•研究报告•

扬州宝应湖底栖大型无脊椎动物的生物多样性及其变化

胡 芮^{1#} 王儒晓^{1#} 杜诗雨¹ 李 萌¹ 邢雨辉¹ 潘 达¹ 徐海根^{2*} 孙红英^{1*}

1 (南京师范大学生命科学学院, 南京 210023)

2 (生态环境部南京环境科学研究所, 南京 210042)

摘要: 底栖大型无脊椎动物作为水环境监测的重要指示生物, 其群落结构和多样性能够有效地反映水环境的健康状况。为了更好地了解扬州宝应湖大型底栖动物的群落多样性, 本文于2015–2019年对扬州宝应湖底栖大型无脊椎动物进行野外调查和采样, 联合经典形态学和高通量测定DNA条形码方法进行物种鉴定, 进一步分析了这些大型无脊椎动物群落结构和多样性的年度变化, 并应用Shannon-Wiener指数(H')和污染生物指数(biotic index, BI)对水质状况进行生物评价。结果显示: 共记录大型底栖动物3门5纲57种, 其中软体动物门23种, 隶属2纲9科(腹足纲7科15种, 双壳纲2科8种); 环节动物门寡毛纲12种, 隶属2科; 节肢动物门22种, 隶属2纲6科(软甲纲4科5种, 昆虫纲2科17种)。腹足纲是优势类群, 5年间的密度占比均在65%以上。优势种是赤豆螺(*Bithynia fuchsiana*)、槲豆螺(*B. misella*)和长角涵螺(*Alocinma longicornis*)。Margalef丰富度指数(2.27 ± 0.28)、Simpson优势度指数(0.82 ± 0.02)和Pielou均匀度指数(0.78 ± 0.08)在5年间呈现明显的波动变化。对水质状况的生物评价结果表明, 湖区水体环境在5年间均呈现不同程度的污染状态, 这与过度围湖水产养殖等经济活动引起水体富营养化有一定关系。

关键词: 扬州; 宝应湖; 底栖大型无脊椎动物; DNA条形码; 生物多样性; 群落结构; 水质生物学评价

Biodiversity and spatiotemporal variations of benthic macroinvertebrates in the Baoying Lake, Yangzhou, Jiangsu

Rui Hu^{1#}, Ruxiao Wang^{1#}, Shiyu Du¹, Meng Li¹, Yuhui Xing¹, Da Pan¹, Haigen Xu^{2*}, Hongying Sun^{1*}

1 College of Life Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing 210023

2 Nanjing Institute of Environmental Sciences, Ministry of Ecology and Environment, Nanjing 210042

Abstract: Benthic macroinvertebrates serve as important indicator organisms for water environment monitoring, and the study of their community structure and biodiversity can effectively reflect the health of the water body. From 2015 to 2019, we investigated the community structure and biodiversity of benthic macroinvertebrates in the Baoying Lake, Yangzhou, Jiangsu Province. Using both morphological traits and DNA barcoding, we identified a total of 57 species. Assigned to three phyla and five classes, these species included: 23 molluscs (15 gastropods and 8 bivalves); 12 oligochaetes; and 22 arthropods (5 malacostracans and 17 insects). Gastropods constituted the most dominant group, accounting for more than 65% of density ratio during five years. The three most abundant gastropods were *Bithynia fuchsiana*, *B. misella*, and *Alocinma longicornis*. Surveys on the annual variation of species diversity and community structure showed mean values of the Margalef abundance index, Simpson dominance index and Pielou evenness index at 2.27 ± 0.28 , 0.82 ± 0.02 , and 0.78 ± 0.08 , respectively. Biotic assessments of water quality based on both the Shannon-Wiener index (H') and the biotic index (BI) suggested varying intensities of pollutants in the Baoying Lake between 2016 and 2019. This variation is likely related to anthropogenic eutrophication, notably overstocking during barrier net aquaculture.

收稿日期: 2020-01-17; 接受日期: 2020-04-30

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFC0507206)和生态环境部生物多样性保护专项

共同第一作者 Co-first authors

* 共同通讯作者 Co-authors for correspondence. E-mail: sunhongying@njnu.edu.cn; xhg@nies.org

Key words: Yangzhou; Baoying Lake; benthic macroinvertebrates; DNA barcode; biodiversity; community structure; bioassessment of water quality

宝应湖位于江苏省扬州市,京杭大运河以西,是江苏省纳入国家《水质较好湖泊生态环境保护总体规划》的三个湖泊之一。宝应湖属草型浅水、封闭型湖泊,与其周边纵横交错的水网构成了以湖泊湿地为主的湿地生态系统,对维护生物多样性、调节河川径流和调控局部气候,发展和提高农业、渔业,促进旅游产业发展和改善居民生活等都起着重要作用(钮兆花等, 2008, 吴兆年, 2013)。宝应湖水环境在其湿地生态系统中起着举足轻重的作用,不仅决定着宝应湖湿地的生态服务功能和生态经济价值,同时对湿地景观的经济效益也起到主导作用。然而近年来,随着宝应湖湿地开发力度的逐步加大,湖滩地大部分被围垦种植,滩地植被破坏严重(鲍春晖等, 2018);且湖区大力发展围网养殖(戴建华等, 2016),使天然水域受到严重干扰,湖区水生生态环境状况亟待调查和评估。

淡水底栖大型无脊椎动物(以下简称底栖动物)是生活史的全部或至少一个时期栖息于内陆淡水(包括流水和静水)水体的底部基质中,或在水底表面营游泳、爬行等活动的动物类群,主要包括水栖寡毛纲、软体动物、十足类甲壳动物和水生昆虫等(Covich et al, 1999; 孙红英等, 2013)。这些动物类群处于水生食物链的中间环节,既可促进有机质分解,净化水体,又可以作为鱼类等动物的天然优质饵料,在维持淡水生态系统的能量流动和物质循环中起到关键作用。它们的出现或消失可准确表征自然环境变化或人为干扰对水域生态系统造成的持久性和间断性影响,因此常被作为水环境监测的重要指示生物(梁彦龄和王洪铸, 1999; 段学花等, 2010),对其群落结构、生物多样性的研究能够有效地反映水环境的健康状况(Balderas et al, 2016; 邢圆等, 2019)。宝应湖底栖动物资料匮乏,仅见2012年秋季和翌年春季的调查报道(马德高等, 2017)。在以往的底栖动物调查研究中,仅采用传统形态学方法进行物种鉴定,对于个体微小、柔软易损或仅幼虫营底栖生活的动物类群的鉴定而言,存在费时费力、专业性要求高等条件的限制。近年来, DNA条形码技术被广泛应用于底栖动物调查和分类鉴定中

(Brodin et al, 2013; Silva & Wiedenbrug, 2014; 张翔等, 2016)。线粒体细胞色素氧化酶亚基I基因(cytochrome *c* oxidase I, *COI*)因其遵循母系遗传、重组率极低、拷贝数高、蕴含丰富的系统发育信号等优点成为首选的DNA条形码分子标记(Hebert et al, 2003; 李超伦等, 2011)。

本文以2015年4月至2019年10月连续5年在扬州宝应湖进行底栖动物多样性调查的数据为基础,联合使用以*COI*为分子标记的DNA条形码高通量测序技术和传统的形态分类鉴定方法,对该湖区分布的底栖动物进行鉴别,并对底栖动物多样性和群落结构的变化及其对水质变化的响应进行分析,以期对扬州宝应湖水生生态系统多样性保护和生态文明建设决策提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 研究区域和样点布设

