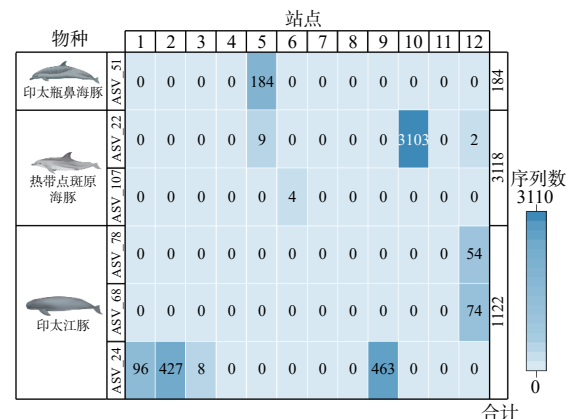


图 1 各站点鲸类检出情况及序列数

Fig. 1 Cetacean detection site status and sequence counts at each sampling site

搁浅记录显示,广西沿岸的鲸类丰度及物种多样性在北部湾地区相对较高^[4],但本研究中广西沿岸站点检出鲸类物种较少,可能与夏季广西沿海食物相对较少、广西沿岸海域夏季初级生产力较低,高值区位于离岸较远区域^[27]。同时,由于混合水进入湾内形成气旋式环流,鱼类向南部及东南部迁徙^[28]。

各站点鲸类序列数中(图 1),站点 10 检出的序列数最高(3103 条,占鲸类序列的 70.14%),其次是站点 9(463 条,占鲸类序列的 10.46%)、站

点 2(427 条, 占鲸类序列的 9.65%)、站点 5(193 条, 占鲸类序列的 4.36%), 其余站点检出序列数较少。热带点斑原海豚的序列数最多(3118 条, 占鲸类序列的 70.48%), 其次为印太江豚(1122 条, 占鲸类序列的 25.36%), 印太瓶鼻海豚最少(184 条, 占鲸类序列的 4.16%)。

印太江豚为我国南海近岸最常见鲸类物种之一^[29], 检出站点最多, 共 5 个, 几乎遍布整个北部湾。孟祥垚等^[14]对栖息地的模型预测表明, 北部湾东北部和海南岛周边区域是较合适的栖息地, 与本研究结果相符。但在 Liu 等^[4]搁浅记录统计中, 海南岛西岸印太江豚搁浅记录较少, 这可能与洋流对搁浅鲸类的输运有关, 需要进一步调查以确认其种群情况。印太江豚偏好水深 50 m 以内的沿岸^[29], 但本研究中北部湾中部的站点 9(水深 71 m, 距离陆地约 100 km)也有检出。Zhang 等^[30]报道, 在水深 100 m 及离岸约 74 km 处仍有江豚的分布。因此, 站点 9 所在海域存在印太江豚活动的可能性。

热带点斑原海豚在 4 个站点有检出, 集中于北部湾中部, 南部也有检出。目视和 eDNA 的调查结果表明该物种为南海外海鲸类的优势物种^[10], 但北部湾内种群数量及分布仍未知。Smith 等^[15]对北部湾海域的调查结果显示, 北部湾中部(离站点 6 较近)存在热带点斑原海豚群体, 北部湾中部可能为该种的热点分布海域。北部湾湾口该种的检出序列数较高, 附近海域可能是该种的主要活动海域。尽管北部湾口的鱼类多样性及渔获生物量^[31]相对较低, 但其海底地形复杂, 为莺歌海盆地与琼东盆地边界^[32], 水深较深。复杂的地形和深水条件可能是该处成为热带点斑原海豚热点分布区的原因。

印太瓶鼻海豚仅在 1 个站点检出, 位于北部湾中部。该种在水深 100 m 以内沿海常见, 本研究于水深 58 m、离岸约 70 km 的开阔海域检出该种, 与过往报道中偏好河口、沙质基底及珊瑚礁生境的结论存在差异, 这可能与该种具有较高的可塑性和适应性有关^[33]。该站点还检出了热带点斑原海豚, 这与部分地区瓶鼻海豚属(*Tursiops* sp.)与原海豚属(*Stenella* sp.)物种分布存在重叠的报道^[33]一致。此外, 在利用哺乳动

