

闫智聪, 邢家杰, 蔡文启, 等. 基于环境 DNA 技术的西沙礁区长棘海星种群丰度研究[J]. 海洋学报, 2023, 45(3): 76–83, doi:10.12284/hyxb2023038

Yan Zhicong, Xing Jiajie, Cai Wenqi, et al. Study on the population distribution of *Acanthaster planci* in the reef area of the Xisha Islands based on environmental DNA technology[J]. Haiyang Xuebao, 2023, 45(3): 76–83, doi:10.12284/hyxb2023038

# 基于环境 DNA 技术的西沙礁区长棘海星种群丰度研究

闫智聪<sup>1</sup>, 邢家杰<sup>1</sup>, 蔡文启<sup>1,2</sup>, 张开典<sup>1</sup>, 吴钟解<sup>2\*</sup>, 李元超<sup>2</sup>, 唐佳<sup>1</sup>, 周智<sup>1\*</sup>

(1. 海南大学 海洋学院, 海南 海口 570228; 2. 海南省海洋与渔业科学研究院, 海南 海口 571126)

**摘要:** 长棘海星 (*Acanthaster planci*) 作为珊瑚的天敌之一, 因其对珊瑚礁生态系统的灾难性破坏而备受关注。然而, 长棘海星在南海珊瑚礁生态系统中的时空分布特征仍不清楚。本研究于 2020 年 9 月、2021 年 4 月和 2022 年 1 月对西沙群岛礁区表层海水进行取样, 借助环境 DNA (environmental DNA) 和实时荧光定量 PCR 技术分析了表层海水中长棘海星线粒体细胞色素 *-c*-氧化酶亚基 I (COTS-mtCOI) 基因片段浓度的时空变化, 及其与海水温度、盐度、pH、叶绿素含量和营养盐含量等环境因子的相关性。结果发现, 2020–2022 年, 西沙礁区 COTS-mtCOI 片段浓度的变化范围为  $0\sim 4.13\times 10^7$  拷贝数/ $\text{m}^3$ , 且永乐环礁附近一直有较高的 COTS-mtCOI 片段浓度。对于华光礁、晋卿岛、羚羊礁、全富岛和赵述岛而言, 2020 年 9 月表层海水中 COTS-mtCOI 片段的平均浓度显著高于 2021 年 4 月和 2022 年 1 月 ( $p<0.05$ )。此外, COTS-mtCOI 片段浓度与表层海水的温度显著正相关 ( $p<0.05$ )。研究结果表明, 当前长棘海星群体广泛分布于我国西沙群岛海域, 永乐环礁可能分布着较高密度的长棘海星群体, 水温升高可能促进长棘海星的暴发。本研究有助于了解南海珊瑚礁生态系统中长棘海星的种群分布特征, 同时也能够对长棘海星暴发的预警预报提供理论依据。

**关键词:** 珊瑚礁; 长棘海星; 环境 DNA; 海水温度

中图分类号: Q178.53; Q523

文献标志码: A

文章编号: 0253-4193(2023)03-0076-08

## 1 引言

珊瑚礁生态系统是全球初级生产力最高的生态系统之一, 其具有十分显著的生态价值, 被称为“海洋中的热带雨林”<sup>[1]</sup>。近年来, 长棘海星 (*Acanthaster planci*) 的大规模暴发成为珊瑚礁退化的主要原因之一<sup>[2-3]</sup>。长棘海星主要分布于印度洋–太平洋区的热带珊瑚礁海域中<sup>[4-5]</sup>, 主要捕食造礁石珊瑚, 其存在已成为许多地区, 尤其是中太平洋和西太平洋的造礁石珊瑚覆盖率持续下降的主要原因之一<sup>[6-7]</sup>。据统计, 1985–2012 年期间, 澳大利亚大堡礁的珊瑚覆盖率下降了

约 50%, 其中约 42% 可归因于长棘海星的暴发<sup>[8]</sup>。2007–2009 年, 我国西沙群岛的珊瑚礁因长棘海星的大规模暴发而遭到严重的破坏, 造礁石珊瑚覆盖率甚至降到 1% 以下<sup>[9-10]</sup>。长棘海星的暴发已经成为珊瑚礁生态系统的大灾难, 严重阻碍了珊瑚礁生态系统的保护和恢复工作。为有效控制长棘海星暴发, 加强对长棘海星的调查监测和预警预报刻不容缓。

长棘海星的传统监测主要通过断面监测和截线样点的人工水下调查<sup>[11]</sup>。传统监测方法对于隐蔽性好、扩散范围广的长棘海星成体和幼体存在局限性, 当发现长棘海星成体大量出现时, 珊瑚礁生态系统已

收稿日期: 2022-04-10; 修订日期: 2022-10-12。

基金项目: 海南省自然科学基金(420CXTD432, 2019RC067); 国家自然科学基金(42076145)。

作者简介: 闫智聪(1999—), 男, 山西省运城市人, 主要从事珊瑚礁保护研究。E-mail: 3248201687@qq.com

\* 通信作者: 吴钟解(1981—), 男, 副研究员, 硕士生导师, 主要从事珊瑚礁生态学研究。E-mail: 289663247@qq.com; 周智(1983—), 男, 研究员, 博士生导师, 主要从事珊瑚礁生物学研究。E-mail: zhouchi@hainanu.edu.cn

