

Shi K N, He Y J, Zhao Y J, *et al.* The complementary role of detritus in environmental DNA monitoring of macroinvertebrates: a case study in Qingyi River [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2025, 49(10): 102507. [石克娜, 和雅静, 赵永晶, 等. 有机碎屑对环境DNA监测底栖动物的补充作用: 以青弋江为例 [J]. 水生生物学报, 2025, 49(10): 102507.]

有机碎屑对环境DNA监测底栖动物的补充作用: 以青弋江为例

石克娜^{1,2} 和雅静¹ 赵永晶¹ 崔永德¹

(1. 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 为了探究不同样本类型下环境DNA技术在底栖动物多样性监测的差异, 于2023年5月在青弋江流域采集水样和有机碎屑样本, 并结合传统形态学方法对底栖动物进行比较研究。结果显示: 环境DNA技术共检出青弋江流域底栖动物3门6纲64科158属692个可操作分类单元(OTUs), 其中水样检出3门5纲46科117属416个OTUs, 有机碎屑样本检出3门6纲54科122属435个OTUs; 形态学方法共鉴定3门7纲42科66属种。与形态学方法相比, 环境DNA技术在科和属水平的检出能力显著更高, 但在螺类的监测中, 形态学方法表现更优。主坐标分析(PCoA)显示, 水样和有机碎屑检测的底栖动物群落结构存在显著差异, 且二者在物种检测上互为补充。线性回归分析表明, 从青弋江源头至下游, 环境DNA技术(结合水样和有机碎屑)检出的种类数显著下降, 而形态学方法检出的种类数未呈现显著变化。在环境DNA调查中, 水样是常用的样本类型, 研究证明有机碎屑可作为水样的有效补充, 为环境DNA技术的标准化应用提供了依据。

关键词: 环境DNA技术; 形态学方法; 采样策略; 底栖动物多样性; 青弋江流域

中图分类号: S932.8 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2025)10-102507-09

doi: 10.3724/1000-3207.2025.2025.0027 **CSTR:** 32229.14.SSSWXB.2025.0027



随着气候变化、环境污染、资源过度利用和外来物种入侵等问题的加剧, 淡水生态系统中的生物多样性正面临严重威胁^[1-3]。底栖动物作为水生生物多样性的重要组成部分, 具有不可或缺的生态作用, 它们以有机碎屑、底栖藻类和浮游生物等为食, 并将能量传递给鱼类等上层生物, 从而在维持生态系统平衡上发挥着关键作用^[4]。同时, 由于其移动能力弱, 对污染物敏感, 被广泛应用于水生态考核和评估^[5, 6]。为了研究特定水域底栖动物多样性, 通常需要进行现场采样调查。使用抄网、采泥器等工具进行样本收集, 随后通过显微镜和解剖镜进行形态鉴定^[7]。虽然这种方法在实际应用中不可替代, 但存在着耗时长、专业性强、难以检测隐匿物种、对于未性成熟个体和隐存种不能正确分辨

等问题^[8, 9]。

新兴的环境DNA宏条形码技术(以下简称环境DNA技术)克服了传统形态学调查的局限性, 已广泛应用于底栖动物多样性调查中。例如Jensen等^[10]使用环境DNA技术比较了丹麦日德兰半岛五条溪流底栖动物群落结构的季节性变化。王桂营等^[11]结合环境DNA技术和形态学方法, 对鸭绿江口的底栖动物多样性进行了调查, 并评估了该区域的生态质量。然而, 不同采样方法对检测结果的影响仍是当前研究的热点问题之一^[12]。

底栖动物的生活史与水体底部密切相关^[13], 其固着、穴居或攀爬于水底基质的生活习性可能导致环境DNA在特定基质中的富集差异^[14]。现有研究表明: 沉积物因水体中环境DNA的沉降、颗粒物

收稿日期: 2025-01-26; 修订日期: 2025-05-12

基金项目: 国家重点研发计划(2021YKC3200103); 农业农村部渔业专项(HHDC-2022-05)资助 [Supported by the National Key Research and Development Program of China (2021YFC3200103); the Special Project of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the people's republic of China (HHDC-2022-05)]

作者简介: 石克娜(2000—), 女, 硕士研究生; 主要研究方向为底栖动物生态学。E-mail: shikena@ihb.ac.cn

通信作者: 崔永德(1978—), 男, 副研究员; 主要从事寡毛类环节动物分类学、底栖动物生态学及生态系统健康评价研究。E-mail: ydcui@ihb.ac.cn

的吸附作用和部分底栖动物残骸的聚集, 展现出更高的底栖动物检出率^[15, 16]。而有机碎屑是指由动植物残体、排泄物和微生物等聚集组成的混合有机物^[17], 与沉积物的区别在于: 前者以纤维状或片层状生物为主, 后者以沙或泥为主; 且有机碎屑是底栖动物食物网的主要能量来源, 易富集动物摄食残留、排泄物及体表脱落DNA; 有机碎屑是沉积物经筛洗后得到的, 在相同样本量的情况下, 有机碎屑富含的底栖动物环境DNA更多。Nichols等^[18]比较了仅含6种底栖动物样本、仅含有机碎屑样本(去除底栖动物)和6种底栖动物与有机碎屑混合样本底栖动物的检测差异, 发现有机碎屑的存在不会干扰或抑制底栖动物的检测。周婷婷^[19]比较了未筛洗沉积物、筛洗沉积物(即有机碎屑)、挑拣虫体和水样对武汉东湖底栖动物的检出效果, 发现相比于未筛洗沉积物, 筛洗沉积物可以检出更多的底栖动物种类数。根据底栖动物的生活习性、样本类型的特征和已有研究, 提出本文假设: 环境DNA技术在河流底栖动物多样性的研究中, 有机碎屑的检测效果优于水样。

青弋江流域涵盖了从人类活动干扰较小的源头区到农业、城市化及工业化显著的中下游区域^[20]。目前针对青弋江底栖动物的研究主要集中在基于形态学方法的青弋江流域水质评价^[21, 22]和底栖动物群落结构与多样性的研究^[23, 24]。本研究结合底栖动物形态学调查方法, 以青弋江流域为研究区域, 探究环境DNA技术在应用时, 水样和有机碎屑对底栖动物可检测性的影响, 以及水样和有机碎屑底栖动物多样性和群落结构的差异。以期为环境DNA技术监测河流底栖动物采样策略的选择与优化提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 研究区域概况

青弋江发源于安徽省黄山市北麓黟县, 于芜湖市汇入长江, 长309 km, 流域面积7195 km², 是长江下游南岸的重要支流之一^[25]。于2023年5月对青弋江进行生态调查, 根据青弋江河流形态和采样点布设的空间异质性, 在青弋江流域共设置10个采样点(117°52'4"N—118°32'55"N, 30°12'0"E—31°15'45"E)。其中干流7个采样点, 源头支流3个采样点(图1)。

1.2 形态学样品的采集与处理

在每个样点采集1个定量样品和1个定性样品, 定量样品使用抄网(孔径420 μm、网口宽25 cm)在青弋江可涉水区域采集底栖动物, 每个样点采集长度为2 m。定性样品使用抄网并配合手捡等方式,

亦在可涉水区域采集。抄出的沉积物经60目筛网筛洗后, 于白瓷盘中挑拣底栖动物, 装入盛有75%无水乙醇的标本瓶中保存。样品带回实验室后, 用显微镜和解剖镜尽可能将底栖动物鉴定至最小分类单元。定量样品进行计数和称重, 根据面积计算密度和生物量, 定性样品仅计数。

1.3 环境DNA样品采集与处理

水样(Water samples, WS): 使用5 L采水器分别采集表层和底层水(水深小于0.5 m的样点, 不进行分类采集), 混匀后装至1 L广口瓶。于冰盒中保存, 在24h内使用0.45 μm的硝酸纤维滤膜进行真空抽滤。过滤1 L去离子水做阴性对照, 滤膜放入5 mL无菌冷冻管中, 置于液氮中保存^[26]。有机碎屑(Detritus samples, DS): 在每个采样点半径100 m范围内, 使用抄网(宽度0.25 m, 孔径420 μm)在青弋江可涉水区域逆着水流方向多生境(如: 砾石、泥沙和水中大型植物根部等)采集表层沉积物, 用60目的筛网进行筛洗, 丢弃大的石块和凋落物, 得到有机碎屑, 混合均匀装入5 mL无菌冷冻管后液氮速冻。过滤漏斗、镊子、样品瓶等用次氯酸钠浸泡, 避免污染。所有样品回实验室后保存在超低温冰箱中, 直至DNA提取。