物通用引物 MarVer 检测鲸类物种多样性的研究中, 报道了该引物对瓶鼻海豚属和原海豚属的物种分辨率较低的情况^[9], 但本研究使用的引物 Cet-12S 并未发现此问题。

2.3 北部湾夏季小布氏鲸检测

小布氏鲸特异性引物检测中, 凝胶电泳结果(表 5)显示共 3 个站点(站点 2、站点 9 及站点 11)出现明显条带。然而, 只有站点 11 的 COI 序列扩增产物以及站点 9 的 D-loop 序列扩增产物出现了符合目标长度片段的条带, 前者测序结果无匹配物种, 后者测序显示杂峰。其余站点样品未出现条带或条带与目标片段长度不符, 因此未进行测序。综上所述, 特异性引物未检测到小布氏鲸。

表 5 小布氏鲸特异性引物检测结果					
Tab.5 Results of specific primers for <i>Balaenoptera edeni edeni</i>					
站点	结果		站点	结果	
	COI	D-loop		COI	D-loop
1	-	-	7	-	-
2	非目标条带	-	8	-	-
3	-	-	9	非目标条带	测序杂峰
4	-	-	10	-	-
5	-	-	11	无匹配结果	-
6	-	-	12	-	-

本研究中利用通用引物及特异性引物检测均没有检测到小布氏鲸, 说明其夏季可能离开北部湾中国海域。据之前的卫星追踪结果显示, 涠洲岛小布氏鲸迁移至北部湾口的中越分界线海域^[13]。上泰国湾为已知距离涠洲岛海域最近的小布氏鲸稳定栖息地, 但是与泰国已识别的个体比对没有相同个体^[11], 并且不符合须鲸夏季向高纬度迁移的普遍模式。涠洲岛小布氏鲸向南迁徙可能是对食物丰度的时空变化做出的反应^[12-13]。目前, 涠洲岛小布氏鲸向高纬度海域迁徙缺乏可靠证据。由于琼州海峡自东向西的海流阻隔, 小布氏鲸经琼州海峡向北迁徙可能性较低, 可能先向南迁徙至北部湾口, 再沿东北流向的南海暖流向高纬度迁徙^[34]。

在鲸类研究中, 已报道目击后 15 min 原点的 eDNA 将下降到较低水平^[35]。但由于海域

情况、实验设计等因素不同, 对本研究的参考有限。因此, 需要进一步研究不同海洋环境下 eDNA 的扩散规律及降解模式, 以更科学地阐释 eDNA 的形成机制及检测结果。除海水运动、eDNA 衰减及水体过滤量等因素导致结果出现假阴性, 扩增过程也对 eDNA 实验的准确性至关重要。本研究使用的引物均已经过肌肉及海水样品验证^[7,11], 但由于抑制剂影响及 eDNA 断裂等原因仍可能造成假阴性^[5]。因此, 未来需要开发基于其他标记的引物对, 以进一步提升基于 eDNA 宏条形码的鲸类多样性监测效果。

由于我国在大型鲸类方面的研究起步相对较晚且大型鲸类发现较少, 所以在追踪大型鲸类迁移方面缺乏经验。鉴于涠洲岛小布氏鲸种群的保护价值, 探明其迁徙路径及邻近海域的栖息地仍是目前的重要目标, 需要在北部湾及其邻近海域进行更广泛的调查。

3 结论

(1) 环境 DNA 技术可有效探测北部湾鲸类的多样性和分布, 为北部湾鲸类保护提供基线信息。本研究共检测出印太江豚、热带点斑原海豚和印太瓶鼻海豚 3 种鲸类。北部湾中部可能是夏季鲸类热点分布海域。