经开始遭到严重的破坏。长棘海星的暴发预警也可以通过海水中长棘海星幼虫的监测实现,但对于长棘海星幼虫的形态学鉴定非常困难,需要分子生物学技术的辅助。Suzuki 等<sup>[12]</sup>从浮游生物样品中分离了可能是长棘海星的幼虫,并对这些样品进行了基因验证,证实了日本冲绳的 Sekisei 潟湖存在高密度的长棘海星幼虫(53.3 只/m<sup>3</sup>),提示该海域可能暴发长棘海星。Doyle 等<sup>[13]</sup>采用荧光定量技术定量了大堡礁周围的长棘海星幼虫,为该海域长棘海星的分布特征提供了基础数据。此外,张颖等<sup>[14]</sup>设计了针对长棘海星幼体的引物,用于检测是否存在长棘海星幼体,但无法进行准确定量。目前,长棘海星的监测工作无疑耗费了大量的人力物力,亟需一种准确且高效的检测方法,为礁区长棘海星暴发早期阶段提供关键信息。近些年,随着分子生物学技术的不断发展,环境 DNA(environmental DNA, eDNA)技术已经成为一种生物和生态多样性监测的新手段<sup>[15-16]</sup>。eDNA 技术是指从环境样品中直接提取 DNA,并对该 DNA 进行定量或者定性分析<sup>[17-18]</sup>。Kwong 等<sup>[19]</sup>研究表明,长棘海星环境 DNA 的降解速率较快,因此环境 DNA 监测结果能够反应近期当地长棘海星群体(包括成体、幼体和幼虫)的分布状况。

西沙群岛珊瑚礁生态系统拥有我国现存珊瑚礁群落中最原始、最典型的珊瑚礁群落,也是我国近海海域保存相对完好的珊瑚礁区域<sup>[2]</sup>。近年来,我国学者开始关注珊瑚礁区的长棘海星,并进行相关研究。例如,赵思佳等<sup>[20]</sup>的研究揭示了长棘海星对重金属的富集具有组织差异性,且海星能够通过生物富集和放大效应累积 Zn、As 和 Cd。我国学者在长棘海星幼虫的检测和培养方面也开展了初步研究:张颖等<sup>[14]</sup>借助分子生物学技术检测到我国西沙七连屿海域存在长棘海星幼体;Tian 等<sup>[21]</sup>在实验室内繁育并培养了长棘海星幼虫。此外,长棘海星暴发的原因和治理也得到国内学者的关注:李元超等<sup>[22]</sup>对近 15 年西沙群岛长棘海星的暴发周期及暴发原因进行了分析,并提出了防治措施;Chen 等<sup>[23]</sup>的研究表明营养盐和洋流对于南海长棘海星的遗传结构和幼虫扩散具有重要意义。但是,对西沙群岛礁区长棘海星群体分布的相关了解仍十分有限。本研究于 2020 年 9 月、2021 年 4 月和 2022 年 1 月采集西沙群岛礁区表层海水样本,并采用环境 DNA 技术检测了长棘海星线粒体细胞色素-c-氧化酶亚基 I(COTS-mtCOI)基因片段浓度的时空分布。采样期间,我们在部分礁区观察到高密度的长棘海星成体。本研究旨在阐明西沙群岛珊瑚礁生

态系统中长棘海星的分布特征。研究结果有助于了解西沙群岛长棘海星的物种丰度及其时空变化,对于开展长棘海星的常态化监测和预警具有重要意义。

## 2 材料与方法

### 2.1 样品采集

分别于 2020 年 9 月、2021 年 4 月和 2022 年 1 月取样西沙群岛不同站点的表层海水。2020 年 9 月设置 5 个取样站点,包括华光礁、晋卿岛、羚羊礁、全富岛、赵述岛;2021 年 4 月与 2022 年 1 月设置相同的 26 个取样站点,包括华光礁、晋卿岛、羚羊礁、全富岛、赵述岛、永兴岛、北岛、东岛、琛航岛、中建岛、盘石屿、金银岛、甘泉岛、珊瑚岛、鸭公岛、银屿、石屿、南沙洲、浪花礁、西沙洲、筐仔沙洲、玉琢礁、北礁、银砾滩、高尖石、永乐龙洞(图 1)。银砾滩、高尖石、筐仔沙洲和永乐龙洞仅有 1 个取样礁区,其他站点包含至少 2 个间隔较远的取样礁区,上述所有礁区均取 3 个生物学重复的水样(取样水深:0.8~40.2 m)。为提高长棘海星环境 DNA 的检出率,以更加全面评估不同站点附近的长棘海星种群丰度,后续的数据处理以站点为单位进行统计分析。

使用加重型有机玻璃采水器(科析仪器,中国)采集 4 L 表层海水,用于水质检测分析和 COTS-mtCOI 片段浓度的定量。具体来说,用孔径为 0.2 μm 聚碳酸酯膜(Merck Millipore 公司,美国)过滤 3 L 海水,然后将滤膜置于含有 DNA lysis buffer(10 mmol/L Tris-HCl pH 8.0, 0.5% SDS, 100 mmol/L EDTA pH 8.0)的离心管中并于-20℃冰箱保存,用于后续的 DNA 提取和 COTS-mtCOI 片段浓度的定量。剩余 1 L 海水的固定和运输方法具体参照《海洋监测规范第 4 部分》(GB 17378.4-2007)<sup>[24]</sup>。

### 2.2 海水水质的检测

严格按照《海洋监测规范第 4 部分》(GB 17378.4-2007)<sup>[24]</sup>检测了取样海水的水质指标,包括温度、pH、盐度、无机磷含量、亚硝酸盐氮含量、硝酸盐氮含量、氨氮含量、无机氮含量(硝酸盐氮、亚硝酸盐氮和氨氮含量之和)、叶绿素含量、悬浮物含量、活性磷酸盐含量和石油含量。各海水水质指标的检测方法详见表 1。

### 2.3 COTS-mtCOI 片段浓度的定量

采用 DNA Clean & Concentrator 试剂盒(Zymo Research, 美国)提取和纯化上述过滤海水滤膜中的总 DNA<sup>[25]</sup>,接着采用 Nanodrop 微量紫外分光光度计和琼脂糖凝胶电泳法测定其浓度、纯度及完整性。检