1.4 DNA提取、PCR扩增和高通量测序

采用CTAB法从水样滤膜中提取DNA, 使用MagBeads FastDNA™土壤试剂盒(MP Biomedicals,

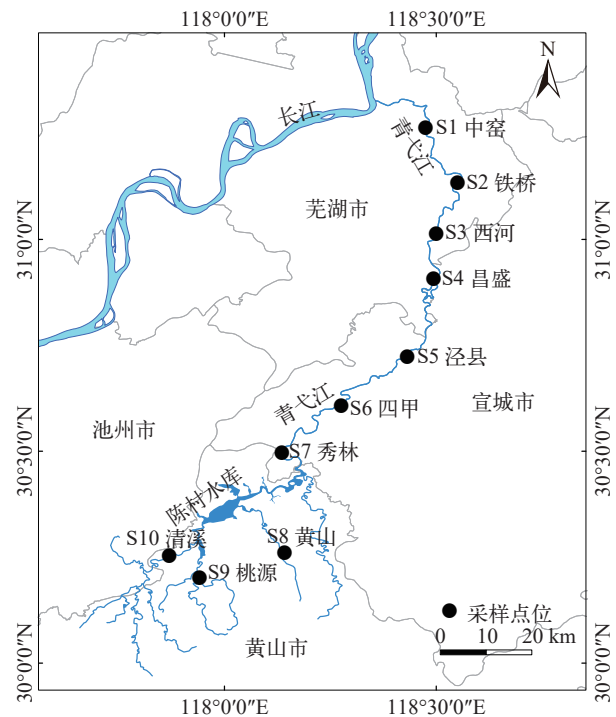


图1 青弋江采样点分布图

Fig. 1 Distribution of sampling sites in Qingyi River

CA, USA)从有机碎屑中提取DNA。提取的DNA用NanoDrop测定质量。使用底栖动物通用引物mIColintF (5'-GGWACWGGWTGAACWGTWTAYCCYCC-3')和jgHCO2198 (5'-TAIACYTCIGGRTGCCRAARAAYCA-3')^[27],对样本的线粒体COI区域进行PCR扩增,扩增长度约为313 bp。扩增体系为25 μ L, 5 $\times$ reaction缓冲液5 μ L, 5 $\times$ GC缓冲液5 μ L, dNTP 2 μ L, 上游引物(10 μ mol/L)1 μ L, 下游引物(10 μ mol/L) 1 μ L, DNA模板2 μ L, ddH₂O 8.75 μ L, Q5 DNA聚合酶0.25 μ L。PCR反应程序: 98 $^{\circ}$ C预变性2min; 98 $^{\circ}$ C变性15s, 55 $^{\circ}$ C退火30s, 72 $^{\circ}$ C延伸30s, 共25个循环, 最后, 72 $^{\circ}$ C延伸5min。使用ddH₂O为模板设置PCR阴性对照, 结果未见异常。测序文库的制备采用TruSeq Nano DNA LT Library Prep Kit。随后在Illumina NovaSeq平台上完成测序(由武汉天一华煜基因科技有限公司提供服务)。

1.5 数据分析

用Vsearch v2.13.4对序列进行拼接、质控和去除嵌合体。之后,在97%的相似性水平上对高质量序列聚类,获得OTU代表序列。OTU代表序列使用NCBI中的核酸序列数据库(ftp://ftp.ncbi.nih.gov/blast/db/)进行物种注释。得到的物种信息,首先按照《高级水生生物学》^[13]中底栖动物的7大门进行物种筛选,之后再根据《长江流域底栖动物种类名录》^[28]作为名录数据库进行二次筛选。利用韦恩图比较不同方法对底栖动物特定类群的检测效果,通过箱线图比较各检测方法识别的底栖动物种类数。利用主坐标分析(PCoA)评估不同样本的底栖动物群落差异,并通过置换多元方差分析(ADONIS)和相似性分析(ANOSIM)检验各样本间L群落组成的显著性差异。单因素方差分析(ANOVA)、Kruskal-Wallis H检验和简单线性回归分析使用SPSS v26.0软件完成,箱线图和变化趋势图通过GraphPad Prism 9.5.0绘制,其余图形在R语言环境中完成。

2 结果

2.1 种类组成

环境DNA技术和形态学方法共记录底栖动物196属种,隶属于3门7纲80科。其中水生昆虫最多为142属种,占总种类数的72.4%;寡毛类24属,占总种类数的12.2%;软体动物16属,占总种类数的8.2%;其他动物14属种,占总种类数的7.1%。环境DNA技术共检出底栖动物3门6纲64科158属692个可操作分类单元(OTUs),水样检出底栖动物416个OTUs,隶属于3门5纲46科117属;有机碎屑检出底栖动物435个OTUs,隶属于3门6纲54科122属;形态

学方法共鉴定底栖动物66属种,隶属于3门7纲42科(图2A)。

在水样和有机碎屑的检测中,共有寡毛类17属,其中3种检测方法(形态学方法、基于水样和基于有机碎屑的环境DNA技术)共同检出的寡毛类有6属,形态学方法检出的带丝蚓属未在环境DNA检测中发现(图2B)。形态学方法对软体动物的检测效果最佳,3种检测方法共同检出的软体动物2属(图2C)。对于水生昆虫,3种检测方法共有13属,且均表现出较高的检测能力(图2D)。3种检测方法的共有其他动物为沼虾属(图2E)。

基于水样的环境DNA技术和形态学方法共有底栖动物23属种,隶属于3门6纲12科,共有种类数占形态学方法鉴定种类数的比例为35%(图2F);基于有机碎屑的环境DNA技术和形态学方法共有底栖动物27属种,隶属于3门5纲14科,共有种类数占形态学方法鉴定种类数的比例为41%(图2G)。

在科的水平上,基于水样和基于有机碎屑的环境DNA技术检出的科丰富度显著高于形态学方法(ANOVA, $F=7.524$, $P=0.03$, 图3A)。在属水平上,水样和有机碎屑均比形态学方法检出更多的底栖动物属。其中,有机碎屑检出底栖动物属的数量显著高于形态学方法(Kruskal-Wallis H检验, $H=13.903$, $P=0.001$, 图3B)。水样与形态学方法检出的底栖动物属数量差异无统计学显著性,但其 P 值(0.051)接近显著性水平 0.05。

2.2 优势属

在环境DNA调查中,以相对序列 $\geq 5\%$ 为标准,分析得出底栖动物优势属。基于水样的环境DNA调查,共检测出4个优势属,分别为钩虾属(*Gammarus*)、沼蛤属(*Limnoperna*)、库蚊属(*Culex*)和弯握蜉属(*Drunella*)。基于有机碎屑的环境DNA调查中,也检测出4个优势属,分别为拟仙女虫属(*Paranais*)、管水蚓属(*Aulodrilus*)、尾鳃蚓属(*Branchiura*)和四节蜉属(*Baetis*),优势属排名前3的均为寡毛类,具体相对序列占比见表1。

在形态学调查中,以相对密度或相对生物量 $\geq 5\%$ 为标准,分析得出底栖动物优势属。青弋江的形态学调查共检测到7个优势属,分别为环棱螺属(*Bellamya*)、多足摇蚊属(*Polypedilum*)、长跗摇蚊属(*Tanytarsus*)、齿斑摇蚊属(*Stictochironomus*)、水丝蚓属(*Limnodrilus*)、萝卜螺属(*Radix*)和沼虾属(*Macrobrachium*)。青弋江底栖动物平均密度为44 ind./m²,平均生物量为3.494 g/m²。从密度来看,环棱螺属(占比15.1%)和多足摇蚊属(占比13.8%)是青弋江的主要优势类群;从生物量来看,环棱螺属(占比

89.2%)和沼虾属(占比5.8%)占据显著优势(表 1)。

2.3 环境DNA不同样本类型的底栖动物群落组成差异

在PCoA分析中, 本文使用基于物种存在与缺失的数据进行分析, 其中存在的标记为1, 缺失标记为0。在OTUs水平上, 基于Bray-Curtis距离的PCoA分析显示, 两个坐标轴分别解释了17.05%和10.74%