宝应湖位于江苏省中部的高邮湖与白马湖之间,与下游的高邮湖直接相连,原为淮河入江行洪必经之地,分属宝应、金湖两县管辖。宝应湖湖面狭长,长20.7 km,平均宽1.2 km,面积38.69 km²。宝应湖水依赖地表径流和湖面降水补给,白马湖有部分来水经阮桥闸汇入宝应湖,出水主要由大汕子闸下泄入高邮湖。多年平均水位6.06 m,历年最高水位7.16 m,最低水位5.09 m。湖水黄绿色,透明度0.6–1.3 m,年均水温17.5℃,属重碳酸盐类钙组I型淡水湖。参照《生物多样性观测技术导则—淡水底栖大型无脊椎动物》(HJ710.8-2014),并根据湖区的地理环境和水体环境特点,在入口区、汇水区、湖心区(深水区)、出口区等区域共设置5个断面(A–E,图1),在每个断面设置2个采样点(湖中样点和湖边样点)。分别于2015年4月和12月、2016年4月和11月、2017年4月和11月、2018年4月和2019年10月进行底栖动物野外调查,共进行了8次采样。

1.2 样品采集与鉴定方法

参照《生物多样性观测技术导则—淡水底栖大型无脊椎动物》(HJ710.8-2014)中的方法,对各样点进行定量采集和定性采集。定量采集:使用1/16 m²

图1 宝应湖研究区域示意图

Fig. 1 Map of the study area in the Baoying Lake

的彼得生采泥器定量采集样品, 每个样点采泥3次, 合并作为1个样品。采泥深度为20–30 cm。由于湖面被养殖围网阻挡, 航道变窄, 2017年和2018年的所有断面仅能采到1个样点(湖边样点被围网阻拦未能采集样品)。所采泥样用0.5 mm孔径的筛网进行分选, 使用体积分数为95%的乙醇固定标本后带回实验室。样品保存时按断面进行编号, 分别保存在样品瓶中。定性采集: 使用长柄D型抄网在岸边和浅水等区域定性采集样品, 并挑拣作业渔民使用地笼捕获的底栖动物样品。参考相关资料(刘月英等, 1979; Morse et al, 1994; 韩茂森和束蕴芳, 1995; 戴爱云, 1999), 采用传统形态学方法对样品进行分类与鉴定。软体动物和甲壳动物等常见、易于分类的类群鉴定到种, 寡毛纲和昆虫纲幼虫(如摇蚊幼虫)等通过形态分类初步鉴定到科或属, 统计每种(科、属)底栖动物的个体数并称湿重。

使用*COI*为分子标记, 对寡毛纲和昆虫纲幼虫(如摇蚊幼虫)进行DNA条形码辅助分类和鉴定。鉴于高通量测序数据量大、可混样测序的特点, 将每年每个断面的寡毛纲和昆虫纲样品混合, 除去未采到寡毛纲和昆虫纲的样点(2016年A、B断面的湖中样点、C断面的湖边样点), 共得到17个混合样品。使用动物基因组DNA提取试剂盒(通用型, 擎科生物科技有限公司)分别提取各样品的总基因组DNA, 并用NanoDrop 2000 (Thermo Scientific)测定DNA样品的浓度。DNA样品浓度达到13 ng/μL以上方可用于后续的高通量测序(共有12个DNA样品合格, 包括2015年断面A、E样品, 2016年断面D样品, 2017年断面B–E的样品, 2018年断面A–E的样品)。使用

DNA条形码引物: COintF: 5'-GGWACWGGWTGA ACWGTWTAYCCYCC-3' (Leray et al, 2013); HCO2198: 5'-TAIACYTCIGGRTGICCAARAAYC A-3' (Geller et al, 2013)扩增线粒体*COI*基因313 bp的目的片段。取上述各断面的部分DNA样品用于高通量测序(上海派森诺生物公司), 其余DNA样品备份保存在实验室–40℃冰箱。将获得的测序数据进行后续数据处理和生物多样性分析。需要说明的是, 2019年调查期间, 在所有断面采获的寡毛纲和昆虫纲个体数均极少, 因此未采用DNA条形码分类。物种鉴定依据形态鉴别, 并借助此前各年度DNA条形码辅助鉴定的种类、通过形态特征比对进行确认。分别统计各种底栖动物的个体数并称取湿重。

1.3 数据处理与分析方法

1.3.1 原始数据质控及OTU划分

采用Illumina MiSeq平台对群落DNA片段进行双端(paired-end)测序, 测序原始数据以FASTQ格式保存。采用滑动窗口法对FASTQ格式的双端序列逐一作质量筛查。利用FLASH软件(Magoc & Salzberg, 2011), 对通过质量初筛的双端序列根据重叠碱基进行配对连接。用QIIME软件(Quantitative Insights Into Microbial Ecology, v 1.8.0, <http://qiime.org/>) (Caporaso et al, 2010)识别疑问序列, 检查并剔除嵌合体序列和不确定序列, 建立各年度不同断面的有效序列数据集。

使用QIIME软件, 调用UCLUST序列比对工具(Edgar, 2010), 对前述获得的序列按97%的序列相似度进行归并和OTU划分, 并选取每个OTU中丰度最高的序列作为该OTU的代表序列。对于每个OTU的代表序列, 在QIIME软件中使用默认参数, 通过将OTU代表序列与BOLD数据库和NCBI数据库相比对, 获取每个OTU所对应的分类学信息。去除丰度值低于全体样本测序总量0.001%的OTU (Bokulich et al, 2013)。为了进一步比较不同年份之间底栖动物多样性组成的变化, 将各年度的DNA有效序列进行整合, 再次剔除不确定序列数据后, 将每条OTU代表序列与数据库比对, 检测和记录各断面样品的底栖动物种类。

1.3.2 群落结构及多样性分析方法

本研究采用优势度指数(*Y*)确定优势种, 采用Margalef丰富度指数(*dM*)、Simpson优势度指数(*d*)、Pielou均匀度指数(*J*)计算各样点的多样性指数, 并

基于Shannon-Wiener多样性指数(H')和biotic index (BI)污染生物指数进行水质生物学评价(Shannon, 1949; 王备新, 2003)。Shannon-Wiener多样性指数水质分级标准参考蔡永久等(2014), 将水质级别分为4个等级: $H' > 3$ 时为清洁, $2 < H' < 3$ 时为轻度污染, $1 < H' < 2$ 时为中度污染, $0 < H' < 1$ 时为重度污染。参考秦春燕(2013)^①, 计算 BI 指数, BI 水质分级标准参考王备新(2003), 水质级别共有5个等级: $BI < 1.93$ 时为极清洁, $1.94 < BI < 3.51$ 时为清洁, $3.52 < BI < 5.09$ 时为轻度污染, $5.10 < BI < 6.67$ 时为中度污染, $BI > 6.67$ 时为重度污染。定性采集的样品(如软甲类)不计算在内。计算公式如下:

(1) 优势度指数(Y): $Y = (N_i / N) \times f_i$

(2) Margalef丰富度指数(dM): $dM = (S - 1) / \ln N$

(3) Simpson优势度指数(d): $d = 1 - \sum P_i^2$

(4) Pielou均匀度指数(J):

$$J = -\sum P_i \ln P_i / \ln S$$

(5) Shannon-Wiener多样性指数(H'):

$$H' = -\sum P_i \ln P_i$$

(6) Biotic index污染生物指数(BI):

$$BI = \sum T_i N_i / N$$

式中, P_i 为第 i 种的相对丰度, 即 N_i / N , N_i 为第 i 种的个体数, N 为总个体数, S 为底栖动物物种总数, f_i 为第 i 种在各个位点出现的频率, T_i 为第 i 个分类单元的耐污值(王备新, 2003; 秦春燕, 2013^①), 定义 $Y > 0.02$ 的种为优势种(陈亚瞿等, 1995)。

2 结果

2.1 物种多样性及其年度变化

本文借助传统形态学方法, 共鉴定底栖动物35种, 隶属于2门5纲6目15科(附录1)。其中, 腹足纲2目7科15种, 双壳纲1目2科8种, 软甲纲1目4科5种, 寡毛纲1目1科3种, 昆虫纲1目1科4种。比较前三类底栖动物多样性组成的年间变化发现, 其物种数在2015年最多, 有11科22种; 在2018年最少, 仅有8科