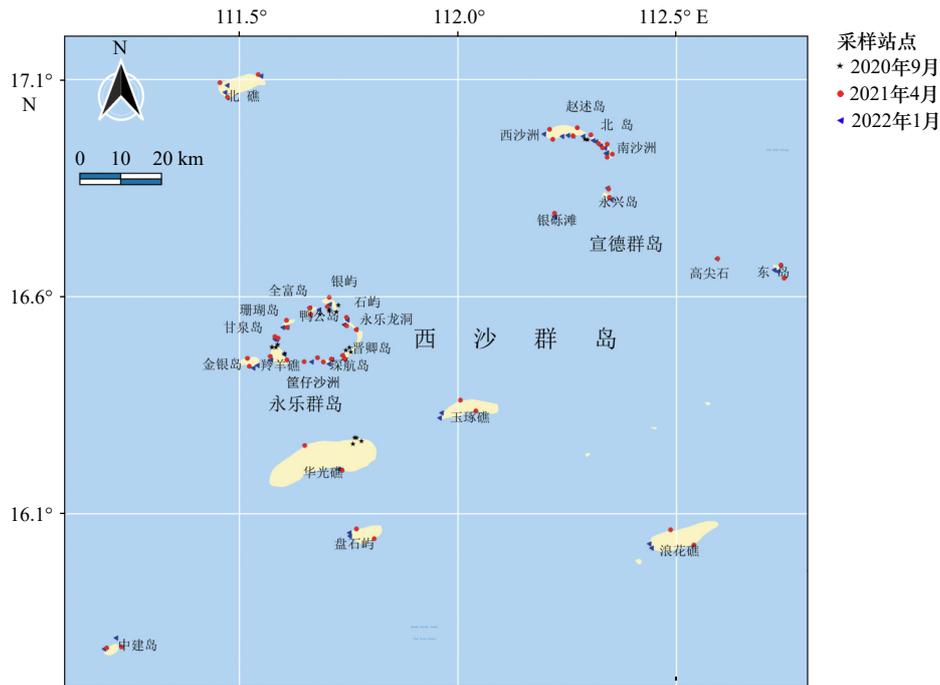


图 1 西沙群岛采样站点位置

Fig. 1 Location of the sampling stations in the Xisha Islands

表 1 各海水水质指标的检测方法

Table 1 Method for analysis of seawater quality indexes

水质指标	检测方法
温度	表层水温表法
pH	pH计法
盐度	盐度计法
氨氮含量	靛酚蓝分光光度法
亚硝酸盐氮含量	盐酸萘乙二胺分光光度法
硝酸盐氮含量	铈钼还原法
活性磷酸盐含量	磷钼蓝分光光度法
无机磷含量	过硫酸钾氧化法
石油含量分析	紫外分光光度法
叶绿素含量	荧光光度法
悬浮物含量	重量法

测合格的海水环境 DNA 在  $-80^{\circ}\text{C}$  下保存。

采用实时荧光定量技术和绝对定量方法定量环境 DNA 中的 COTS-mtCOI 片段浓度。首先提取长棘海星的 DNA (该长棘海星于 2020 年 9 月份采自西沙礁区, 置于  $-20^{\circ}\text{C}$  冰箱中运回实验室, 解剖获得腕中部的皮下肌肉层并提取 DNA), PCR 扩增 COTS-mtCOI 片段并构建含该片段的质粒。扩增引物 F: 5'-TC-CGACTACCCGGACGCCTATAC-3'; R: 5'-AGTGGT-

TCGCTGGGAAGTGAAGG-3' [13]。扩增体系: 2.5  $\mu\text{L}$   $10\times\text{PCR Buffer}$ , 2  $\mu\text{L}$  dNTP (2.5 mmol/L), 1  $\mu\text{L}$  引物 F (10  $\mu\text{mol/L}$ ), 1  $\mu\text{L}$  引物 R (10  $\mu\text{mol/L}$ ), 1  $\mu\text{L}$  DNA 模板, 0.15  $\mu\text{L}$  rTaq, 17.35  $\mu\text{L}$  DEPC 水。扩增条件:  $95^{\circ}\text{C}$  5 min, 35 个循环 ( $95^{\circ}\text{C}$  30 s,  $60^{\circ}\text{C}$  30 s,  $72^{\circ}\text{C}$  30 s),  $72^{\circ}\text{C}$  10 min,  $4^{\circ}\text{C}$  保存。PCR 扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后, 用 SanPrep 柱式 DNA 胶回收试剂盒 (生工生物工程有限公司, 中国) 将目的片段进行回收纯化, 再连接到 pMD19-T 载体 (Takara, 中国) 后转化至 Trans5 $\alpha$  感受态细胞 (全式金生物技术有限公司, 中国)。挑选单克隆菌落并测序验证阳性菌株, 过夜培养后采用 SanPrep 柱式 DNA 小量抽提试剂盒 (生工生物工程有限公司, 中国) 提取含有 COTS-mtCOI 片段的质粒, 采用 Nanodrop 微量紫外分光光度计测定抽提质粒的浓度, 最后计算 COTS-mtCOI 片段的浓度。

制备 COTS-mtCOI 梯度浓度 ( $10\sim 10^6$  拷贝数/ $\mu\text{L}$ ) 的质粒模板后, 采用实时荧光定量 PCR 仪 (朗基 Q2000B 型, 中国) 扩增质粒模板和海水环境 DNA 模板中的 COTS-mtCOI 片段, 同时设定 3 个空白对照。反应体系: 10  $\mu\text{L}$  TB Green Premix Ex Taq II (Takara, 中国), 0.8  $\mu\text{L}$  引物 F (10  $\mu\text{mol/L}$ , 序列同上), 0.8  $\mu\text{L}$  引物 R (10  $\mu\text{mol/L}$ , 序列同上), 2  $\mu\text{L}$  DNA 模板 (总量  $<100$  ng), 6.4  $\mu\text{L}$  DEPC 水。反应条件:  $95^{\circ}\text{C}$  30 s, 40 个循环 ( $95^{\circ}\text{C}$  5 s,  $65^{\circ}\text{C}$  30 s), 熔解曲线的温度从  $60^{\circ}\text{C}$  升高至  $95^{\circ}\text{C}$ 。根据  $C_t$  值 (每个反应管内的荧光信号到达设定的阈值时所经历的循环数,  $C_t$  值  $\leq 35$  为阳性) 与质粒模板