的群落结构变异, 水样和有机碎屑检测的底栖动物群落存在显著性差异(ADONIS: $R^2=0.122$, $P=0.001$; ANOSIM: $R=0.406$, $P=0.001$; 图 4A)。在属水平上, 两个坐标轴分别解释了29.75%和13.86%的群落结构变异, 水样和有机碎屑在底栖动物群落组成上同样存在显著差异(ADONIS: $R^2=0.160$, $P=0.003$; ANOSIM: $R=0.298$, $P=0.002$; 图 4B)。

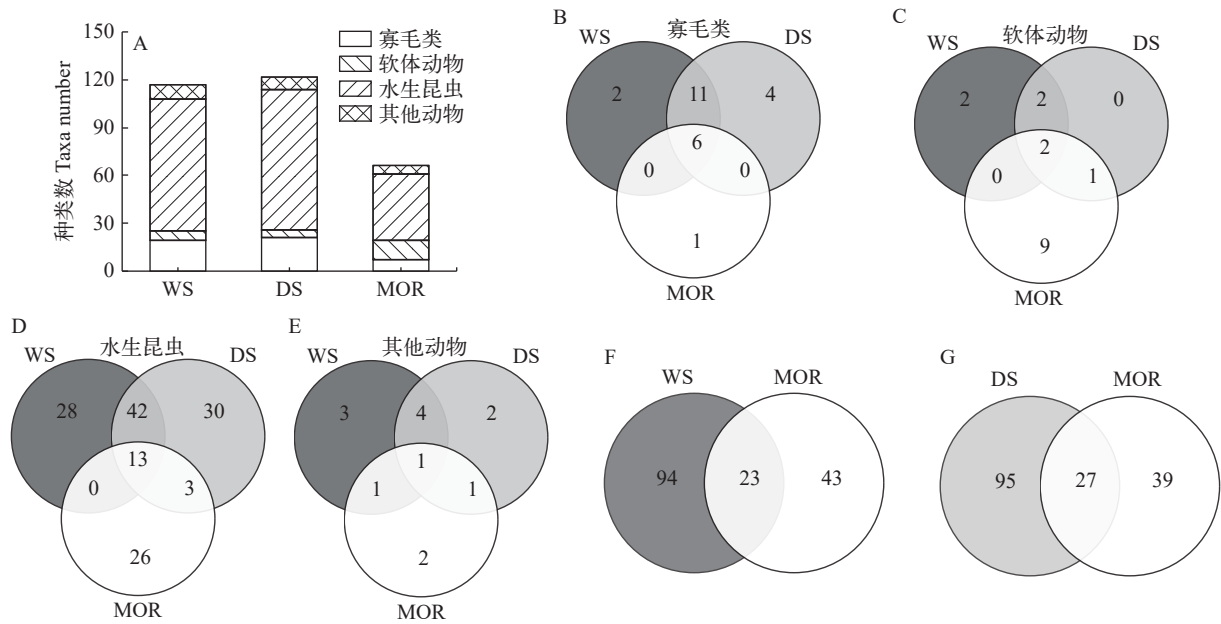


图 2 底栖动物各类群种类数比较

Fig. 2 Comparison of taxa numbers in different macroinvertebrate groups

A. 不同检测方法总种类数; B—E. 各类群属水平韦恩图; F、G. 环境DNA技术和形态学方法的重叠情况(WS. 水样; DS. 有机碎屑; MOR. 形态学方法)

A. Total taxa numbers detected by different methods; B—E Venn diagrams of genus-level for different groups; F, G Overlap between environmental DNA technology and morphological methods (WS. Water samples; DS. Detritus samples; MOR. Morphological method)

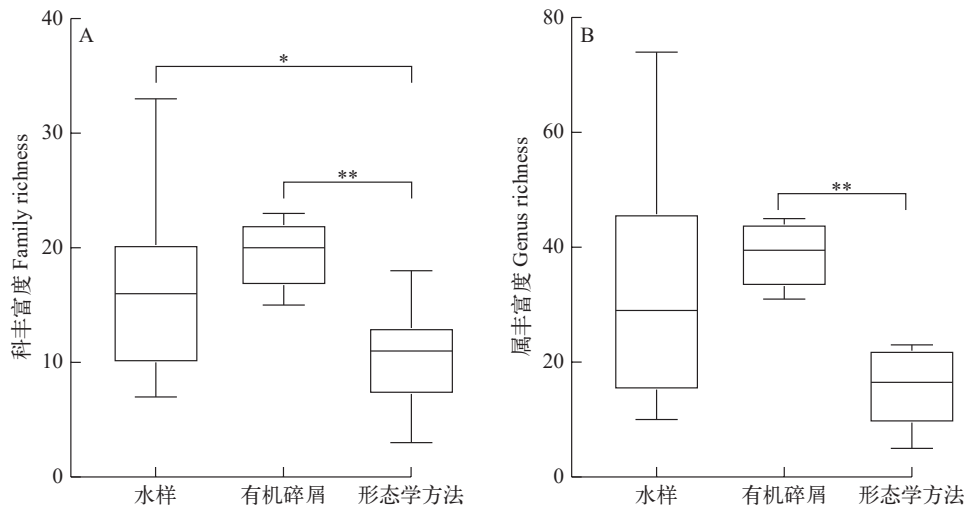


图 3 三种方法检出丰富度比较

Fig. 3 Comparison of richness detection using three methods

A. 科水平; B. 属水平; * $P<0.05$, 显著; ** $P<0.01$, 极显著

A. family level; B. genus level; * $P<0.05$, significant; ** $P<0.01$, extremely significant

2.4 底栖动物沿青弋江上中下游变化趋势

以青弋江源头为起点,分析各采样点与源头之间的距离(即人类活动干扰程度)对底栖动物种类数的影响。研究结果显示,基于水样和有机碎屑的环境DNA技术均揭示了底栖动物种类数随距离增加而显著减少(水样: $P=0.02$; 有机碎屑: $P=0.03$)。将水样和有机碎屑结合,其回归模型具有更高拟合度,且结果显著性更强。相比之下,形态学方法检测到的种类数与距离之间未呈现显著相关性($P=0.47$; 图 5),且其回归模型的拟合度较低($R^2=0.07$)。

3 讨论

3.1 环境DNA技术能检测到更为详细的物种信息

本研究环境DNA技术检测到158属底栖动物,形态学方法鉴定66属种。历史数据显示青弋江流域共检出53^[21]、61^[22]、38^[23]和60种^[24]底栖动物。故环境DNA技术可比形态学方法检测到更多底栖

动物类群(图 2和图 3)。究其原因有以下几方面:其一,环境DNA灵敏度高^[29],形态学采样空间覆盖有限,难以获取体型小、处深层、栖息隐蔽或活动能力强的个体,如寡毛类中的毛腹虫属、吻盲虫属、杆吻虫属和维奈夫虫属等体长多小于5 mm且多行断裂生殖,在形态学调查中采集难度大、检出率低;水生昆虫中的蜉蝣目、毛翅目幼虫常附着于石块底部,摇蚊科幼虫偏好深水缓流生境^[7];其他动物中长臂虾属、原螯虾属和溪蟹属活动能力较强;其二,环境DNA采样时,DNA能借水流输送至采样点,使检测结果可能涵盖上游或相邻水体的物种DNA;其三,环境DNA与形态学鉴定阶元存在差异,形态学鉴定到科的物种,环境DNA可鉴定到属或种,如形态学的牙甲科对应环境DNA的毛腿牙甲属、刺腹牙甲属和牙甲属,螺科对应贝螺属、库螺属和毛螺属等;不过,环境DNA技术也有自身局限,如参考数据库不完善和外源DNA污染问题,可能会引发假

表 1 不同检测方法得到的底栖动物优势属比较

Tab. 1 Comparison of dominant genera of macroinvertebrates identified by different detection methods

水样 Water sample	序列 Sequence (%)	有机碎屑 Detritus sample	序列 Sequence (%)	形态学 Morphological method	密度 Density (%)	生物量 Biomass (%)
钩虾属 <i>Gammarus</i>	29.4	拟仙女虫属 <i>Paranais</i>	26.5	环棱螺属 <i>Bellamya</i>	15.1	89.2
沼蛤属 <i>Limnoperna</i>	14.6	管水蚓属 <i>Aulodrilus</i>	20.7	多足摇蚊属 <i>Polypedilum</i>	13.8	0.02
库蚊属 <i>Culex</i>	12.1	尾鳃蚓属 <i>Branchiura</i>	15.8	长跗摇蚊属 <i>Tanytarsus</i>	11.9	0.01
弯握蜉属 <i>Drunella</i>	6.9	四节蜉属 <i>Baetis</i>	6.9	齿斑摇蚊属 <i>Stictochironomus</i>	10.1	0.02
				水丝蚓属 <i>Limnodrilus</i>	8.7	0.02
				萝卜螺属 <i>Radix</i>	5.0	2.7
				沼虾属 <i>Macrobrachium</i>	0.5	5.8