14种; 在2019年略有回升, 有9科19种(图2a)。

将高通量测序获得的2015–2018年寡毛纲和昆虫纲样品的DNA条形码原始数据进行初步分析, 共检测出寡毛纲1目2科12种, 昆虫纲1目2科17种。各年不同分类水平的OTU比例见图3a, 通过比较这两类底栖动物多样性组成在5年间的变化发现(图3a), 寡毛纲在2018年的物种检出率最高(比例为100%), 水生昆虫在2015年的物种检出率最高(88.2%)。根据OTU分类所做的这两类底栖动物COI基因条形码venn图显示, 各年度特有寡毛纲和昆虫纲物种数最多的是2015年, 共检出8种; 各年度之间共有的寡毛纲和昆虫纲种类共计3种(图3b)。

综合以上分析, 宝应湖底栖动物有57种, 隶属3门5纲(附录1)。其中, 昆虫纲种类最多, 有17种(占比为29.82%, 下同); 腹足纲次之, 有15种(26.32%); 其他依次为寡毛纲12种(21.05%), 双壳纲8种(14.04%), 软甲纲5种(8.77%)。比较物种组成和密度占比的年间变化(图2), 结果显示, 软体动物(腹足纲、双壳纲)整体表现出较高的物种数量和密度占比, 但两者在2018年均出现明显下降, 尤其是密度占比下降明显。寡毛纲的物种数量和密度占比在5年间发生波动, 2018年增量最大; 水生昆虫以摇蚊科物种数量居多, 且2015年的物种数量最多(图2a), 其余年份与寡毛纲在物种数量和密度占比上的变化趋势基本一致。

2.2 底栖动物群落结构

5年调查期间, 底栖动物各年份的优势类群均为腹足纲, 优势度(Y 值)在0.0234–1.4705之间(表1), 各年共有的优势种为: 赤豆螺(*Bithynia fuchsiana*)、槲豆螺(*B. misella*)和长角涵螺(*Alocinma longicornis*)。

底栖动物生物量与生物密度的时空分布分析显示(图4a, b), 5年间的年均生物量在129.89–541.38 g/m²之间(平均为397.594 g/m²), 年均生物密度在834.13–2,316.27 ind./m²之间(平均为1,443.63 ind./m²)。年均生物量在2015–2017年间较为接近, 2018年最低, 2019年出现明显回升。比较5年间各断面的生物量变化发现, 2019年A断面的生物量最高(1,347.17 g/m²), 其中, 背瘤丽蚌(*Lamprotula leai*)的生物量(711.20 g/m²)占该断面生物量的52.8%, 2018年C断面的生物量最低(26.56 g/m²) (图4a)。年

^① 秦春燕 (2013) 长江三角洲淡水底栖动物耐污值修订和 BI 指数水质评价分级研究. 硕士学位论文, 南京农业大学, 南京.

图2 宝应湖2015–2019年的底栖大型无脊椎动物物种数(a)及主要类群的相对生物密度(b)

Fig. 2 Number of species (a) and density of main groups (b) of benthic macroinvertebrates in the Baoying Lake

图3 宝应湖2015–2018年的寡毛纲和昆虫纲动物的DNA条形码鉴定结果。a: 不同分类水平的OTU比例及其年度变化; b: 各年份的寡毛纲和昆虫纲特有种或共有种的比例。

Fig. 3 Results of DNA barcoding identification of Oligochaeta and Insecta in the Baoying Lake. a, Proportion of OTUs at different classification levels and their annual change; b, Percentage of endemic or common species of Oligochaeta and Insecta.

表1 宝应湖2015–2019年底栖大型无脊椎动物优势种及其优势度(Y)

Table 1 The dominant species and their dominant values (Y) of 2015–2019 in the Baoying Lake

物种 Species	2015		2016		2017		2018		2019	
	个体数 No. of individuals	优势度 Dominant values	个体数 No. of individuals	优势度 Dominant values	个体数 No. of individuals	优势度 Dominant values	个体数 No. of individuals	优势度 Dominant values	个体数 No. of individuals	优势度 Dominant values
长角涵螺 <i>Alocinma longicornis</i>	472	0.0702	1,488	0.6889	694	0.1474	125	0.1045	330	0.2123
赤豆螺 <i>Bithynia fuchsiana</i>	2,062	1.1788	1,101	0.3818	1,262	0.4509	108	0.0824	1,018	1.4705
槲豆螺 <i>Bithynia misella</i>	708	0.1350	886	0.2314	710	0.1447	93	0.0659	110	0.0247
纹沼螺 <i>Parafossarulus striatulus</i>	335	0.0287	408	0.0473	110	0.0030	44	0.0122	129	0.0281
梨形环棱螺 <i>Bellamya purificata</i>	820	0.1752	301	0.0252	102	0.0032	12	0.0020	113	0.0327
凸旋螺 <i>Gyraulus convexiusculus</i>	137	0.0033	297	0.0235	0	0	0	0	103	0.0153
尖口圆扁螺 <i>Hippeutis cantor</i>	0	0	37	0.0008	360	0.0358	0	0	0	0
铜锈环棱螺 <i>Bellamya aeruginosa</i>	5	0.0001	202	0.0124	162	0.0077	47	0.0234	231	0.1236
方形环棱螺 <i>Bellamya quadrata</i>	88	0.0021	215	0.0142	113	0.0040	24	0.0054	123	0.0318

粗体代表该年度优势种 Bold-faced numbers represent dominant species

均生物密度在 2015 年和 2016 年较为接近, 2017–2019 年出现明显波动变化。5 年中, 2017 年 B 断面生物密度为最高 ($3,730.67 \text{ ind./m}^2$), 2018 年 C 断面为最低 (181.33 ind./m^2) (图 4b)。

依据 Margalef 丰富度指数 (dM)、Simpson 优势度指数 (d) 和 Pielou 均匀度指数 (J), 对腹足纲、双壳纲、寡毛纲和昆虫纲等 4 类主要底栖动物类群的物种多样性时空分布分析显示 (图 5a–c), Margalef 丰富度指数的平均值为 2.27 ± 0.28 , 在 2017 年和 2018 年呈下降趋势, 2019 年又回升到 2016 年前的平均水平 (图 5a); Simpson 优势度指数平均值为 0.82 ± 0.02 , 整体变化较为平稳, 但 2019 年 E 断面的值较低 (图 5b); Pielou 均匀度指数平均值为 0.78 ± 0.08 , 2018 年均匀度最高, 2019 年 (除 E 断面外) 与 2015 年较为接近 (图 5c)。三类生物多样性指数在 5 年间呈现波动性变化态势。

2.3 水质生物评价分析

基于 Shannon-Wiener 多样性指数 (H') 和 BI 生物指数分别对水质健康状况进行生物学评价, 结果显

示, H' 值在 1.89–2.56 之间, 水体的水质状况处于轻度至中度污染 (表 2)。 BI 指数值在 5.77–6.94 之间 (表 2), 提示水体的水质为中度至重度污染。各调查断面的 BI 指数评价结果显示 (图 6b), 除了 2015 年 E 断面为轻度污染外 ($BI = 4.73$), 2015 和 2016 年其余断面水质为极清洁 (2016 年 D 断面: $BI = 1.87$) 至清洁状态 (2016 年 E 断面: $BI = 3.22$); 2017–2019 年, 除了 2019 年 A 断面显示为清洁 ($BI = 3.33$) 外, 其余断面水质状况处于轻度污染 (2019 年 E 断面: $BI = 3.53$) 至重度污染 (2018 年 C 断面: $BI = 7.68$)。各调查断面的 H' 指数评价结果显示 (图 6a), 2015–2019 年所有断面水质状况处于轻度 (2018 年 D 断面: $H' = 2.33$) 至中度污染 (2018 年 A 断面: $H' = 1.74$)。

3 讨论

3.1 DNA 条形码技术在底栖大型无脊椎动物多样性研究中的应用

除了传统的形态学方法, DNA 条形码技术也被广泛应用于底栖动物的分类鉴定 (Brodin et al, 2013;

图 4 宝应湖 A–E 断面的底栖大型无脊椎动物年均生物量 (a) 和年均生物密度 (b) 的变化

Fig. 4 The changes of the annual average biomass (a) and annual average density (b) of the benthic macroinvertebrate groups at A–E transect in the Baoying Lake