中 COTS-mtCOI 片段浓度的对数值成反比线性关系, 绘制标准曲线 ( $R^2 > 0.99$ ), 然后计算海水环境 DNA 中含有的 COTS-mtCOI 片段浓度<sup>[26]</sup>。

## 2.4 统计分析

所有数据均以平均值±标准差表示, 统计分析在 IBM SPSS Statistics 20 软件中完成。通过非参数 Kruskal-Wallis 检验不同取样点或不同取样时间 COTS-mtCOI 片段浓度的差异。采用 Spearman 分析海水中 COTS-mtCOI 片段浓度和水质参数间的相关性, 以  $p < 0.05$  代表差异具有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 西沙群岛表层海水中 COTS-mtCOI 片段浓度的时空分布

2020–2022 年各礁区站点表层海水中的 COTS-mtCOI 片段浓度如图 2 至图 4 所示。2020 年 9 月, 羚羊礁的 COTS-mtCOI 片段浓度最高 ( $7.58 \times 10^6$  拷贝数/ $m^3$ ), 华光礁、晋卿岛、全富岛和赵述岛中的 COTS-mtCOI 片段浓度相近 ( $2.44 \times 10^6 \sim 2.83 \times 10^6$  拷贝数/ $m^3$ ) (图 2)。2021 年 4 月, 鸭公岛、琛航岛和东岛礁区表层海水中的 COTS-mtCOI 片段浓度高于  $2.00 \times 10^7$  拷贝数/ $m^3$ , 永

兴岛、浪花礁、甘泉岛、高尖石和全富岛次之 ( $3.54 \times 10^6 \sim 6.59 \times 10^6$  拷贝数/ $m^3$ ), 而在华光礁、永乐龙洞、石屿和中建岛礁区均未检测到 COTS-mtCOI 片段 (图 3)。2022 年 1 月, COTS-mtCOI 片段的最高浓度 ( $1.89 \times 10^7$  拷贝数/ $m^3$ ) 出现在石屿礁区, 在其他礁区均低于  $5 \times 10^6$  拷贝数/ $m^3$  (图 4)。

### 3.2 COTS-mtCOI 片段浓度的时间变化

连续 3 年检测了华光礁、晋卿岛、羚羊礁、全富岛和赵述岛礁区表层海水中的 COTS-mtCOI 片段浓度。2020 年 9 月份上述 5 个礁区的平均 COTS-mtCOI 片段平均浓度显著高于 2021 年 4 月和 2022 年 1 月 ( $p < 0.05$ , 图 5a)。对于华光礁和晋卿岛而言, 2020 年 9 月表层海水中 COTS-mtCOI 片段浓度显著高于 2021 年 4 月 ( $p < 0.05$ ), 而与 2022 年 1 月无显著差异 ( $p > 0.05$ )。对于羚羊礁和赵述岛而言, 2020 年 9 月表层海水中 COTS-mtCOI 片段浓度显著高于 2021 年 4 月和 2022 年 1 月 ( $p < 0.05$ , 图 5b)。

### 3.3 COTS-mtCOI 片段浓度与环境因子的相关性

西沙群岛各礁区表层海水水质指标和 COTS-mtCOI 片段浓度的相关性如图 6 所示, COTS-mtCOI 浓度与表层水温显著正相关 ( $\rho = 0.348$ ,  $p < 0.05$ ), 而与其

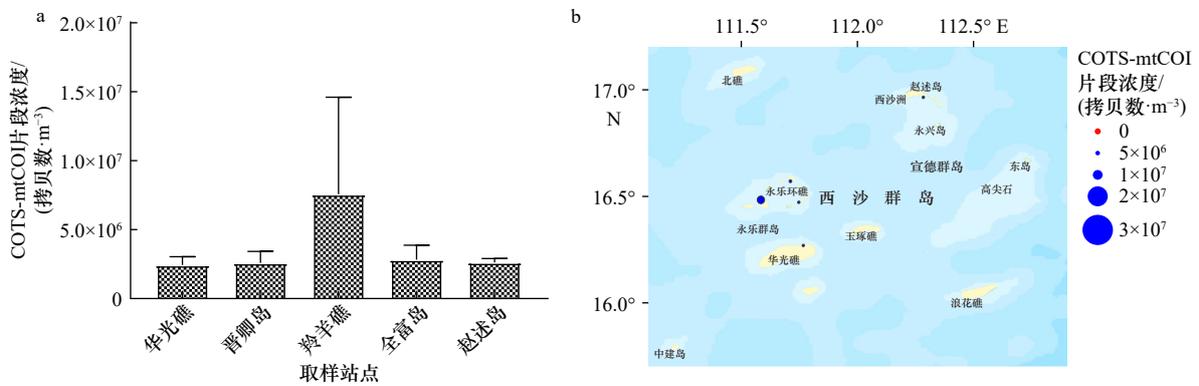


图 2 2020 年 9 月西沙群岛表层海水中 COTS-mtCOI 片段浓度的空间变化

Fig. 2 Spatial changes of COTS-mtCOI fragment concentration in the surface seawater of the Xisha Islands in September 2020