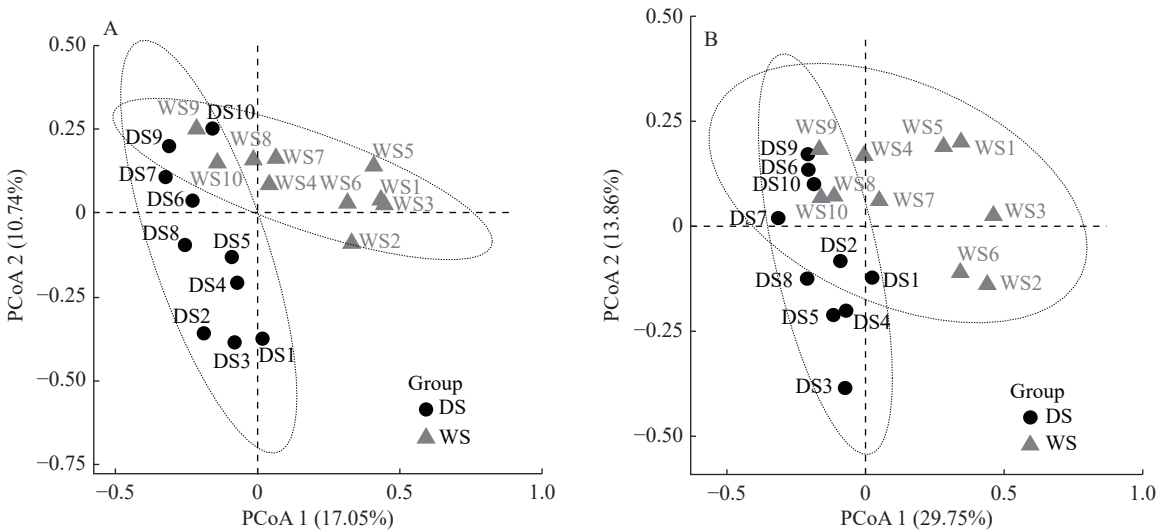


图 4 不同样本类型的PCoA分析图

Fig. 4 Principal Coordinates Analysis (PCoA) plot based on different sample types

A. OTUs水平; B. 属水平(WS. 水样; DS. 有机碎屑)

A. OTUs level; B. Genus level (WS. Water samples; DS. Detritus samples)

阳性现象, 导致环境DNA比形态学检测物种多。

另外, 形态学鉴定的部分物种未被环境DNA检测到, 这是因为: 其一: GenBank中未收录该物种的基因信息, 如小划蝾属(*Micronectra*); 其二: GenBank中收录了该物种的基因信息, 但无COI基因, 如纹沼螺(*Parafossarulus striatulus*)^[19]; 其三: 引物不适配问题, 本研究形态学比环境DNA检出较多螺类便印证此点, Zhou等^[30]通过系统评估16对引物(6对COI和10对16S rRNA引物)在鄱阳湖淡水螺类的表现, 证实16S rRNA Gast01引物的适配性更优。但总的来说, 环境DNA技术在底栖动物多样性全面调查中的应用潜力巨大。

3.2 有机碎屑与水样相结合的监测

与水样相比, 有机碎屑检出的底栖动物OTU数、种类数和与形态学共有种类数均高于水样(图2和图3), 究其原因有以下几方面: 其一, 底栖动物生活在水体底部, 以有机碎屑为食, 其释放的DNA更多地集中于底质中; 其二, 水体中的环境DNA会随着水流被稀释^[31], 水温、pH、盐度会引起DNA的降解, 而底质环境温度较水样低, DNA降解比水样慢; 其三, 水体中的环境DNA会受到沉降作用, 聚集在沉积物表面。

PCoA分析表明, 水样和有机碎屑的群落组成呈现显著的差异性和互补性(图4)。线性回归分析表明, 环境DNA技术具有更高的分类分辨率, 在不

同采样点之间的种类数差异显著。将水样和有机碎屑结合后, 回归模型拟合度更高, 显著性更强(图5), 表明两种样本类型的互补性可提高检测精度。水样采集方便, 且对底栖动物的生境几乎没有破坏, 有机碎屑对生境有一定的破坏性, 但底栖动物的检出率更高, 两者结合可提高流域内底栖动物的覆盖度。Múrria等^[32]也认为, 两样本的组合可有效提高生物评估的准确性。因此, 结合底栖动物的生活习性、样本特征和成本, 本研究认为有机碎屑和水样结合可提高环境DNA的监测效率。

3.3 目前环境DNA技术检测底栖动物存在的不足

与传统形态学方法相比, 环境DNA技术具有灵敏度高、采样灵活性强、耗时少、能快速检测群落多样性等优势, 但也存在一些问题制约了其应用。

首先, 参考数据库待完善。本研究获得19961个OTUs中21.9%因数据库缺失无法注释。公共数据库如GenBank和BOLD中收录的DNA条形码质量参差不齐^[33], 凸显构建本地物种DNA条形码数据库的必要与紧迫。目前, 我国科研人员已在此领域取得进展, 如中国科学院水生生物研究所构建的水生生物eDNA数据库^[34]、南京农业大学牵头构建的中国淡水大型底栖无脊椎动物条形码数据库^[35], 但仍需加大重要水域底栖动物数据库建设。

其次, 引物的选择和优化至关重要。目前常用于底栖动物监测的线粒体COI基因引物包括

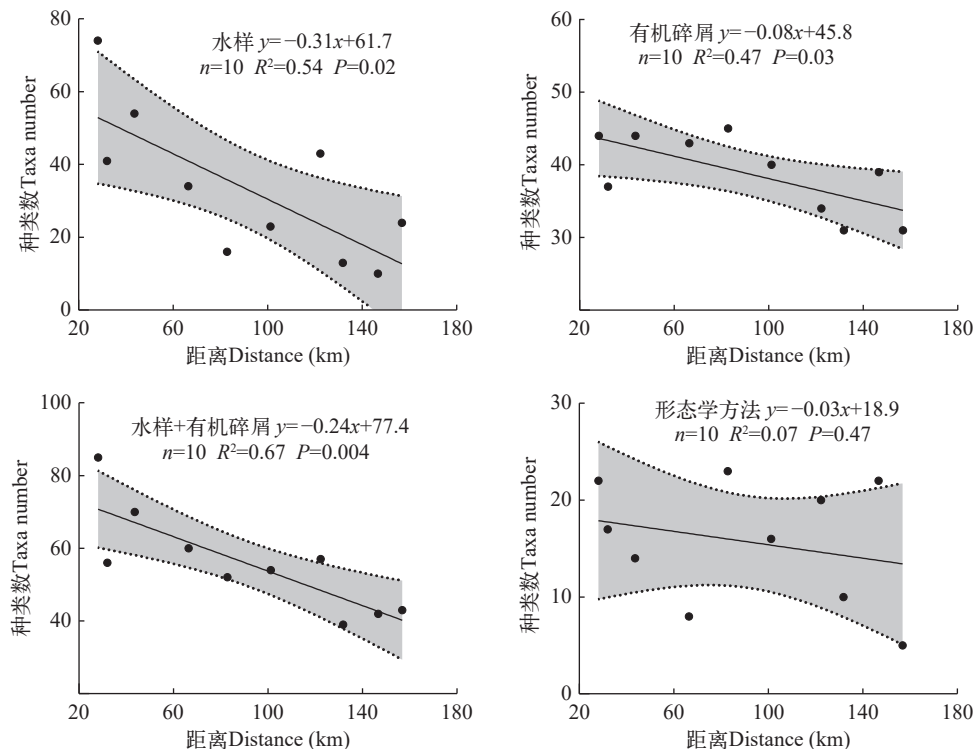


图5 青弋江底栖动物种类数变化趋势

Fig. 5 Trends in taxa number of macroinvertebrates along the Qingyi River

mlCOIntF/jgHCO2198^[36]、LCO1490/HCO2198^[37]和fwhF2/fwhR2n^[38]等。其中, mlCOIntF/jgHCO2198引物在河流底栖动物的扩增效果最佳^[39], 该引物基于LCO1490/HCO2198优化设计, 因其最初是为后生无脊椎动物设计, 故在淡水底栖动物监测中会检测到其他后生无脊椎动物^[40]。这也可能是导致优势属序列数与其密度和生物量相关关系不显著(表1)的原因。因此, 针对特定环境优化引物可提高特异性、减少偏好性^[41]。