图 5 宝应湖底栖大型无脊椎动物群落的 Margalef 丰富度指数 (a)、Simpson 优势度指数 (b) 和 Pielou 均匀度指数 (c)

Fig. 5 Margalef abundance index (a), Simpson dominance index (b), and Pielou evenness index (c) of the benthic macroinvertebrate groups in the Baoying Lake

表2 宝应湖各年度底栖大型无脊椎动物的Shannon-Wiener指数及BI指数

Table 2 Annual Shannon-Wiener diversity index (H') and biotic index (BI) values of benthic macroinvertebrates in the Baoying Lake

调查年份 Investigating year	Shannon-Wiener指数 Shannon-Wiener index (H')	BI指数 Biotic index (BI)
2015	2.15	5.98
2016	2.14	5.78
2017	2.56	6.77
2018	2.32	6.94
2019	1.89	5.77

图6 采用Shannon-Wiener多样性指数(a)和biotic index污染生物指数(b)对宝应湖5年调查期间的水质生物学评价与比较。轮盘上的5个扇形代表年份, 12点方向的第1个扇形代表2015年, 然后按顺时针的方向依次为2016–2019年。

Fig. 6 The bioassessments of water quality based on Shannon-Wiener diversity index (a) and BI index (b). The first fan-shaped section in the 12 o'clock direction represents 2015, followed by 2016 to 2019 in a clockwise direction.

Silva & Wiedenbrug, 2014; 张翔等, 2016; 杨梅等, 2018)。基于高通量测序的DNA条形码技术解决了形态学鉴定方法存在的学习成本高、费时费力、准确度受操作人员专业水准限制的影响较大等问题,

并具有测序数据量大、周期短、成本低、易学易用等优点。在生物多样性研究方面, DNA条形码(曹云等, 2016; 金倩等, 2016)、DNA复合条形码(宋颢和黄原, 2016; 李杰等, 2016)以及环境DNA技术(李萌等, 2019)被广泛推广或应用。本文利用DNA条形码技术, 从三年采集获得的样品(除2016和2019年样品外)中均鉴别出10种以上寡毛纲和昆虫纲物种, 相较于同区域单纯使用传统方法的分析(马德高等, 2017), 提高了多样性调查的效率, 解决了部分类群多样性被低估的问题, 使结果更真实地反映宝应湖底栖动物的生物多样性水平。

尽管基于高通量测序的DNA条形码技术具有省时省力等许多优点, 但该技术在底栖动物生物多样性调查、监测等领域的推广和应用仍存在一些制约因素。首先, 现有的数据库信息不全, BOLD数据库中有超过45,000条底栖动物的序列, 包括2,800多个物种, 但还远不能覆盖目前已知的上万种底栖动物。其次, 缺乏可靠的基于凭证标本的条形码数据库, 大量的条形码序列缺少凭证标本信息。其三, 缺少中国本土物种的条形码信息, 现有大多数物种的条形码信息来自北美洲、太平洋东岸、大西洋东岸沿海的西欧各国, 以及非洲北部各国的底栖动物类群, 无法有效应用于更多地区。2019年11月, 在中国南京召开的“中国大型底栖动物条形码数据库构建研讨会”上, 国内从事底栖动物分类系统学研究的一线专家到会共同探讨了联合建立以中国本土物种为对象、以分类凭证标本为基础的底栖动物条形码数据库构建思路和框架, 期望在未来数年内建成涵盖本土全类群的中国底栖大型无脊椎动物DNA条形码数据库。相信随着DNA条形码数据库的不断积累完善, 以及测序成本进一步降低, 该技术的准确度和效率还会逐步提升, 并有望在生物多样性保护研究领域发挥关键利器作用。

尽管DNA序列数与物种个体数之间存在一定的关联, 但两者未达到统计学上的对应关系(李杰等, 2016)。本文获得的DNA条形码数据仅用于底栖动物的定性和类群组成的相对丰度分析(图3)。现有的DNA条形码技术在群落结构及多样性定量分析等方面, 尤其是对大型无脊椎动物这类复杂多样的底栖生物类群来说存在很大的局限性。如何在群落定量分析上取得突破是未来DNA条形码技术以及环境DNA技术面临的挑战。

3.2 底栖动物群落结构和多样性及对水质变化的响应

本研究共采集到底栖动物57种, 相较宝应湖此前的底栖动物调查(获得27种底栖动物)本次调查持续时间长, 各年度采样断面一致性高, 并且联合采用DNA条形码技术对物种进行分类鉴定, 能够更加准确地反映出宝应湖底栖动物的物种组成和群落结构特征。调查结果显示, 宝应湖底栖动物的物种组成及密度占比在2015–2019年之间发生了波动性变化。软体动物整体表现出较高的物种多样性和生物密度, 5年间优势种为9种腹足纲动物(3科), 共有优势种有3种(赤豆螺、槲豆螺和长角涵螺; 表1)。相比2012–2013年调查(马德高等, 2017), 底栖动物优势类群一致, 均为腹足纲动物。其中, 赤豆螺为共有的优势种。此外, 本次调查监测到的寡毛纲(12种2科)和摇蚊科(17种)种类远多于此前调查获得的种类(寡毛纲2种; 马德高等, 2017)。其中, 克拉伯水丝蚓(*Limnodrilus claparedianus*)为共有的寡毛纲种类。在本次调查获得的寡毛纲动物中, 以克拉伯水丝蚓、霍甫水丝蚓(*Limnodrilus hoffmeisteri*)和苏氏尾鳃蚓(*Branchiura sowerbyi*)的出现率为最高; 在摇蚊科中, 则以分离底栖摇蚊(*Benthalia dissidens*)、中国长足摇蚊(*Tanytus chinensis*), 以及大红德永摇蚊(*Tokunagayusurika akamusi*)和裸须摇蚊属一种(*Prosilocerus* sp.)的出现率为最高。寡毛纲的克拉伯水丝蚓、霍甫水丝蚓和苏氏尾鳃蚓等耐污种通常在富营养化水体中大量存在(James et al, 2005; Cai et al, 2012), 摇蚊科的中国长足摇蚊和大红德永摇蚊也常作为富营养化湖泊的指示物种(龚志军等, 2001)。本文监测结果显示, 这些耐污性强、适宜富营养化环境的寡毛纲和摇蚊在宝应湖成为常见的底栖动物类群, 反映出宝应湖水体已发生一定程度的富营养化。

尽管水体理化参数可以提供关于水质污染的准确信息, 但其实施成本相对较高(Resh, 2007; Balderas et al, 2016)。使用生物评价和监测的手段具有化学评价无法比拟的突出优势(段学花等, 2010), 可以起到“吹哨”或提前预警的效果。由于大多数淡水底栖动物具有生命周期短(生活史一至两年)、在水生生态系统中占据多个营养级等特点, 它们可以有机地整合水环境的短期变化效应, 从而对环境胁迫产生迅速响应(孙红英等, 2013)。基于底栖动物开

展水质生物评价监测具有样品易于采集、花费的人力和物力更为经济等优势, 被广泛应用于水环境的健康评价(Barbour, 1999; Markert et al, 1999; Balderas et al, 2016)。寡毛纲和摇蚊幼虫通常在富营养化水体中大量存在, 且水体营养程度越高其密度越大(熊金林等, 2003), 而软体动物种类的数量会随着水体富营养化水平的提升有下降趋势(James et al, 2005; Cai et al, 2012)。本文调查结果显示, 寡毛纲和昆虫纲(主要为摇蚊科)的物种数量和密度在5年间均有一定波动, 二者在2018年均出现明显增加(图2); 而软体动物种类的数量和密度占比在2018年均发生下降, 尤其是密度占比下降明显(图2)。这间接反映出宝应湖水体健康状况在5年间发生了明显波动, 水体受污染的程度在2018年最为严重。有机污染物富集对底栖动物群落的影响通常表现为群落物种丰富度的下降(Kutti et al, 2007)。本文调查显示, 物种丰富度指数在2017–2018年连续下降(图5a), 提示水体中有机污染物在此期间的富集情况有所加剧。该结果印证了2017年对宝应湖水质的理化因子监测(总氮1.34 mg/L, 总磷0.06 mg/L)得出水体处于中营养化状态(综合营养状态指数值为37.427; 鲍春晖等, 2018)的结果。此外, 2018年底栖动物的物种总数高达34种(图2a), 但生物量和密度却明显低于其他年份(图4)。由此来看, 随着寡毛纲和摇蚊幼虫等小型化物种数量的增加, 总生物量出现了明显下降, 提示水体营养化程度加剧不利于底栖动物群落结构和多样性格局的维持。