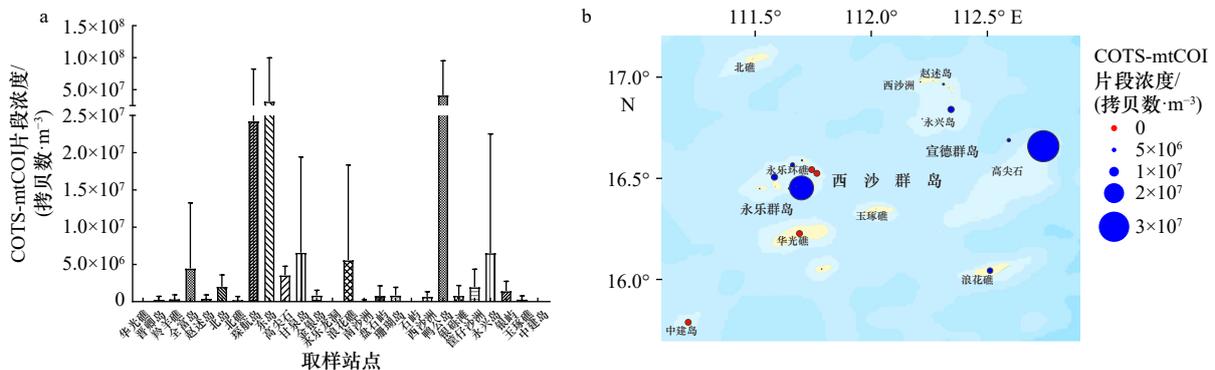


图 3 2021 年 4 月西沙群岛表层海水中 COTS-mtCOI 片段浓度的空间变化

Fig. 3 Spatial changes of COTS-mtCOI fragment concentration in the surface seawater of the Xisha Islands in April 2021

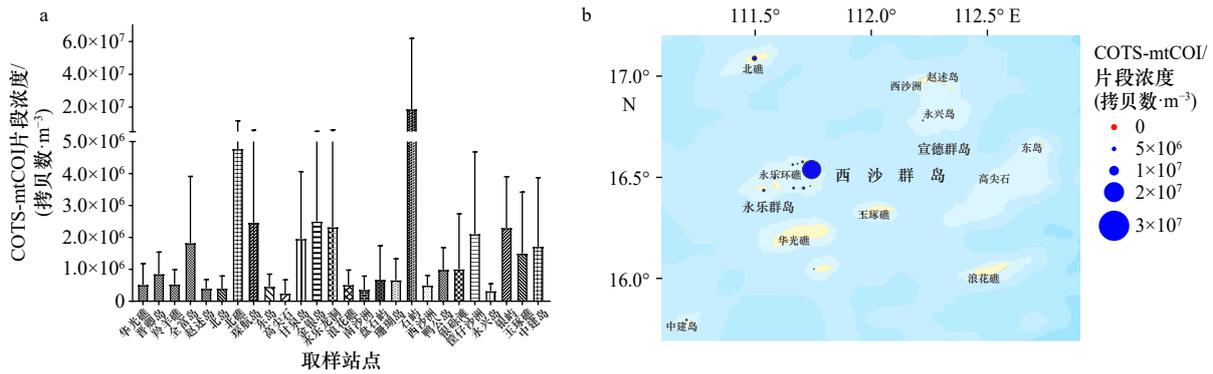


图 4 2022 年 1 月西沙群岛表层海水中 COTS-mtCOI 片段浓度的空间变化

Fig. 4 Spatial changes of COTS-mtCOI fragment concentration in the surface seawater of the Xisha Islands in January 2022

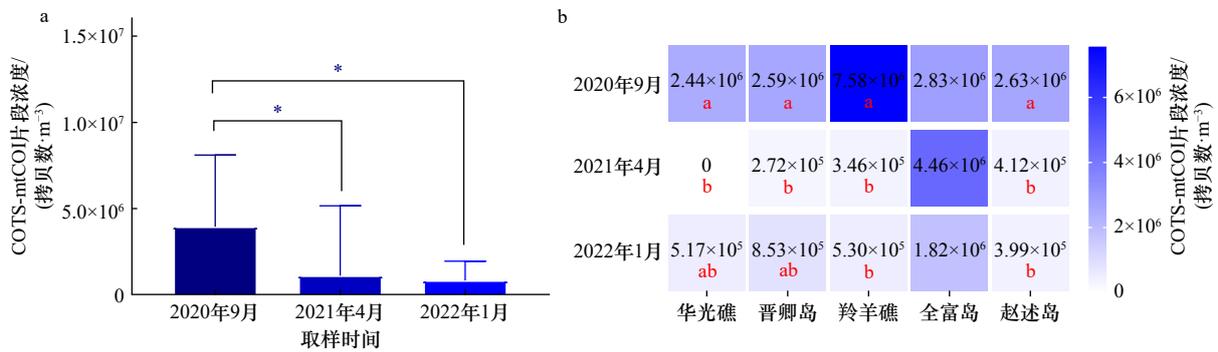


图 5 华光礁、晋卿岛、羚羊礁、全富岛和赵述岛表层海水中 COTS-mtCOI 片段浓度的变化

Fig. 5 Changes of COTS-mtCOI fragment concentration in the surface seawater of Huaguang Reef, Jinqing Island, Lingyang Reef, Quanfu Island and Zhaoshu Island reef areas

a. 5 个礁区 COTS-mtCOI 片段平均浓度随时间的变化; b. 各个礁区 COTS-mtCOI 片段浓度随时间的变化; \*和不同字母分别表示不同日期和相同站点不同日期 COTS-mtCOI 片段浓度存在显著差异 ( $p < 0.05$ )

a. Mean concentration changes of COTS-mtCOI fragment in the five reef areas over time; b. concentration changes of COTS-mtCOI fragment of individual reef areas over time; \* and different letters indicate COTS-mtCOI fragment concentration in the same date and in the different date of the same sampling stations significant differences ( $p < 0.05$ )

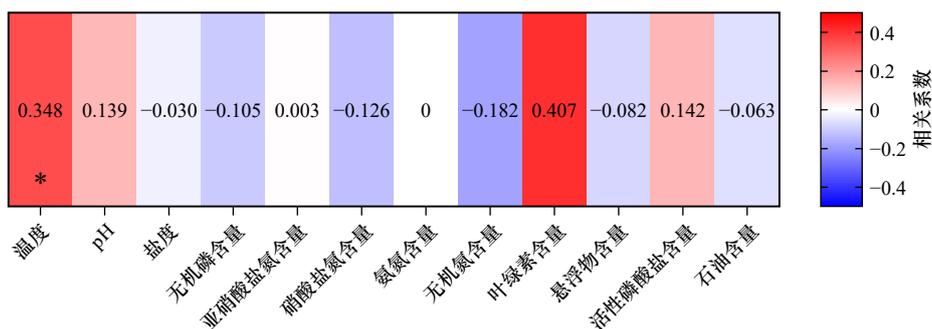


图 6 西沙群岛各礁区表层海水水质指标和 COTS-mtCOI 片段浓度的相关性

Fig. 6 Correlation between water quality parameters of the surface seawater and COTS-mtCOI fragment concentration of Xisha Islands reef area