再次, 环境DNA来源与样本选择是关键。环境DNA来源广泛, 包括生物体自然脱落、活体、死亡个体以及生殖过程产生的DNA等^[42]。受水动力^[31]、水体理化因子^[43]、生物活动及DNA降解^[44]和沉降等因素影响, 导致其在不同样本中分布差异显著。因此, 采样方法的优化^[45, 46]与选择成为当前环境DNA技术在底栖动物研究中的热点之一。

最后, 缺乏标准化操作流程。从采样到数据分析各环节操作不一致, 均会影响结果准确性与可重复性。另外, 在研究中还应设置多个生物学重复, 这也是本研究的不足之处。目前, 国内虽发布了一些地方标准^[47-49], 但未形成统一体系, 还需结合水体特性建立规范流程推动技术应用。

(作者声明本文符合出版伦理要求)

参考文献:

- [1] Perry W B, Seymour M, Orsini L, *et al.* An integrated spatio-temporal view of riverine biodiversity using environmental DNA metabarcoding [J]. *Nature Communications*, 2024, **15**(1): 4372.
- [2] Sayer C A, Fernando E, Jimenez R R, *et al.* One-quarter of freshwater fauna threatened with extinction [J]. *Nature*, 2025, **638**(8049): 138-145.
- [3] Zhu C J, Gao J X, Wan H W, *et al.* The PSR biodiversity assessment indicator system of Kunming-Montreal Global Biodiversity Framework [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2025, **45**(4): 1854-1864. [祝晨佳, 高吉喜, 万华伟, 等. 基于昆-蒙框架的PSR生物多样性评估方法构建 [J]. 生态学报, 2025, **45**(4): 1854-1864.]
- [4] Wallace J B, Webster J R. The role of macroinvertebrates in stream ecosystem function [J]. *Annual Review of Entomology*, 1996, **41**(1): 115-139.
- [5] Wu J Y, Zhao Y J, Wang H Z, *et al.* Ecosystem health assessment of lakes in Wuhan based on macrobenthos biological integrity [J]. *Journal of Hydroecology*, 2021, **42**(5): 52-61. [吴俊燕, 赵永晶, 王洪铸, 等. 基于底栖动物生物完整性的武汉市湖泊生态系统健康评价 [J]. 水生生态学杂志, 2021, **42**(5): 52-61.]
- [6] Aazami J, Maghsodlo H, Mira S S, *et al.* Health evaluation of riverine ecosystems using aquatic macroinvertebrates: a case study of the Mohammad-Abad River, Iran [J]. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2020, **17**(5): 2637-2644.
- [7] Zhang M N, Gao W J, Zhang T Y, *et al.* Distribution patterns of macrozoobenthos in the mid-lower mainstream of the Yangtze River [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2022, **46**(10): 1546-1555. [张梦娜, 高文娟, 张婷玉, 等. 长江中下游干流大型底栖动物的分布模式 [J]. 水生生物学报, 2022, **46**(10): 1546-1555.]
- [8] Haase P, Murray-Bligh J, Lohse S, *et al.* Assessing the impact of errors in sorting and identifying macroinvertebrate samples [J]. *Hydrobiologia*, 2006, **566**(1): 505-521.
- [9] Jackson J K, Battle J M, White B P, *et al.* Cryptic biodiversity in streams: a comparison of macroinvertebrate communities based on morphological and DNA barcode identifications [J]. *Freshwater Science*, 2014, **33**(1): 312-324.
- [10] Jensen M R, Sigsgaard E E, Agersnap S, *et al.* Seasonal turnover in community composition of stream-associated macroinvertebrates inferred from freshwater environmental DNA metabarcoding [J]. *Environmental DNA*, 2021, **3**(4): 861-876.
- [11] Wang G Y, Li H J, Shao K S, *et al.* Evaluation of benthic ecological quality status in the Yalu River Estuary based on environmental DNA [J]. *Acta Oceanologica Sinica*, 2024, **46**(3): 75-88. [王桂营, 李宏俊, 邵魁双, 等. 基于环境DNA评价鸭绿江口底栖生态质量状况 [J]. 海洋学报, 2024, **46**(3): 75-88.]
- [12] Wang M, Jin X W, Lin X L, *et al.* Advances in the macrozoobenthos biodiversity monitoring and ecosystem assessment using environmental DNA metabarcoding [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2021, **41**(18): 7440-7453. [王萌, 金小伟, 林晓龙, 等. 基于环境DNA-宏条形码技术的底栖动物监测及水质评价研究进展 [J]. 生态学报, 2021, **41**(18): 7440-7453.]
- [13] Liu J K. Advanced Hydrobiology [M]. Beijing: Science Press, 1999: 241-259. [刘建康. 高级水生生物学 [M]. 北京: 科学出版社, 1999: 241-249.]
- [14] Wang Y, Chen K, Gao J, *et al.* Environmental DNA of preservative ethanol performed better than water samples in detecting macroinvertebrate diversity using metabarcoding [J]. *Diversity and Distributions*, 2021, **27**(10): 1989-2002.
- [15] Ji F F. Establishment of eDNA technology and application in diversity assessment of three kinds of aquatic organisms in typical lakes and reservoirs [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2022: 62-70. [吉芬芬. 三类水生生物的eDNA技术构建及其在典型湖库生物多样性评估中的应用 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2022: 62-70.]
- [16] Zou L Z, Cui L F, Zhong G L, *et al.* The study of macroinvertebrates detection based on eDNA method from different environmental samples [J]. *Environmental Ecology*, 2025, **7**(1): 101-107. [邹丽珍, 崔利峰, 钟国龙, 等. 基于eDNA方法的不同环境样本底栖动物监测研究 [J]. 环境生态学, 2025, **7**(1): 101-107.]
- [17] Qasim S Z, Sankaranarayanan V N. Organic detritus of a tropical estuary [J]. *Marine Biology*, 1972, **15**(3): 193-199.