3.3 水产养殖对湖区水质健康状况的影响

近年来, 宝应湖大力发展渔业围网养殖, 主要养殖品种包括鱼类(如青鱼 *Mylopharyngodon piceus*、草鱼 *Ctenopharyngodon idella*、鲢鱼 *Hypophthalmichthys molitrix* 和鳙鱼 *Aristichthys nobilis*)和中华绒螯蟹(*Eriocheir japonica sinensis*, 又称绒螯蟹、河蟹或大闸蟹)(Tang et al, 2003; 戴建华等, 2016)。实地调查显示, 2012–2013年间, 湖区围网渔业多以青、草、鲢、鳙等鱼类养殖为主, 仅有零星的绒螯蟹围网养殖。随着绒螯蟹产业化开发和大规格苗种的规模化供应, 无公害养殖绒螯蟹逐渐成为渔业养殖业的支柱。2015年以来, 宝应湖区的渔业养殖逐渐转产, 大力推广养殖绒螯蟹, 其围网养殖的面积和密度逐年提升, 至2018年整个湖面几乎被养殖围网隔为狭窄的水道。为补充天然优质

饵料,当地渔民和养殖户每年不断捕捞湖区开敞水(道)区的底栖贝类(以螺类为主),对螺类等贝类资源造成严重影响。螺类等底栖动物不仅自身可以对水体有机物质进行降解,还能够通过牧食(刮食)沉水植物表面的附生藻类(Reavell, 1980),增大沉水植物对光的利用效率(欧阳志云, 2010),进而促进沉水植物的生长和对水体中营养成分的吸收,对净化水体、稳定湖泊底质起到重要作用。过度捕捞螺类,不但对底栖动物物种资源造成破坏,也严重影响了水生生态系统对水体的净化功能。此外,已有的研究表明,蟹类养殖中大量投放的玉米,以及小杂鱼、螺蛳等饵料的残留物对水体氮、磷污染负荷的贡献最大,养殖蟹大量的排泄物也是水体富营养化的来源之一(Ackefors & Enell, 1994; Sahu et al, 2013; 穆玉林等, 2018)。

底栖动物水质生物评价指标包括群落丰富度和多样性指数(如Shannon-Wiener指数, H')以及与物种耐污值有关的指数(如Biotic index污染生物指数, BI)。前者单纯以物种多样性指标评价水质的优劣,后者兼顾了物种多样性指标和不同种类对污染环境的耐受程度,即耐污值的差异(吴东浩等, 2011)。综合2012年和2013年调查获得的数据,Shannon-Wiener指数(两年分别为2.61和2.42)指示宝应湖水体的水质属于清洁(马德高等, 2017)。然而,从2015年渔业养殖逐渐转产至单一的绒螯蟹养殖,这期间的水质生物评价均显示宝应湖水体有轻重不一的污染状况(表2, 图6)。需要注意的是,从2018年水质生物评价来看,以物种多样性统计得出的Shannon-Wiener指数(2.32)显示水体属轻度污染(表2, 图6a),而兼顾底栖动物耐污值统计得出的 BI 值(6.94)则显示水体为重度污染(表2, 图6b)。该结果提示, BI 指数同时考虑了物种多样性和不同种类的耐污值差异,对水质健康状况的评价更为合理、科学。

上述研究表明,宝应湖底栖动物群落稳定性和水体健康状况受到过度围网养殖的影响。2019年,随着养殖围网的大范围撤除(湖区水面已基本恢复如2015年前后的状况),底栖动物群落多样性指标较2018年明显回升(图2, 图4, 图5a),水质污染的现象也得到一定程度缓解(图6b)。可以认为,底栖动物群落健康与否,直接关系到水生生态系统和水质状况的健康程度。本文对宝应湖底栖动物多样性和群落结构时空变化的研究,对进一步探索草型浅水湖

泊的环境承载力与渔业养殖容量之间的关系具有一定参考价值。一般认为,浅水型湖泊生态系统的退化主要表现为沉水植物的消退和食物网结构的退化(欧阳志云, 2010)。为保护宝应湖水生生态系统健康,应适当限制捕捞螺类等底栖动物,合理利用底栖动物的下行控制效应,提高沉水植被的存活率及对水体的净化效率。同时,保持底栖动物食物网结构的完整性,实现氮、磷等营养元素在食物链中的循环(全为民等, 2003)。继续坚持开展底栖动物多样性监测,可以为完善宝应湖水生生态系统的保护管理、建立生物预警系统等提供数据支撑和科学依据。

致谢: 野外考察得到了生态环境部南京环境科学研究所丁晖副研究员和江苏省扬州市环境监测研究站童桂风高级工程师的大力支持;样品采集得到南京师范大学张光富教授、李建宏教授、赵强高级工程师和戴建华副教授的鼎力协助,项目组研究生成佳佳、楚克林、贺婉、侯月、刘笑蕊、吕阳奇、宋丹红、姚凤欣、周丽君、王鹏飞、王玉娟、张泽伟、张展等参与野外调查、样品分拣和分类工作,南京师范大学生命科学学院本科生骆红、刘楠、秦越、秦超、裴剑驰、魏欲青、张晨、张慧伦、周心妍等参与部分野外调查工作。在此谨致谢忱!

参考文献

- Ackefors H, Enell M (1994) The release of nutrients and organic matter from aquaculture systems in Nordic countries. *Journal of Applied Ichthyology*, 10, 225–241.
- Balderas ECS, Grac C, Berti-Equille L, Hernandez MAA (2016) Potential application of macroinvertebrates indices in bioassessment of Mexican streams. *Ecological Indicators*, 61, 558–567.
- Bao CH, Xin YT, Hua Y, Li K (2018) Ecological environment quality of Baoying Lake and its countermeasures. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 46(21), 85–89. (in Chinese with English abstract) [鲍春晖, 辛玉婷, 花月, 李科 (2018) 宝应湖生态环境质量状况及对策. *安徽农业科学*, 46(21), 85–89.]
- Barbour MT (1999) *Rapid Bioassessment Protocols for Use in Wadeable Streams and Rivers: Periphyton, Benthic Macroinvertebrates and Fish*. The Office of Water, US Environmental Protection Agency. [郑丙辉, 刘录三, 李黎 (译) (2011) 溪流及浅河快速生物评价方案: 着生藻类、大型底栖动物及鱼类. 中国环境科学出版社, 北京.]
- Bokulich NA, Subramanian S, Faith JJ, Gevers D, Gordon JI,