\*表示存在显著正相关 ( $p < 0.05$ )

\* Indicates a significant positive correlation ( $p < 0.05$ )

他指标无显著相关性 ( $p > 0.05$ )。

### 4 讨论

长棘海星对珊瑚礁生态系统造成的破坏不容小

觑,然而南海礁区长棘海星群体相关的监测调查却鲜有报道。本研究调查了西沙礁区中 COTS-mtCOI 片段浓度的时空分布变化,以及其与海水水质指标的关系。

已有研究表明,西沙群岛的长棘海星暴发周期大约为 15 年,这 15 年又可分为两个阶段,依次为 5 年左右的长棘海星破坏期和 10 年左右的珊瑚恢复期<sup>[1]</sup>。西沙群岛珊瑚礁海域长棘海星上一次大规模暴发时间为 2006–2010 年<sup>[1]</sup>,提示西沙群岛可能正在发生新一轮的长棘海星暴发。本研究检测了 2020–2022 年西沙群岛不同礁区表层海水中的 COTS-mtCOI 片段浓度,在大部分礁区均检测到目的片段,浓度范围为  $0\sim 4.13\times 10^7$  拷贝数/ $m^3$ ,最高浓度出现在永乐环礁东部的羚羊礁。采用传统方法的现场调查发现,在 2020 年 9 月的羚羊礁和赵述岛,2021 年 4 月的西沙洲、东岛、鸭公岛和北礁,以及 2022 年 1 月的银屿、珊瑚岛、羚羊礁、金银岛和北礁均监测到多于其他礁区的长棘海星成体。但是,本研究在大部分礁区均检测到 COTS-mtCOI 片段,传统方法和环境 DNA 方法存在差异的原因可能是:长棘海星的幼体和幼虫也能够环境中遗留 COTS-mtCOI 片段,传统方法仅聚焦于长棘海星成体的调查;长棘海星成体隐蔽性好、扩散范围广,传统方法存在局限性。本研究发现,较高 COTS-mtCOI 片段浓度均出现在永乐环礁,表明该海域可能具有高密度的长棘海星群体。此外,永乐环礁中长棘海星种群丰度的最高值随时间的变化而出现在不同的岛屿,提示长棘海星种群丰度具有一定的可变性。现有的研究表明影响长棘海星群体分布主要原因包括:对长棘海星幼虫和成体的捕食压力减少<sup>[22, 27]</sup>、食物增加促进长棘海星幼虫的增加<sup>[28]</sup>、洋流<sup>[14]</sup>和人工清理等。由于本研究的局限性,造成永乐环礁存在高密度长棘海星群体的原因,以及长棘海星种群丰度的最高值随时间变化而出现在永乐环礁中不同岛屿的原因还需要进一步探究,未来需要结合多种学科和多种技术手段查明我国长棘海星群体地理分布差异的原因。综上,当前长棘海星群体广泛分布于我国西沙群岛海域,且永乐环礁可能具有高密度的长棘海星群体。

持续 3 年对华光礁、晋卿岛、羚羊礁、全富岛和赵述岛礁区表层海水中的 COTS-mtCOI 片段浓度进行检测,发现 2020 年 9 月西沙群岛表层海水中的平均 COTS-mtCOI 片段浓度为  $3.93\times 10^6$  拷贝数/ $m^3$ ,其数

值显著高于 2021 年 4 月和 2022 年 1 月。这种显著性差异可归因于 2020 年 9 月的海水高温,当时调查海域的平均海水温度为  $30.76^\circ\text{C}$ ,最低温度为  $30.40^\circ\text{C}$ ,最高温度为  $31.15^\circ\text{C}$ ,而 2021 年 4 月和 2022 年 1 月的平均温度为  $27.00^\circ\text{C}$ ,温度范围为  $25.70\sim 28.25^\circ\text{C}$ 。Johnson 和 Babcock<sup>[29]</sup>提到了温度升高在长棘海星暴发中的作用,大堡礁中长棘海星的暴发开始于温度较高的北部,而在温度较低的南部海域具有较少频率及较小规模的暴发。温度的季节性变化可能是造成 COTS-mtCOI 片段浓度存在时间差异的主要原因,相关性分析的结果也证实了该猜想。对于同一季节,温度是否影响长棘海星的种群大小,还需要进行野外和室内模拟实验的充分验证。此外,长棘海星为雌雄异体,海水温度高于  $28^\circ\text{C}$  时开始繁殖,雌体长棘海星单次产卵量可达 300 万枚<sup>[12, 22]</sup>。Tian 等<sup>[21]</sup>的研究表明,中国长棘海星产卵主要发生在 8 月份,张颖等<sup>[14]</sup>推测南海长棘海星在 9 月份和 10 月份仍能够产卵受精。2022 年 9 月检测到较高的 COTS-mtCOI 片段浓度也可能与长棘海星繁殖进而造成群体规模增大有关。本研究并未观察到 COTS-mtCOI 片段浓度和营养盐及叶绿素含量的显著相关性,表明长棘海星可能比之前认为的更能适应低食物水平。类似地, Wolfe 等<sup>[30]</sup>的研究也表明长棘海星种群暴发的开始可能并不需要富营养化条件。然而, Fabricius 等<sup>[28]</sup>的研究表明浮游植物含量可能是造成长棘海星暴发的关键因素,未来需要进一步探究造成该差异的原因。总体而言,我国西沙群岛长棘海星的分布存在明显的时间差异,季节性的水温变化可能是造成该差异的原因之一。