- [18] Nichols S J, Kefford B J, Campbell C D, *et al.* Towards routine DNA metabarcoding of macroinvertebrates using bulk samples for freshwater bioassessment: Effects of debris and storage conditions on the recovery of target taxa [J]. *Freshwater Biology*, 2020, **65**(4): 607-620.
- [19] Zhou T T. Molecular systematics of the genera *Tubifex* and *Limnodrilus* (Annelida: Oligochaeta: Naididae) and applications [D]. Wuhan: Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, 2023: 103-123. [周婷婷. 颤蚓属和水丝蚓属(环节动物门: 寡毛纲: 仙女虫科)分子分类及其应用 [D]. 武汉: 中国科学院水生生物研究所, 2023: 103-123.]
- [20] Yang Q Q, Xu G L, Yang X C, *et al.* Responses of water quality to land use & landscape pattern in the Qingyi-jiang River watershed [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2020, **40**(24): 9048-9058. [杨强强, 徐光来, 杨先成, 等. 青弋江流域土地利用/景观格局对水质的影响 [J]. 生态学报, 2020, **40**(24): 9048-9058.]
- [21] Sun J X, Xu G L, Chi J Y, *et al.* River health assessment of qingyi river based on benthic macroinvertebrates [J]. *Resources and Environment in the Yangtze Basin*, 2023, **32**(6): 1254-1266. [孙久星, 徐光来, 池建宇, 等. 基于大型底栖动物的青弋江河流健康评价 [J]. 长江流域资源与环境, 2023, **32**(6): 1254-1266.]
- [22] Yang Q Q, Xu G L, Zhang P, *et al.* Macroinvertebrate community structure and water quality assessment in the Qingyi River Watershed [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2022, **42**(10): 4169-4180. [杨强强, 徐光来, 章翩, 等. 青弋江流域大型底栖动物群落结构及水质评价 [J]. 生态学报, 2022, **42**(10): 4169-4180.]
- [23] Yang Q Q, Xu G L. The research on community structure and diversity of macrozoobenthos in the Qingyijiang River basin [J]. *Yunnan Geographic Environment Research*, 2021, **33**(2): 28-36. [杨强强, 徐光来. 青弋江流域大型底栖动物群落结构及多样性研究 [J]. 云南地理环境研究, 2021, **33**(2): 28-36.]
- [24] Zhang X K, Xuan H, Wang H L, *et al.* Macrozoobenthic community structure in different order streams of the Qingyi River basin [J]. *Resources and Environment in the Yangtze Basin*, 2014, **23**(12): 1659-1664. [张晓可, 宣昊, 王慧丽, 等. 青弋江流域不同级别河流底栖动物群落结构研究 [J]. 长江流域资源与环境, 2014, **23**(12): 1659-1664.]
- [25] Hu C S, Tian J M, He C B, *et al.* Development causes of the Qingyijiang River on the northern piedmont of the Huangshan Mountain and its relationship with the channelization of the Yangtze River [J]. *Scientia Geographica Sinica*, 2021, **41**(10): 1862-1872. [胡春生, 田景梅, 何成邦, 等. 黄山北麓青弋江发育原因及其与长江贯通的关系 [J]. 地理科学, 2021, **41**(10): 1862-1872.]
- [26] Li Z, Jiang P, Wang L, *et al.* A comparison of seasonal composition and structure of fish community between environmental DNA technology and gillnetting in the Pearl River Estuary, China [J]. *Ecological Indicators*, 2023(147): 109915.
- [27] Van Der Lee G H, Polling M, Van Der Laan I, *et al.* From DNA to diagnostics: a case study using macroinvertebrate metabarcoding to assess the effectiveness of restoration measures in a Dutch stream [J]. *Science of The Total Environment*, 2024(923): 171413.
- [28] He Y J, Wang H Z, Shu F Y, *et al.* Macro-patterns of species diversity and standing crops of macrozoobenthos in the Yangtze River basin [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2019, **43**(S1): 9-17. [和雅静, 王洪铸, 舒凤月, 等. 长江流域底栖动物资源的宏观格局 [J]. 水生生物学报, 2019, **43**(S1): 9-17.]
- [29] Dang Y C, Li S, Su W, *et al.* Fish diversity in Yibin section in autumn based on eDNA technology [J]. *Fisheries Science*, 2024, **43**(6): 894-905. [党莹超, 李莎, 苏巍, 等. 基于环境DNA技术的宜宾江段秋季鱼类多样性研究 [J]. 水产科学, 2024, **43**(6): 894-905.]
- [30] Zhou C, Zhu C, Cheng Y, *et al.* Exploring freshwater snail diversity and community structure in China's largest lake using eDNA technology [J]. *Ecological Indicators*, 2024(158): 111577.
- [31] Curtis A N, Tiemann J S, Douglass S A, *et al.* High stream flows dilute environmental DNA (eDNA) concentrations and reduce detectability [J]. *Diversity and Distributions*, 2021, **27**(10): 1918-1931.
- [32] Múrria C, Wangenstein O S, Somma S, *et al.* Taxonomic accuracy and complementarity between bulk and eDNA metabarcoding provides an alternative to morphology for biological assessment of freshwater macroinvertebrates [J]. *Science of The Total Environment*, 2024(935): 173243.
- [33] Grant D M, Brodnicke O B, Evankow A M, *et al.* The future of DNA barcoding: reflections from early career researchers [J]. *Diversity*, 2021, **13**(7): 313.
- [34] Chen K, Fang C C, Wu Z G, *et al.* AeDNA: aquatic environmental DNA database [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2022, **46**(11): 1741-1747. [陈凯, 方成池, 吴志刚, 等. AeDNA: 水生生物eDNA数据库 [J]. 水生生物学报, 2022, **46**(11): 1741-1747.]
- [35] Wang M, Yuan Y, Yu H Y, *et al.* Construction of barcode library of freshwater macroinvertebrate in China [J]. *Environmental Monitoring in China*, 2022, **38**(1): 36-44. [王萌, 苑艺, 于海燕, 等. 中国淡水大型底栖无脊椎动物条形码数据库构建 [J]. 中国环境监测, 2022, **38**(1): 36-44.]
- [36] Leray M, Yang J Y, Meyer C P, *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 [J]. *Frontiers in Zoology*, 2013(10): 34.
- [37] Folmer O, Black M, Hoeh W, *et al.* DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates [J]. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 1994, **3**(5): 294-299.
- [38] Vamos E, Elbrecht V, Leese F. Short COI markers for freshwater macroinvertebrate metabarcoding [J]. *Metabarcoding and Metagenomics*, 2017(1): e14625.
- [39] Poyntz-Wright I P, Harrison X A, Pedersen S, *et al.* Effectiveness of eDNA for monitoring riverine macroin-

- vertebrates [J]. *Science of The Total Environment*, 2024(941): 173621.
- [40] Leese F, Sander M, Buchner D, *et al.* Improved freshwater macroinvertebrate detection from environmental DNA through minimized nontarget amplification [J]. *Environmental DNA*, 2021, 3(1): 261-276.
- [41] Li H X, Huang X N, Li S G, *et al.* Environmental DNA(eDNA)-metabarcoding-based early monitoring and warning for invasive species in aquatic ecosystems [J]. *Biodiversity Science*, 2019, 27(5): 491-504. [李晗溪, 黄雪娜, 李世国, 等. 基于环境DNA-宏条形码技术的水生生态系统入侵生物的早期监测与预警 [J]. *生物多样性*, 2019, 27(5): 491-504.]
- [42] Gu S Y, Chen K, Jin X W, *et al.* Development, applications, and standardization of environmental DNA monitoring technology for aquatic organisms [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2024, 48(8): 1443-1458. [谷思雨, 陈凯, 金小伟, 等. 水生生物环境DNA监测技术的发展、应用与标准化 [J]. *水生生物学报*, 2024, 48(8): 1443-1458.]
- [43] Pilliod D S, Goldberg C S, Arkle R S, *et al.* Factors influencing detection of eDNA from a stream-dwelling amphibian [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2014, 14(1): 109-116.
- [44] Yang H L, Zhang H, Du H. A framework for standardizing the processes of eDNA monitoring and an accessible vision of the future [J]. *Journal of Lake Sciences*, 2023, 35(1): 12-31. [杨海乐, 张辉, 杜浩. eDNA监测方法标准化框架及未来图景 [J]. *湖泊科学*, 2023, 35(1): 12-31.]
- [45] Zhou C H, Wang R R, Wang S, *et al.* Fish diversity in Nanchang section of the lower Ganjiang River based on environmental DNA metabarcoding [J]. *Journal of Lake Sciences*, 2023, 35(4): 1423-1440. [周春花, 王蓉蓉, 王生, 等. 基于环境DNA宏条形码技术的赣江下游(南昌段)鱼类多样性 [J]. *湖泊科学*, 2023, 35(4): 1423-1440.]
- [46] Lei Y, Zhou C H, Ouyang S, *et al.* Differences in environmental DNA monitoring of freshwater mussels from different environmental sample types [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2023, 47(3): 412-423. [雷姚, 周春花, 欧阳珊, 等. 不同环境样本类型对蚌类环境DNA监测的差异研究 [J]. *水生生物学报*, 2023, 47(3): 412-423.]
- [47] 江苏省市场监督管理局. 淡水生物环境DNA监测技术方法(DB32/T 4539-2023) [S]. 2023.
- [48] 中国环境科学学会. 淡水生物监测 环境DNA宏条形码法(T/CSes 81—2023) [S]. 2023.
- [49] 北京市生态环境局. 淡水大型底栖无脊椎动物环境DNA监测技术规范(DB11/T 2358-2024) [S]. 2024.

THE COMPLEMENTARY ROLE OF DETRITUS IN ENVIRONMENTAL DNA MONITORING OF MACROINVERTEBRATES: A CASE STUDY IN QINGYI RIVER

SHI Ke-Na^{1,2}, HE Ya-Jing¹, ZHAO Yong-Jing¹ and CUI Yong-De¹

(1. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: In order to explore the differences in monitoring macroinvertebrate diversity using environmental DNA (eDNA) technology across different sample types, water and detritus samples were collected from the Qingyi River Basin in May 2023 and analyzed by using traditional morphological method. The results showed that eDNA technology detected 692 operational taxonomic units (OTUs), belonging to 3 phyla, 6 classes, 64 families, and 158 genera. Specifically, water samples identified 416 macroinvertebrates OTUs, belonging to 3 phyla, 5 classes, 46 families, and 117 genera, while detritus samples identified 435 macroinvertebrates OTUs, belonging to 3 phyla, 6 classes, 54 families, and 122 genera. In contrast, the morphological method detected 66 macroinvertebrate species, belonging to 3 phyla, 7 classes, and 42 families. Compared to the morphological method, eDNA technology exhibited significantly higher detection capabilities at the family and genus levels, though morphological method performed better in detecting gastropod species. Principal Coordinate Analysis (PCoA) revealed significant differences in the macroinvertebrate community structure between water and detritus samples, with complementary species detection between the two sample types. Linear regression analysis indicated a significant decline in species richness detected by eDNA (combining water and detritus samples) from the headwaters of river to its downstream regions, whereas species richness detected by morphological methods showed no significant variation. In eDNA surveys, water samples are a commonly used sample type; our study demonstrates that detritus can serve as an effective complement to water, laying the foundation for the standardized application of eDNA technology.