- Knight R, Mills DA, Caporaso JG (2013) Quality-filtering vastly improves diversity estimates from Illumina amplicon sequencing. *Nature Methods*, 10, 57–59.
- Brodin Y, Ejdung G, Strandberg J, Lyrholm T (2013) Improving environmental and biodiversity monitoring in the Baltic Sea using DNA barcoding of Chironomidae (Diptera). *Molecular Ecology Resources*, 13, 996–1004.
- Cai YJ, Jiang JH, Zhang L, Chen YW, Gong ZJ (2012) Simplification of macrozoobenthic assemblages related to anthropogenic eutrophication and cyanobacterial blooms in two large shallow subtropical lakes in China. *Aquatic Ecosystem Health & Management*, 15, 81–91.
- Cai YJ, Liu JS, Dai XL, Xu H, Xue QJ, Gong ZJ (2014) Community structure of macrozoobenthos and bioassessment of water quality in Lake Changdang, Jiangsu Province. *Chinese Journal of Ecology*, 33, 1224–1232. (in Chinese with English abstract) [蔡永久, 刘劲松, 戴小琳, 许浩, 薛庆举, 龚志军 (2014) 长荡湖大型底栖动物群落结构及水质生物学评价. *生态学杂志*, 33, 1224–1232.]
- Cao Y, Shen WJ, Chen L, Hu FL, Zhou L, Xu HG (2016) Application of metabarcoding technology in studies of fungal diversity. *Biodiversity Science*, 24, 932–939. (in Chinese with English abstract) [曹云, 沈文静, 陈炼, 胡飞龙, 周蕾, 徐海根 (2016) Metabarcoding技术在真菌多样性研究中的应用. *生物多样性*, 24, 932–939.]
- Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman FD, Costello EK, Fierer N, Peña AG, Goodrich JK, Gordon JJ, Huttley GA, Kelley ST, Knights D, Koenig JE, Ley RE, Lozupone CA, McDonald D, Muegge BD, Pirrung M, Reeder J, Sevinsky JR, Turnbaugh PJ, Walters WA, Widmann J, Yatsunenko T, Zaneveld J, Knight R (2010) QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Methods*, 7, 335–336.
- Chen YQ, Xu ZL, Wang YL, Hu FX, Hu H, Gu GC (1995) An ecological study on zooplankton in plume front zone of Changjiang (Yangtze) River estuarine area. I. Biomass distribution of dominant species. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2, 49–58. (in Chinese with English abstract) [陈亚瞿, 徐兆礼, 王云龙, 胡方西, 胡辉, 谷国传 (1995) 长江口河口锋区浮游动物生态研究. I. 生物量及优势种的平面分布. *中国水产科学*, 2, 49–58.]
- Covich AP, Palmer MA, Crowl TA (1999) The role of benthic invertebrate species in freshwater ecosystems. *BioScience*, 49, 119–127.
- Dai AY (1999) *Fauna Sinica • Arthropoda • Crustacea • Malacostraca • Decapoda • Parathelphusidae • Potamidae*. Science Press, Beijing. (in Chinese) [戴爱云 (1999) 中国动物志 • 节肢动物门 • 甲壳动物亚门 • 软甲纲 • 十足目 • 束腹蟹科 • 溪蟹科. 科学出版社, 北京.]
- Dai JH, Sun HY, Wu J (2016) Study on fish composition and dominant species in the Baoying Lake, Jiangsu Province. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 44(3), 74–76. (in Chinese with English abstract) [戴建华, 孙红英, 吴军 (2016) 江苏省宝应湖鱼类组成和优势种研究. *安徽农业科学*, 44(3), 74–76.]
- Duan XH, Wang ZY, Xu MH (2010) *Benthic Macroinvertebrates and Application in the Assessment of Stream Ecology*. Tsinghua University Press, Beijing. (in Chinese) [段学花, 王兆印, 徐梦花 (2010) 底栖动物与河流生态评价. 清华大学出版社, 北京.]
- Edgar RC (2010) Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics*, 26, 2460–2461.
- Geller J, Meyer C, Parker M, Hawk H (2013) Redesign of PCR primers for mitochondrial cytochrome *c* oxidase subunit I for marine invertebrates and application in all-taxa biotic surveys. *Molecular Ecology Resources*, 13, 851–861.
- Gong ZJ, Xie P, Tang HJ, Wang SD (2001) The influence of eutrophication upon community structure and biodiversity of macrozoobenthos. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 25, 210–216. (in Chinese with English abstract) [龚志军, 谢平, 唐汇涓, 王士达 (2001) 水体富营养化对大型底栖动物群落结构及多样性的影响. *水生生物学报*, 25, 210–216.]
- Han MS, Shu YF (1995) *Atlas of Freshwater Species in China*. China Ocean Press, Beijing. (in Chinese) [韩茂森, 束蕴芳 (1995) 中国淡水生物图谱. 海洋出版社, 北京.]
- Hebert PD, Ratnasingham S, deWaard JR (2003) Barcoding animal life: Cytochrome *c* oxidase subunit I divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270 (Suppl. 1), S96–S99.
- James RT, David DH, Donald FC, Timothy LN, Winter DM (2005) Effects of removal of a small dam on downstream macroinvertebrate and algal assemblages in a Pennsylvania stream. *The North American Benthological Society*, 24, 192–207.
- Jin Q, Chen F, Luo GJ, Cai WJ, Liu X, Wang H, Yang CQ, Hao MD, Zhang AB (2016) Estimation of species richness of moths (Insecta: Lepidoptera) based on DNA barcoding in Suqian, China. *Biodiversity Science*, 24, 1296–1305. (in Chinese with English abstract) [金倩, 陈芬, 罗桂杰, 蔡卫佳, 刘旭, 王昊, 杨采青, 郝梦迪, 张爱兵 (2016) 基于DNA条形码的物种丰富度估计: 以宿迁地区鳞翅目蛾类为例. *生物多样性*, 24, 1296–1305.]
- Kutti T, Hansen PK, Ervik A, Høisæter T, Johannessen P (2007) Effects of organic effluents from a salmon farm on a fjord system. II. Temporal and spatial patterns in infauna community composition. *Aquaculture*, 262, 355–366.
- Leray M, Yang JY, Meyer CP, Mills SC, Agudelo N, Ranwez V, Boehm JT, Machida RJ (2013) 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*, 10, 34.
- Li CL, Wang MX, Cheng FP, Sun S (2011) DNA barcoding and its application to marine zooplankton ecology. *Biodiversity Science*, 19, 805–814. (in Chinese with English abstract) [李超伦, 王敏晓, 程方平, 孙松 (2011) DNA条

形码及其在海洋浮游动物生态学研究中的应用. 生物多样性, 19, 805–814.]