## 5 结论

本研究调查了西沙群岛珊瑚礁区表层海水中 COTS-mtCOI 片段浓度的时空变化,及其与水质指标间的关系。本研究表明当前长棘海星群体广泛分布于我国西沙群岛海域,永乐环礁附近礁区可能有高密度的长棘海星群体。此外,温度升高可能促进长棘海星的暴发。

## 参考文献:

- [1] 傅秀梅,王长云,邵长伦,等. 中国珊瑚礁资源状况及其药用研究调查 I. 珊瑚礁资源与生态功能[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2009, 39(4): 676–684.  
Fu Xiumei, Wang Changyun, Shao Changlun, et al. Investigation on the status of coral reef resources and medicinal research in China I. Coral reef resources and ecological functions[J]. Periodical of Ocean University of China, 2009, 39(4): 676–684.
- [2] 吴钟解,王道儒,涂志刚,等. 西沙生态监控区造礁石珊瑚退化原因分析[J]. 海洋学报, 2011, 33(4): 140–146.  
Wu Zhongjie, Wang Daoru, Tu Zhigang, et al. The analysis on the reason of hermatypic coral degradation in Xisha[J]. Haiyang Xuebao,

- 2011, 33(4): 140–146.
- [3] 施祺, 严宏强, 张会领, 等. 西沙群岛永兴岛礁坡石珊瑚覆盖率的空间变化[J]. *热带海洋学报*, 2011, 30(2): 10–17.  
Shi Qi, Yan Hongqiang, Zhang Huiling, et al. Spatial variations of stony coral cover on the reef slope of Yongxing Island, Xisha Islands[J]. *Journal of Tropical Oceanography*, 2011, 30(2): 10–17.
- [4] Clark A M, Downey M E. *Starfishes of the Atlantic*[M]. Berkeley: Springer, 1992.
- [5] Moran P. *Crown-of-Thorns Starfish Questions and Answers*[M]. Townsville, Queensland: Australian Institute of Marine Science (AIMS), 1997.
- [6] Bruno J F, Selig E R. Regional decline of coral cover in the Indo-Pacific: timing, extent, and subregional comparisons[J]. *PLoS One*, 2007, 2(8): e711.
- [7] Pratchett M S, Caballes C F, Rivera-Posada J A, et al. Limits to understanding and managing outbreaks of crown-of-thorns starfish (*Acanthaster* spp.)[M]//Hughes R N, Hughes D J, Smith I P. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*. Boca Raton: CRC Press, 2014: 133–200.
- [8] De'ath G, Fabricius K E, Sweatman H, et al. The 27-year decline of coral cover on the Great Barrier Reef and its causes[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(44): 17995–17999.
- [9] 黄晖, 尤丰, 练健生, 等. 西沙群岛海域造礁石珊瑚物种多样性与分布特点[J]. *生物多样性*, 2011, 19(6): 710–715.  
Huang Hui, You Feng, Lian Jiansheng, et al. Species diversity and distribution of scleractinian coral at Xisha Islands, China[J]. *Biodiversity Science*, 2011, 19(6): 710–715.
- [10] 赵焕庭, 王丽荣, 袁家义. 南海诸岛珊瑚礁可持续发展[J]. *热带地理*, 2016, 36(1): 55–65.  
Zhao Huanting, Wang Lirong, Yuan Jiayi. Sustainable development of the coral reefs in the South China Sea Islands[J]. *Tropical Geography*, 2016, 36(1): 55–65.
- [11] 李元超, 吴钟解, 梁计林, 等. 近15年西沙群岛长棘海星暴发周期及暴发原因分析[J]. *科学通报*, 2019, 64(33): 3478–3484.  
Li Yuanchao, Wu Zhongjie, Liang Jilin, et al. Analysis on the outbreak period and cause of *Acanthaster planci* in Xisha Islands in recent 15 years[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2019, 64(33): 3478–3484.
- [12] Suzuki G, Yasuda N, Ikehara K, et al. Detection of a high-density brachiolaria-stage larval population of crown-of-thorns sea star (*Acanthaster planci*) in Sekisei Lagoon (Okinawa, Japan)[J]. *Diversity*, 2016, 8(2): 9.
- [13] Doyle J R, McKinnon A D, Uthicke S. Quantifying larvae of the coralivorous seastar *Acanthaster* cf. *solaris* on the Great Barrier Reef using qPCR[J]. *Marine Biology*, 2017, 164(8): 176.
- [14] 张颖, 杨砾潼, 刘冰, 等. 长棘海星(*Acanthaster planci*)幼体特异性PCR检测技术与应用[J/OL]. *热带海洋学报*, 2022 [2022–03–10]. <https://doi.org/10.11978/2022011>.  
Zhang Ying, Yang Litong, Liu Bing, et al. Specific PCR detection for *Acanthaster planci* larvae and its application[J/OL]. *Journal of Tropical Oceanography*, 2022 [2022–03–10]. <https://doi.org/10.11978/2022011>.
- [15] Levy-Booth D J, Campbell R G, Gulden R H, et al. Cycling of extracellular DNA in the soil environment[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, 39(12): 2977–2991.
- [16] Taberlet P, Coissac E, Hajibabaei M, et al. Environmental DNA[J]. *Molecular Ecology*, 2012, 21(8): 1789–1793.
- [17] 单秀娟, 李苗, 王伟继. 环境DNA(eDNA)技术在水生生态系统中的应用研究进展[J]. *渔业科学进展*, 2018, 39(3): 23–29.  
Shan Xiujuan, Li Miao, Wang Weiji. Application of environmental DNA technology in aquatic ecosystem[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2018, 39(3): 23–29.
- [18] 郝雅宾, 张爱菊, 刘金殿, 等. 环境DNA技术在鱼类资源研究中的应用[J]. *生物技术通报*, 2018, 34(12): 56–62.  
Hao Yabin, Zhang Aiju, Liu Jindian, et al. Application of environmental DNA technology in the study of fish resources[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2018, 34(12): 56–62.
- [19] Kwong S L T, Villacorta-Rath C, Doyle J, et al. Quantifying shedding and degradation rates of environmental DNA (eDNA) from Pacific crown-of-thorns seastar (*Acanthaster* cf. *solaris*)[J]. *Marine Biology*, 2021, 168(6): 85.
- [20] 赵思佳, 张媛媛, 余克服, 等. 南海珊瑚礁区棘冠海星重金属含量及其生物积累特征分析[J]. *海洋环境科学*, 2022, 41(4): 579–585.  
Zhao Sijia, Zhang Yuanyuan, Yu Kefu, et al. Analysis of heavy metal contents and bioaccumulation characteristics of *Acanthaster planci* in coral reef of South China Sea[J]. *Marine Environmental Science*, 2022, 41(4): 579–585.
- [21] Tian Yushun, Yu Zonghe, Luo Peng, et al. Artificial breeding and culture of the crown-of-thorns starfish *Acanthaster planci* (Linnaeus, 1758) larvae in China[J]. *Invertebrate Reproduction & Development*, 2017, 61(3): 157–163.
- [22] 李元超, 梁计林, 吴钟解, 等. 长棘海星的暴发及其防治[J]. *海洋开发与管理*, 2019, 36(8): 9–12.  
Li Yuanchao, Liang Jilin, Wu Zhongjie, et al. Outbreak and prevention of *Acanthaster planci*[J]. *Ocean Development and Management*, 2019, 36(8): 9–12.
- [23] Chen Biao, Yu Kefu, Yao Qiucui, et al. Insights into the environmental impact on genetic structure and larval dispersal of crown-of-thorns starfish in the South China Sea[J]. *Frontiers in Marine Science*, 2021, 8: 728349.
- [24] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB 17378.4–2007, 海洋监测规范 第4部分: 海水分析[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.  
General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Adminis-