Key words: Environmental DNA technology; Morphological method; Sampling strategy; Macroinvertebrate diversity; Qingyi River Basin

附录 S1 青弋江底栖动物物种名录

Appendix S1 Taxa list of macroinvertebrates in the Qingyi River

种类Taxa	环境DNA		形态学	种类Taxa	环境DNA		形态学
	有机碎屑	水样			有机碎屑	水样	
环节动物门Annelida				蚌科Unionidae			
颤体虫科Aeolosomatidae				无齿蚌属 <i>Sinanodonta</i>	+	+	
颤体虫属 <i>Aeolosoma</i>	+	+		楔蚌属 <i>Cuneopsis</i>		+	
寡毛纲Oligochaeta				丽蚌属 <i>Lamprotula</i>		+	
仙女虫科Naididae				矛蚌属 <i>Lanceolaria</i>	+	+	
异仙女虫属 <i>Allonais</i>	+			蜆科Corbiculidae			
头鳃虫属 <i>Branchiodrilus</i>	+	+		蜆属 <i>Corbicula</i>			+
毛腹虫属 <i>Chaetogaster</i>	+	+		球蜆科Sphaeriidae			
尾盘虫属 <i>Dero</i>	+	+		球蜆属 <i>Sphaerium</i>			+
红仙女虫属 <i>Haemonais</i>	+	+		腹足纲Gastropoda			
仙女虫属 <i>Nais</i>	+	+	+	瓶螺科Ampullariidae			
蛇仙女虫属 <i>Ophidonais</i>	+	+		福寿螺属 <i>Pomacea</i>	+		+
拟仙女虫属 <i>Paranaïs</i>	+	+	+	田螺科Viviparidae			
皮氏虫属 <i>Piguetiella</i>	+	+		环棱螺属 <i>Bellamya</i>	+	+	+
吻盲虫属 <i>Pristina</i>	+	+		豆螺科Bithyniidae			
篷头虫属 <i>Ripistes</i>	+			沼螺属 <i>Parafossarulus</i>			+
癞皮虫属 <i>Slavina</i>	+	+		椎实螺科Lymnaeidae			
斯必卡虫属 <i>Specaria</i>	+			萝卜螺属 <i>Radix</i>			+
杆吻虫属 <i>Stylaria</i>		+		膀胱螺科Physidae			
维塞夫虫属 <i>Vejdovskyella</i>	+	+		膀胱螺属 <i>Physa</i>			+
颤蚓科Tubificidae				扁蜷螺科Planorbidae			
管水蚓属 <i>Aulodrilus</i>	+	+	+	旋螺属 <i>Gyraulus</i>			+
盘丝蚓属 <i>Bothrioneurum</i>	+	+	+	肋蜷科Pleuroceridae			
尾鳃蚓属 <i>Branchiura</i>	+	+	+	韩蜷属 <i>Koreoleptoxis</i>			+
泥蚓属 <i>Ilyodrilus</i>		+		短沟蜷科Semisulcospiridae			
水丝蚓属 <i>Limnodrilus</i>	+	+	+	短沟蜷属 <i>Semisulcospira</i>			+
溪毛蚓属 <i>Potamothrix</i>	+	+		狭口螺科Stenothyridae			
癞颤蚓属 <i>Spirosperma</i>	+			狭口螺属 <i>Stenothyra</i>			+
颤蚓属 <i>Tubifex</i>	+	+		节肢动物门Arthropoda			
带丝蚓科Lumbricidae				昆虫纲Insecta			
带丝蚓属 <i>Lumbriculus</i>			+	蜉蝣目Ephemeroptera			
蛭纲Hirudinea				四节蜉科Baetidae			
石蛭科Erpobdellidae				四节蜉属 <i>Baetis</i>	+	+	+
石蛭属 <i>Erpobdella</i>	+	+		刺翅蜉属 <i>Centroptilum</i>	+	+	
舌蛭科Glossiphoniidae				二翅蜉属 <i>Cloeon</i>	+	+	
舌蛭属 <i>Glossiphonia</i>		+	+	原二翅蜉属 <i>Procloeon</i>	+		
晶蛭属 <i>Theromyzon</i>			+	假二翅蜉属 <i>Pseudocloeon</i>		+	
多毛纲Polychaeta				细蜉科Caenidae			
沙蚕科Nereididae				细蜉属 <i>Caenis</i>	+	+	+
沙蚕科一种Nereididae sp.			+	小蜉科Ephemerellidae			
围沙蚕属 <i>Perinereis</i>	+			锯形蜉属 <i>Serratella</i>			+
软体动物门Mollusca				弯握蜉属 <i>Drunella</i>	+	+	
双壳纲Bivalvia				小蜉属 <i>Ephemerella</i>	+	+	
贻贝科Mytilidae				天角蜉属 <i>Uracanthella</i>	+	+	
沼蛤属 <i>Limnoperna</i>	+	+	+	蜉蝣科Ephemeridae			

续表 S1

种类Taxa	环境DNA		形态学
	有机碎屑	水样	
蜉蝣属 <i>Ephemera</i>	+	+	+
扁蜉科Heptageniidae			
微动蜉属 <i>Cinygmula</i>	+	+	
扁蚴蜉属 <i>Ecdyonurus</i>		+	
扁蜉科一属 <i>Electrogena</i>		+	
高翔蜉属 <i>Epeorus</i>	+	+	
扁蜉属 <i>Heptagenia</i>	+		+
尼克斯蜉属 <i>Nixe</i>		+	
等蜉科Isonychiidae			
等蜉属 <i>Isonychia</i>		+	
细裳蜉科Leptophlebiidae			
柔裳蜉属 <i>Habrophlebiodes</i>			+
拟细裳蜉属 <i>Paraleptophlebia</i>	+		
思罗蜉属 <i>Thraulius</i>	+		
短丝蜉科Siphonuridae			
短丝蜉属 <i>Siphonurus</i>	+	+	
河花蜉科Potamanthidae			
河花蜉属 <i>Potamanthus</i>			+
襀翅目Plecoptera			
黑襀科Capniidae			
黑襀属 <i>Capnia</i>		+	
拟黑襀属 <i>Paracapnia</i>	+		
卷襀科Leuctridae			
卷襀属 <i>Leuctra</i>	+	+	
叉襀科Nemouridae			
叉襀属 <i>Nemoura</i>	+		
毛翅目Trichoptera			
纹石蛾科Hydropsychidae			
侧枝纹石蛾属 <i>Ceratopsyche</i>			+
短脉纹石蛾属 <i>Cheumatopsyche</i>		+	
小石蛾科Hydroptilidae			
姬石蛾属 <i>Hydroptila</i>		+	
长角石蛾科Leptoceridae			
长角石蛾属 <i>Leptocerus</i>			+
突长角石蛾属 <i>Ceraclea</i>	+	+	
叉长角石蛾属 <i>Triaenodes</i>		+	
等翅石蛾科Philopotamidae			
缺叉等翅石蛾属 <i>Chimarra</i>		+	
等翅石蛾属 <i>Philopotamus</i>	+		
原石蛾科Rhyacophilidae			
原石蛾属 <i>Rhyacophila</i>	+	+	
角石蛾科Stenopsychidae			
角石蛾属 <i>Stenopsyche</i>		+	
径石蛾科Ecnomidae			
径石蛾属 <i>Ecnomus</i>			+
蜻蜓目Odonata			
蜓科Aeshnidae			
蜓属 <i>Aeshna</i>		+	
色螳科Calopterygidae			
色螳属 <i>Calopteryx</i>		+	+
螳科Coenagrionidae			
黄螳属 <i>Ceriagrion</i>		+	+
螳科一属 <i>Paracercion</i>		+	+
螳科一属 <i>Cercion</i>			+
春蜓科Gomphidae			
曦春蜓属 <i>Heliogomphus</i>			+
施春蜓属 <i>Sieboldius</i>			+
日春蜓属 <i>Nihonogomphus</i>		+	
新叶春蜓属 <i>Sinictinogomphus</i>		+	
丝螳科Lestidae			
丝螳属 <i>Lestes</i>		+	
蜻科Libellulidae			
锥腹蜻属 <i>Acisoma</i>			+
鞘翅目Coleoptera			
溪泥甲科Elmidae			
溪泥甲科一种Elmidae sp.			+
步甲科Carabidae			
脊角步甲属 <i>Poecilus</i>		+	+
龙虱科Dytiscidae			
龙虱科一种Dytiscidae sp.			+
宽缘龙虱属 <i>Platambus</i>		+	+
沼梭科Halipidae			
沼梭属 <i>Haliphys</i>		+	+
平唇水龟科Hydraenidae			
平唇水龟属 <i>Hydraena</i>		+	+
牙甲科Hydrophilidae			
牙甲科一种Hydrophilidae sp.			+
毛腿牙甲属 <i>Anacaena</i>		+	
刺腹牙甲属 <i>Hydrochara</i>		+	
牙甲属 <i>Hydrophilus</i>		+	+
萤科Lampyridae			
黄萤属 <i>Luciola</i>		+	
隐翅虫科Staphylinidae			
隐翅虫科一属 <i>Bledius</i>		+	
双翅目Diptera			
摇蚊科Chironomidae			
摇蚊蛹Chironomidae pupa			+
无突摇蚊属 <i>Ablabesmyia</i>		+	+
底栖摇蚊属 <i>Benthalia</i>			+
摇蚊属 <i>Chironomus</i>		+	+
枝角摇蚊属 <i>Cladopelma</i>			+
枝长跗摇蚊属 <i>Cladotanytarsus</i>		+	+