- Li J, Yang J, Huang Y (2016) Characterizing the aquatic biodiversity of the Qinling Mountains using DNA metabarcoding approach. *Acta Ecologica Sinica*, 36, 6103–6112. (in Chinese with English abstract) [李杰, 杨婧, 黄原 (2016) 应用DNA复合条形码技术研究秦岭水生动物多样性. 生态学报, 36, 6103–6112.]
- Li M, Wei TT, Shi BY, Hao XY, Xu HG, Sun HY (2019) Biodiversity monitoring of freshwater benthic macroinvertebrates using environmental DNA. *Biodiversity Science*, 27, 480–490. (in Chinese with English abstract) [李萌, 尉婷婷, 史博洋, 郝希阳, 徐海根, 孙红英 (2019) 环境DNA技术在淡水底栖大型无脊椎动物多样性监测中的应用. 生物多样性, 27, 480–490.]
- Liang YL, Wang HZ (1999) Zoobenthos. In: *Advanced Hydrobiology* (ed. Liu JK), pp. 241–259. Science Press, Beijing. (in Chinese) [梁彦龄, 王洪铸 (1999) 底栖动物 (第十章). 见: 高级水生生物学(刘建康主编), 241–259页. 科学出版社, 北京.]
- Liu YY, Zhang WZ, Wang YX, Wang EY (1979) *Economic Fauna of China: Freshwater Mollusk*. Science Press, Beijing. (in Chinese) [刘月英, 张文珍, 王跃先, 王恩义 (1979) 中国经济动物: 淡水软体动物. 科学出版社, 北京.]
- Ma DG, Wu W, Chen ZF, Yin H, Chen YJ (2017) Composition and diversity analysis of macroinvertebrate in water body of Baoying Lake. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 45(15), 14–17. (in Chinese with English abstract) [马德高, 吴蔚, 陈志芳, 殷慧, 陈宇洁 (2017) 宝应湖水体大型底栖无脊椎动物组成和多样性分析. 安徽农业科学, 45(15), 14–17.]
- Magoc T, Salzberg SL (2011) FLASH: Fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. *Bioinformatics*, 27, 2957–2963.
- Markert B, Wappelhorst O, Weckert V, Herpin U, Siewers U, Friese K, Breulmann G (1999) The use of bioindicators for monitoring the heavy-metal status of the environment. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 240, 425–429.
- Morse JC, Yang LF, Tian LX (1994) *Aquatic Insects of China Useful for Monitoring Water Quality*. Hohai University Press, Nanjing. (in Chinese) [Morse JC, 杨莲芳, 田立新 (1994) 中国水生昆虫及其水质监测应用. 河海大学出版社, 南京.]
- Mu YL, Shi HT, Zhao BW, Sun CX, Gao YS, Zhang ZJ, Li CJ (2018) Pollution load of nitrogen and phosphorus from cage aquaculture in Yangcheng Lake. *China Water & Wastewater*, 34(21), 86–91. (in Chinese with English abstract) [穆玉林, 石鸿韬, 赵博文, 孙承兴, 高月淑, 张振家, 李春杰 (2018) 阳澄湖围网养殖氮磷污染负荷分析. 中国给水排水, 34(21), 86–91.]
- Niu ZH, Hu TX, He GJ, Yang ZJ (2008) Function analysis and scientific utilization for the Baoying Lake wetlands. *Modern Agricultural Science and Technology*, (20), 321–322, 324. (in Chinese) [钮兆花, 胡天新, 何国俊, 杨正俊 (2008) 宝应湖湿地功能分析及其科学利用. 现代农业科技, (20), 321–322, 324.]
- Ouyang ZY (2010) *Review of 40-year Development of Chinese Ecology*. Science Press, Beijing. (in Chinese) [欧阳志云 (2010) 中国生态学学科40年发展回顾. 科学出版社, 北京.]
- Quan WM, Shen XQ, Yan LJ (2003) Advances in research of biological purification of eutrophic water body. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 14, 2057–2061. (in Chinese with English abstract) [全为民, 沈新强, 严力蛟 (2003) 富营养化水体生物净化效应的研究进展. 应用生态学报, 14, 2057–2061.]
- Reavell P (1980) A study of the diets of some British freshwater gastropods. *Journal of Conchology*, 30, 253–271.
- Resh VH (2007) Multinational, freshwater biomonitoring programs in the developing world: Lessons learned from African and Southeast Asian river surveys. *Environmental Management*, 39, 737–748.
- Sahu BC, Adhikari S, Dey L (2013) Carbon, nitrogen and phosphorus budget in shrimp (*Penaeus monodon*) culture ponds in eastern India. *Aquaculture International*, 21, 453–466.
- Shannon CE (1949) *The Mathematical Theory of Communication*. University of Illinois Press, Urbana.
- Silva FL, Wiedenbrug S (2014) Integrating DNA barcodes and morphology for species delimitation in the *Corynoneura* group (Diptera: Chironomidae: Orthocladinae). *Bulletin of Entomological Research*, 104, 65–78.
- Song Y, Huang Y (2016) The application of DNA metabarcoding in the study of soil animal diversity in Taibai Mountain. *Acta Ecologica Sinica*, 36, 4531–4539. (in Chinese with English abstract) [宋飏, 黄原 (2016) DNA复合条形码在太白山土壤动物多样性研究中的应用. 生态学报, 36, 4531–4539.]
- Sun HY, Li P, Yin JW, Ji YK (2013) Monitoring freshwater benthic macroinvertebrates. In: *Generality to Biological Species Resource Monitoring* (ed. Xu HG), pp. 233–261. Science Press, Beijing. (in Chinese) [孙红英, 李鹏, 殷稼雯, 纪永坤 (2013) 淡水底栖大型无脊椎动物监测(第十一章). 见: 生物物种资源监测概论(徐海根主编), 233–261页. 科学出版社, 北京.]
- Tang BP, Zhou KY, Song DX, Yang G, Dai AY (2003) Molecular systematics of the Asian mitten crabs, genus *Eriocheir* (Crustacea: Brachyura). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 29, 309–316.
- Wang BX (2003) *Water Quality Bioassessment Using Benthic Macroinvertebrates*. PhD dissertation, Nanjing Agricultural University, Nanjing. (in Chinese with English abstract) [王备新 (2003) 大型底栖无脊椎动物水质生物评价研究. 博士学位论文, 南京农业大学, 南京.]
- Wu DH, Wang BX, Zhang Y, Yang LF (2011) Advances in the

- use of biotic index for water quality bioassessment with benthic macroinvertebrate and its perspective in China. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 34, 132–137. (in Chinese with English abstract) [吴东浩, 王备新, 张咏, 杨莲芳 (2011) 底栖动物生物指数水质评价进展及在中国的应用前景. *南京农业大学学报*, 34, 132–137.]
- Wu ZN (2013) Analysis and scientific utilization of function in the Baoying Lake wetlands. *Modern Horticulture*, (8), 107. (in Chinese) [吴兆年 (2013) 宝应湖湿地功能的分析与利用. *现代园艺*, (8), 107.]
- Xing Y, Wu XP, Ouyang S, Zhang JQ, Xu J, Yin SL, Xie ZC (2019) Assessment of macrobenthos biodiversity and potential human-induced stressors in the Ganjiang River system. *Biodiversity Science*, 27, 648–657. (in Chinese with English abstract) [邢圆, 吴小平, 欧阳珊, 张君倩, 徐靖, 银森录, 谢志才 (2019) 赣江水系大型底栖动物多样性与受胁迫因子初探. *生物多样性*, 27, 648–657.]
- Xiong JL, Mei XG, Hu CL (2003) Comparison of community structure and biodiversity of zoobenthos in lakes of different pollution states. *Journal of Lake Sciences*, 15(2), 66–74. (in Chinese) [熊金林, 梅兴国, 胡传林 (2003) 不同污染程度湖泊底栖动物群落结构及多样性比较. *湖泊科学*, 15(2), 66–74.]
- Yang M, Kou Q, Li XZ (2018) Advances in DNA barcoding of macrozoobenthos in coastal waters of China. *Marine Sciences*, 42, 163–173. (in Chinese with English abstract) [杨梅, 寇琦, 李新正 (2018) 中国近海大型底栖动物 DNA 条形码的研究进展. *海洋科学*, 42, 163–173.]
- Zhang X, Zhang XW, Yang JH, Zhou GD (2016) Applying DNA barcoding for identification of some invertebrate macrozoobenthos at Taihu Lake Basin. *Environmental Monitoring and Forewarning*, 8(6), 18–21, 25. (in Chinese with English abstract) [张翔, 张效伟, 杨江华, 周国栋 (2016) 应用物种 DNA 条形码识别太湖流域部分底栖无脊椎动物种类. *环境监控与预警*, 8(6), 18–21, 25.]
- Zhou KY, Gui H, Sun HY, Su CR, Zhao Q, Chang Q (2005) *Jiangsu Local Chronicles, Zoography*. Phoenix Publishing House, Nanjing. (in Chinese) [周开亚, 归鸿, 孙红英, 苏翠荣, 赵强, 常青 (2005) *江苏省志·生物志·动物篇*. 凤凰出版社, 南京.]