- tration of the People's Republic of China. GB 17378.4-2007, The specification for marine monitoring—Part 4: Seawater analysis[S]. Beijing: Standards Press of China, 2008.
- [25] Yuan Jian, Li Meizhen, Lin Senjie. An improved DNA extraction method for efficient and quantitative recovery of phytoplankton diversity in natural assemblages[J]. *PLoS One*, 2015, 10(7): e0133060.
- [26] 吴钟解, 唐佳, 蔡文启, 等. 海南岛东海岸珊瑚礁生态系统中抗生素抗性基因的赋存特征[J]. *热带生物学报*, 2022, 13(5): 464-471. Wu Zhongjie, Tang Jia, Cai Wenqi, et al. Occurrence and characteristics of antibiotic resistance genes in the coral reef ecosystems along the east coast of Hainan Island[J]. *Journal of Tropical Biology*, 2022, 13(5): 464-471.
- [27] McCallum H I. Predator regulation of *Acanthaster planci*[J]. *Journal of Theoretical Biology*, 1987, 127(2): 207-220.
- [28] Fabricius K E, Okaji K, De'ath G. Three lines of evidence to link outbreaks of the crown-of-thorns seastar *Acanthaster planci* to the release of larval food limitation[J]. *Coral Reefs*, 2010, 29(3): 593-605.
- [29] Johnson L G, Babcock R C. Temperature and the larval ecology of the crown-of-thorns starfish, *Acanthaster planci*[J]. *The Biological Bulletin*, 1994, 187(3): 304-308.
- [30] Wolfe K, Graba-Landry A, Dworjanyn S A, et al. Superstars: assessing nutrient thresholds for enhanced larval success of *Acanthaster planci*, a review of the evidence[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2017, 116(1/2): 307-314.

## Study on the population distribution of *Acanthaster planci* in the reef area of the Xisha Islands based on environmental DNA technology

Yan Zhicong<sup>1</sup>, Xing Jiajie<sup>1</sup>, Cai Wenqi<sup>1,2</sup>, Zhang Kaidian<sup>1</sup>, Wu Zhongjie<sup>2</sup>, Li Yuanchao<sup>2</sup>, Tang Jia<sup>1</sup>, Zhou Zhi<sup>1</sup>

(1. College of Marine Sciences, Hainan University, Haikou 570228, China; 2. Hainan Academy of Ocean and Fisheries Sciences, Haikou 571126, China)

**Abstract:** *Acanthaster planci*, one of the predators of reef-building corals, has attracted much attention for its catastrophic damage to coral reef ecosystems. However, the spatial and temporal distribution characteristics of *A. planci* are still unclear in the coral reef ecosystem of the South China Sea. In this study, using environmental DNA and real-time quantitative PCR techniques, we analyzed the concentration variation of the mitochondrial cytochrome-c-oxidase subunits I (COTS-mtCOI) fragment of *A. planci* in the surface seawater of the Xisha Islands in September 2020, April 2021 and January 2022, and the correlations between the concentration variation with environmental factors such as seawater temperature, salinity, pH, chlorophyll content, nutrients content and other environmental factors. The results showed that COTS-mtCOI fragment concentration in the Xisha Islands varied from 0 copies/m<sup>3</sup> to 4.13×10<sup>7</sup> copies/m<sup>3</sup> during 2020-2022, and there were always higher concentrations in the Yongle Atoll. For Huaguang Reef, Jinqing Islands, Lingyang Reef, Quanfu Island and Zhaoshu Island, the average concentration of COTS-mtCOI fragment in September 2020 was significantly ( $p<0.05$ ) higher than those in April 2021 and January 2022. In addition, COTS-mtCOI fragment concentration was significantly ( $p<0.05$ ) positively correlated with surface seawater temperature. These results suggest that the population of *A. planci* is widely distributed in the seawater of Xisha Islands, and higher density of *A. planci* could appear in Yongle Atoll. Moreover, ocean warming may accelerate the outbreak of *A. planci*. This study is helpful to understand the population distribution characteristics of *A. planci* in the coral reef ecosystems of the South China Sea, and can provide a theoretical basis for the early warning and forecast of the *A. planci* outbreak.

**Key words:** coral reef; *Acanthaster planci*; environmental DNA; seawater temperature