(2) 高通量测序以及特异性引物检测均没有检测出小布氏鲸, 涠洲岛小布氏鲸可能在夏季全部离开北部湾中国海域, 因此需要在邻近海域进行更广泛的调查以探明其夏季栖息地。

参考文献:

- [1] BOSSART G D. Marine mammals as sentinel species for oceans and human health[J]. *Veterinary Pathology*, 2011, 48(3): 676-690.
- [2] OLIVEIRA-RODRIGUES C, CORREIA A M, VALENTE R, et al. Assessing data bias in visual surveys from a cetacean monitoring programme[J]. *Scientific Data*, 2022, 9(1): 682.
- [3] TURVEY S T, FERNÁNDEZ-SECADES C, NUÑEZ-MIÑO J M, et al. Is local ecological knowledge a useful conservation tool for small mammals in a Caribbean multicultural landscape?[J]. *Biological Conservation*, 2014, 169: 189-197.
- [4] LIU M M, LIN M L, LI S H. Species diversity and spatiotemporal patterns based on cetacean stranding records in China, 1950–2018[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 822: 153651.
- [5] SUAREZ-BREGUA P, ÁLVAREZ-GONZÁLEZ M, PARSONS K M, et al. Environmental DNA (eDNA) for monitoring marine mammals: challenges and opportunities[J]. *Frontiers in Marine Science*, 2022, 9: 987774.
- [6] 郑若丹, 陈炳耀, 张 帅, 等. 基于环境 DNA 的涠洲岛周围海域布氏鲸种群分布初探 [J]. *南方水产科学*, 2024, 20(3): 36-46.
- [7] 杨嘉琪. 中华白海豚环境 DNA 检测技术的条件优化 [D]. 钦州: 北部湾大学, 2022.
- [8] VALSECCHI E, ARCANGELI A, LOMBARDI R, et al. Ferries and environmental DNA: underway sampling from commercial vessels provides new opportunities for systematic genetic surveys of marine biodiversity[J]. *Frontiers in Marine Science*, 2021, 8: 704786.
- [9] FELLGREN A K. Utilizing environmental DNA metabarcoding to inventory cetaceans in the gulf of Mexico[D]. Pensacola: University of West Florida, 2022.
- [10] 麦俊晓, 张 帅, 郑若丹, 等. 利用环境 DNA 技术探测南海西沙鲸类物种多样性 [J]. *中国水产科学*, 2023, 30(12): 1566-1576.
- [11] 吴采雯. 广西布氏鲸的种群动态及捕食策略研究 [D]. 南京: 南京师范大学, 2021.
- [12] CHEN M, HUANG S L, WU H P, et al. Occurrence of Bryde's whales, *Balaenoptera edeni*, in the northern Beibu Gulf, China[J]. *Marine Mammal Science*, 2019, 35(4): 1643-1652.
- [13] LIU M M, LIN W Z, LIN M L, et al. The first attempt of satellite tracking on occurrence and migration of Bryde's whale (*Balaenoptera edeni*) in the Beibu Gulf[J]. *Journal of Marine Science and Engineering*, 2021, 9(8): 796.
- [14] 孟祥垚, 汪华志, 周 煜, 等. 北部湾印太江豚密度估算及适宜栖息地预测 [J]. *兽类学报*, 2022, 42(4): 362-369.
- [15] SMITH B D, BRAULIK G, JEFFERSON T A, et al. Notes on two cetacean surveys in the Gulf of Tonkin, Vietnam[J]. *The Raffles Bulletin of Zoology*, 2003, 51(1): 165-171.
- [16] 罗峥力, 杨长平, 王良明, 等. 北部湾北部沿岸海域鱼类资源时空分布特征及多样性变化 [J]. *南方农业学报*, 2023, 54(6): 1847-1857.
- [17] 侍茂崇, 陈 波, 丁 扬, 等. 风对北部湾入海径流扩散影响的研究 [J]. *广西科学*, 2016, 23(6): 485-491.
- [18] LI M, WANG X X, HUNG S K, et al. Indo-Pacific humpback dolphins (*Sousa chinensis*) in the Moyang River Estuary: the western part of the world's largest population of humpback dolphins[J]. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 2019, 29(5): 798-808.
- [19] 李红婷, 张 帅, 邹柯妹, 等. 珠江河口水体环境 DNA 提取方法的建立及优化 [J]. *南方水产科学*, 2022, 18(3): 30-37.
- [20] CHEN S F, ZHOU Y Q, CHEN Y R, et al. *fastp*: an ultra-fast