(责任编辑: 李新正 责任编辑: 闫文杰)

附录 Supplementary Material

附录1 宝应湖底栖大型无脊椎动物名录

Appendix 1 Species list of benthic macroinvertebrate in the Baoying Lake

<http://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2020023-1.pdf>

胡芮, 王儒晓, 杜诗雨, 李萌, 邢雨辉, 潘达, 徐海根, 孙红英 (2020) 扬州宝应湖底栖大型无脊椎动物的生物多样性及其变化. 生物多样性, 2020, 28 (12): 1558–1569. <http://www.biodiversity-science.net/CN/10.17520/biods.2020023>

附录1 宝应湖底栖大型无脊椎动物名录

Appendix 1 Species list of benthic macroinvertebrate in the Baoying Lake

物种 Species	调查年份 Investigating year				
	2015	2016	2017	2018	2019
环节动物门 Annelida					
寡毛纲 Oligochaeta					
(1) 寡毛纲1种 Oligochaeta sp.	—	—	—	+	—
I. 颤蚓目 Tubificida					
1. 仙女虫科 Naididae					
(2) 指鳃尾盘虫 <i>Dero digitate</i>	—	—	—	+	—
2. 颤蚓科 Tubificidae					
(3) 多毛管水蚓 <i>Aulodrilus pluriseta</i>	—	—	+	+	—
(4) 管水蚓1种 <i>Aulodrilus</i> sp.	—	—	+	+	—
(5) 维 窦 夫 盘 丝 蚓 <i>Bothrioneurum vej dovskyanum</i>	—	—	+	+	—
(6) 苏氏尾鳃蚓 <i>Branchiura sowerbyi</i>	+	+	+	+	+
(7) 克拉泊水丝蚓 <i>Limnodrilus claparedianus</i>	+	—	+	+	+
(8) 霍甫水丝蚓 <i>Limnodrilus hoffmeisteri</i>	+	—	+	+	+
(9) 巨毛水丝蚓 <i>Limnodrilus grandisetosus</i>	—	—	—	+	—
(10) 正颤蚓 <i>Tubifex tubifex</i>	—	—	+	+	—
(11) 颤蚓亚科1种 Tubificinae sp. 1	—	—	+	+	—
(12) 坦氏泥蚓 <i>Ilyodrilus templetoni</i>	—	—	—	+	—
软体动物门 Mollusca					
腹足纲 Gastropoda					
II. 中腹足目 Mesogastropoda					
3. 田螺科 Viviparidae					
(13) 中华圆田螺 <i>Cipangopaludina cathayensis</i>	—	—	+	—	+
(14) 方形环棱螺 <i>Bellamy a quadrata</i>	+	+	+	+	++
(15) 梨形环棱螺 <i>Bellamy a purificata</i>	++	++	+	+	++
(16) 铜锈环棱螺 <i>Bellamy a aeruginosa</i>	+	+	+	++	++
4. 盖螺科 Pomatiopsidae					
(17) 钉 螺 指 名 亚 种 <i>Oncomelania hupensis hupensis</i>	+	—	+	+	+
5. 豆螺科 Bithyniidae					
(18) 长角涵螺 <i>Alocinma longicornis</i>	++	++	++	++	++
(19) 赤豆螺 <i>Bithynia fuchsiana</i>	++	++	++	++	++
(20) 榭豆螺 <i>Bithynia misella</i>	++	++	++	++	++
(21) 纹沼螺 <i>Parafossarulus striatulus</i>	++	++	+	+	++
6. 狭口螺科 Stenothyridae					
(22) 光滑狭口螺 <i>Stenothyra glabra</i>	—	+	—	+	—
7. 肋螺科 Planorbidae					
(23) 方格短沟蜷 <i>Semisulcospira cancellata</i>	—	+	+	+	+
III. 基眼目 Basommatophora					
8. 椎实螺科 Lymnaeidae					

胡芮, 王儒晓, 杜诗雨, 李萌, 邢雨辉, 潘达, 徐海根, 孙红英 (2020) 扬州宝应湖底栖大型无脊椎动物的生物多样性及其变化. 生物多样性, 2020, 28 (12): 1558–1569. <http://www.biodiversity-science.net/CN/10.17520/biods.2020023>

	(24)耳萝卜螺 <i>Radix auricularia</i>	+	+	+	+	+
	(25)椭圆萝卜螺 <i>Radix swinhoi</i>	+	+	+	+	+
9.扁卷螺科 Planorbidae						
	(26)凸旋螺 <i>Gyraulus convexiusculu</i>	+	++	—	—	+
	(27)尖口圆扁螺 <i>Hippeutis cantor</i>	+	+	++	—	+
双壳纲 Bivalvia						
IV. 真瓣鳃目 Eulamellibranchia						
10.蚌科 Unionidae						
	(28) 圆顶珠蚌 <i>Unio donglasiae</i>	+	—	—	—	—
	(29) 短褶矛蚌 <i>Lanceolaria grayana</i>	+	—	+	—	—
	(30) 剑状矛蚌 <i>Lanceolaria gladiola</i>	+	—	—	—	—
	(31) 背瘤丽蚌 <i>Lamprotula leai</i>	—	—	—	—	+
	(32) 椭圆背角无齿蚌 <i>Anodonta woodiana elliptica</i>	+	—	—	—	—
	(33) 淡水无齿蚌 <i>Anodonta fluminea</i>	—	+	+	—	+
11.蜆科 Corbiculidae						
	(34) 河蜆 <i>Corbicula fluminea</i>	+	+	+	+	+
	(35) 刻纹蜆 <i>Corbicula largillierti</i>	—	+	+	—	+
节肢动物门 Arthropoda						
软甲纲 Malacostraca						
V. 十足目 Decapoda						
12. 长臂虾科 Palaemonidae						
	(36) 秀丽白虾 <i>Palaemon modestus</i>	+	—	—	—	—
	(37) 日本沼虾 <i>Macrobrachium nipponense</i>	+	—	—	—	—
13.螯虾科 Cabaridae						
	(38) 克氏原螯虾 <i>Procambarus clarkia</i>	+	—	—	—	—
14.溪蟹科 Potamidae						
	(39) 平原华溪蟹 <i>Sinopotamon planum</i>	+	—	—	—	—
15.弓蟹科 Varunidae						
	(40) 中华绒螯蟹 <i>Eriocheir sinensis</i>	+	+	+	+	+
昆虫纲 Insecta						
VI. 双翅目 Diptera						
16.摇蚊科 Chironomidae						
	(41) 大红德永摇蚊 <i>Tokunagayusurika akamusi</i>	+	—	+	+	+
	(42) 德永雕翅摇蚊 <i>Glyptotendipes tokunagai</i>	+	—	—	—	—
	(43) 多巴小摇蚊 <i>Microchironomus tabarui</i>	—	—	—	+	—
	(44) 分离底栖摇蚊 <i>Benthalia dissidens</i>	+	+	+	+	+
	(45) 花翅摇蚊 <i>Chironomus kiiensis</i>	+	—	—	—	—
	(46) 黄色羽摇 <i>Chironomus flaviplumus</i>	+	—	—	—	—
	(47) 蚊型前突摇蚊 <i>Procladius culiciformis</i>	+	—	—	+	—
	(48) 线翅摇蚊 <i>Chironomus striatipennis</i>	+	—	—	—	—
	(49) 裸须摇蚊属1种 <i>Prosilocerus sp.</i>	+	—	+	+	+
	(50) <i>Chironomus incertipennis</i>	+	—	—	—	—

胡芮, 王儒晓, 杜诗雨, 李萌, 邢雨辉, 潘达, 徐海根, 孙红英 (2020) 扬州宝应湖底栖大型无脊椎动物的生物多样性及其变化. 生物多样性, 2020, 28 (12): 1558–1569. <http://www.biodiversity-science.net/CN/10.17520/biods.2020023>

	(51) 摇蚊属1种 <i>Chironomus</i> sp.	+	—	—	—	—
	(52) 摇蚊属1种 <i>Chironomus</i> sp.	+	—	—	—	—
	(53) 摇蚊属1种 <i>Chironomus</i> sp.	+	—	—	—	—
	(54) 摇蚊属1种 <i>Chironomus</i> sp.	+	—	+	—	—
	(55) 似羽摇蚊 <i>Chironomus</i> cf. <i>plumosus</i>	+	—	+	+	—
	(56) 中国长足摇蚊 <i>Tanypus chinensis</i>	+	+	+	+	+
17. 螺科 <i>Ceratopogonidae</i>						
	(57) 斜螺属1种 <i>Clinohalea</i> sp.	—	—	—	+	—
总计	57	40	20	32	34	25

粗体表示形态鉴定得到的物种; + 表示当年采到的物种; — 表示当年未采到的物种; ++ 表示 $Y > 0.02$ 的优势种。Bold-faced: Species identified by morphology; + Species collected in that year; — Species not collected in that year; ++ Dominant species, $Y > 0.02$.