续表 S1

种类Taxa	环境DNA		形态学	种类Taxa	环境DNA		形态学
	有机碎屑	水样			有机碎屑	水样	
壳粗腹摇蚊属 <i>Conchapelopia</i>		+		螺科一种 <i>Ceratopogonidae</i> sp.			+
棒脉摇蚊属 <i>Corynoneura</i>	+	+		贝螺属 <i>Bezzia</i>	+	+	
环足摇蚊属 <i>Cricotopus</i>	+	+	+	库螺属 <i>Culicoides</i>	+	+	
隐摇蚊属 <i>Cryptochironomus</i>			+	毛螺属 <i>Dasyhelea</i>	+	+	
脊凸摇蚊属 <i>Cyphomella</i>			+	幽蚊科Chaoboridae			
寡角摇蚊属 <i>Diamesa</i>	+	+		杠蚊属 <i>Mochlonyx</i>	+		
二叉摇蚊属 <i>Dicrotendipes</i>	+	+	+	蚊科Culicidae			
双突摇蚊属 <i>Diplocladius</i>		+		伊蚊属 <i>Aedes</i>	+	+	
尤里摇蚊属 <i>Euryhopsis</i>		+		按蚊属 <i>Anopheles</i>	+	+	
恩非摇蚊属 <i>Einfeldia</i>			+	库蚊属 <i>Culex</i>	+	+	
雕翅摇蚊属 <i>Glyptotendipes</i>	+	+		巨蚊属 <i>Toxorhynchites</i>	+	+	
哈摇蚊属 <i>Harnischia</i>	+	+		长足虻科Dolichopodidae			
异三突摇蚊属 <i>Heterotrissocladius</i>		+		长足虻属 <i>Dolichopus</i>	+		
球附器摇蚊属 <i>Kiefferulus</i>		+		蝇科Muscidae			
沼摇蚊属 <i>Limnophyes</i>	+			溜蝇属 <i>Lispe</i>	+	+	
大粗腹摇蚊属 <i>Macropelopia</i>			+	水蝇科Ephydriidae			
中足摇蚊属 <i>Metriocnemus</i>		+		水蝇科一种 <i>Ephydriidae</i> sp.			+
小摇蚊属 <i>Microchironomus</i>	+	+	+	蛾蚋科Psychodidae			
小突摇蚊属 <i>Micropsectra</i>	+	+		蛾蚋科一属 <i>Pericoma</i>		+	
肛齿摇蚊属 <i>Neozavrelia</i>	+	+		蛾蚋属 <i>Psychoda</i>	+	+	
尼罗长足摇蚊属 <i>Nilotanypus</i>	+			蚋科Simuliidae			
直突摇蚊属 <i>Orthocladius</i>	+	+	+	蚋属 <i>Simulium</i>	+	+	
拟摇蚊属 <i>Parachironomus</i>	+			蚋科一属 <i>Stegopterna</i>	+		
拟沼摇蚊属 <i>Paralimnophyes</i>		+		虻科Tabanidae			
拟中足摇蚊属 <i>Parametriocnemus</i>	+			麻虻属 <i>Haematopota</i>	+		
拟长跗摇蚊属 <i>Paratanytarsus</i>		+		虻属 <i>Tabanus</i>	+		
拟三突摇蚊属 <i>Paratrichocladius</i>		+		大蚊科Tipulidae			
五脉摇蚊属 <i>Pentaneura</i>		+		准拟大蚊属 <i>Pseudolimnophila</i>	+	+	
明摇蚊属 <i>Phaenopsectra</i>			+	大蚊属 <i>Tipula</i>	+	+	+
多足摇蚊属 <i>Polypedilum</i>	+	+	+	半翅目 Hemiptera			
前突摇蚊属 <i>Procladius</i>	+	+		负蝽科Belostomatidae			
刀突摇蚊属 <i>Psectrocladius</i>	+	+		负蝽科一属 <i>Appasus</i>	+		
伪直突摇蚊属 <i>Pseudorthocladius</i>	+	+		划蝽科Corixidae			
流粗腹摇蚊属 <i>Rheopelopia</i>		+		烁划蝽属 <i>Sigara</i>	+	+	
流长跗摇蚊属 <i>Rheotanytarsus</i>			+	划蝽属 <i>Corixa</i>			+
施密摇蚊属 <i>Smittia</i>	+	+		小划蝽属 <i>Micronectra</i>			+
拟花托摇蚊属 <i>Stempellinella</i>	+	+		龟蝽科Gerridae			
狭口摇蚊属 <i>Stenochironomus</i>		+		龟蝽属 <i>Gerris</i>	+		
斑摇蚊属 <i>Stictochironomus</i>	+	+	+	水蝽科Mesoveliidae			
似波摇蚊属 <i>Sympotthastia</i>	+			水蝽属 <i>Mesovelia</i>	+		
长足摇蚊属 <i>Tanypus</i>	+			仰蝽科Notonectidae			
长跗摇蚊属 <i>Tanytarsus</i>	+	+	+	仰蝽属 <i>Notonecta</i>	+		
提尼曼摇蚊属 <i>Thienemanniella</i>		+		跳蝽科Saldidae			
鹬虻科Athericidae				黑跳蝽属 <i>Salda</i>	+	+	
鹬虻属 <i>Atherix</i>		+		广翅目 Megaloptera			
螺科Ceratopogonidae				鱼蛉科Corydalidae			

续表 S1

种类Taxa	环境DNA		形态学
	有机碎屑	水样	
斑鱼蛉属 <i>Neochauliodes</i>	+		
草蜉科Cramnidae			
塘水蜉属 <i>Elophila</i>			+
软甲纲Malacostraca			
等足目Isopoda			
栉水虱科Asellidae			
栉水虱科一种 <i>Asellidae</i> sp.			+
匙指虾科Atyidae			
米虾属 <i>Caridina</i>	+		+
新米虾属 <i>Neocaridina</i>	+		
美螯虾科Cambaridae			
原螯虾属 <i>Procambarus</i>		+	

种类Taxa	环境DNA		形态学
	有机碎屑	水样	
长臂虾科Palaemonidae			
沼虾属 <i>Macrobrachium</i>	+	+	+
长臂虾属 <i>Palaemon</i>	+	+	
溪蟹科Potamidae			
溪蟹属 <i>Potamon</i>		+	
端足目Amphipoda			
螺赢蜚科Corophiidae			
大螯蜚属 <i>Grandidierella</i>		+	
钩虾科Gammaridae			
钩虾属 <i>Gammarus</i>	+	+	
合计Total	122	117	66