- all-in-one FASTQ preprocessor[J]. Bioinformatics, 2018, 34(17): i884-i890.
- [21] EDGAR R C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST[J]. Bioinformatics, 2010, 26(19): 2460-2461.
- [22] CALLAHAN B J, MCMURDIE P J, ROSEN M J, et al. DA-DA2: high-resolution sample inference from Illumina amplicon data[J]. Nature Methods, 2016, 13(7): 581-583.
- [23] SWINDELL S R, PLASTERER T N. SEQMAN: contig assembly[M]//SWINDELL S R. Sequence Data Analysis Guidebook. Totowa: Springer, 1997: 75-89.
- [24] CHEN B Y, XU X R, JEFFERSON T A, et al. Chapter five-conservation status of the Indo-Pacific humpback dolphin (*Sousa chinensis*) in the northern Beibu Gulf, China[J]. Advances in Marine Biology, 2016, 73: 119-139.
- [25] LÜ X G, QIAO F L, WANG G S, et al. Upwelling off the west coast of Hainan Island in summer: its detection and mechanisms[J]. Geophysical Research Letters, 2008, 35(2): L02604.
- [26] 田思泉, 柳晓雪, 花传祥, 等. 南海渔业资源状况及其管理挑战 [J]. 上海海洋大学学报, 2024, 33(3): 786-798.
- [27] 姚焕玫, 龚祝清, 钟炜萍, 等. 广西北部湾海域初级生产力与环境因子相关关系研究 [J]. 海洋环境科学, 2021, 40(2): 242-249.
- [28] 张公俊, 杨长平, 刘 岩, 等. 北部湾防城港—钦州近岸海域鱼类群落格局及其与环境因子的关系 [J]. 南方水产科学, 2022, 18(4): 20-33.
- [29] AMANO M. Finless porpoises: *neophocaena phocaenoides*, N. *asiaeorientalis*[M]//WÜRSIG B, THEWISSEN J G M, KOVACS K M. Encyclopedia of Marine Mammals. London: Academic Press, 2018: 372-375.
- [30] ZHANG C I, PARK K J, KIM Z G, et al. Distribution and abundance of finless porpoise (*Neophocaena phocaenoides*) in the west coast of Korea[J]. Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 2004, 37(2): 129-136.
- [31] 孙典荣. 北部湾渔业资源与渔业可持续发展研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2008.
- [32] 张启明. 莺—琼盆地的演化与构造—热体制 [J]. 天然气工业, 1999, 19(1): 12-18.
- [33] WANG J Y, CHU Y S. Indo-Pacific bottlenose dolphin: *Tursiops aduncus*[M]//PERRIN W F, WÜRSIG B, THEWISSEN J G M. Encyclopedia of Marine Mammals. Amsterdam: Elsevier, 2009: 602-608.
- [34] ZHANG S, CAO Y T, CHEN B Y, et al. Assessing the potential use of environmental DNA for multifaceted genetic monitoring of cetaceans: Example of a wandering whale in a highly disturbed bay area[J]. Ecological Indicators, 2023, 148: 110125.
- [35] ALTER S E, KING C D, CHOU E, et al. Using environmental DNA to detect whales and dolphins in the New York Bight[J]. Frontiers in Conservation Science, 2022, 3: 820377.

(本文编辑: 胡莹莹)